

Universidad de La Habana



**EVALUACIÓN DE MEZCLAS DE RESIDUOS
LIGNOCELULÓSICOS ESTANDARIZADAS PARA EL
CULTIVO DE PLEUROTUS OSTREATUS Y SU EMPLEO
EN UN PRODUCTO CÁRNICO**

**María Bernarda Ruilova Cueva (Autor), Aldo Hernández
Monzón (Director)**

Ruilova Cueva, María Bernarda (Autor)

Evaluación de mezclas de residuos lignocelulósicos estandarizadas para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* y su empleo en un producto cárnico / María Bernarda Ruilova Cueva (Autor), Aldo Hernández Monzón (Director) -- La Habana : Editorial Universitaria, 2015. -- ISBN 978-959-16-2613-4.

1. Ruilova Cueva, María Bernarda (Autor)
2. Hernández Monzón, Aldo (Director)
3. Universidad de La Habana
4. Educación Superior

Digitalización: Editorial Universitaria, torri@mes.edu.cu

(c) Todos los derechos reservados. , 2015, Editorial Universitaria Calle 23 entre F y G, No. 564. El Vedado, Ciudad de La Habana, CP 10400, Cuba



UNIVERSIDAD DE LA HABANA
INSTITUTO DE FARMACIA Y ALIMENTOS

**Tesis presentada en opción al grado científico Doctor en
Ciencias de los Alimentos.**



**EVALUACIÓN DE MEZCLAS DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS
ESTANDARIZADAS PARA EL CULTIVO DE *PLEUROTUS*
OSTREATUS Y SU EMPLEO EN UN PRODUCTO CÁRNICO
SALUDABLE**

Autor: María Bernarda Ruilova Cueva.

La Habana

2014

UNIVERSIDAD DE LA HABANA
INSTITUTO DE FARMACIA Y ALIMENTOS

**Tesis presentada en opción al grado científico Doctor en
Ciencias de los Alimentos.**



**EVALUACIÓN DE MEZCLAS DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS
ESTANDARIZADAS PARA EL CULTIVO DE *PLEUROTUS*
OSTREATUS Y SU EMPLEO EN UN PRODUCTO CÁRNICO
SALUDABLE**

Autor: María Bernarda Ruilova Cueva.

Tutores:

Dr. C. Aldo Hernández Monzón

Dr. C. Raúl Díaz Torres

La Habana

2014

*¡Sólo perdura, y es para bien, la riqueza que se crea, y la libertad
que se conquista, con las propias manos!*

José Martí

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios y a la Virgen de Agua Santa por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por haberme acompañado a lo largo de mi carrera dándome seguridad y confianza para seguir adelante y cumplir mi meta.

Le doy gracias a mis padres Daniel y Domitila (+) que yo sé que espiritualmente siempre estuvieron conmigo y quienes fueron los pilares fundamentales y supieron inculcarme el valor que significa prepararse a lo largo de la vida.

A la Universidad Estatal de Bolívar por darme la oportunidad de crecer profesionalmente y a la Universidad de La Habana por abrirme sus puertas para mi formación en el Doctorado en Ciencias de los Alimentos

A mis tutores de la tesis Dr. Aldo Hernández Monzón y al Dr. Raúl Torres Díaz por su apoyo en el desarrollo de este trabajo, sobre todo al Dr. Aldo quién ha pasado más tiempo acompañándome en este largo proceso. Al Dr. René Tejedor Arias, Presidente del Comité Científico del Doctorado en Ciencias de los Alimentos y al Dr. Juan Abreu Payrol, Decano de la Facultad.

Mi agradecimiento al Instituto de Investigaciones Biotecnológicas - Instituto Tecnológico de Chascomús (IIB-INTECH), de una manera muy especial al Dr. Edgardo Albertó, destacado Docente-Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET) de la Universidad Nacional de General San Martín (UNSAM), Argentina, gracias de verdad por su apoyo.

A distinguidos profesionales de la Universidad de La Habana, del Instituto Superior Politécnico José Antonio Echeverría (CUJAE), del Instituto de Investigaciones de la

Industria Alimentaria (IIIA). Gracias por su apoyo y amistad. A mis compañeros de la Universidad Estatal de Bolívar que fueron solidarios y me extendieron su mano cuando los necesité. Un Imperecedero agradecimiento a Pedro Pablo, mi entrañable compañero. Dejo constancia de mi agradecimiento al Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA), Planta Didáctica para la Producción de Hongos Comestibles, regional Caldas, Manizales, Colombia, mil gracias a todos, Zoraidita gracias por vuestro apoyo.

No podía faltar mi gratitud a una incondicional amiga y compañera de aulas universitarias, Ingeniera Elena Villares Pobeda Ms.C, destacada investigadora del Departamento de Nutrición y Calidad del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Estación Experimental Santa Catalina, Ecuador y a la Ing. Betty Silva distinguida profesional.

A mis tesoros, mis hijos: Javier, Gustavo, Ramiro y Jeanette, que fueron mi inspiración y mi fuerza para seguir adelante, gracias por apoyarme, por ser unos excelentes hijos que supieron comprender y tolerar mi ausencia, a mi pequeñito Matías Tello, mi niño adorado y consentido que fue el que más me extrañó y lo extrañe, los quiero mucho. A mis hermanos y familiares por su apoyo moral, a mi hermana Blanquita que siempre está preocupada y orando por mi bienestar.

SÍNTESIS

En la presente investigación se evaluaron mezclas de residuos lignocelulósicos estandarizadas en carbono nitrógeno para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* y su utilización como sustituto de la carne de cerdo en el desarrollo de una salchicha saludable. Se caracterizaron los residuos lignocelulósicos de la provincia de Bolívar para el diseño de las mezclas y se evaluó una cepa del Ecuador identificada como (768/12). De las mezclas diseñadas utilizando la cepa autóctona para el cultivo de *Pleurotus* las que mejores resultados presentaron en los indicadores de productividad y contenido proteico, fueron las estandarizadas en el rango C/N de 37,31 a 53,15, utilizando harina de soya del 2 al 6 %. Se optimizó una formulación (carne de res 40 %, hongo 27 % y grasa de cerdo 8 %) para la elaboración de una salchicha tipo Vienesas, baja en grasa, utilizando al *Pleurotus ostreatus* como sustituto de la carne de cerdo; la adición del hongo no afectó mayormente la composición nutricional del nuevo producto, si no por el contrario presentó características beneficiosas en su composición por la presencia de β – glucanos y fibra. El nuevo producto presentó adecuadas características texturales, sensoriales, microbiológicas y mayor vida de almacenamiento que la salchicha comercial.

	INDICE	pag
INTRODUCCION		
CAPITULO 1. REVISION BIBLIOGRÁFICA		
1.1	Los hongos macromycetos	9
1.2	Setas	10
1.2.1	Morfología	11
1.3	Materiales utilizados para el cultivo del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	12
1.4	Factores que influyen en el rendimiento	13
1.4.1	Composición del sustrato	13
1.4.2	Tipo de cepa y preparación del inóculo	16
1.4.3	Carbono, nitrógeno y relación carbono nitrógeno	16
1.4.4	Tamaño de partícula	18
1.4.5	Humedad del sustrato y pH	19
1.4.6	Temperatura y humedad relativa	19
1.4.7	Luz, ventilación, concentración de oxígeno y dióxido de carbono	19
1.5	Indicadores de producción	20
1.6	Valor nutricional de los hongos comestibles	21
1.7	Las setas comestibles: alimentos saludables	22
1.8	Importancia de los β -glucanos en la salud humana	23
1.9	La carne y embutidos cárnicos	24
1.9.1	Propiedades de la carne y los productos cárnicos	25
1.9.2	Elaboración de embutidos de pasta fina	27
1.9.2.1	Proceso de elaboración de embutidos de pasta fina	27
1.9.2.2	Ingredientes en la elaboración de los embutidos de pasta fina	29
1.9.3	Productos cárnicos saludables	33
1.9.4	Uso de los hongos comestibles en la elaboración de productos no cárnicos	34
1.9.5	Uso de los hongos comestibles en la elaboración de productos cárnicos	35
CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS		
2.1	Diseño experimental de la investigación	38
2.1.1	Muestreo de los residuos	38
2.1.2	Caracterización físico-química de los residuos agrícolas	38
2.2	Mezclas de residuos lignocelulósicos	40

2.2.1	Programa de Mezclas	40
2.2.2	Diseño de las mezclas de residuos lignocelulósicos estandarizadas en la relación carbono nitrógeno	42
2.3	Cultivo del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	42
2.3.1	Selección de la cepa	42
2.3.2	Preparación del inóculo	43
2.3.3	Adecuación de los sustratos para el cultivo del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	43
2.3.4	Evaluación de la producción	44
2.4	Elaboración de las salchichas con empleo del hongo	45
2.4.1	Materias primas	45
2.4.2	Caracterización físico-química del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	45
2.4.2.1	Determinación del pH	46
2.4.2.2	Determinación de la actividad de agua	46
2.4.2.3	Determinación de β -glucanos	46
2.4.3	Evaluación de las propiedades funcionales del hongo	47
2.4.3.1	Capacidad de hinchamiento	47
2.4.3.2	Capacidad de retención de agua	47
2.4.3.3	Capacidad emulsificante	47
2.5	Diseño de las formulaciones y adecuación del proceso tecnológico para la obtención de la salchicha con la incorporación del hongo	48
2.5.1	Diseño de las formulaciones experimentales	48
2.5.2	Evaluación de las propiedades funcionales de la emulsión carne hongo	49
2.5.2.1	Capacidad de retención de lípidos	49
2.5.3	Proceso tecnológico para la elaboración de la salchicha con la incorporación del hongo	50
2.6	Evaluación de las formulaciones experimentales	51
2.6.1	Rendimiento a la cocción	51
2.6.2	Análisis instrumental del perfil de textura	52
2.6.3	Evaluación sensorial	52
2.6.4	Índice de costo de las materias primas	53
2.6.5	Análisis de los resultados	53
2.7	Optimización de la formulación	53

2.7.1	Evaluación de la composición de la formulación óptima y de la salchicha patrón	54
2.8	Estudio de almacenamiento de la formulación óptima y de la patrón	55
2.8.1	Índice de peróxido	55
2.8.2	Evaluación instrumental del color a la formulación óptima y a la patrón	55
2.8.3	Análisis cuantitativo descriptivo sensorial a la formulación óptima y a la elaborada como patrón	56
2.8.4	Perfil de textura instrumental a la formulación óptima y a la elaborada como patrón	56
2.8.5	Análisis microbiológicos	56
2.9	Estimación de los costos	57
2.9.1	Estimación del costo de producción del hongo	57
2.9.2	Estimación del costo del nuevo producto cárnico	57
2.10	Procesamiento estadístico de los resultados	57

CAPITULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1	Caracterización físico-química de los residuos agrícolas	58
3.2	Desarrollo de un programa para el diseño de mezclas de residuos agrícolas	62
3.4	Diseño de mezclas estandarizadas en la relación carbono nitrógeno para el cultivo del hongo	67
3.4	Evaluación de tres cepas de <i>Pleurotus ostreatus</i>	70
3.5	Evaluación de los resultados de producción del cultivo del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> en las mezclas diseñadas	71
3.5.1	Aparición de primordios	72
3.5.2	Peso del hongo fresco	72
3.5.3	Eficiencia biológica	73
3.5.4	Contenido de proteína	75
3.5.5	Rendimiento	77
3.5.6	Tasa de producción	77
3.6	Caracterización del <i>Pleurotus ostreatus</i> obtenido en las mezclas diseñadas	78
3.7	Evaluación de las propiedades funcionales del <i>Pleurotus ostreatus</i> y de la emulsión carne-hongo-grasa en las diferentes formulaciones	80

3.7.1	Evaluación de las propiedades funcionales del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	80
3.7.2	Evaluación de las propiedades funcionales de la emulsión carne-hongo-grasa en las formulaciones experimentales de la salchicha	82
3.8	Evaluación de las formulaciones experimentales de las salchichas con la incorporación del hongo <i>Pleurotus</i>	83
3.8.1	Rendimiento a la cocción	84
3.8.2	Comportamiento del pH	84
3.3.3	Humedad	84
3.8.4	Grasa	85
3.8.5	Proteína	86
3.8.6	Prueba de aceptación	86
3.8.7	Índice de costo	87
3.8.8	Perfil de textura instrumental	87
3.9	Optimización de la formulación	89
3.9.1	Evaluación de las características físico-químicas de la formulación óptima y de la salchicha patrón	90
3.10	Resultados de los indicadores evaluados durante el almacenamiento de la salchicha óptima y la elaborada como patrón	92
3.10.1	Evaluación del pH, humedad, actividad de agua e índice de peróxido	92
3.10.2	Evaluación del color instrumental y sensorial descriptivo	93
3.10.2.3	Comportamiento de los atributos sensoriales aroma y sabor	96
3.10.3	Análisis del perfil de textura instrumental y descriptivo sensorial	98
3.10.3.1	Comportamiento del análisis del perfil de textura instrumental	98
3.10.4	Análisis microbiológico	100
3.11	Estimación del costo de producción del hongo y de la salchicha	100
3.11.1	Estimación del costo del hongo y producto	100

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANEXOS

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

La producción de grandes volúmenes de residuos generados de las cosechas constituye un grave problema ambiental. Se estima que el 80 % de estos residuos en los países en vías de desarrollo es quemado, generando emisiones gaseosas contaminantes que contribuyen al cambio climático lo cual, conjuntamente con la problemática de la seguridad alimentaria para una población en constante crecimiento, son temas de relevante significación que han sido debatidos a nivel mundial (FAO, 2014).

Según el inventario GEI (Gases Efecto Invernadero) las emisiones gaseosas de monóxido y dióxido de carbono, metano, óxido nitroso y otros gases son las que contaminan la atmósfera y contribuyen al efecto invernadero, siendo las emisiones de metano resultantes de la actividad agrícola aproximadamente en un 81,74 % (Beltrán y col., 2001).

En el Ecuador, el segundo rubro económico más importante, luego del petróleo es la agricultura. En la provincia de Bolívar, los cultivos más representativos son: el maíz, cebada, trigo, lenteja, caña de azúcar, arroz, café, entre otros, que generan aproximadamente 3 700 toneladas de residuos lignocelulósicos, utilizados solamente de forma parcial como forraje y el resto es depositado sobre el campo agrícola para ser quemado o arrojado a los vertederos sin ningún tratamiento contribuyendo a la contaminación ambiental.

El Ministerio del Ambiente del Ecuador, incluye dentro de las propuestas para atenuar el cambio climático el uso y manejo de los residuos de las cosechas para reducir las emisiones de metano; por lo que aparece como una alternativa el aprovechamiento de esta biomasa para la producción de alimentos nutritivos, saludables, de bajo costo y

mediante tecnologías no contaminantes. Esto estaría en correspondencia con las tendencias mundiales y a su vez con las Propuestas del Socialismo del Buen Vivir, una de cuyas premisas fundamentales plantea construir el Ecuador de hoy en base a las necesidades en los propios territorios y nuevas formas de producir alimentos sin hacer daño a la naturaleza, desde la perspectiva del pensamiento ancestral (Sumak Kawsay), alcanzar la vida plena en armonía con el cosmos (Parra, 2011).

En el escenario mundial la biotecnología fúngica ocupa un espacio de gran impacto por ser la forma más eficiente de bioconversión de la biomasa en alimentos ricos en proteínas y otros nutrientes con la posibilidad de obtener grandes cantidades en pequeñas áreas en cortos períodos de tiempo, a bajo costo y con mínimas cantidades de agua, en comparación a la utilizada para riego de los cultivos tradicionales. Su eficiencia de conversión en proteína por unidad de área/tiempo es superior comparada con las fuentes de proteína animal (Rodríguez y col., 2006). El sustrato degradado por el hongo puede ser aprovechado en la alimentación animal, o abono orgánico para la agricultura (Sánchez y Royse, 2002).

El consumo de hongos como alimento se remonta a antiguas civilizaciones, pero ha alcanzado no obstante un crecimiento vertiginoso en las últimas décadas. Según datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la producción mundial de hongos comestibles en el 2000 alcanzó 2,6 millones de toneladas, mientras que en el 2007 esta llegó a 3,4 millones, es decir, esta aumentó en un 30,8 % (FAO, 2008). Entre los hongos más cultivados se encuentran el champiñón (*Agaricus bisporus*), diferentes especies de *Pleurotus* como *Pleurotus ostreatus* y *P. pulmonaris* y *Lentinula edodes*, más conocido como *shitake*. Los principales países productores son: China, Estados Unidos, Europa, Japón y el resto de los países del Asia y en Latinoamérica está México (Albertó, 2008).

En el Ecuador el hongo *Pleurotus ostreatus* se cultiva en pequeña escala y se comercializa directamente en los restaurantes. Posiblemente, quienes iniciaron este cultivo fueron los pequeños productores asociados al Proyecto Gran Sumaco en la Amazonía ecuatoriana, sin embargo no hay una cultura de consumo y tampoco se le encuentra disponible en las grandes cadenas de supermercados a diferencia del champiñón que tiene un desarrollo a nivel industrial. Un acercamiento a la obtención de *Pleurotus ostreatus* en Ecuador consistió en la utilización de residuos cacaoteros por Bermúdez y col. (2003).

El *Pleurotus ostreatus* coloniza diferentes tipos de sustratos, gracias a su capacidad de segregar enzimas lignocelulolíticas que degradan la compleja estructura lignina - celulosa - hemicelulosa, de los residuos vegetales (Chang y Miles, 2004; Guzmán y col., 2008; Romero y col., 2010; Zied y col., 2011). El tiempo requerido para la completa colonización de los sustratos depende del contenido y disponibilidad de los nutrientes presentes, si es la adecuada el tiempo es corto y por el contrario un tiempo de crecimiento micelial prolongado puede dar lugar a la contaminación por organismos competidores lo que incide fundamentalmente en la productividad y calidad de los cuerpos fructíferos (Anonymous, 2008; Khare y col., 2010; Melo y col., 2010; Cunha y col., 2011; Gea, 2011; Oseni y col., 2012;). Particularmente, la relación carbono nitrógeno (C/N) en el sustrato resulta de mayor importancia (Dundar y Yildir, 2009; Ahmed y col., 2009).

Estudios reportados sobre el cultivo de *Pleurotus ostreatus* son coincidentes en que el carbono y el nitrógeno influyen significativamente en los resultados del cultivo. En el caso del nitrógeno, se citan intervalos entre 0,5 a 1,5 % (base seca) como los más adecuados (Sánchez y Royse, 2002; Pardo y col., 2008). Sin embargo, la mayor importancia en la obtención de un alto rendimiento en la producción de *Pleurotus* se le atribuye a una adecuada relación C/N, encontrándose en la literatura intervalos con

amplia variación, que oscilan entre valores de 30 y 300, o en ciertos casos se reportan valores puntuales obtenidos al trabajar con determinados residuos sin dejar claro cuál sería la especificidad del sustrato para obtener una mayor productividad y a la vez un mayor contenido proteico en el hongo.

En este contexto en el Ecuador se requiere de tecnologías adecuadas para el aprovechamiento de la amplia gama de residuos lignocelulósicos en la producción del *Pleurotus ostreatus* y particularmente la utilización de mezclas de residuos agrícolas o sustratos únicos, estandarizados en la relación carbono nitrógeno (C/N) para la obtención de una mayor productividad y contenido proteico en el hongo.

Avances en los estudios de la composición de *Pleurotus ostreatus* demuestran la presencia de compuestos bioactivos como los β -glucanos, que son polisacáridos que se encuentran formando parte de las paredes celulares y presentan efectos positivos sobre la salud humana como son: combatir la diabetes, la disminución del colesterol, del riesgo de contraer enfermedades cardíacas y ciertos tipos de cáncer, etc. (Ropy y col., 2009; Llauradó y col., 2011; Pereira y Li, 2011; Sobieralski y col., 2013).

Por otra parte, los mayores índices de mortalidad en el mundo, se estiman son atribuidos a causas vinculadas con la alimentación y el estilo de vida como pueden ser la obesidad, la hipertensión y algunos tipos de cáncer, lo que ha traído consigo mayor conciencia por una alimentación saludable. Especial atención en este sentido han recibido las grasas, tanto en lo relativo a su contenido cuantitativo como especialmente a su composición específica en ácidos grasos (Zhang y col., 2010).

Las tendencias mundiales de la alimentación en los últimos años indican un interés hacia ciertos alimentos, que además del valor nutritivo aporten beneficios a las funciones fisiológicas del organismo humano. Estos conceptos si bien han sido reconocidos desde hace mucho tiempo por algunas culturas, han cobrado especial significación en los

últimos tiempos, generando una nueva área de desarrollo en las ciencias de los alimentos y de la nutrición que corresponde a la de los alimentos funcionales (Soler, 2010).

Son en gran medida las carnes, el centro de atención con relación al impacto de su grasa en la salud, enfrentando por una parte las bondades nutricionales, sensoriales, culinarias, una arraigada cultura de consumo y por otra las crecientes evidencias de una negativa influencia de su grasa en la salud humana (Zhang y col., 2010).

Debido a su notable importancia los lípidos han sido los componentes bioactivos (ingredientes funcionales) que más atención han recibido con respecto al desarrollo de productos cárnicos saludables, habiéndose realizado sustituciones de la grasa animal por la grasa de origen vegetal y marino; se han utilizado los aceites de oliva, girasol, linaza, nuez, algas, entre otros, por su contenido de ácidos grasos poliinsaturados en productos como las salchichas tipo Frankfurt y patés (Ramírez, 2009; Delgado, 2013).

En el Ecuador, las salchichas tienen una alta preferencia de consumo. Desde el punto de vista tecnológico, resulta un producto noble capaz de asimilar un amplio rango de modificaciones en su formulación y tecnología.

En este contexto, se hacen trabajos dirigidos a lograr una sustitución parcial de carnes por biomasa de hongos comestibles, como es el caso de Wan Rosli y Solihah (2012) quienes utilizaron *Pleurotus sajor-caju* en la sustitución parcial de la carne de res con la adición de un 25 % de hongo en la elaboración de una hamburguesa, sin embargo no se han encontrado publicaciones donde el *Pleurotus ostreatus* se haya utilizado como materia prima en sustitución de la carne de cerdo para elaborar una salchicha tipo Vienesas, más saludable, por lo que se consideró novedoso la elaboración de este tipo de producto utilizando el *Pleurotus ostreatus* obtenido en esta investigación (cepa ICFC 768/12)

A partir de estas consideraciones se planteó como **problema de investigación** el siguiente:

¿ Que mezclas de residuos lignocelulósicos estandarizadas en la relación carbono-nitrógeno permitirán una alta productividad en el cultivo de *Pleurotus ostreatus* (cepa ICFC 768/12) y un mayor contenido proteico, composición nutricional y propiedades funcionales adecuadas del hongo como materia prima para el desarrollo de un producto cárnico más saludable?.

Y como **hipótesis de investigación** se propuso la siguiente:

La estandarización de mezclas de residuos lignocelulósicos manipulando el contenido de nitrógeno, permitirán la definición de un intervalo en la relación carbono nitrógeno donde se logrará una alta productividad en el cultivo de *Pleurotus ostreatus* y el mayor contenido proteico, con propiedades funcionales adecuadas para su utilización como materia prima en la elaboración de una salchicha tipo Vienesas más saludable, con buena aceptabilidad y larga vida de almacenamiento.

Para dar respuesta a la hipótesis se definió como **objetivo general**:

Evaluar el cultivo de *Pleurotus ostreatus* en mezclas de residuos lignocelulósicos estandarizadas en la relación carbono nitrógeno y las propiedades funcionales del hongo para su utilización como sustituto de la carne de cerdo en el desarrollo de una salchicha tipo Vienesas más saludable, con buena aceptabilidad y larga vida de almacenamiento.

Para cumplimentar el objetivo general se propusieron los **objetivos específicos** siguientes:

1. Caracterizar los residuos lignocelulósicos agrícolas: rastrojo de maíz, cascarilla de arroz, pajas de cebada y trigo, rastrojo de lenteja y bagazo de caña de azúcar desde el punto de vista de su composición físico-química.
2. Evaluar una cepa autóctona de *Pleurotus ostreatus* para ser utilizada en el cultivo del hongo.

3. Diseñar mediante un programa computacional, mezclas de residuos lignocelulósicos estandarizadas en carbono-nitrógeno para el cultivo del hongo.
4. Determinar en las mezclas diseñadas la relación carbono nitrógeno, que permita una alta productividad en el cultivo de *Pleurotus ostreatus* y un mayor contenido proteico en el hongo.
5. Determinar la composición físico-química, en minerales y en β – glucanos del *Pleurotus* producido en las mejores mezclas, las propiedades funcionales del hongo y de la emulsión carne-hongo-grasa para la elaboración de una salchicha tipo Vienesas.
6. Evaluar las diferentes formulaciones experimentales de la salchicha con la incorporación del hongo, mediante determinaciones físico-químicas, sensoriales y texturales
7. Realizar determinaciones físico-químicas y el estudio de almacenamiento de la formulación óptima y de la salchicha elaborada como patrón.
8. Estimar el costo de producción de *Pleurotus ostreatus* cultivado en las mezclas estandarizadas en la relación carbono nitrógeno y el de la formulación óptima.

Novedad científica:

- La identificación de la cepa de *Pleurotus ostreatus* obtenida de la región central del Ecuador, legalizada como cepa comercial, ICFC 768/12 y depositada en la colección de cultivos fúngicos del Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIB-INTECH), Cepario ICFC, Universidad de San Martín, Argentina.
- La utilización por primera vez del concepto de mezclas de residuos lignocelulósicos estandarizadas en la relación carbono nitrógeno y su diseño mediante el desarrollo de una herramienta computacional

- Determinación de un rango de la relación carbono nitrógeno donde se obtiene la mayor productividad en el cultivo de *Pleurotus ostreatus* (cepa ICFC 768/12), y mayor contenido proteico en los cuerpos fructíferos.
- Desarrollo de una formulación y adaptación del proceso tecnológico para la obtención de una salchicha tipo Vienesas más saludable empleando como sustituto de la carne de cerdo al *Pleurotus ostreatus*, obtenido en esta investigación

Como **valor científico** esta tesis aporta nuevos conocimientos en el cultivo de *Pleurotus ostreatus* dejando claro un intervalo de la relación carbono-nitrógeno en mezclas de residuos lignocelulósicos estandarizadas para alcanzar la mayor productividad y contenido proteico.

La determinación de la composición físico-química, y las propiedades funcionales de *Pleurotus ostreatus* (cepa ICFC 768/12) cultivado en mezclas estandarizadas y su utilización en productos cárnicos más saludables, con contenido de β -glucanos, buena aceptabilidad y larga vida de almacenamiento.

El **beneficio esperado** de la presente tesis radica en haber logrado un sustrato selectivo con los indicadores de producción adecuados utilizando la cepa 768/12, que servirán de referencia para la utilización de los residuos de las cosechas de la región como sustratos únicos o en mezclas para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*, así como la adaptación del proceso tecnológico para la utilización del hongo como materia prima con adecuadas propiedades funcionales en la elaboración de productos cárnicos más saludables.

CAPITULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. Los hongos macromycetos

Los hongos pertenecen al reino Fungi, tienen alimentación heterótrofa (por absorción) y carecen de clorofila. Presentan características intermedias entre los animales y vegetales, su pared celular está compuesta de quitina (polisacárido N-acetil-D-glucosamina) como la de los animales y no de lignina y celulosa como en los vegetales. Los hongos almacenan glucógeno y no almidón como sucede en los animales (Sánchez y Royse, 2002; Guzmán y col., 2008).

Los hongos como organismos saprófitos, cumplen un papel muy importante en la naturaleza en el equilibrio biológico (son los encargados de manejar el ciclo del carbono), pues secretan enzimas para descomponer la materia orgánica y permitir el reciclaje de los nutrientes en los ecosistemas, especialmente de los minerales fosfatados y del carbono, actuando como reparadores de los sistemas (Mata, 2002; Oei, 2003; Chang y col., 2009; Hernández, 2012).

Se considera que existen un millón quinientos mil especies de hongos, de las cuales más de 14 000 son consideradas macrohongos, de ellas se estima que cerca de 5 000 especies son comestibles. Sin embargo, alrededor de 100 se cultivan experimentalmente y solo unas pocas han alcanzado una producción a escala industrial en muchos países (Albertó, 2008; Chang y col., 2009; Getahun, 2011).

El cultivo de hongos comestibles considerado como una tecnología amigable con el medio ambiente, es una buena alternativa para la producción de alimentos, su eficiencia de conversión en proteína por unidad de área y por unidad de tiempo es muy superior, comparado con las fuentes de proteína animal (Rodríguez y col., 2006) además de

generar complementos para la alimentación animal y biofertilizantes para la agricultura (Sánchez y Royse, 2002; Cruz y col., 2010).

En la estructura morfológica de un hongo hay que diferenciar dos partes: el cuerpo vegetativo que se encarga de absorber las sustancias minerales del suelo o del sustrato para su alimento y el cuerpo reproductor que está constituido por el hongo o seta.

La Figura 1 muestra las partes de una seta, (Aceves y Ariza, 2010).

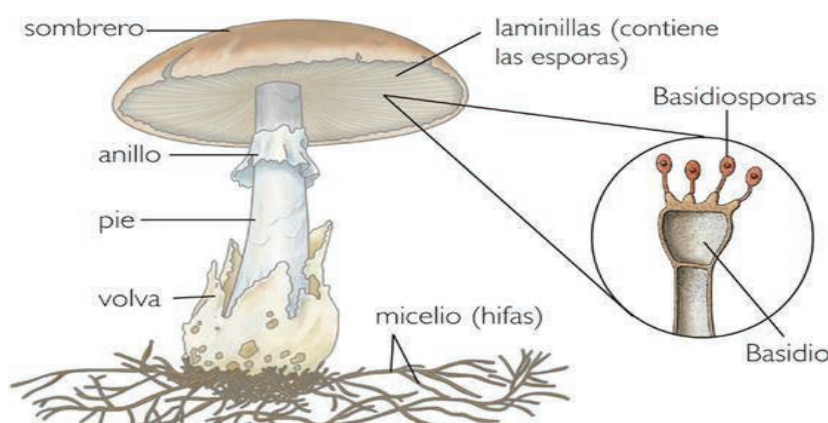


Figura 1. Partes de una seta

1.2. Setas (*Pleurotus ostreatus*)

Pertenecen a la clasificación de los Basidiomicetos, género *Pleurotus*, especie, *P. ostreatus* (Barbado, 2003). El cuerpo o soma del hongo está constituido por un conjunto de filamentos microscópicos ramificados en todas las direcciones llamados hifas y al conjunto de ellos micelio (Albertó, 2008). La denominación Basidiomicetos se refiere a que poseen basidios en el extremo de las hifas, donde se forman las esporas

Pleurotus ostreatus es un hongo lignícola saprófito, conocido con el nombre común de hongo ostra. Se clasifica dentro de los hongos de pudrición blanca y son potentes agentes biológicos capaces de degradar materiales muy complejos ricos en lignina, celulosa y hemicelulosa y pueden hacerlo debido a que en ambientes favorables (temperatura, luminosidad, humedad relativa; etc) secretan enzimas entre las que se destacan: celulasas, lacasas, manganeso peroxidasa, y lignina peroxidasa que rompen las moléculas

lignocelulíticas convirtiendo estos residuos en alimento. Esta capacidad les confiere una gran habilidad para desarrollarse sobre un amplísimo muestrario de materiales lignocelulósicos (Ferri, 1985; Sánchez y Royse, 2002; Chang y Miles, 2004; Guzmán y col., 2008; Romero y col., 2010; Zied y col., 2011).

En su ambiente natural crecen durante la temporada lluviosa, con una temperatura ideal entre 25 a 28 °C, humedad relativa de 70 a 80 %, soportan hasta un 10 % de oxígeno y un 32 % de CO₂, en varios trabajos también se ha reportado que tiene la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico (Ginterová y Maxinova, 1974; Chang y Químio, 1989; Getahun, 2011). Se le encuentra sobre materiales leñosos, como árboles, troncos, entre otros, por lo que para su cultivo se puede utilizar materiales de una composición similar, como son los residuos agrícolas y agroindustriales, que en su mayoría no son reutilizados y simplemente son quemados o arrojados a los basureros sin tratamiento previo, generando un impacto negativo al medio ambiente (López y col., 2008)

Pleurotus ostreatus es uno de los hongos comestibles que más se ha estudiado y cultivado durante los últimos años, debido a su agradable sabor, potencial económico, calidad nutricional, propiedades medicinales, ventajas ecológicas (reciclado de residuos) y habilidad para crecer sobre una gran variedad de desechos (Ayodele y Akpaja, 2007; Varnero y col., 2010)

La diversidad del género *Pleurotus* abarca al menos 40 especies, entre ellas, *P. dejamor*, *P. pulmonaris*, *P. Florida*, *P. sajor- caju*, *P. eringii*, *P. cornucopioides* y *P. ostreatus*. Las setas ocupan el segundo lugar entre los hongos más cultivados a nivel mundial (Albertó, 2008; Imran y col., 2011).

1.2.1. Morfología

La morfología de los cuerpos fructíferos, en particular su color ayuda a distinguir unas especies de otras (Chang y Químio, 1989). *Pleurotus ostreatus*, posee la característica de

crecer formando repisas laterales con varios carpóforos o sombreros de coloración variable que va desde gris claro, casi blanco a gris pizarra, o incluso pardo según la intensidad de la luz. Su superficie es lisa, abombada y convexa cuando es joven y va aplanándose luego poco a poco. Su diámetro oscila entre 5 y 15 cm.

En la parte inferior del sombrerillo, posee unas laminillas (himenio) dispuestas radialmente, en ellas se producen las esporas destinadas a la reproducción de la especie (Hawksworth y Kirk, 1995; Barbado, 2003).

1.3. Materiales utilizados para el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus*

El cultivo del hongo *Pleurotus* consta de seis etapas: selección y caracterización del sustrato; preparación del inóculo; adecuación del sustrato, siembra, incubación y colonización; fructificación y por último la cosecha.

Los materiales lignocelulósicos donde crecerá el hongo se denominan sustratos. Para cultivar setas, se utilizan diversos residuos, dependiendo de su disposición en la región, los más comunes son: pajas de cereales y oleaginosas, rastrojos de las cosechas, aserrines, virutas, troncos, ramas, vainas secas de granos, bagazos, pulpas, cascarillas y otros materiales como tallos de plátano, pasto, etc. (Sánchez y Royse, 2002; Andrade y col., 2008; Hassan y col., 2011; Singh y col., 2011).

La composición físico-química de estos materiales, servirá para tener un criterio de evaluación sobre su naturaleza nutritiva (su contenido en nitrógeno suele estar dentro del intervalo de 0,3 a 1,3.%), a la hora de emplearlos en la preparación de sustratos como ingredientes únicos o en mezclas, utilizando o no suplementos orgánicos con mayor contenido de nitrógeno como: salvados de cereales, harinas de soya, alfalfa, girasol, etc., lo que redundará en la calidad y rendimiento del cultivo (Guzmán y col., 2008; Muez y Pardo, 2008; Sánchez y Mata, 2012). Un sustrato ideal debe contener nitrógeno

(suplementos) y carbohidratos en proporciones adecuadas para un rápido crecimiento del hongo, (Anonymous, 2008; Khare y col., 2010; Oseni y col., 2012)

Generalmente una mezcla de sustratos favorece mejor el desarrollo de los hongos, como es el caso de mezclas de pajas con pulpa de café o bagazo de caña de azúcar o éste último con pulpa de café, etc. El bagazo de la caña de azúcar sólo, tiene poco rendimiento, pero mezclado con pulpa de café o pajas mejora su calidad (Guzmán y col., 1987; Martínez, 1989; Martínez y col., 1990). También se han empleado mezclas de cebada (70-75 %), paja de maíz (hasta un 20 %) y residuos de oleaginosas (hasta un 10 %), (Chang y Miles, 2004; Ahmed y col., 2009; Fanadzo y col., 2010; Gea, 2011).

1.4. Factores que influyen en el rendimiento

En el cultivo de *Pleurotus* es necesario tener en cuenta algunos factores físico-químicos y biológicos que condicionan el óptimo desarrollo, rendimiento y composición de los cuerpos fructíferos. El tipo de sustrato, está en relación directa con las necesidades de crecimiento del hongo. Hay hongos que necesitan más nitrógeno que otros como el champiñón, que crece en sustratos enriquecidos con abono como estiércol, además necesita de un proceso de descomposición previo del material (fermentación), y en donde el *Pleurotus* no puede crecer, porque sus requerimientos sobre todo en nitrógeno y relación C/N son diferentes y por otro lado este hongo no necesariamente necesita una descomposición previa del sustrato (Guzmán y col., 2008; Chang y col., 2009).

1.4.1. Composición del sustrato

Para un buen crecimiento del *Pleurotus*, es necesario que en el sustrato se encuentren todas las sustancias que necesita, como son fuentes de carbono y nitrógeno, además de otros minerales como son: S, Ca, Mg, P, K y en concentraciones menores los minerales: Fe, Zn, Mn, Cu y Mo. (Chang y Miles, 2009; Romero y col., 2010), con un contenido de cenizas entre 2,5-15,7 % (Sánchez y Royse, 2002). Las especies de *Pleurotus* degradan la

compleja estructura lignina-celulosa-hemicelulosa y toman los nutrientes para su desarrollo, por lo tanto crecen en un amplio espectro de materiales leñosos como residuos agrícolas, agroindustriales, forestales, materiales constituidos mayoritariamente por polímeros presentes en la paredes de las células vegetales, como son la celulosa (40 a 60 %), hemicelulosa 15 a 35 % y lignina 10 a 30 %, siendo ésta la más difícil de degradar, y funcionarán como fuentes principales de carbono y nitrógeno (Taiz y Zeiguer, 2002; Guzmán y col., 2008). Por lo general los sustratos empleados para el cultivo del hongo *Pleurotus* se encuentran dentro de estos intervalos, siendo una de las características deseables para su cultivo (Delfin y Duran, 2003; Andrino y col., 2011)

La celulosa es el carbohidrato más abundante en el reino vegetal y es el mayor componente estructural de las paredes celulares de las plantas. La celulosa es un polímero lineal de unidades de D-glucosa con enlaces β -1,4-O-glucosídico, posee una estructura cristalina altamente resistente (Baldrian y Valasková, 2008) y ordenada, pero a lo largo de ella se encuentran zonas amorfas. Estos son los puntos donde mayoritariamente se inicia la biodegradación de este componente por las enzimas fúngicas, principalmente endoglucanasas (Zhang y col., 2006).

La hemicelulosa es un heteropolisacárido ramificado, compuesto de hexosas, pentosas, ácido urónico y azúcares menores fácilmente hidrolizables. Está formada por una cadena plana de azúcares unidos entre sí, por enlaces β -1,4.

Constituye la porción fácilmente hidrolizable de la pared celular en contraste con la celulosa que es más resistente. Por lo general, es el primer componente de la pared celular que es atacado por los hongos (Zabel y Morrel, 1992).

La lignina es un polímero heterogéneo ramificado, compuesta mayoritariamente por hexosas, conjuntamente con la hemicelulosa, envuelve las fibras de celulosa (Rajarithnam y col., 1992; Sin y col., 2002; Hammel y Cullen, 2008).

Numerosos estudios han demostrado la necesidad de suplir los sustratos pobres en nitrógeno con fuentes más ricas en este elemento y la combinación de diferentes pajas o pastos para el cultivo de *Pleurotus* (Basak y col., 1996; Zanetti y Ranal, 1996; Hernández y col., 2003; Moda y col., 2005; Dundar y Yildiz, 2009; Fanadzo y col., 2010; Naraian y col., 2008; Zied y col., 2011; Siqueira y col., 2012;). Forero y col. (2008) han reportado que la mezcla de residuos además de otorgar características nutricionales más adecuadas también permite mejorar la estructura del sustrato (granulometría y porosidad) de modo que facilite el intercambio gaseoso para una buena colonización del sustrato. Curvetto y col. (2002) mostraron resultados utilizando como suplemento nitrogenado harina de cáscaras de girasol, obteniendo un incremento del 50 % o más en la producción de *Pleurotus ostreatus*. Conforme a estos autores el enriquecimiento de los sustratos con nitrógeno es importante para también aumentar el contenido de proteína en los hongos. Con un incremento en el contenido de nitrógeno en el sustrato de 0,65 a 1,3 % lograron un aumento en el contenido de proteína de 17,1 a 28 %; sin embargo cuando se usaron concentraciones de nitrógeno de 1,75 a 2,2 % los sustratos no colonizaron. Por lo tanto, a pesar de ser una estrategia importante para permitir la utilización de ciertos residuos bajos en nitrógeno disponibles localmente, el enriquecimiento de los sustratos a partir de determinados valores puede dar lugar a efectos negativos, además de incrementar los costos de producción (Bernardi y col., 2007; Silva y col., 2007; Zied y col., 2011; Siqueira y col., 2012). Consecuentemente, es importante la determinación del contenido de nitrógeno en cada materia prima usada en la formulación de los sustratos para el cultivo del hongo y entonces decidir sobre la suplementación apropiada o combinación con otros materiales.

El sustrato donde crecerá el hongo es sometido a un tratamiento térmico que tiene por objeto bajar la carga microbiana contaminante, la forma más común de pasteurizar es el

uso de agua caliente a temperaturas superiores a 85 °C y si la infraestructura lo permite es mejor utilizar vapor, a una temperatura de 120 a 125 °C. El tiempo es muy variable y va a depender de la temperatura utilizada, cantidad y calidad del sustrato y puede durar de 30 min a 5-6 h (Saavedra, 2007).

1.4.2. Tipo de cepa y preparación del inóculo

Se han realizado diversos estudios a nivel experimental para la obtención y selección de cepas de rápido crecimiento, ciclos de cultivo cortos, alta productividad y que mantengan un comportamiento estable para su uso comercial (Salmones, 2005). Para el mantenimiento de las cepas se hacen transferencias seriadas periódicamente en cajas de Petri. A partir de los cultivos que se encuentran en su fase micelial sobre agares nutritivos almacenados en frío se prepara el inóculo o semilla, para lo cual con la ayuda de un bisturí estéril se toma un pequeño segmento del micelio contenido en la caja de petri seleccionada y se inocula (en una cámara de flujo laminar) en frascos o bolsas de 1 kg que contienen generalmente semillas de gramíneas (precocidas e hidratadas). Se incuban los frascos entre 25 a 28 °C para cepas de *Pleurotus*, para otras especies los intervalos de temperatura varían. Este proceso es en oscuridad hasta que el micelio cubra totalmente los granos (dos a tres semanas). Estos frascos con semilla primaria pueden ser usados para la propagación de más micelio para una siguiente generación de producción de semilla secundaria (Amuneke y col., 2011). Las semillas que se emplearán como sustrato en el inóculo deberán provenir de una fuente segura que estén libres de contaminación biológica (otros hongos) o química (fungicidas). La calidad de la semilla es decisiva para una buena producción de *Pleurotus*.

1.4.3. Carbono, nitrógeno y relación carbono nitrógeno

Como ya se mencionó, el carbono y el nitrógeno son dos elementos esenciales en la nutrición de cualquier organismo. Dada la importancia que tiene el carbono para la célula

fúngica, este elemento es el que requiere en mayor cantidad durante el crecimiento y puede ser asimilado a partir de diferentes fuentes como polímeros, carbohidratos y lípidos provenientes de diferentes materiales lignocelulósicos (Cha y col., 1998; Sharma y col., 2013).

En cuanto al nitrógeno se recomienda que la concentración final debe encontrarse en el intervalo de 0,5 a 1,5 % de la materia seca total. Si el contenido es menor, los rendimientos pueden resultar bajos y un contenido mayor puede favorecer la putrefacción, debido a un incremento de la actividad metabólica, (Sánchez y Royse, 2002; Pardo y col., 2008; Fanadzo y col., 2010).

La relación carbono nitrógeno (C/N) se expresa en unidades de carbono por unidades de nitrógeno de un material. Cada hongo tiene una relación óptima de C/N para su crecimiento, lo que permite obtener el mayor rendimiento en un corto período de producción. Manu-Tawiah y Martin (1988), determinaron que la relación óptima para el crecimiento en medio líquido de *P. ostreatus* era 40:1. Por su parte, Hong (1978), encontró que para la misma especie, una relación de 15,23 permitía una rápida formación de cuerpos fructíferos con bajos rendimientos, que una relación de 11,42 incrementaba los rendimientos pero que disminuía la velocidad de formación de cuerpos fructíferos y que tomando en cuenta los dos aspectos (rendimiento y velocidad de formación), la relación óptima debía ser 30,46.

El uso de suplementos nitrogenados como harina de soya, salvados de cereales, urea, etc., tiene la finalidad de corregir la relación carbono nitrógeno (C/N). Las diferencias en el contenido de proteína en el hongo, dependen también de la relación C/N, (Ramy y Yehia, 2012). Principalmente la harina de soya debido al alto contenido de proteína es una buena fuente nitrogenada que disminuye la relación C/N en los sustratos con bajo contenido de nitrógeno (bagazos, pajas de cereales, rastrojo de maíz, etc). La adición de suplementos a

los sustratos es usualmente recomendado hasta un resultado satisfactorio ya que concentraciones muy altas pueden producir incrementos peligrosos en la temperatura del sustrato y el desarrollo de organismos competidores (Melo y col., 2010; Cunha y col., 2011; Gea, 2011).

Getahum (2011), encontró para la paja de soya, rastrojo de maíz, paja de trigo y aserrín un contenido de nitrógeno de 0,78; 0,64; 0,5 y 0,15 % con una relación C/N de 62,35; 86,73; 84,32 y 459,9 respectivamente.

Como puede observarse los valores reportados de la relación C/N son de amplia variación, aspecto que está relacionado con las características del sustrato utilizado para el cultivo del hongo, el cual puede crecer en medios nutritivos con una relación C/N comprendida entre 30 y 300 (Sánchez y Royse, 2002), que en ciertos casos puede dar lugar a contaminaciones por el hongo *Trichoderma* y no obtener buenos resultados. Estos inconvenientes pudieran superarse utilizando un sustrato con una selectividad biológica (microbiota protectora y no competidora) (Zied y col., 2011). Es un aspecto que se sigue investigando y no se ha llegado a un consenso en cuanto a un sustrato selectivo con una óptima relación C/N para alcanzar una mayor productividad y calidad en la producción del hongo *Pleurotus ostreatus*, en comparación a estudios que si se han realizado para la producción del champiñón (*Agaricus bisporus*). La relación C/N está asociada al rendimiento y calidad del hongo *Pleurotus ostreatus* (Getahun, 2011)

1.4.4. Tamaño de partícula

Los materiales utilizados como pajas, bagazos, etc, requieren de un tratamiento de picado, en cambio las cascarillas pueden ser directamente utilizadas. El tamaño de partícula recomendado está entre 2 a 5 cm. Los tamaños de partícula muy pequeños compactarán en exceso los sustratos dificultando la aireación y la colonización y un tamaño de partícula mayor dificulta la compactación del sustrato y el acceso del hongo a

los nutrientes. El tamaño de partícula tiene una relación directa con el contenido de humedad (Rajaratnam y Bano, 1991; Sánchez y Royse, 2002; Membrillo y col., 2008)

1.4.5. Humedad del sustrato y pH

El contenido de humedad en el sustrato es uno de los factores más simples pero vitales para el desarrollo y producción del hongo *Pleurotus*. Una humedad entre el 70 a 75 %, generalmente permite el crecimiento máximo del micelio (Miles y Chang, 1999; Castro y col., 2010; Gea, 2011). En cuanto al pH se han citado valores entre 5 y 7 y un óptimo comprendido en un intervalo de 5,5 a 6,5 (Sánchez y Royse, 2002)

1.4.6. Temperatura y humedad relativa

El micelio de *Pleurotus* crece en un rango amplio de temperaturas que van por encima de 10 °C hasta 30 °C. La temperatura no sólo varía entre cepas sino también para una misma cepa según su etapa de desarrollo. Así, es posible y aun frecuente que un hongo tenga una temperatura óptima de colonización y que ésta sea diferente de su temperatura de formación de primordios o de desarrollo de los cuerpos fructíferos. Las temperaturas óptimas para la fructificación de las especies de *Pleurotus* son ligeramente inferiores (15 a 18 °C) a las temperaturas óptimas para crecimiento micelial que oscilan entre 25 a 28 °C (Sánchez y Royse, 2002; Albertó, 2008; Prakash y col., 2010).

La humedad relativa es un factor importante en el desarrollo del hongo, la cual puede variar según las diferentes etapas de crecimiento; la falta de humedad ambiental inhibe la fructificación. Para el caso específico de *Pleurotus ostreatus* se ha observado que la humedad relativa más adecuada debe encontrarse entre 80 a 85 % (Albertó, 2008; Ajonina y Tatah, 2012).

1.4.8. Luz, ventilación, concentración de oxígeno y dióxido de carbono

En general, las especies de *Pleurotus* en la etapa de incubación requieren oscuridad, para el crecimiento micelial y para la fructificación requieren luminosidad de longitudes de

onda corta aproximadamente 150 a 200 lux, que equivale a ciclos de 12 horas de luz y oscuridad (Stamets, 2000; Varnero y col., 2010).

Los componentes gaseosos de la atmósfera de mayor importancia en la biología de las setas son el oxígeno y el dióxido de carbono. Para el desarrollo de *Pleurotus*, se sugiere una concentración relativamente alta de 20 a 25 % de CO₂ ya que es útil para propiciar el crecimiento del micelio. Sin embargo, concentraciones superiores al 60 % inhiben la formación de primordios. Por lo tanto en los galpones de fructificación debe implementarse un buen sistema de ventilación de tal manera que se retire constantemente el CO₂ formado por la respiración del propio hongo. Una ventilación deficiente se manifiesta en deformaciones del cuerpo fructífero. Esto puede ser un ligero alargamiento del estípite, la no formación del píleo o ambas cosas (Sánchez y Royse, 2002; Albertó, 2008).

1.5. Indicadores de producción

Los indicadores de producción son los que permiten evaluar la cosecha de los hongos. Para expresar el rendimiento o productividad de un sustrato, el concepto más generalmente aceptado es la eficiencia biológica que expresa el grado de biodegradación del sustrato (Sánchez y Royse, 2002), no obstante se evalúa: el peso del hongo fresco producido por bolsa (PHF); el rendimiento (R) definido como la relación en porcentaje del peso de hongo fresco entre el peso del sustrato húmedo; la eficiencia biológica (EB), se define como la relación en porcentaje entre el peso fresco de hongos producidos y el peso seco de sustrato empleado y por último la tasa de productividad que viene a ser un parámetro de medición que complementa a la eficiencia biológica, ya que se refiere a la EB entre el ciclo de producción (número de días transcurridos desde la inoculación del sustrato hasta la última cosecha de carpóforos en cada una de las bolsas (Zandrazil y Kurtzman, 1982; Upadhyay y col., 2002; Bermúdez y col., 2007)

La calidad productiva de un sustrato se percibe como aceptable a partir de eficiencias biológicas del 100 %. Fracchiá y col. (2009) reportan eficiencias biológicas en la mezcla de *Simmondsia chinensis* y *Jatropha macrocarpa* de 89,7 % y una tasa de producción de 1,74 % y en paja de trigo una EB de 43,4 %. Para el bagazo de caña de azúcar 15,7 % cuyo bajo valor está relacionado con el poco contenido de nitrógeno del sustrato (Acosta y col., 1988).

Los rendimientos bajos de algunos sustratos lignocelulósicos se pueden mejorar mediante suplementación con fuentes nitrogenadas o utilizando diferentes mezclas de lignocelulósicos, (Martínez y col., 1990). Sharma y Madan (1993); Buah, (2010) investigaron el rendimiento del hongo *P. ostreatus* y *P. sajor caju* en sustratos obtenidos de leguminosas y no leguminosas, encontrando diferencias altamente significativas al comparar los dos tipos de sustratos y el más alto contenido de proteína en los cuerpos fructíferos fue con sustratos de leguminosas.

1.6 Valor nutricional de los hongos comestibles

Los hongos son bien conocidos por ser nutritivos y saludables por lo que su consumo ha ganado popularidad en todo el mundo (Bernás y col., 2006; Barros y col., 2008; Martínez, 2010; Ahmad y col., 2011). Son relativamente altos en proteínas de buena calidad cuyos valores oscilan entre 19 a 35 % (base seca) y contienen todos los aminoácidos esenciales para la nutrición humana especialmente leucina y lisina, carente en la mayoría de los cereales (Manzi y col., 2004; Shah y col., 2004; Varnero y col., 2010; Bermúdez y col., 2013), si bien su proteína es menor que la de las carnes, no obstante al hongo se le considera como un sustituto de la carne (Gorahi y col., 2009; Dunder y col., 2009; Ajonina y Tatah, 2012). Su contenido proteico es superior al de la leche (3,2 %), arroz (7 %), trigo (13 %), maíz (9 %) y a la mayoría de vegetales (Ciappini y col., 2004).

Los hongos contienen un bajo contenido de grasa entre 1,6 a 2,2 % constituida por ácidos grasos poliinsaturados como ácido linoleico (72 a 85 %) y reducidas cantidades de ácidos grasos saturados, que los convierte en saludables en comparación con la carne que contiene mayoritariamente ácidos grasos saturados (Chang y col., 1993; Mattila y col., 2001; Croan, 2004; Albertó, 2008; Beluhan y Ranogajec, 2011). Son particularmente ricos en carbohidratos (ergosterol, glucógeno y quitina), sin almidón (Sánchez y Royse, 2002), alto contenido de fibra dietética (7,5 a 8,7 %), beta-glucanos, así como minerales: potasio, calcio, fósforo, magnesio, hierro, zinc, sodio, vitaminas: niacina, tiamina (B₁), riboflavina (B₂), biotina, ácido ascórbico y enzimas hidrolíticas que ayudan a la digestión (Furlany y Godoy, 2008; Llauradó y col., 2011; Randive, 2012; Ahmed y col., 2013).

El contenido proteico y valor nutricional en general, puede variar dentro de la misma especie dependiendo de la cepa, composición del sustrato, condiciones de cultivo, estado de desarrollo de los cuerpos fructíferos (Bano y Rajarathnam, 1988; Cardona, 2001; Ciappini, 2004; Moda y col., 2005; Valencia y col., 2006; Silva y col., 2007; Barros y col., 2008).

Algunos estudios muestran que la suplementación con una fuente nitrogenada, aumenta el contenido de proteína, composición mineral y productividad del hongo (Buswell y Chang, 1993; Curvetto y col., 2002; Shashirekha y col., 2005) así como la concentración de β -glucanos (Días y col., 2012). La humedad del *Pleurotus* es alta (84,94 a 94 %) y responde a los factores ambientales como la temperatura y humedad relativa durante su crecimiento y cosecha, (Albertó, 2008).

1.7. Las setas comestibles: alimentos saludables

El consumo de hongos se remonta a varios siglos, sobre todo en los países asiáticos ligados a una cultura ancestral. Se utilizan como alimentos, por su buen sabor y como medicamentos, ya que son una típica fuente reconocida de compuestos fisiológicamente

activos (Chang & Buswell, 1996). En las setas están presentes compuestos con propiedades antioxidantes, antimicrobianas, antivíricas, anticancerígenas, antitumorales, e inmunomoduladoras, que reducen la tensión sanguínea y las alergias, mejoran las funciones de los macrófagos. Entre estos compuestos, la presencia de β -glucanos ha recibido considerable atención (Smith y col., 2002; Llauradó y col., 2005; Jedinak y col., 2010; Wasser, 2011; Suárez y Nieto, 2012). Se ha comprobado que el consumo de basidiocarpos de *P. ostreatus*, previene el incremento de colesterol (Bobek, y col., 1994; Sánchez y Royse, 2002). Son una fuente importante de selenio, necesario para el metabolismo humano y se ha demostrado que es uno de los micronutrientes con mayor efecto antioxidante y de protección contra algunos tipos de cáncer (Cortés y col., 2007; Figueroa y Lama, 2007). También se han utilizado en el tratamiento y prevención de la diabetes (Pardo y col., 2008; Agrawal y col., 2010).

Estudios con mayor base científica han confirmado que en realidad poseen compuestos muy interesantes por sus propiedades beneficiosas para el organismo humano. Algunos de estos compuestos son similares a los encontrados en plantas (vitamina C, D, E, fenoles, esteroides, fibra alimentaria, carotenoides, etc), pero otros son totalmente diferentes, lo que deja una puerta abierta a la investigación de las propiedades bioactivas de los hongos y su uso en la producción de nuevos alimentos saludables y productos medicinales (Mazza, 2000; Palanca y col., 2006; Soler y col., 2010).

1.8. Importancia de los β -glucanos en la salud humana

El beta-glucano es un polisacárido lineal, compuesto de aproximadamente un 70 % de unidades de beta-D-glucopiranosil unidas por un enlace 4-O- y un 30 % de unidades de beta-D-glucopiranosil unidas por un enlace 3-O-.

Los β -glucanos han mostrado múltiples beneficios para la salud humana, son conocidos como "modificadores de respuesta biológica" por su capacidad de activar el sistema

inmunológico (Morris y col., 2003; Llauradó y col., 2011). Entre los β -glucanos de origen fúngico más importantes, se encuentran los obtenidos a partir de *Pleurotus ostreatus* (Sobieralski y col., 2013), exhiben propiedades antibacterianas, antivirales, antialérgicas y son capaces de reducir los elevados niveles de colesterol (LDL), ayudan en la cicatrización de heridas, a prevenir infecciones, células cancerígenas (Morris y col., 2007; Ropy y col., 2009), y combatir la diabetes (Perera y Li, 2011), la hipertensión y estimular a los probióticos (Bhakte y Kumar, 2013). Se les encuentra en avena, cebada y linaza (Vizzotto y col., 2010). *Pleurotus ostreatus* y *Lentinula edodes* son dos de las setas con mayor contenido de este componente (Nitschke y col., 2011; Ropy y col., 2009). El contenido promedio de beta-glucanos se muestran en la Tabla 1

Tabla 1 Contenido promedio de β -glucanos y los porcentajes de las fracciones soluble en agua e insoluble para algunas especies del género *Pleurotus* (Ropy y col., 2009)

Nombre	β -glucanos (mg.100/g MS)	β -glucanos solubles en agua (%)	β -glucanos insolubles en agua (%)
<i>Pleurotus ostreatus</i>	38	37,8	62,2
<i>Pleurotus eryngii</i>	38	16,8	83,2
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	53	18,7	81,3

1.9. La carne y embutidos cárnicos

La carne se define como el tejido muscular de los animales que es empleado como alimento. Aunque esta definición se restringe en la práctica a unas pocas docenas de las tres mil especies de mamíferos existentes (Lawrie y Ledward, 2006). Las características de calidad están influenciados por varios factores tales como la estructura del músculo, composición química, entorno químico, interacción de los constituyentes químicos, los cambios post mortem en los tejidos musculares, efectos del estrés previo al sacrificio, la manipulación, procesamiento y almacenamiento, factores microbiológicos, etc. (Joo y col., 2013).

Se define como productos cárnicos a los que son elaborados esencialmente con carnes, en piezas, troceadas o picadas o grasa/tocino o sangre o menudencias comestibles de las especies de abasto, aves y caza autorizadas, que se han sometido en su proceso de elaboración a diferentes tratamientos tales como por calor, secado-maduración, oreo, adobo, marinado, adobado. En su elaboración pueden incorporarse opcionalmente otros ingredientes, condimentos, especias y aditivos autorizados (INEN, 2012)

1.9.1. Propiedades de la carne y los productos cárnicos

La carne y los productos cárnicos son fuentes importantes de proteínas, grasas, aminoácidos esenciales, minerales y vitaminas y otros nutrientes (Biesalski, 2005; Weiss y col., 2010), aunque reportes recientes asocian su consumo al incremento de enfermedades cardiovasculares y al cáncer de colon provocando una percepción negativa de su consumo (Mcafee y col., 2010). En los últimos años, las demandas de los consumidores por carnes y productos cárnicos más saludables, con niveles reducidos de grasa y colesterol, disminución del contenido de cloruro de sodio y nitrito y una mejor composición del perfil de ácidos grasos y la incorporación de ingredientes con capacidad de mejorar la salud, están aumentando rápidamente en todo el mundo (Zhang y col., 2010).

Las carnes poseen además propiedades funcionales que deben ser consideradas en los procesos de formulación de los productos cárnicos, principalmente sus propiedades gelificantes y aquellas que se le asocian (por ejemplo la unión y adhesión entre partículas) y las capacidades de emulsificación (CE) y de retención de agua (CRA) (Asgar y col., 2010). Por ejemplo, una carne que tiene poca capacidad de retención de agua es considerada de baja calidad para la industria de embutidos, porque no tiene estabilidad en las emulsiones, provocando la separación de agua y grasa, afectando la calidad del producto (Rengifo y Ordoñez, 2010). Estas propiedades se ven influidas por

numerosos factores de perfil zootécnico como la raza del animal, el tipo de alimentación y el estrés sufrido antes y durante la faena (Braun y Pattacini, 2011), pero también por factores tecnológicos como el uso de fosfatos (Long y col., 2011) y la cantidad de sal añadida (Doyle y Glass, 2010; Sun y Holley, 2011). Para poder sustituir carne con hongo, este debe poseer propiedades funcionales similares o mejores que las de la carne que se está sustituyendo (Naga y col., 2009). Entre las propiedades funcionales a evaluar estarían la CRA y la CE. Dado que el hongo debe aportar una cantidad apreciable de fibra dietética al embutido en el cual se emplee, también debe evaluarse la Capacidad de Hinchamiento (CH) que es característica de la fibra dietética y que se ha reportado que oscila desde 4 mL/g fibra en cereales, a valores entre 30 a 40 mL/g fibra en frutas y hortalizas (Elleuch y col., 2011). Con relación a la CRA se han reportado porcentajes de 21,67 para la carne de cerdo, 22,5 para la carne de pollo, 22,92 para la carne de res y ovino, 24,18 para la carne de conejo y 25 % para la carne de pescado paco (Rengifo y Ordoñez, 2010). Otros autores (Mamami y Gallo, 2011) han reportado para la carne de res valores de 16,88 %, pero empleando carne descongelada y otro método de evaluación y entre 48 y 59 % para la carne de cerdo, dependiendo del método de sacrificio, pero empleando también otras técnicas de evaluación.

Existe una gran cantidad de productos en la industria chacinera internacional los que son agrupados y clasificados mediante distintos métodos según las condiciones tecnológicas, disponibilidad de materias primas y hábitos alimentarios de los diferentes países, ciudades y regiones.

La utilización de la carne en forma de embutidos data de épocas muy antiguas, desarrollándose infinidad de productos en dependencia del medio donde se elaboran, influyendo también las condiciones climáticas y características geográficas. En general

los embutidos se pueden clasificar como escaldados, cocinados y crudos. Los productos de “pasta fina” pueden ser clasificados como embutidos escaldados (Santos, 2003).

1.9.2. Elaboración de embutidos de pasta fina

Las propiedades sensoriales, como el color y la textura son importantes para la aceptación por parte de los consumidores y la selección de los productos y consecuentemente para los productores (Tavares y col., 2011), pero pueden ser modificadas a través del proceso y la formulación de los mismos.

1.9.2.1. Proceso de elaboración de embutidos de pasta fina

Existen numerosos factores tecnológicos que influyen en las características del producto finalmente obtenido, entre ellas la temperatura alcanzada en la cortadora, el orden de adición de los ingredientes y el tipo de ingredientes empleados. Aunque estos productos suelen referirse como productos cárnicos emulsionados, debido al tamaño de partícula que se maneja en los mismos, el término “batido cárnico” es más adecuado que el de emulsión (Totousaus, 2007). Así, se denomina emulsión cárnica a una mezcla análoga a la de una emulsión de grasa en agua, donde los constituyentes de la carne se encuentran dispersos formando una fase continua y una discontinua. Los glóbulos de grasa constituyen la fase discontinua, mientras que la fase continua está formada por una disolución acuosa de sales y proteínas solubles e insolubles en suspensión, así como porciones de fibra musculares y restos de tejido conectivo, pudiendo aparecer también productos no cárnicos tales como soja, suero y almidón (Álvarez y col., 2007).

El proceso de elaboración de los embutidos emulsionados y cocinados consta de cuatro pasos fundamentales. Lo primero es la selección de las materias primas a emplear (en el caso de la materia prima cárnica si se trata de músculo esquelético o no y si se trata de carnes rojas o blancas). A continuación se procede a la reducción del tamaño, mediante el molino y la cortadora (cutter) para liberar las proteínas musculares. Durante este paso, en

la cortadora ocurre la hidratación y activación de estas proteínas con la adición de la sal, seguida de nitrito de sodio, fosfatos y una parte del hielo. La agitación mecánica termina de romper tejidos y solubilizar las proteínas, activándolas por las cargas del cloruro y el sodio. En el tercer paso se añade la grasa y otra parte del hielo, para controlar la temperatura, la cual debe estar entre 8 y 12 °C, lo cual es el factor más importante de esta etapa. Por último se agregan los ingredientes secos (edulcorantes, proteínas no cárnicas, etc.) y el resto del hielo y finalmente se procede al embutido, donde se le da forma al producto, para luego ser sometido a un tratamiento térmico (escaldado), permitiendo una adecuada transmisión del calor. La temperatura aplicada provoca que se pase de un sol a un gel, por lo cual el producto conserva su forma (Totosaus, 2007).

El principal desafío en la elaboración de emulsiones cárnicas (como salchichas frankfurt o bologna) es la obtención de productos cárnicos estables que no sufran excesivas pérdidas de grasa y agua durante la fase de cocinado. La rotura de la emulsión es sólo evidente durante el tratamiento térmico, cuando es demasiado tarde para aplicar acciones correctoras. En la actualidad, es común el uso de almidones, grasa y proteínas no cárnicas para mejorar las propiedades tecnológicas de estos productos. Un uso apropiado de estas sustancias puede ayudar a controlar la estabilidad de la emulsión y su rendimiento tras el cocinado.

El proceso de corte está diseñado para reducir el tamaño de la carne y partículas grasas, y de este modo mejorar la extracción de proteínas solubles en solución salina principalmente la miosina reducir la tendencia a la separación de la grasa y obtener un producto cárnico estable que resista la etapa de cocinado sin sufrir la separación agua-grasa. La duración de este proceso influye decisivamente sobre la estabilidad de la emulsión cárnica y la calidad del producto final al condicionar tanto la ligazón grasa-

proteína como la tendencia a la exudación de agua y grasa durante el cocinado (Álvarez y col., 2007).

1.9.2.2 Ingredientes en la elaboración de los embutidos de pasta fina

Durante el procesamiento de los embutidos una gran cantidad de sustancias no cárnicas son añadidas usualmente a estos productos con la finalidad de evitar las pérdidas de agua, incrementar su durabilidad y mejorar sus características sensoriales (Joly y Anderstein, 2009), lo cual se relaciona con factores como la apariencia, sabor, olor, y comportamiento cinestético y mecánico (Petridis y col., 2013). Con esta finalidad, sustancias tan diversas como almidones y otros polisacáridos, proteínas y sus derivados, especias, sazónadores y saborizantes, antioxidantes y preservantes, son adicionados a los productos cárnicos, cada uno de ellos cumpliendo un papel específico en el producto final (Joly y Anderstein, 2009; Sebranek, 2009; Xiong, 2009).

La sal es uno de los ingredientes más comúnmente empleado en la elaboración de los productos cárnicos, para su conservación, mejora del sabor y mejorar las características de calidad de los mismos. Sus funciones principales son reforzar el sabor de los productos, colaborar con la extracción de las proteínas y contribuir con la obtención de las características texturales deseadas (Doyle, 2010).

Además de la sal común, también se emplea la denominada sal de cura, mediante la cual se incorpora nitrito de sodio a los mismos. Este proceso se denomina curado y se aplica también en los embutidos de pasta fina. El nitrito se considera un ingrediente esencial del curado, como responsable de fijar el color característico asociado con los productos cárnicos, generando un perfil de sabor único, que permite distinguirlos de los productos que no lo contienen. Adicionalmente, el nitrito controla la oxidación de los lípidos y actúa como un antimicrobiano efectivo, por sí mismo o mediante un efecto sinérgico con otros ingredientes (Sindelar y Milkowski, 2011). No obstante, en vista del posible riesgo

de toxicidad y carcinogénesis, la cantidad de nitritos que se puede añadir a los productos cárnicos es progresivamente restringida y como sustituto parcial se emplean entre otras sustancias, extractos de origen vegetal como romero, tomillo, pimienta o té verde, que pueden no solo prolongar la vida útil de estos productos, sino también mejorar sus características sensoriales (Moawad y col., 2012).

Los embutidos emulsionados son por una parte más propensos a exudar agua (aun cuando los valores de la capacidad de retención de agua de las proteínas son intrínsecamente altos), debido a que la estructura de la carne se transforma durante su preparación, eliminando así su contribución a la retención física de fluido. Pero por otra parte, la naturaleza de estos productos permite una manipulación directa de la carne para elevar su capacidad de retención de agua artificialmente. No obstante la relación agua/carne debe mantenerse dentro de ciertos límites para lograr buenos resultados (Lawrie y Ledward, 2006). Un factor importante en este sentido es el empleo de polifosfatos, los cuales afectan la capacidad de retención de agua, aumentándola, pero al mismo tiempo afectan la dureza de los embutidos emulsionados aunque este efecto depende del tipo de carne (pre o post rigor) utilizada (Wang y col., 2009).

Normalmente la grasa se utiliza en embutidos de un 15 al 20 % (Totosaus, 2007). Sin embargo, con el exceso de la reducción de grasa, los productos pueden perder palatabilidad, volverse secos, y la textura puede ser más dura, lo que resulta en productos menos aceptables para los consumidores (Ali y col., 2011). Además, la calidad de estos productos cambia según el tratamiento tecnológico y durante su almacenamiento, como se demostró en una investigación realizada en jamón de cerdo (González y col., 2009; Suárez y Martínez, 2009).

Es de señalar que en una investigación donde se elaboraron salchichones enriquecidos con calcio y reducidos en grasa, la mayor valoración sensorial se obtuvo en los lotes

elaborados con menor contenido graso (Soto y col., 2009), lo que demuestra la factibilidad de producir este tipo de producto.

Sin embargo, como la reducción del contenido en grasa condiciona de manera fundamental las características sensoriales del producto, no es una tarea fácil que pueda llevarse a cabo empleando simplemente menos grasa en la formulación. La grasa tiene funciones importantes en la contribución de las tres principales características sensoriales de los productos cárnicos, que son la apariencia, la textura y el sabor.

La posibilidad de desarrollar un producto con menor cantidad de grasas saturadas va a depender de varios factores, como son el nivel de reducción de grasa deseado, la naturaleza del producto a reformular (constituido por piezas de carne identificables, emulsiones, grado de picado, coexistencia de estructuras con diferente granulometría, untuosidad, etc.) y el tipo de procesado requerido por el mismo (Rivera, 2012).

Por estos motivos se han empleado diferentes materiales como sustitutos de la grasa en la elaboración de alimentos, tales como reemplazantes de la grasa, imitadores de la grasa, sustitutos de la grasa y barreras a los componentes grasos. Se consideran reemplazantes de la grasa aquellos ingredientes que contribuyen con menor (o ninguna) cantidad de calorías en los alimentos formulados sin alterar el sabor, las sensaciones bucales, la viscosidad u otras propiedades organolépticas. A su vez, se definen como imitadores de la grasa, aquellas sustancias que pueden sustituir parcialmente a ésta imitando una función particular, pero no todas las funciones de las grasas. Tales sustancias pueden reemplazar la función de cobertura bucal de aquellas grasas que no pueden ser sustituidas por otras grasas en base a un peso equivalente. Por su parte los sustitutos y análogos de la grasa son moléculas cuyas propiedades físicas y térmicas se parecen a las de la grasa, pero aportan menos calorías (o ninguna). Por último, se consideran barreras a los componentes grasos aquellos sistemas que reducen el contenido de grasa de los alimentos

retardando la absorción de las mismas durante el procesamiento, por ejemplo, durante la fritura (Naga y col., 2009).

En los productos cárnicos resulta importante la sustitución de la grasa animal, por lo que se han utilizado entre otras soluciones, el uso de aceites vegetales como el de soya y girasol (Rey y Gualdron, 2011), mezclas de aceite de oliva y margarina (Ninco y col., 2010), así como el aceite de oliva, proteínas de soya y antioxidantes como el romero y la salvia, y fibra (Ospina y col., 2011). Dado que los aceites vegetales están libres de colesterol y presentan mayor proporción de ácidos grasos insaturados que las grasas animales, su incorporación en la elaboración de embutidos de pasta fina debe tener efectos beneficiosos sobre la salud de los consumidores, pero como los aceites vegetales difieren considerablemente entre sí en relación a sus propiedades físicas, como color y sabor y en cuanto a su perfil de ácidos grasos, aceites diferentes tendrán también diferentes efectos sobre las características de calidad de los productos cárnicos. En este sentido, la combinación de sustituir grasa animal por aceites vegetales y a la vez incorporar salvado de arroz, ha dado excelentes resultados (Choi y col., 2009).

La disminución de la grasa en los embutidos emulsionados tiene efecto en el color y textura de los productos, disminuyendo la luminosidad y color amarillo aumentando el color rojo y proporcionando una textura firme (Rivera, 2012).

La grasa puede ser disminuida de diferentes formas, entre ellas mediante el uso de materiales proteicos en sustitución de la grasa. Las proteínas como sustitutos de la grasa han sido utilizados debido a su valor nutricional, su solubilidad, viscosidad y alta capacidad de retención de agua (Mallika y col., 2009). La incorporación de aislado de soya o de concentrado de soya, aumentan la capacidad de retención de agua de salchichas, reflejándose en una mayor dureza y aumento del contenido de proteína pero disminuye el contenido de cenizas y luminosidad de las emulsiones (Cengiz y Gokoglu,

2007; Yoo y col., 2007). En el caso del suero lácteo, su uso afecta el color rojo, disminuyendo la aceptabilidad del producto (Sampaio y col., 2004).

Otra posibilidad es la del empleo de almidones como sustituto de la grasa. Los resultados obtenidos sugieren que las emulsiones elaboradas con almidón y un menor porcentaje de grasa presentan una reducción significativa de las pérdidas de exudado, mejorando el rendimiento tras el cocinado y en definitiva, dando un producto más estable (Álvarez y col., 2007). Sin embargo, cuando se trabaja con productos con alto contenido de grasa, el aumento del contenido de almidón disminuye la intensidad del color rojo y la aceptabilidad de la masticabilidad, elasticidad y consistencia (Petridis y col., 2013).

1.9.3 Productos cárnicos saludables

Se consideran productos cárnicos saludables aquellos que han sido modificados con el objetivo de reducir la presencia de componentes indeseables o incrementar la presencia de otros que serían favorables o potencialmente favorables para la salud. El desarrollo de productos cárnicos más saludables se fundamenta entonces en dos estrategias (Hathwar y col., 2012):

- La reducción o cambio de ciertos componentes, que consumidos en altas cantidades pueden provocar un efecto «nocivo» sobre el consumidor. Así pues, este tipo de estrategia se ha centrado en la reducción de energía, grasa, colesterol, sodio y nitritos y en el cambio del perfil lipídico de estos productos.
- La incorporación de sustancias que poseen valor nutricional funcional y por tanto pueden elevar el valor nutritivo de estos productos.

Una de las vías para elevar el valor saludable de los productos cárnicos, es el empleo de los microorganismos probióticos. Así pues, ellos pueden usarse para generar alimentos conteniendo este tipo de microorganismos. La carne ha demostrado ser un excelente vehículo para los probióticos, fundamentalmente se han estudiado los productos cárnicos

crudos fermentados en los que no se aplica calor en su procesado (Rivera y Gallardo, 2010). Este tipo de productos puede suponer un mercado prometedor para la industria cárnica, ya que se abriría un nuevo abanico de productos para el consumidor. El problema que reside en la inclusión de probióticos en los productos cárnicos fermentados es que la supervivencia de los mismos es bastante baja, por lo que se están estudiando diferentes técnicas de encapsulación y de mejora de la supervivencia (De Vuyst y col., 2008). No obstante, existen productos cárnicos probióticos comercializados, en Japón y en Alemania (Arihara, 2006).

La aplicación de las estrategias mencionadas ha hecho posible: reducir el nivel de grasa y colesterol, alterar el perfil de ácidos grasos, e incrementar la presencia de antioxidantes y minerales. Los avances en distintas áreas del conocimiento están abriendo nuevas posibilidades. Los procesos de transformación de la carne permiten actuar de varias maneras para promover el carácter funcional de los derivados cárnicos. La principal forma de modificar la composición de los mismos surge de la enorme posibilidad de introducir cambios en los ingredientes (cárnicos y no cárnicos) utilizados en su elaboración y, en consecuencia, sobre diversos compuestos bioactivos de carácter endógeno y exógeno (Jiménez, 2010).

1.9.4. Uso de los hongos comestibles en la elaboración de productos no cárnicos

Actualmente la industria alimentaria juega un papel fundamental en el desarrollo y el incremento en la vida de anaquel de los productos alimenticios, así mismo busca la manera de satisfacer la necesidad de nuevos productos que permita a una población cada vez más activa alimentarse de una manera sana y rápida; todo esto conlleva a la tecnificación de los recursos alimenticios, tal es el caso de las setas (*Pleurotus spp.*). En la actualidad la adquisición y el consumo de hongos se llevan a cabo principalmente de

manera fresca o refrigerada. Sin embargo, debido a su alto contenido de humedad la conservación en fresco es dificultosa (Cortés y col., 2007).

Un aderezo seco fue desarrollado a partir del hongo deshidratado y molido (Jaramillo, 2011). Los resultados mostraron que el mismo contenía más de un 13 % de proteína y que más del 75 % de los consumidores potenciales lo incluirían en su dieta, otorgándole una calificación que se aproxima al criterio “me gusta ligeramente”.

Tanto el hongo fresco (*Pleurotus sajor-caju*) como en polvo, fueron empleados en la formulación de una torta con porcentajes de sustitución de hasta un 20 %. La incorporación del polvo hasta un nivel del 15 % mejoró significativamente el color, sabor, olor y textura del producto, además de incrementar el contenido de proteína y grasa, disminuyendo el de carbohidratos. La aceptabilidad global del producto fue similar a la del control (Sheikh y col., 2010)

El hongo ostra (*Pleurotus sajor-caju*) en polvo ha sido empleado hasta un 6 % de enriquecimiento en la elaboración de gachas de arroz, un tipo de pan malayo y cake convencional, sin que se afecten las propiedades sensoriales, pero con un aumento del valor en humedad, proteína y grasa, no así en carbohidratos (Aishah y Wan Rosli, 2013). Incluso cuando se emplearon porcentajes de 2 a 4 % de sustitución de la harina de trigo, los productos fueron mejor evaluados sensorialmente que los productos tradicionales (Wan Rosli y Aishah, 2012).

1.9.5. Uso de los hongos comestibles en la elaboración de productos cárnicos

Los hongos comestibles, debido a su elevado contenido proteico, han sido empleados como sustitutos de la carne en la elaboración de diferentes productos cárnicos.

En un estudio realizado sobre la preparación de hamburguesas de pollo, se sustituyó el 25 y el 50 % de la carne de pollo por un hongo comestible molido (*Pleurotus sajor-caju*).

Con relación a las propiedades organolépticas, la adición del hongo ostra a las

hamburguesas de pollo disminuyó los valores de luminosidad (L^*) y b^* , pero no así el valor de cromaticidad a^* , mientras que la dureza y masticabilidad también disminuyeron. Por otra parte, la retención de grasa y humedad y el rendimiento a la cocción no fueron afectados, pero si se vio incrementado el valor de la fibra dietética total y el contenido de β -glucanos (Wan Rosli y col., 2011a). Otro estudio similar recomendó utilizar solo hasta un 25 % de sustitución, tomando en consideración que el contenido de proteína se veía disminuido (Wan Rosli y col., 2011,). En estos trabajos, la adición del hongo fresco con un nivel de sustitución de hasta 50 % mostró una disminución en la elasticidad y jugosidad, probablemente debidos al menor contenido de grasa (Wan Rosli y col., 2011b). Sin embargo, en un estudio similar, pero con hamburguesas de carne de res, igualmente se vio incrementado el valor de la fibra dietética total y no se observaron cambios sensoriales atribuibles a la sustitución de la carne por hongo hasta un 50 % de sustitución, pero se observó que con el incremento de la sustitución existía una tendencia a la disminución de la retención de grasas, pero con una sustitución del 25 % se logró el mayor rendimiento a la cocción y la mayor retención de humedad (Wan Rosli y Solihah, 2012). En otro estudio donde se utilizó el *Pleurotus sajor-casu* (conocido como hongo ostra gris) como sustituto de la carne de pollo para la elaboración de hamburguesas, igualmente se encontró que un incremento de sustitución conduce a una disminución no significativa del contenido de proteína y que es posible sustituir hasta un 50 % de la carne de pollo sin que existan afectaciones de tipo sensorial. En ese estudio se recomienda finalmente un nivel de sustitución del 25 % de la carne de pollo por hongo, ambos porcentajes expresados en base húmeda (Wan Rosli y Solihah, 2014). Es de señalar que en todas estas investigaciones, los hongos fueron preparados para su empleo mediante un lavado con agua corriente, un proceso de blanqueo y un molido grueso (a un tamaño de partícula entre 2 y 5 mm), con un escurrido posterior para eliminar el exceso

de agua, sin que en ningún caso se declare ni el tiempo ni la temperatura del proceso de blanqueo.

En otro trabajo donde se elaboraron hamburguesas a partir de hongo fresco y deshidratado, se encontró que ambos productos contenían altos niveles de proteínas (38,26 y 35,23 %), además de cumplir con las normas higiénicas estipuladas para este tipo de producto. Sin embargo, cuando se empleó el hongo deshidratado, la aceptación sensorial fue menor, principalmente debido a su textura (Jaramillo y col., 2011).

Otro tipo de producto cárnico elaborado con sustitución parcial de la carne por hongo, fue un paté de hígado de cerdo. En esta investigación el hongo empleado fue *Boletus edulis*, y los resultados indican en primer lugar, que la adición del hongo deshidratado da mejores resultados que la incorporación del hongo fresco, a medida que se incorpora mayor cantidad de hongo, la capacidad antioxidante aumenta hasta un límite (alrededor del 5%), después del cual debido al alto contenido de hierro de este tipo de alimento, el hongo puede ejercer una acción pro oxidante y que cuando esto ocurre, aparecen cambios organolépticos, especialmente un ligero oscurecimiento del producto (Ramírez, 2009)

En otra investigación, se desarrolló un embutido en sustitución del tradicional fermentado de cerdo (un producto tailandés típico, con altas cantidades de grasa saturada). El objetivo fue desarrollar un producto reducido en grasa, para lo cual se optimizó la proporción de arroz y hongo a emplear en sustitución de la grasa de cerdo, la cual fue de 40:60 de acuerdo a los resultados sensoriales. Este producto cumplió con todos los estándares físico químicos y microbiológicos establecidos para este tipo de embutido (Chockchaisa Wasdee y col.; 2010). Con relación al color, a medida que se disminuía el porcentaje de hongo, los valores de “L” y “b” disminuyeron significativamente con ligera variación del valor de “a”, reportando para el hongo valores de “L” de $56,35 \pm 0,94$, “a” de $1,89 \pm 0,12$, y “b” de $13,97 \pm 0,08$.

CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS

CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental se realizó en las instalaciones de la Universidad Estatal de Bolívar, en el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), República de Ecuador, en el Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIB-INTECH) de Chascomús, Universidad de San Martín, Argentina y en el Instituto de Investigaciones para la Industria Alimentaria (IIIA) en la República de Cuba.

2.1 Diseño experimental de la investigación

2.1.1. Muestreo de los residuos

Se inició la investigación seleccionando algunos de los residuos agrícolas de la provincia de Bolívar-Ecuador, a los cuales se los caracterizó desde el punto de vista de su composición físico- química, lo que permitió conocer su composición y desarrollar procesos biotecnológicos en base a los materiales disponibles en la zona, para el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus*.

Se utilizaron rastrojos de maíz y lenteja; pajas de cebada y trigo; bagazo de caña de azúcar y cascarilla de arroz. De las dos pajas analizadas se escogió la de mayor contenido de nitrógeno. De cada uno de los residuos se recolectaron aproximadamente 20 kg de forma aleatoria y se trasladaron a una bodega bajo cubierta para realizar el secado natural (18 a 22 °C y HR entre 70 a 75 %) con la finalidad de uniformar la humedad. Después de dos semanas se tomaron muestras de la biomasa por triplicado, aproximadamente 4 kg de cada uno para la realización de los respectivos análisis.

2.1 2. Caracterización físico-química de los residuos agrícolas

A los residuos lignocelulósicos se les realizaron los análisis siguientes:

- Humedad, método gravimétrico, AOAC (2005) 925.10

- Cenizas, método gravimétrico, AOAC (2005) 923.03
- Proteína: método Kjeldhal, AOAC (2005) 2001.11
- Nitrógeno Método TOC - 4 -110.TN - 4110
- Grasa, método gravimétrico AOAC (2005) 922.06
- Extracto libre de nitrógeno (E.L.N): Según AOAC (2005)
- Fibra según AOAC (2005)
- Fibra detergente neutra (F.D.N): Método VAN SOEST (1967)
- Fibra detergente ácida (F.D.A): Método VAN SOEST (1967)
- Lignina, VAN SOEST (1967).
- Celulosa: por diferencia de la FDA y la lignina
- Hemicelulosa: por diferencia de la FDN y la FDA
- pH por método potenciométrico según (AOAC, 2005)
- Carbono: a partir de la materia orgánica, método de (Walkley y Black, 1996)
- Calcio: Método por espectrofotometría de absorción atómica, U. Florida (1980).
Adaptado en el Dpto. de Nutrición y Calidad (MO-LSAIA-03.01.01) del INIAP-Ecuador
- Fósforo: Método por colorimetría, U. Florida (1980). Adaptado en el Dpto. de
Nutrición y Calidad (MO-LSAIA-03.01.04) del INIAP-Ecuador
- Magnesio: Método por espectrofotometría de absorción atómica, U. Florida (1980).
Adaptado en el Dpto. de Nutrición y Calidad (MO-LSAIA-03.01.02) del INIAP-Ecuador
- Potasio y sodio: Método por espectrofotometría de absorción atómica, U. Florida
(1980). Adaptado en el Dpto. de Nutrición y Calidad (MO-LSAIA-03.01.03) del
INIAP-Ecuador

- Hierro, manganeso y cinc: Método por espectrofotometría de absorción atómica, U. Florida (1980). Adaptado en el Dpto. de Nutrición y Calidad (MO-LSAIA-03.02) del INIAP-Ecuador
- Azufre: Método AOAC (1975). Adaptado en el Dpto. de Nutrición y Calidad (MO-LSAIA-02.03) del INIAP-Ecuador

2.2. Mezclas de residuos lignocelulósicos

Para el diseño de las mezclas se desarrolló una herramienta informática que permitiera de una forma fácil y versátil diseñar diferentes mezclas de residuos lignocelulósicos de composición conocida.

2.2.1. Programa de mezclas

El programa se desarrolló en un ambiente Excel, donde se introdujeron los datos de la composición de los residuos agrícolas (de la provincia de Bolívar, Ecuador) seleccionados para la conformación de las mezclas, identificados en el programa como componentes (nitrógeno, lignina, celulosa, hemicelulosa, etc.) y otros componentes globales donde se encuentran los minerales mayoritarios y los minoritarios. Se definieron los rangos de las restricciones de los productos con valores máximos y mínimos. Para el sistema de cálculo de la mezcla se tomó como base el balance general de masa de los productos (residuos agrícolas) y el balance por componentes conformando matrices que fueron tratadas como matrices latinas.

Así se tiene la representación matemática de un producto en función de sus (j) componentes (vector de una matriz):

$$P_{(1)} = [C_{(1)}]$$

La representación matemática de un conjunto de (i) productos en forma matricial sería:

$$P_{(i)} = [C_{(i \ j)}]$$

La proporción en que se van a mezclar los (i) productos con (j) componentes quedaría definida través de:

$$Proporción_{(mezcla)} = [Prop_{(i)}]$$

$$Prop_{(1)} + Prop_{(2)} + \dots + Prop_{(i)} = 100$$

El producto resultante de la mezcla quedaría como:

$$Pm = [Cm_{(ii)}]$$

Los términos de la matriz Pm fueron personalizados, por lo que hay que recurrir al tratamiento latino de matrices para obtener los parámetros necesarios. Se realizó un tratamiento de operadores lógicos para diseñar los filtros (por selección y valor) que permitieran:

- Estandarizar las mezclas de residuos agrícolas con respecto al contenido de nitrógeno y la relación C/N para el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus*.
- Realizar el tratamiento de la información en la hoja de cálculo electrónica para lograr la interactividad con la interfaz.

Los residuos agrícolas (productos) utilizados en la elaboración del programa fueron identificados de la forma siguiente: rastrojo de maíz (P1), cascarilla de arroz (P2), paja de cebada (P3), rastrojo de lenteja (P4), paja de trigo (P5), bagazo de caña (P6), cascarilla de café (P7) y salvado de trigo (P8)

Para el diseño de las mezclas en el programa se incorporó un suplemento para el componente nitrógeno harina de soya (P9), el cual fue considerado como un producto más). Además, se tuvo en cuenta un 2 % de ingredientes inertes ($CaCO_3$) (P10).

Los componentes de los productos tomados en cuenta para el diseño de mezcla objeto de análisis fueron los siguientes: nitrógeno (C1), lignina (C2), celulosa (C3), hemicelulosa (C4), carbono (C7), calcio (C8), fósforo (C9), magnesio (C10), potasio (C11), cobre (C12), hierro (C13), cinc (C14) y manganeso (C15).

El carbono (C7) se tomó en el programa como componente por ser de interés la variación de su contenido en la mezcla diseñada para el cultivo del hongo, Los datos utilizados se obtuvieron experimentalmente (análisis de laboratorio), o pueden calcularse a partir de un balance de mezclas tomando los valores parciales del carbono (resultado analítico) de cada uno de los residuos, suplemento y el carbonato de calcio.

2.2.2. Diseño de las mezclas de residuos lignocelulósicos estandarizadas en la relación carbono-nitrógeno

El diseño de experimento de las mezclas fue en bloques completamente al azar tomando como variable a ser manipulada el contenido de nitrógeno de las mismas en el intervalo de 0,6 a 1,8 % igualmente espaciadas a 0,2 %, en cinco mezclas se utilizó como suplemento la harina de soya como fuente de nitrógeno en un intervalo de 2 al 10 %. Cada mezcla diseñada de acuerdo a su composición fue considerada como un sustrato específico donde se cultivó el hongo.

2.3. Cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus*

2.3.1. Selección de la cepa

La cepa de *Pleurotus ostreatus*, empleada en este estudio, se recolectó de su hábitat natural (troncos de árboles) de una zona subtropical de la provincia de Bolívar-Ecuador, con una temperatura promedio anual de 19 a 25 °C y fue legalizada por E. Albertó como cepa comercial, ICFC 768/12 y depositada en la colección de cultivos fúngicos del Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIB-INTECH), cepario ICFC, Universidad de San Martín, Argentina. Se evaluó la cepa autóctona, tomando como variables respuesta la temperatura de incubación (20, 25 y 30 °C) y la velocidad de crecimiento micelial (diámetro de la colonia en cm).

El cultivo de trabajo se obtuvo por transferencia seriada de la cepa en cajas de Petri con medio nutritivo Agar Papa Dextrosa. Para su conservación se almacenaron en refrigeración (2 a 4 °C).

2.3.2. Preparación del inóculo.- Se seleccionaron, lavaron y cocinaron a temperatura de ebullición los granos de trigo por un tiempo aproximado de 45 min, luego se llenaron las bolsas de polipropileno de alta densidad con 500 g de grano a las que se les adicionó 1,5 % de CaCO_3 y se esterilizaron en autoclave durante 30 min a 121 °C. La humedad obtenida fue de aproximadamente 45 %.

Una vez frías se inocularon en la cámara de flujo laminar con el micelio multiplicado en Agar Papa (cajas de Petri) y se incubaron a 25 °C en oscuridad (Figura 2) con agitaciones periódicas hasta alcanzar la completa colonización (Figura 3) por el micelio del hongo (17 a 21 días). Al final de este proceso la semilla estuvo lista para ser utilizada.



Figura 2 Semilla recién inoculada



Figura 3 Semilla colonizada

2.3.3 Adecuación de los sustratos para el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus*

Los materiales lignocelulósicos se fragmentaron mecánicamente en un tamaño de 2 a 5 cm de longitud según su naturaleza, se hidrataron por inmersión en agua por el lapso de aproximadamente 24 h, tiempo requerido para alcanzar una humedad entre 74 a 76 %. Los sustratos fueron esterilizados mediante tratamiento térmico en autoclave a 121 °C por 30 min y enfriados hasta la temperatura ambiente (18 a 20 °C).

Se procedió a la siembra (8 bolsas por mezcla) inoculando el 4 % de semilla en base al sustrato húmedo, se utilizaron bolsas de polietileno transparentes de 40 x 60 cm. Las bolsas se perforaron longitudinalmente y en el fondo con una punta de acero estéril, para promover una condición de semi-anaerobiosis requerida en la fase inicial de invasión del micelio, luego se cerraron con bandas de caucho y fueron incubadas en oscuridad a una temperatura de 25 °C.

Transcurrido el período de incubación, las bolsas totalmente colonizadas por el micelio del hongo, se trasladaron al cuarto climatizado de fructificación donde se propiciaron las condiciones favorables de humedad relativa (80 a 85 %), temperaturas de (15 a 16 °C) y fotoperíodos de 12 h luz/12 h oscuridad, acompañados de ventilación, para inducir la mayor brotación. Donde se detectó la presencia de primordios se realizaron los cortes más grandes en las fundas para facilitar el desarrollo del hongo; estas condiciones fueron mantenidas por 4 a 5 días. En la etapa de producción se mantuvo la temperatura entre 18 a 22 °C y humedad relativa entre 85 a 90 %. Las instalaciones para el cultivo del hongo permitieron hacer un control automático de la humedad y temperatura. Los dos parámetros de medición se registraron en forma digital en el tablero de comandos del cuarto climatizado.

Se monitoreó permanentemente la producción y los hongos fueron cosechados manualmente con la ayuda de una navaja estéril, en su estado adulto, cuando el píleo estuvo totalmente extendido y se pesaron en una balanza digital. Su peso se registró en gramos.

2.3.4 Evaluación de la producción

Para evaluar la producción en cada sustrato se cosecharon los basidiomas producidos en tres oleadas, en un período de producción entre 62 y 74 días, tiempo transcurrido desde el inicio de la siembra hasta la última cosecha. Los datos de producción registrados fueron:

Aparición de primordios (AP), que es el tiempo transcurrido desde la siembra hasta el inicio de la fructificación y el peso fresco de los hongos cosechados. Se valoró la eficiencia biológica (EB) el rendimiento (R), la tasa de producción (TP), considerando el tiempo inicial de la siembra y final de la última cosecha y el contenido proteico de los cuerpos fructíferos.

$$EB = \frac{\text{Peso del hongo fresco}}{\text{Peso del sustrato seco}} \times 100$$

$$R = \frac{\text{Peso del hongo fresco}}{\text{Peso del sustrato húmedo}} \times 100$$

$$TP = \frac{\text{Eficiencia biológica}}{\text{Período de producción}} \times 100$$

2.4. Elaboración de las salchichas con empleo del hongo

2.4.1 Materias primas

Las setas obtenidas a partir de las tres mejores mezclas fueron empacadas en bandejas recubiertas por una película transparente auto adherente de PVC para alimentos y almacenadas en refrigeración a 4 °C por un tiempo no mayor a cuatro días antes de ser utilizadas. La carne de bovino y la grasa de lomo de cerdo, fueron adquiridas en un frigorífico de expendio de carnes de la ciudad de Ambato y el resto de los ingredientes utilizados (nitrito, tripolifosfato, eritorbato y, ácido ascórbico en la casa comercial Alitecno Comercio de Insumos para la Industria de Alimentos en la ciudad de Guayaquil.

2.4.2 Caracterización físico-química del hongo *Pleurotus ostreatus*

Los análisis se efectuaron en los laboratorios de la Universidad Estatal de Bolívar, en el Departamento de Nutrición y Calidad del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Ecuador y en el Instituto de Investigaciones de la Industria Alimentaria (IIIA), Cuba.

Las muestras seleccionadas aleatoriamente de las bandejas, se homogeneizaron y se realizaron los análisis físico-químicos de: humedad, cenizas, grasa, proteína (N x 4,38), fibra, ELN y minerales por los métodos descritos anteriormente. Para el caso del pH, actividad de agua, y β -glucanos, los métodos se describen a continuación:

pH. Se determinó mediante el método potenciométrico, usando un pH-metro digital (HANNA METER, España) previamente calibrado, sobre una mezcla homogénea de 10 g de muestra y 90 mL de agua destilada (NTE INEN 783, 2013)

Actividad de agua (a_w). Se determinó con un medidor digital (Testo 645 AG Germany). La muestra se colocó en una cápsula de plástico en la cámara de medición del higrómetro (hasta que alcanzó una temperatura próxima a la del higrómetro) y se realizó la medida.

Determinación de β -glucanos:

Se utilizó el método Megazyme (AOAC. 995.16 y la AACC 32-23) para la medición de β -glucanos en cebada, y fue adaptado para la determinación en muestras del *Pleurotus ostreatus* ((Park y col., 2003) y productos cárnicos con la incorporación de hongo.

Se prepararon las muestras del hongo (deshidratado) y de las salchichas (secado por liofilización). Las muestras fueron pulverizadas y tamizadas para proceder a los análisis.

El principio consiste básicamente en la suspensión e hidratación de las muestras en una solución buffer pH 6,5, para luego ser incubadas con la enzima liquenasa purificada y luego se filtra. Una alícuota del filtrado es hidrolizada con beta-glucosidasa purificada. La D-glucosa producida es analizada usando un estándar de glucosa oxidasa/peroxidasa. Al final de todo el proceso se determina la absorbancia en el espectrofotómetro de luz ultravioleta a 510 nm y a una temperatura de 40 °C, ajustando a cero con el blanco. La concentración de β -glucanos en el hongo fue calculada mediante la ecuación siguiente:

$$\beta - \text{glucanos (\%)} = \text{glucosa (\%)} * 0,9$$

Dónde: 0,9 es el factor de corrección de las diferencias entre glucosa libre y β -glucano.

2.4.3 Evaluación de las propiedades funcionales del hongo

Se emplearon las muestras homogeneizadas, las que recibieron un escaldado con vapor hasta alcanzar una temperatura de 85 °C durante 3 min, seguido de un prensado con un peso de 2,5 kg para eliminar el exceso de humedad, y molido en un molino eléctrico (SKYMSEN). Se evaluaron las propiedades funcionales siguientes:

2.4.3.1. Capacidad de Hinchamiento

Se empleó una modificación de la técnica propuesta por Arroyo y col. (2008), se pesaron 10 g del hongo molido y prensado, se introdujeron en una probeta graduada de 100 mL y se midió el volumen aparente ocupado por el producto, después se añadió agua destilada hasta el enrase de la probeta y se dejó reposar por un período de 24 h. Nuevamente se midió el volumen aparente que adquirió la masa, y se calculó por diferencia el incremento de volumen, expresando el resultado como mL/g del hongo molido y prensado.

2.4.3.2. Capacidad de Retención de Agua (CRA)

Para cuantificar la cantidad de agua retenida, se empleó una modificación de la técnica propuesta por Rengifo y Ordoñez (2010) la cual consistió en añadir 8 mL de una solución de cloruro de sodio (NaCl) 0,6 M a 5 g de hongo molido e incubar las muestras tratadas a 5 °C durante 30 min. Al terminar la incubación, las muestras fueron centrifugadas a 600 rpm por 15 min y se determinó la CRA pesando la masa de hongo formada en el fondo del tubo de la centrífuga, correspondiente al hongo con el agua retenida. La cantidad de agua retenida se expresó como g/g de hongo.

2.4.3.3 Capacidad Emulsificante (CE)

Se utilizó una modificación del método empleado por Delgado y Albarracín (2012). Se molieron 25 g de hongo con 100 mL de solución de NaCl 1M en una licuadora hasta obtener una pasta, manteniendo una temperatura máxima de 5 °C. Se tomaron 25 gramos

de la pasta y se añadieron 75 mL de NaCl 1M a 5 °C, mezclando en licuadora durante cinco minutos, a baja velocidad. Se añadió aceite vegetal con una bureta, hasta que dejara de integrarse a la pasta de hongo, lo que se observa por ruptura de la emulsión. La CE se reportó como la cantidad de aceite incorporado (antes de la ruptura de la emulsión) por gramo de hongo (mL/g).

2.5. Diseño de las formulaciones y adecuación del proceso tecnológico para la obtención de la salchicha con la incorporación del hongo

2.5.1. Diseño de las formulaciones experimentales

Para la obtención de la matriz experimental de las formulaciones de la salchicha tipo vienesa con la incorporación del hongo y para el análisis de las variables respuesta, se utilizó el software Desing-Expert versión 8.0.6, aplicando un Diseño de Mezclas D-optimal, en el que se variaron las proporciones de carne de res, hongo y grasa (Tabla 2), que correspondieron a los componentes variables (75 %) y el resto de los ingredientes (25 %), permanecieron fijos

Tabla 2 Restricciones de los componentes del diseño D-optimal

Variables	Rango (%)	
	Mínimo	Máximo
A: Carne de res	23	40
B: Hongo	23	40
C: Grasa de cerdo	8	12

Obtención de las formulaciones

De acuerdo con las restricciones impuestas, el diseño de mezclas aplicado arrojó 16 formulaciones, de las cuales 5 constituyeron repeticiones.

Las mezclas obtenidas de forma aleatoria se muestran en la Tabla 3

Tabla 3. Matriz del diseño experimental D-optimal para la elaboración de la salchicha

Número de mezclas	CarneVacuna (X1) (%)	Hongo (X2) (%)	Grasa de cerdo (X3) (%)
1	40,0	25,0	10
2	23,0	40,0	12
3	25,0	40,0	10
4	33,0	33,0	9
5	40,0	23,0	12
6	31,5	31,5	12
7	35,7	31,3	8
8	23,0	40,0	12
9	31,5	31,5	12
10	40,0	25,0	10
11	36,3	27,8	11
12	29,8	36,3	9
13	27,0	40,0	8
14	40,0	27,0	8
15	25,0	40,0	10
16	33,0	33,0	9

2.5.2. Evaluación de las propiedades funcionales de la emulsión carne–hongo

De la emulsión carne-hongo, al terminar el cortado, se tomaron muestras y se determinaron la capacidad de retención de agua (Rengifo y Ordoñez, 2010) y la capacidad emulsificante (Delgado y Albarracín, 2012) y para la capacidad de retención de lípidos el método, se describe a continuación

2.5.2.1 Capacidad de retención de lípidos (CRL) de la emulsión

Se realizó mediante una modificación del método empleado por Álvarez y col. (2007). Para ello, se mezclaron 5 g de emulsión, con 10 mL de aceite vegetal y se dejaron reposar durante 24 h. A continuación se centrifugó a 2 000 rpm durante 20 min, el exceso de aceite se decantó. El resultado se expresó en g/g de emulsión

2.5.3 Proceso tecnológico para la elaboración de la salchicha con la incorporación del hongo

El orden de elaboración fue aleatorio. Para la obtención del producto se partió de la formulación utilizada para la salchicha comercial tipo Vienesas (Anexo 1), que se elabora con carne vacuna, carne de cerdo y grasa de cerdo, reemplazando la carne de cerdo por el hongo *Pleurotus*. Como aditivos se utilizaron proteína de soya 2 %, almidón de papa 2,11 %, sal 2 %, ácido ascórbico 0,03 %, nitrito 25 mg/kg (quinta parte de lo recomendado por las normas INEN, 1996), eritorbato 0,02 %, tripolifosfato 0,44 %, y condimentos 1 %.

Las salchichas fueron elaboradas (3 kg por formulación) en la planta piloto de productos cárnicos de la Universidad Estatal de Bolívar, aplicando las buenas prácticas de manufactura (BPM).

Las materias primas (carne magra de res y grasa de cerdo), previamente picadas con un tamaño medio de partícula entre 4 a 5 mm, y el hongo, escaldado con vapor y prensado (para eliminar el exceso de humedad) fueron molidas por separado en un molino para carnes (Skymssen). En este punto del proceso se separó la masa en lotes de acuerdo a las diferentes formulaciones indicadas en el diseño experimental y se almacenaron a 2 °C por 6 h. Posteriormente las pre-emulsiones fueron amasadas en una cortadora (Talza, K30, versión 3.6) hasta obtener una pasta homogénea. De cada formulación se tomaron muestras para los respectivos análisis.

En el proceso de amasado se siguió el siguiente orden de incorporación de ingredientes: en primer lugar se homogenizó la carne durante un minuto, luego se adicionó el hongo y se mezcló otro minuto, se adicionó la sal, nitrito y el tripolifosfato a velocidad lenta, hasta obtener una masa homogénea, entonces se adicionó la grasa, el hielo y paulatinamente el resto de ingredientes, cuidando que no se incremente la temperatura a

más de 10°C. La masa obtenida se trasvasó a una embutidora automática de pistones (Talsa, H26P, versión 3.8), y se embutió en tripas de celulosa de un calibre de 15 mm. Se ataron las salchichas con una longitud aproximada de 13 cm, se obtuvo un peso aproximado en cada uno de los lotes que varió entre 2 800 a 2 840 g. Las salchichas fueron sometidas a tratamiento térmico en una marmita de cocción hasta alcanzar una temperatura de 70 °C en el punto frío. Una vez terminado el proceso térmico se enfriaron con agua helada y se dejaron a temperatura ambiente por 2 h antes de ser empacadas y selladas al vacío (J-V002/J-V002G), con un peso entre 200 a 206 g (4 salchichas por bolsa). El producto fue etiquetado y almacenado en refrigeración a 4 ± 1 °C.

2.6 Evaluación de las formulaciones experimentales

Al producto obtenido con las diferentes formulaciones se le evaluó:

pH (método anterior)

Humedad, método gravimétrico, AOAC (2005) 950.46.

Grasa, método gravimétrico, AOAC (2005) 991.36.

Proteína, método Kjeldhal, AOAC (2005) 928.08

Los métodos para calcular el rendimiento a la cocción, análisis del perfil de textura, y aceptabilidad, se describen a continuación. Además se calculó el índice de costos (materias primas).

2.6.1 Rendimiento a la cocción

Se utilizó una modificación del método propuesto por (Wan Rosli y Solihah, 2012). Se prepararon tres embutidos de cada formulación con un peso de aproximadamente 50 g cada uno, empleando tripa artificial de 21,5 mm de diámetro y se cocieron en baño de María a 80 °C hasta alcanzar una temperatura en el centro de 70 °C. Para el control de la temperatura se utilizó un termómetro de aguja en un embutido testigo. A continuación,

los embutidos fueron retirados del baño y enfriados a temperatura ambiente hasta alcanzar los 20 °C. El rendimiento a la cocción, fue evaluado según la expresión:

$$RC = \frac{(M_{final})}{(M_{inicial})} \times 100$$

Dónde:

RC: Rendimiento a la cocción, (%)

M_{final}: Masa final, g

M_{inicial}: Masa inicial, g

2.6.2 Análisis instrumental del perfil de textura (APT)

El análisis de perfil de textura se realizó mediante un Texturómetro universal (TA.XT21-Stable Micro Systems, Inglaterra), con una velocidad de cabezal de 0,5 mm/seg. Las mediciones se realizaron sobre muestras de salchichas en forma de cilindros de 2 cm de altura. Se utilizó un mínimo de 6 repeticiones en cada condición de muestreo por ensayo. La prueba de APT se realizó mediante dos ciclos consecutivos de compresión a partir de los cuales se calculó la dureza, fracturabilidad, elasticidad, cohesividad, gomosidad y masticabilidad (Chen y col., 1979; Bertola y col., 1992). Las muestras fueron comprimidas por su diámetro hasta un 75 % de su altura original.

2.6.3 Evaluación Sensorial

Se realizaron dos análisis, uno que consistió en una prueba de aceptación general que se cuantificó empleando 120 consumidores potenciales a los que se les entregó una muestra de cada salchicha de aproximadamente 2,5 cm de largo, y una boleta con una escala hedónica de 7 puntos (Anexo 2). A cada una de las categorías seleccionadas por los jueces se les asignó una puntuación (7 Me gusta extremadamente, 1 Me disgusta extremadamente) y se obtuvo el valor medio de la valoración.

El otro correspondió a un análisis cuantitativo descriptivo utilizando una escala no estructurada de 10 cm, ambos según la metodología descrita por Espinosa (2007) con algunas modificaciones.

El análisis descriptivo de la salchicha se realizó por un panel de 10 catadores entrenados teniendo en cuenta los descriptores para las siguientes características: apariencia externa, apariencia interna, aroma, sabor y textura, la boleta utilizada se mostrada en el (Anexo 3). Se realizaron tres sesiones de preparación previa para que los panelistas pudiesen entender y reconocer cada atributo, (este análisis se realizó a la formulación óptima y a la elaborada como patrón). Las pruebas sensoriales se realizaron bajo luz natural en paneles individuales

2.6.4 Índice de costo de las materias primas

Se calculó en base al costo de las materias primas (carne de res, hongo y grasa de cerdo) empleadas para elaborar el producto, utilizando el programa Microsoft Excel.

2.6.5 Análisis de los resultados

El análisis de resultados se realizó mediante el método numérico para obtener los modelos de mejor ajuste

2.7 Optimización de la formulación

Para la selección de la formulación óptima para la elaboración de la salchicha tipo vienesa con la incorporación del hongo se partió de la definición de las variables independientes: porcentaje de carne en el rango (23 a 40), porcentaje de hongo en el rango (23 a 40) y porcentaje de grasa en el rango (8 a 12). Se impusieron las restricciones a las variables respuesta teniendo en cuenta los resultados del diseño experimental, la calidad deseada en el producto final y las normas ecuatorianas para productos cárnicos tradicionales. Las variables y criterios de selección que se definieron según el método de función de conveniencia para la optimización numérica se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Indicadores considerados para la optimización numérica

Indicadores	Criterios	Rango	
		Mínimo	Máximo
pH	Minimizar	6,4	6,62
Humedad (%)	Minimizar	71,28	74,11
Grasa (%)	Minimizar		8
Proteína (%)	Maximizar	11	
Aceptación	Maximizar	5	7

2.7.1 Evaluación de la composición de la formulación óptima y de la salchicha patrón

Se elaboró por triplicado la formulación seleccionada como óptima y un patrón sin la adición de hongo para efectos comparativos del comportamiento de los dos tipos de salchicha. Al finalizar el proceso de elaboración se realizaron por triplicado los análisis de: pH, a_w , humedad, cenizas, grasa, proteína y β - glucanos, por los métodos descritos anteriormente. Para los carbohidratos, fibra dietética, cloruro, nitritos, y el perfil de aminoácidos, los métodos se describen a continuación:

Carbohidratos: Método de la AOAC (2005). Se calcularon por diferencia restando de 100 los valores del análisis proximal sin incluir la fibra.

Fibra dietética total por el método enzimático

La fracción de fibra dietética fue determinada por el método enzimático, AOAC (1990) 985.29, corriendo un blanco a lo largo de toda la determinación

Las muestras tomadas por triplicado se homogenizaron y se secaron, posteriormente fueron molidas y tamizadas en una malla de 0,3 a 0,5 mm

Fundamento

Las muestras desgrasadas son gelatinizadas con α – amilasa térmicamente estable y luego digerida enzimáticamente con proteasa y amiloglucosidasa para remover la proteína y el almidón. La fibra dietética soluble es precipitada por la adición de etanol, el residuo total

se filtra, se lava, se seca y se pesa. En el residuo en duplicado se determina proteína, y en el otro cenizas.

Cálculo de fibra dietética total:

$$\% \text{ FDT} = [\text{Masa del residuo} - \text{Peso (proteína + cenizas + blanco)}] / \text{masa de la muestra} \times 100$$

Cloruros

Según las Norma INEN 780 (2010)

Nitritos

Según la Norma NTE INEN 784 (2010)

Perfil de aminoácidos

Método por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) según Alaiz y col. (1992).

Los resultados se expresan en porcentaje (base seca).

2.8 Estudio de almacenamiento de la formulación óptima y la patrón

Para el estudio de almacenamiento las salchichas fueron empacadas en bolsas al vacío y almacenadas a 4 ± 1 °C. Los análisis se realizaron por triplicado en un período de 14 semanas a partir del tiempo 0 y cada 7 días las mediciones de: pH, humedad, actividad de agua (a_w), e índice de peróxido y al inicio, en la semana 7 y al final del almacenamiento, las determinaciones de: color instrumental, análisis cuantitativo descriptivo sensorial de la apariencia externa (color y superficie), apariencia interna (color, brillo, firmeza al corte), aroma, sabor y textura, análisis del perfil de textura instrumental y calidad microbiológica

2.8.1 Índice de peróxido, método volumétrico (Kirk y col., 1996)

2.8.2 Evaluación instrumental del color a la formulación óptima y a la patrón

Se utilizó un colorímetro Minolta chroma meter CR-300 (Minolta Camera, Japón) con componente especular incluido, iluminante C, y un observador con un ángulo de 2° como

sistema de referencia. Para cada muestra, se cortaron 4 lonchas centrales de 2 cm de grosor y se realizó un total de 8 mediciones en diferentes zonas de cada una de ellas. Se utilizaron las coordenadas CIELab*, midiéndose los valores de L*, a* y b*, a partir de los cuales se calcularon los valores C*, h* y el índice de color IC según Gamero y col (2010) mediante la siguiente ecuación.

$$IC = 1000 a^* / L^* b^*$$

2.8.3 Análisis cuantitativo descriptivo sensorial a la formulación óptima y a la elaborada como patrón.

Utilizando el método descrito anteriormente, de acuerdo a las instrucciones de la boleta de cata (Anexo 3)

2.8.4. Perfil de textura instrumental a la formulación óptima y a la elaborada como patrón.

Se determinó: la dureza, fracturabilidad, elasticidad, cohesividad, gomosidad y masticabilidad, por el método descrito anteriormente

2.8.5 Análisis Microbiológicos.

Se determinaron los análisis microbiológicos según las normas:

Mesófilos aerobios totales (recuento en placa).

Según la norma NTE INEN 1529-5 (2012)

- **Mohos y levaduras.**

Según la norma NTE INEN 0767:85 (2013)

- **Coliformes totales**

Según la norma NTE INEN 1529-6 (2013)

- **Salmonella**

Según la norma NTE INEN 1529-15 (2013).

2.9 Estimación de los costos

2.9.1 Estimación del costo de producción del hongo

Para determinar los costos de producción del hongo *Pleurotus*, se consideró una producción de hongo fresco anual de una tonelada, tomando en cuenta 6 ciclos de producción en el año (dos meses de duración de cada uno)

2.9.2 Estimación del costo del nuevo producto cárnico

El cálculo del costo de producción del producto cárnico se realizó por 1 000 kg de producto tomando en cuenta la capacidad instalada de la planta 45 kg/día.

2.10 Procesamiento estadístico de los resultados

Para el procesamiento de los resultados se utilizaron los programas estadísticos siguientes: “*STATGRAPHICS Centurion XVI*”, Design-Expert versión 8.0.6 y el Statistix versión 9

CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CAPITULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización físico-química de los residuos agrícolas

En la Tabla 5 se presentan los resultados de los análisis de composición de los diferentes residuos agrícolas analizados. El contenido de humedad presentó un intervalo entre 9,12 a 13,91 % lo que los hace muy similares para cualquier tratamiento. Las cenizas presentaron una amplia variación (2,57 a 13,59 %), resultados que están relacionados con el tipo de material agrícola y son comparables a los reportados por Sánchez y Royse (2002). En cuanto a extracto etéreo son pobres en este componente y ricos en fibra (47,37 a 57,71 %). La celulosa fue mucho más variable entre 36,53 a 52,11 %; la hemicelulosa mostró valores en un intervalo comprendido entre 10,27 a 26,73 %, el valor más bajo correspondió al rastrojo de lenteja y el más alto al rastrojo de maíz; mientras que para la lignina la variación fue desde 7,02 % para el rastrojo de maíz a 22,53 % para la cascarilla de arroz. Estos resultados indican que los residuos analizados son ricos en estos componentes lo cual tiene que ver con su naturaleza lignocelulósica (Delfín y Duran, 2003; Andrino y col., 2011), por lo tanto presentan características adecuadas para el cultivo del hongo *Pleurotus* y los valores están dentro del intervalo reportado por Guzmán y col. (2008). El pH dio valores alrededor de 7, excepto el bagazo de caña de azúcar que presentó un valor de 5,13.

La composición de los residuos analizados es diferente por lo que es importante conocer las características físico-químicas de cada uno de ellos para su utilización en el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* como sustratos únicos o en mezclas.

Tabla 5. Valores medios y desviación estándar de los indicadores de los residuos agrícolas analizados

Indicador	Residuos agrícolas					
	Rastrojo de maíz	Cascarilla de arroz	Paja de cebada	Paja de trigo	Rastrojo lenteja	Bagazo de caña
Humedad	10,11	9,12	13,81	13,61	13,61	13,91
(%)	(0,22)	(0,00)	(1,88)	(0,09)	(0,09)	(0,13)
Cenizas (%)	5,98	13,59	9,75	10,64	5,44	2,57
	(0,11)	(0,08)	(0,51)	(0,34)	(0,00)	(0,15)
Extracto	1,15	0,30	1,27	1,34	1,07	0,67
etéreo (%)	(0,09)	0,00)	(0,10)	(0,46)	(0,03)	(0,01)
Fibra (%)	48,15	47,57	51,89	57,71	53,08	47,37
	(1,63)	(0,63)	(1,70)	(0,50)	(0,89)	(0,00)
Celulosa (%)	42,48	36,53	47,14	52,11	40,32	44,87
	(0,24)	(1,69)	(1,02)	(0,51)	(0,99)	(0,66)
Hemicelulosa	26,73	18,41	21,35	20,09	10,27	16,99
(%)	(0,30)	(2,47)	(0,99)	(0,31)	(2,10)	(0,45)
Lignina (%)	7,02	22,53	10,53	10,68	16,12	14,40
	(0,04)	(0,30)	(0,96)	(0,21)	(0,03)	(0,10)
pH	6,90	6,83	6,77	6,70	6,60	5,13
	(0,10)	(0,15)	(0,15)	(0,10)	(0,10)	(0,29)

Valores entre () representan la desviación estándar

En la Tabla 6 se muestran los resultados de la composición de minerales de los residuos agrícolas. En los minerales minoritarios los que presentaron menor proporción fueron el manganeso, cinc, cobre y azufre, el hierro fue mucho mayor en este grupo y los mayores valores correspondieron a las pajas de cebada y de trigo, otro grupo lo conformaron los rastrojos de maíz, lenteja y bagazo de caña de azúcar y el menor valor lo presentó la cascarilla de arroz.

Tabla 6. Valores medios y desviación estándar del contenido de minerales de los residuos agrícolas analizados

Minerales	Residuos agrícolas					
	Paja de cebada	Paja de trigo	Caña de maíz	Rastrojo lenteja	Bagazo de caña	Cascarilla de arroz
Potasio (%)	2,96 (0,65)	0,92 (0,04)	1,88 (0,20)	1,33 (0,04)	0,12 (0,01)	0,11 (0,03)
Calcio (%)	0,29 (0,03)	0,14 (0,05)	0,23 (0,05)	0,29 (0,02)	0,12 (0,01)	0,06 (0,03)
Fósforo (%)	0,14 (0,02)	0,03 (0,02)	0,04 (0,01)	0,11 (0,04)	0,04 (0,01)	0,07 (0,03)
Sodio (%)	0,07 (0,01)	0,03 (0,01)	0,04 (0,01)	0,03 (0,02)	0,04 (0,01)	0,04 (0,01)
Magnesio (%)	0,06 (0,03)	0,03 (0,01)	0,15 (0,03)	0,22 (0,01)	0,10 (0,01)	0,06 (0,01)
Hierro (mg/kg)	461,44 (10,26)	416,89 (0,93)	186,33 (2,64)	185,0 (1,00)	188,67 (0,58)	135,00 (1,00)
Cinc (mg/kg)	22,11 (0,78)	17,88 (0,78)	12,33 (0,70)	7,9 (0,10)	69,66 (0,57)	10,66 (0,58)
Manganeso (mg/kg)	59,0 (0,20)	63,4 (0,11)	126,4 (0,33)	98,0 (0,40)	123,0 (0,63)	98,0 (0,48)
Cobre (mg/kg)	6,47 (0,14)	12,55 (0,53)	7,55 (0,53)	6,9 (0,10)	23,66 (0,57)	6,66 (0,57)
Azufre (mg/kg)	0,08 (0,01)	0,04 (0,03)	0,05 (0,02)	0,02 (0,01)	0,02 (0,02)	0,05 (0,01)

Valores entre () representan la desviación estándar

El mayor aporte de minerales mayoritarios lo presentaron la paja de cebada, los rastrojos de maíz y lenteja, sin embargo notándose una diferencia importante en el caso del potasio para la paja de cebada.

Para los minerales minoritarios de igual forma, los resultados revelan que la paja de cebada sobresale con el contenido de hierro más alto y para los otros materiales el contenido de este mineral es similar. El manganeso está presente en cantidades apreciables en todos los residuos, presentando una variación entre (59 a 126,4 mg/kg), no obstante los valores más altos son para el rastrojo de maíz y bagazo de caña.

Los resultados reflejan los valores medios de la composición y su variabilidad depende de muchos factores tales como: tipo de planta, variedad, condiciones de cultivo, fertilidad

del suelo, etc. Estos residuos presentan los minerales que requiere el *Pleurotus ostreatus* para su desarrollo (Chang, S. T. y Miles, P. G., 2004; Romero y col., 2010).

En la Tabla 7 se presentan los valores medios de carbono, nitrógeno y la relación C/N de los residuos agrícolas. Todos son ricos en carbono, elemento que el *Pleurotus ostreatus* requiere en mayor cantidad para su desarrollo, mientras que el contenido de nitrógeno presentó amplia variación entre (0,38 a 1,29 %), el valor más bajo correspondió al rastrojo de maíz, gramínea de mayor cultivo en la zona, con un contenido de nitrógeno por debajo del recomendado (0,5 a 1,5 %) por Sánchez y Royse, (2002), Pardo y col. (2008); por lo que para ser utilizado en el cultivo del hongo mezclarse con otros residuos ricos en nitrógeno o suplirse con una fuente nitrogenada. La relación C/N, uno de los factores principales que condicionan los procesos de descomposición de la materia orgánica, varió desde 39,68 a 140,89, valores que se encuentran en el intervalo citado en la literatura para el cultivo de este hongo (30 a 300) (Sánchez y Royse, 2002; Pardo y col., 2008), sin embargo es muy importante el equilibrio entre los niveles de carbono y de nitrógeno para una óptima biodegradación y en el menor tiempo de los componentes del sustrato para un mejor desarrollo y producción del hongo.

Tabla 7. Valores medios y desviación estándar del contenido de carbono, nitrógeno y la relación carbono nitrógeno (C/N) de los residuos agrícolas analizados

Indicador	Residuos agrícolas					
	Paja de cebada	Paja de trigo	Rastrojo de maíz	Rastrojo lenteja	Bagazo de caña	Cascarilla de arroz
Carbono	49,02	51,64	53,54	49,05	48,02	53,12
(%)	(0,03)	(0,04)	(0,00)	(0,00)	(0,09)	(0,04)
Nitrógeno	0,84	0,46	0,38	1,29	1,11	0,77
(%)	(0,00)	(0,05)	(0,04)	(0,01)	(0,00)	(0,00)
Relación	58,36	112,26	140,89	39,68	43,26	68,98
carbono	(0,30)	(0,00)	(0,00)	(0,30)	(0,08)	(0,46)
nitrógeno						

Valores ente () representan la desviación estándar

3.2 Desarrollo de un programa para el diseño de mezclas de residuos agrícolas

El programa diseño de mezclas de residuos agrícolas en el ambiente Excel presenta la característica que cuando el usuario carga el programa se muestra la hoja de cálculo donde pueden visualizarse todos los productos (residuos agrícolas) en las columnas y los componentes en las filas.

Entrada de datos en el programa

Para el diseño de las mezclas el usuario debe disponer de los datos de composición físico-química de los productos (residuos agrícolas). En la Figura 4 se presenta una vista de la hoja de cálculo con la entrada de los datos, donde figuran: la Composición (humedad y materia seca) de los productos, los Componentes (C1, C2... C6) y otros Componentes globales (C7, C8.....C15). Los datos son suministrados en porcentaje exceptuando los componentes del (C12) al (C15) que se expresan en mg/kg. Si se tuviera la necesidad de hacer modificaciones en alguno de estos datos por nuevos análisis de laboratorio o por cambios en una variedad o zona de cosecha, el usuario lo puede realizar sin ningún inconveniente.

Restricciones de los productos en la mezcla

El programa presenta la opción de restricciones en porcentaje para los productos (rastrojo de maíz, cascarilla de arroz, etc.) en la mezcla. Éstas las decide el usuario dando valores máximos y mínimos con un rango de movilidad que se adapte a las necesidades en la conformación de las mezclas (composición del residuo).

En la Figura 4 también se pueden apreciar los límites máximos y mínimos los cuales pueden ser modificados en el momento que se desee hacer mezclas con diferente comportamiento en su composición con solo introducir el valor prefijado.

Productos	P1 <i>Rastrojo de Maíz</i>	P2 <i>Cascarilla de Arroz</i>	P3 <i>Paja de Cebada</i>	P4 <i>Rastrojo de Lenteja</i>	P5 <i>Paja de Trigo</i>	P6 <i>Bagazo de Caña</i>	P7 <i>Cascarilla de Café</i>	P8 <i>Salvado de Trigo</i>	P9 <i>Harina de Soya</i>	P10 <i>Carbonato de Calcio</i>
Composición										
Humedad	10,11	9,12	13,81	13,61	13,77	13,91	10,00	10,00	11,00	0,00
Materia seca (%)	89,89	90,88	86,19	86,39	86,23	86,09	90,00	90,00	89,00	0,00
Componentes										
(Nitrógeno) C1	0,38	0,77	0,84	1,29	0,51	1,11	1,30	7,81	7,81	0,00
(Lignina) C2	7,02	22,53	10,53	16,12	10,69	14,40	13,25	18,00	13,00	0,00
(Celulosa) C3	42,48	36,53	47,14	40,32	51,78	44,87	34,00	34,00	23,00	0,00
(Hemicelulosa) C4	26,73	18,41	21,35	10,27	20,42	16,99	21,00	17,00	29,00	0,00
(vacío) C5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
(Otros) C6	13,28	12,64	6,33	18,39	2,83	8,72	20,45	13,19	16,19	0,00
Otros componentes globales										
(Carbono) C7	54,54	50,12	52,35	54,85	51,64	56,55	0,00	0,00	0,00	12,00
(Calcio) C8	0,23	0,06	0,29	0,29	0,14	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00
(Fósforo) C9	0,04	0,07	0,14	0,05	0,03	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00
(Magnesio) C10	0,15	0,06	0,06	0,22	0,03	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00
(Potasio) C11	1,88	0,11	2,96	0,99	0,92	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00
(Cobre) C12	7,67	7,00	6,47	6,90	12,55	24,00	0,00	0,00	0,00	0,00
(Hierro) C13	186,00	135,00	461,00	185,00	416,89	189,00	0,00	0,00	0,00	0,00
(Cinc) C14	12,33	11,00	22,11	7,90	17,88	70,00	0,00	0,00	0,00	0,00
(Manganeso) C15	126,40	98,00	59,00	98,00	63,40	123,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Mezcla restricciones en productos										
Mínimos (%)	0,0	0,0	0,0	20,0	15,0	20,0	5,0	0,0	0,0	
Máximos (%)	20,0	20,0	38,0	50,0	55,0	50,0	12,0	12,0	12,0	
Recorrido (%)	20,0	20,0	38,0	30,0	40,0	30,0	7,0	12,0	12,0	

Figura 4. Entrada de datos al programa.

Diseño de la mezcla en el programa

Para el diseño de la mezcla, el usuario se sitúa en la sección de mezcla final (Figura 5) y con los botones de la ventana correspondiente se manipulan los porcentajes de cada producto (residuos) que conformarán la mezcla, dentro de los intervalos establecidos en las restricciones prefijadas, caso contrario aparecerá una señalización en rojo. La mezcla se la lleva al 100 %, apareciendo de igual forma el aviso en rojo si se encuentra por debajo o por arriba de este valor.

El programa ofrece las facilidades de obtener automáticamente las cantidades en porcentaje de cada producto que conformará la mezcla.

Productos	P1 Rastrojo de Maíz	P2 Cascarilla de Arroz	P3 Paja de Cebada	P4 Rastrojo de Lenteja	P5 Paja de Trigo	P6 Bagazo de Caña	P7 Cascarilla de Café	P8 Salvado de Trigo	P9 Harina de Soya	P10 Carbonato de Calcio	Prom	%
Composición												
Humedad	10,11	9,12	13,81	13,61	13,77	13,91	10,00	10,00	11,00	0,00	11,70	0,13
Materia seca (%)	89,89	90,88	86,19	86,39	86,23	86,09	90,00	90,00	89,00	0,00	88,30	1,00
Componentes												
(Nitrógeno) C1	0,38	0,77	0,84	1,29	0,51	1,11	1,30	7,81	7,81	0,00	2,42	0,03
(Lignina) C2	7,02	22,53	10,53	16,12	10,69	14,40	13,25	18,00	13,00	0,00	13,95	0,16
(Celulosa) C3	42,48	36,53	47,14	40,32	51,78	44,87	34,00	34,00	23,00	0,00	39,35	0,45
(Hemicelulosa) C4	26,73	18,41	21,35	10,27	20,42	16,99	21,00	17,00	29,00	0,00	20,13	0,23
(vacío) C5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
(Otros) C6	13,28	12,64	6,33	18,39	2,83	8,72	20,45	13,19	16,19	0,00	12,45	0,14
Otros componentes globales												
(Carbono) C7	54,54	50,12	52,35	54,85	51,64	56,55	0,00	0,00	0,00	12,00	53,34	0,604
(Calcio) C8	0,23	0,06	0,29	0,29	0,14	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	0,002
(Fósforo) C9	0,04	0,07	0,14	0,05	0,03	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,001
(Magnesio) C10	0,15	0,06	0,06	0,22	0,03	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,001
(Potasio) C11	1,88	0,11	2,96	0,99	0,92	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	1,16	0,013
(Cobre) C12	7,67	7,00	6,47	6,90	12,55	24,00	0,00	0,00	0,00	0,00	10,77	0,122
(Hierro) C13	186,00	135,00	461,00	185,00	416,89	189,00	0,00	0,00	0,00	0,00	262,15	2,969
(Cinc) C14	12,33	11,00	22,11	7,90	17,88	70,00	0,00	0,00	0,00	0,00	23,54	0,267
(Manganeso) C15	126,40	98,00	59,00	98,00	63,40	123,00	0,00	0,00	0,00	0,00	94,63	1,072
Mezcla restricciones en productos												
Mínimos (%)	0,0	0,0	0,0	20,0	15,0	20,0	5,0	0,0	0,0		6,67	
Máximos (%)	20,0	20,0	38,0	50,0	55,0	50,0	12,0	12,0	12,0		29,89	
Recorrido (%)	20,0	20,0	38,0	30,0	40,0	30,0	7,0	12,0	12,0		23,22	
Mezcla												
Mezcla (final %)	11,00	11,00	9,00	22,00	8,00	20,00	10,00	0,00	0,00	2,00	13,00	93,00
Masa mezcla Kg												
Masa total	400,0											
Por producto	44,0	44,0	36,0	88,0	32,0	80,0	40,0	0,0	0,0	8,0		

Figura 5. Diseño de la mezcla final.

A medida que el usuario modifique los porcentajes de participación de los productos en la mezcla, puede observarse en forma gráfica el comportamiento de la misma entre los límites máximos y mínimos señalados como restricciones (Figura 6).

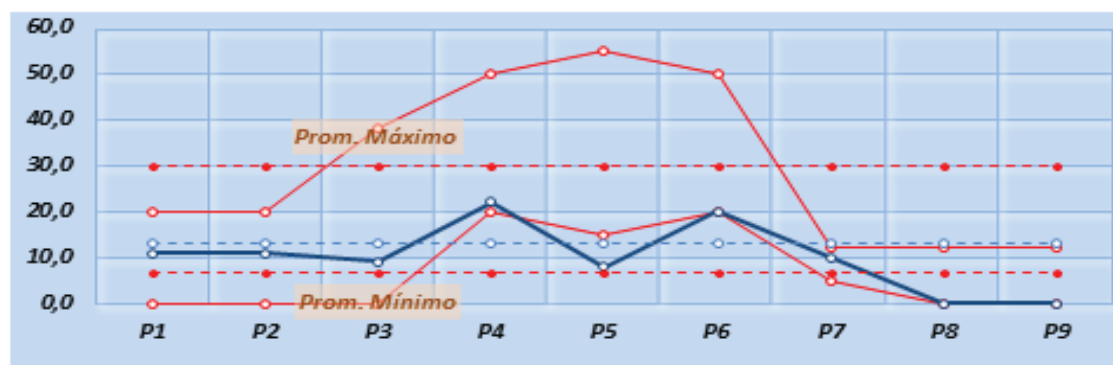


Figura 6. Comportamiento de la mezcla con respecto a las restricciones de límites máximos y mínimos.

Resultado final de la mezcla

Al final del diseño aparece la última caja de diálogo donde se puede apreciar la composición final de la mezcla en forma gráfica y tabular (Figura 7). En la misma aparecen de forma diferenciada los componentes (%), los minerales en porcentaje y en mg/kg. Se considera muy importante obtener la composición completa de la mezcla, fundamentalmente del contenido de nitrógeno y de la relación (C/N).



Figura. 7. Resultado final de la composición de la mezcla.

Si el usuario deseara conocer de la mezcla cual es el aporte en componentes de cualquiera de los productos puede ir al gráfico de barras que se encuentra en la parte superior de la mezcla y con el botón de la pestaña señala el producto y se despliega el gráfico con todos los componentes (Figura 8). Si además, deseara tener la información sobre cuál ha sido la contribución de cada producto en un determinado componente, en el mismo gráfico selecciona el componente y puede apreciar el comportamiento (Figura 9).

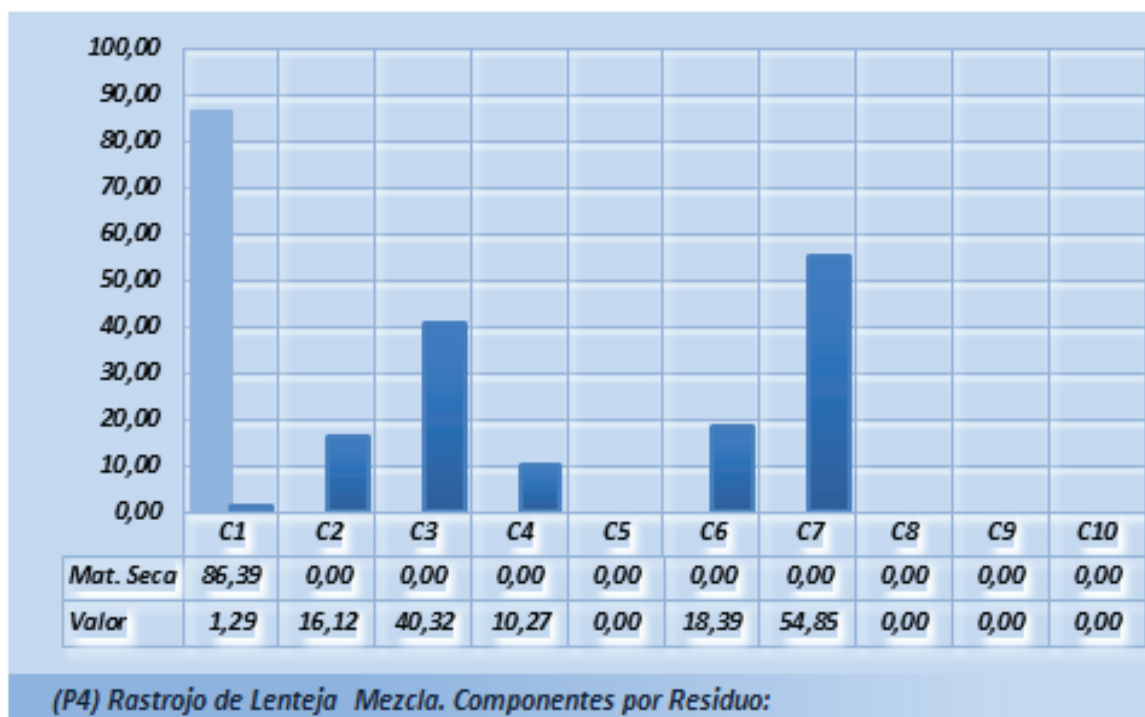


Figura. 8 Aporte en componentes de un producto determinado.

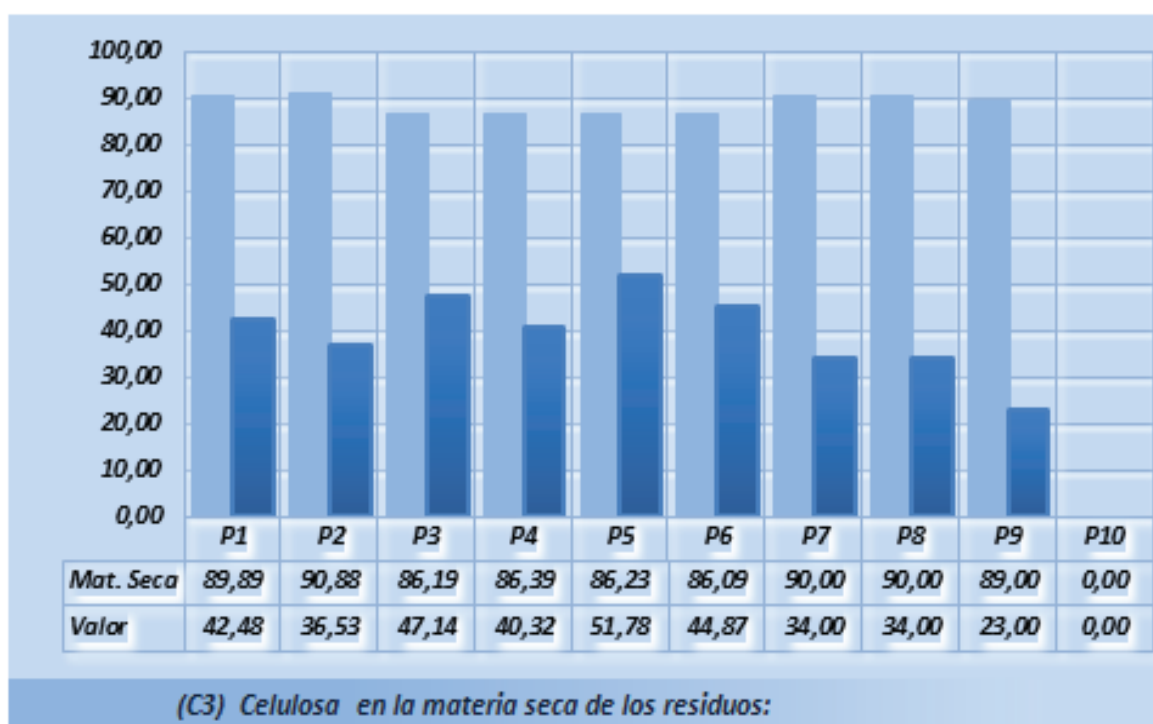


Figura. 9. Contribución de cada producto en un determinado componente.

El programa es dinámico y le permite al usuario interactuar con múltiples opciones para el diseño de la mezcla y visualizar con facilidad como se va comportando la misma. En la literatura no se encontraron programas publicados con estas características y este propósito.

3.3 Diseño de mezclas estandarizadas en la relación carbono nitrógeno para el cultivo del hongo

Para el cultivo del hongo *Pleurotus* se recomienda un contenido de nitrógeno entre 0,5 a 1,5 % como el más adecuado (Sánchez y Royse, 2002; Pardo y col., 2008), criterio que fue considerado en el diseño de las mezclas y se incrementó el límite superior para ampliar el análisis del comportamiento de la cepa empleada en esta investigación.

Para el diseño de las mezclas, se utilizó el Programa de Mezclas de Residuos Agrícolas para el Cultivo del Hongo *Pleurotus ostreatus* (Fernández y col., 2013)

Partiendo de los resultados de la caracterización de los residuos, se diseñaron siete mezclas (Tabla 8), cada una conformada por tres residuos en el orden creciente siguiente: cascarilla de arroz (10 a 20 %), paja de cebada (14 a 40 %), bagazo de caña de azúcar (28-42 %), rastrojo de lenteja (14 a 45 %), y el rastrojo de maíz (42 a 60 %), por ser el de mayor producción en la zona. La variable manipulada fue el nitrógeno en un rango de 0,6 a 1,8 %, ajustando los valores de nitrógeno, mediante la mezcla de diferentes proporciones de los residuos o utilizando harina de soya como suplemento del 0 al 10 %, que dio como resultado una variación en la relación C/N en un intervalo de 88,68 a 26,29, quedando las mezclas estandarizadas en la relación C/N, indicador que se consideró para el cultivo del hongo. Los resultados obtenidos en esta investigación, exceptuando los dos valores más bajos de la relación C/N, son comparables a los reportados por Chang y Miles (2009), que recomiendan una relación C/N de 32 a 150 como más efectiva para *Pleurotus spp.* Cada mezcla diseñada de acuerdo a su composición fue considerada como un sustrato específico donde se cultivó el hongo.

Tabla 8. Mezclas diseñadas para el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus*

	Residuos que componen la mezcla (%)						Indicadores de estandarización	
Mezcla	RM	CA	PC	RL	BCA	HS	N (%)	C/N
M1	60	10	0	0	28	0	0,6	88,68
M2	42	0	0	14	42	0	0,8	66,59
M3	30	0	26	40	0	2	1,0	53,15
M4	0	14	40	0	40	4	1,2	43,43
M5	20	0	0	32	40	6	1,4	37,31
M6	0	20	25	45	0	8	1,6	30,79
M7	0	0	14	36	38	10	1,8	26,29

Leyenda: RM (rastrojo de maíz), CA (cascarilla de arroz), PC (Paja de cebada), RL (rastrojo de lenteja), BCA (bagazo de caña de azúcar), HS (harina de soya), N (nitrógeno) y C/N (relación carbono nitrógeno)

En la Figura 10 se presenta el comportamiento de los diferentes componentes en cada mezcla. El carbono y la celulosa presentaron los valores más altos y con poca variación en las mezclas, los valores para la hemicelulosa fluctuaron entre 15,15 a 22,67 % y para la lignina entre 10,61 a 16,24 %. El intervalo de dispersión de los valores está en relación a la composición de los residuos utilizados en esta investigación (Tabla 5).

El hongo *Pleurotus* se ha cultivado con buenos resultados en la paja de cebada, rastrojo de maíz, bagazo de caña de azúcar, rastrojo de soya, con un contenido de celulosa entre 43 a 48 %, hemicelulosa de 15 a 26 % y de lignina 14 a 20 %, (Sánchez y Royse, 2002; Fanadzo y col., 2010; Getahun, 2011), por lo que estos componentes en las mezclas están en los intervalos reportados en la literatura.

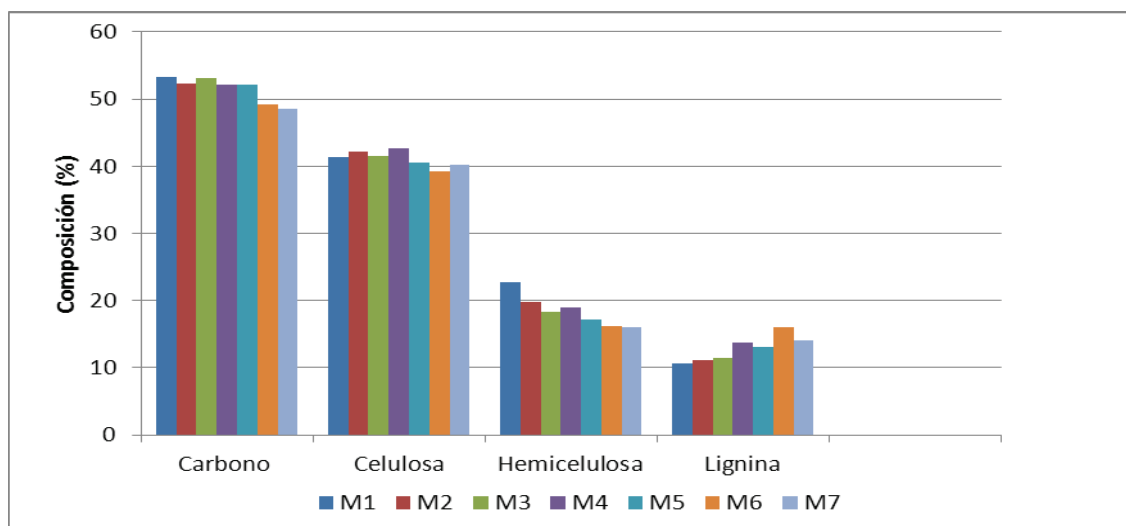


Figura 10. Comportamiento de los componentes por mezcla.

En la Figura 11 se presenta el comportamiento de los minerales en las mezclas. Como puede observarse el calcio, vario entre 0,171 a 0,260 %, el fósforo de 0,042 a 0,098 %, el magnesio fue el que presentó la menor variación (0,111 a 0,148 %) y el potasio la más alta (0,855 a 1,858 %). Al respecto no se encuentran datos de las concentraciones específicas de estos elementos para un óptimo desarrollo del *Pleurotus*.

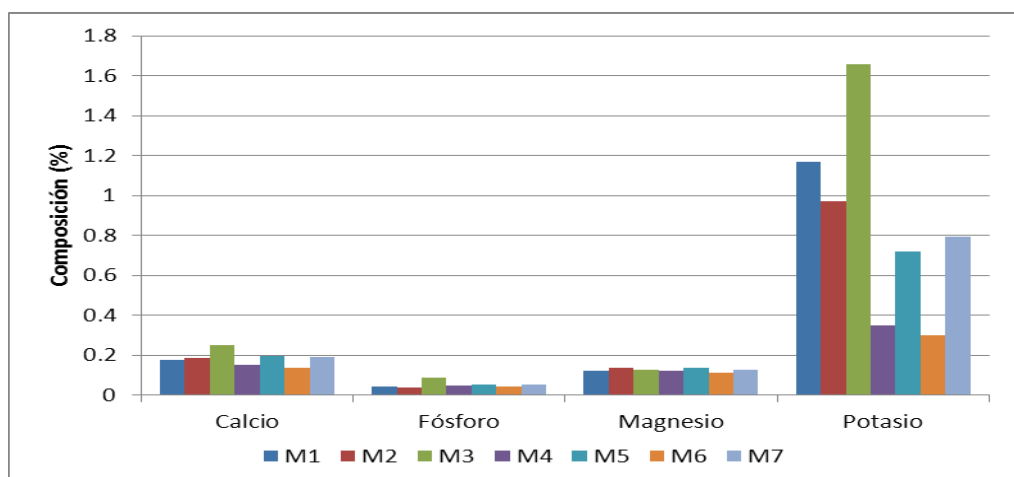


Figura 11. Comportamiento de la composición de los minerales mayoritarios por mezcla.

En la Figura 12, puede apreciarse que el contenido de los minerales minoritarios en las diferentes mezclas presentó una amplia variación. Dentro de este grupo los valores más bajos fueron para el cobre, seguido del cinc y manganeso y el valor más alto fue para el hierro. Estos micronutrientes son requeridos por el hongo en concentraciones menores,

por lo que pueden ser suministrados por el propio sustrato (Manu y col., 1988; Anonymous, 2008).

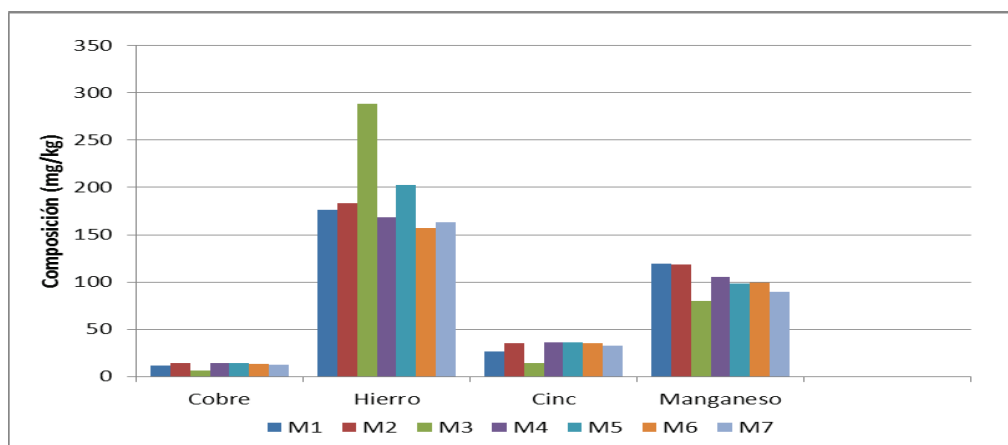


Figura 12. Comportamiento de la composición de los minerales minoritarios por mezcla.

Se conoce que el contenido de nitrógeno en equilibrio con el carbono incide en obtener buenos rendimientos y en la calidad de los cuerpos fructíferos; por lo que se ensayaron las diferentes mezclas, manipulando la variable nitrógeno para modificar la relación C/N, que permitiera estudiar y llegar a conclusiones sobre un rango óptimo donde se produzca la mayor biodegradación del material lignocelulósico y por lo tanto el mayor aporte de los nutrientes para el mejor crecimiento del hongo y contenido proteico de los cuerpos fructíferos, con el fin de lograr una mayor productividad en el cultivo y contenido de proteína en el hongo *Pleurotus*.

3.4 Evaluación de tres cepas de *Pleurotus ostreatus*

Los resultados de la evaluación de tres cepas de *Pleurotus*, se presentan en la Tabla 9.

Tabla 9. Valores promedio del diámetro de la colonia en cada cepa a los 9 días

Temperatura (°C)	Diámetro de la colonia (cm)		
	Cepa		
	6.88	768/12	32/99
20	4,26	4,60	2,30
25	5,99	6,47	4,43
30	6,49	5,08	2,75

Se evaluaron tres cepas de *Pleurotus*, la 6.88, 768/12 (procedente del ecuador) y la 32/99, observándose a 25 °C un mayor crecimiento micelial (diámetro de la colonia) a los 9 días

(fase exponencial de crecimiento) para la cepa autóctona procedente del Ecuador y para la 6.88 a los 30 días. Se seleccionó la autóctona como cepa de trabajo por su identidad y temperatura más baja de incubación.

3.5 Evaluación de los resultados de producción del cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* en las mezclas diseñadas

Se evaluó la producción del cultivo del hongo en las mezclas estandarizadas en la relación C/N (88,68 a 26,29). Para cada una de las variables respuesta se realizó un análisis de varianza (ANOVA), conforme a un diseño completamente al azar y una comparación de medias mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0,05 (Tabla 10).

Tabla 10. Valores medios de la aparición de primordios, peso fresco, eficiencia biológica, contenido de proteína, rendimiento y tasa de producción por mezcla

Mezclas	Valores medios					
	Aparición de primordios (días)	Peso del hongo fresco (g)	Eficiencia Biológica (%)	Proteína (%)	Rendimiento (%)	Tasa de producción (%) / día
M1	27 a (1,20)	731,84b (28,69)	146,56b (7,76)	20,89d (1,13)	36,59b (1,44)	2,01b (0,14)
M2	27 a (1,20)	762,01b (50,49)	154,09b (11,58)	23,48c (1,04)	38,10b (2,53)	2,07b (0,15)
M3	25b (1,85)	869,12 a (13,42)	178,37a (6,12)	30,34 a (1,10)	43,45 a (0,88)	2,93 a (0,39)
M4	25b (1,51)	855,19 a (58,61)	173,96 a (12,35)	31,43 a (0,25)	42,76 a (2,33)	2,81 a (0,36)
M5	25b (0,96)	853,84 a (28,09)	169,15 a (3,82)	29,31a (1,07)	42,69 a (1,89)	2,74 a (0,38)
M6	44c (1,07)	286,89c (49,34)	58,89c (10,06)	26,39b (1,33)	14,34c (2,47)	0,80c (0,13)
M7	45c (1,41)	199,22d (51,32)	40,11d (10,81)	23,71c (0,57)	9,96d (2,57)	0,54d (0,14)

* Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Los valores () se refieren a la desviación estándar

3.5.1 Aparición de primordios

Para la aparición de primordios se observó que los tratamientos formaron tres grupos (a, b y c) diferentes estadísticamente. Como se puede observar el menor tiempo (25 días) se obtuvo para las mezclas M3 (1 % de N), la mezcla M4 (1,2 % de N) y la mezcla M5 (1,4 % de N) respectivamente, seguido por las mezclas M1 (0,6 % de N) y la mezcla M2 (0,8 % de N) con un tiempo muy cercano al primero (27 días) y el tiempo más largo (44 y 45 días) resultó para las mezclas M6 (1,6 % de N) y la mezcla M7 (1,8 % de N), respectivamente. Se dedujo que la variabilidad tan marcada en el tiempo de fructificación de las mezclas M6 y M7 con respecto a las restantes, se debió al mayor contenido de nitrógeno lo cual incidió en una disminución de la relación C/N en estas mezclas.

Estos resultados son comparables a los obtenidos por Getahun (2011), quién utilizando una cepa comercial de *Pleurotus ostreatus* reportó la aparición de primordios en rastrojos de soya y de maíz en un tiempo de 21 a 25 días y para el aserrín de 41 días, que por su bajo contenido de nitrógeno tiene una relación C/N muy alta (459,9), que posiblemente influyó en este resultado. Sharma y col, (2013) cuando trabajaron con paja de arroz mezclada con paja de trigo obtuvieron un tiempo promedio de 22 días.

3.5.2 Peso del hongo fresco

Los pesos en estado fresco de las setas obtenidos en cada una de las mezclas se agruparon en cuatro grupos estadísticamente diferentes. Para las mezclas M3, M4 y M5 se alcanzaron los valores medios más altos (869,12; 855,19 y 853,84 g) respectivamente, observándose un promedio superior para la mezcla M3 y entre las dos restantes muy poca variación; mientras que para las mezclas M1 y M2 los valores medios fueron más bajos (731,84 y 762,01g), no obstante la media de la mezcla M2 (0,8 % de N) fue un tanto mayor y luego hay un descenso altamente significativo en los valores medios de los pesos para las mezclas M6 y M7 (286,89 y 199,22), suplementadas con los valores más

altos de harina de soya (8 y 10 %), diferencias que podrían explicarse debido a un calentamiento del sustrato en el período de incubación que posiblemente impidió el desarrollo de los cuerpos fructíferos. Trabajos realizados con otros tipos de sustratos han demostrado tener resultados similares (Pardo y col., 2008; Gea, 2011; Muez y Pardo, 2008; Cunha y col., 2011).

3.5.3 Eficiencia biológica

Al realizar la prueba de ANOVA a este indicador dio diferencias significativas entre las mezclas y al aplicar la prueba de Tukey las mismas quedaron agrupadas en cuatro grupos. La EB más alta se alcanzó en las mezclas M3 (178,37 %), M4 (173,96 %) y M5 (169,15 %), en un intervalo de contenido de nitrógeno de 1 a 1,4 %, utilizando como suplemento nitrogenado harina de soya (2,4 y 6 %) y difirió significativamente de las mezclas M1 (146,56 %) y M2 (154,9 %) sin suplemento, no obstante los resultados obtenidos son superiores al 100 % por lo que pueden considerarse buenas. La eficiencia biológica más baja se la obtuvo en las mezclas M6 y M7 (58,89 y 40,11 %) utilizando como suplemento los niveles más altos de harina de soya (8 y 10 %), como se observa la tendencia a disminuir fue la misma que se presentó en la variable antes analizada, resultado que era de esperarse por la relación del peso con este indicador.

Al someter los resultados de la eficiencia biológica (EB) a un análisis de regresión múltiple tomando como variables independientes el contenido de nitrógeno (N %) y la relación carbono nitrógeno (C/N) en las mezclas, se encontró solamente una dependencia significativa con la relación C/N, obteniéndose la ecuación de regresión siguiente:

$$EB(\%) = -817,713 + 50,3758\left(\frac{C}{N}\right) + 0,00411748(C/N)^3 - 0,810384(C/N)^2$$

$$R = 0,936 \quad p \leq 0,01$$

La ecuación de regresión presentó muy buena bondad de ajuste y describe claramente el comportamiento de este indicador en las mezclas con respecto a la relación carbono

nitrógeno. La representación gráfica del comportamiento de la eficiencia biológica con relación al C/N se presenta en la Figura 13.

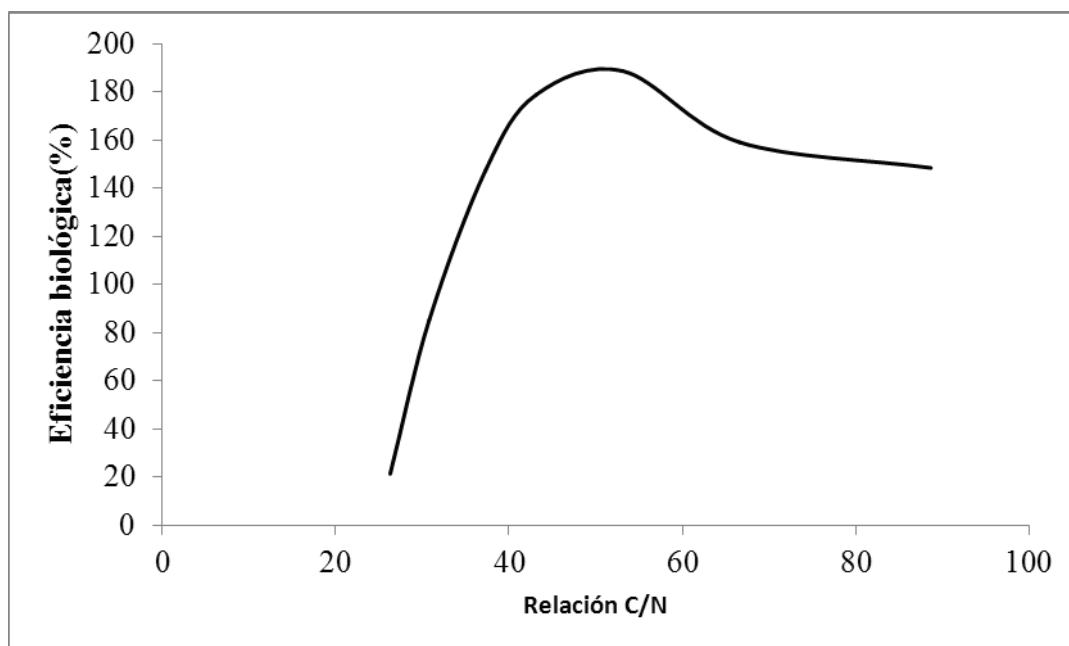


Figura 13. Comportamiento de la eficiencia biológica en el hongo con respecto a la relación carbono nitrógeno en la mezcla

Como puede apreciarse existe una zona en la relación C/N donde la EB se hizo máxima y se localizó en el intervalo de 37 a 53, que coincide con las mezclas M3, M4 y M5. Cabe destacar que la adición del suplemento nitrogenado influyó sobre la EB, modificando la relación C/N en la mezcla, resultando ser la relación C/N (53,15) la que dio el más alto rendimiento con un incremento del 13,29 % con relación a las mezclas no suplementadas y disminuyó en un 52,59 % respecto a las mezclas con relación C/N inferior a 37, suplementadas con niveles de 8 a 10 % de harina de soya.

Los resultados de la EB obtenidos en esta investigación excluyendo las mezclas M6 y M7 son superiores a los reportados por Sharma y col. (2013), quienes al estudiar varios residuos encontraron que la mayor eficiencia biológica (95,46 %) correspondió a los de mayor contenido de nitrógeno y la menor para los más bajos en nitrógeno (66 %). Upadhyay y col. (2002) para *Pleurotus ostreatus* obtienen la más alta EB (73,2 y 83,2 %) cuando utilizaron paja de trigo con la adición del 5 % y 10 % de harina de soya

3.5.4 Contenido de proteína

El análisis de varianza realizado a esta variable (Tabla 9) arrojó diferencias significativas entre las mezclas y al aplicar la prueba de Tukey entre los valores medios se formaron cuatro grupos.

Como puede observarse el contenido de proteína fue aumentando a medida que en las mezclas se incrementó el contenido de nitrógeno, el valor más alto (31,43 %) fue para la mezcla M4 (1,2 % de nitrógeno) con 4 % de harina de soya, pero a partir de la mezcla M5 (1,6 % de nitrógeno) se manifiesta la tendencia a una disminución.

Al someter estos resultados a un análisis de regresión múltiple tomando como variables en las mezclas el contenido de nitrógeno y la relación carbono nitrógeno dio como resultado que la variable de mayor significación fue la relación carbono nitrógeno. La ecuación de regresión obtenida fue la siguiente:

$$P(\%) = -19,3428 + 2,64935\left(\frac{C}{N}\right) + 0,000218192(C/N)^3 - 0,0441057(C/N)^2$$

Donde:

P = proteína

R = 0,9235 p ≤ 0,01

Como puede apreciarse la dependencia del contenido de proteína con la relación carbono nitrógeno fue alta. Haciendo uso de la ecuación de regresión se presenta el resultado en forma gráfica (Figura 14).

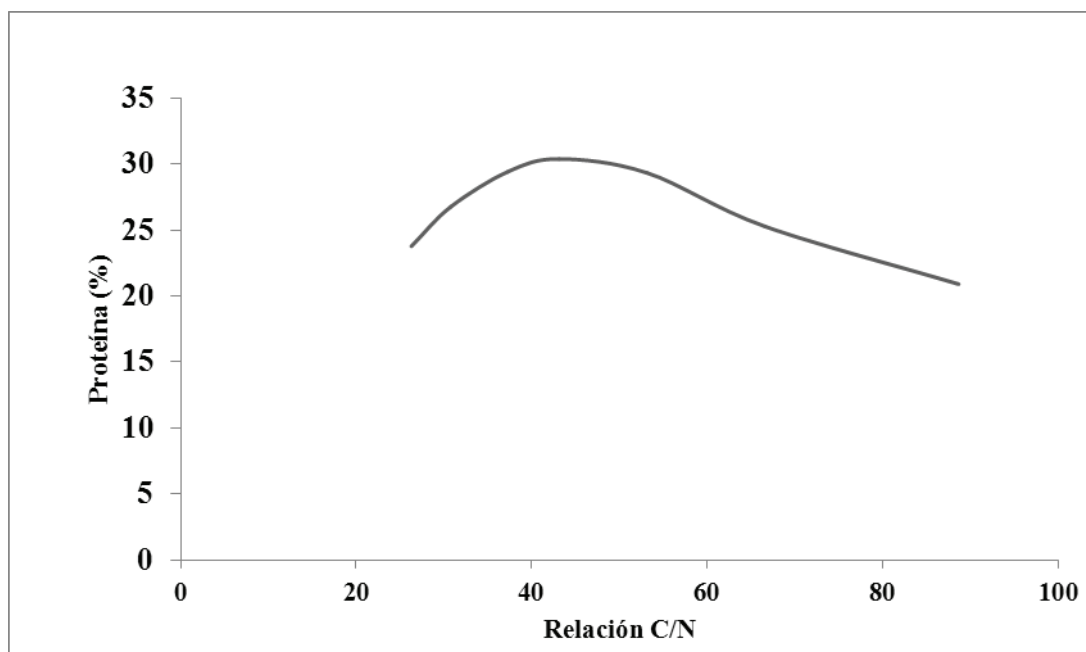


Figura 14. Contenido de proteína en el hongo con respecto a la relación carbono nitrógeno en la mezcla.

El modelo describe claramente el comportamiento del contenido de proteína, donde la tendencia es a aumentar con el incremento de la relación C/N (disminución del contenido de nitrógeno) hasta un determinado valor donde la tendencia es a disminuir, lo que evidencia que existe una región o intervalo amplio en la relación carbono nitrógeno (37 a 53). donde el contenido de proteína en el hongo fue máxima, que coincide con las mezclas M3, M4 y M5.

En general estos resultados concuerdan con lo reportado por Sharma y col., (2013) quienes señalaron que la relación C/N influye significativamente en los valores obtenidos de la composición química del hongo *Pleurotus ostreatus*.

Getahun (2011) reportó el valor más alto de proteína (28,9 %) para el hongo ostra cuando utilizó rastrojo de soya (C/N 62,35) lo cual coincide parcialmente con estos resultados.

La relación C/N del sustrato es determinante en el desarrollo inicial del hongo, dado el valor que tiene el carbono para la formación de nuevas células; una baja relación C/N en el sustrato va a influir de manera negativa durante la etapa de crecimiento micelial (Sánchez y Royse, 2002; Gaitán y col., 2009; Getahun, 2011)

3.5.5 Rendimiento

En las siete mezclas evaluadas se observa que se formaron cuatro grupos diferentes estadísticamente, con una fluctuación en el rendimiento entre valores de 9,96 y 43,45 %.

La relación de las variables medidas como la EB y el tiempo de cosecha, son determinantes en la obtención de estos resultados. Los rendimientos más bajos se obtuvieron en las mezclas con bajo crecimiento micelial y más tardías en la cosecha, con la adición de 8 y 10 % de harina de soya y los más altos rendimientos con las mezclas con 2, 4 y 6 % de harina de soya y un período de tiempo más corto de cosecha

Los valores más altos de rendimiento del hongo se lograron en el intervalo de C/N de 37,31 a 53,15.

Estos resultados son superiores a los obtenidos por Siqueira y col., (2012) cuando trabajaron con pajas mezcladas con pasto, obtuvieron rendimientos entre 19,1 a 21,2 %. Cunha y col., (2011), para las mezclas de bagazo de caña de azúcar y pajas de cereales con adición de harina de soya y urea (N, 1,6 - 1,81 % y C/N 20 - 23) obtuvieron rendimientos entre 9,13 y 10,77 %, estos valores son comparables a los resultados obtenidos en las mezclas M6 y M7 con mayor contenido de nitrógeno

3.5.6 Tasa de producción

La evaluación de la tasa de producción es el indicador que refleja de mejor manera el rendimiento de la producción del hongo ya que incluye el tiempo desde la inoculación hasta el último día de cosecha, asumiendo que mientras menor es el tiempo, los costos de producción también son menores y los riesgos de contaminación. Las mezclas M3, M4 y M5, fueron superiores y diferentes estadísticamente de las otras mezclas.

Estos resultados (2,74 – 2,93 % /día) indican que la producción de setas en estas mezclas se las obtuvo en el menor tiempo. Pérez y Mata (2005), cuando trabajaron con diferentes cepas y paja de cebada obtuvieron una tasa de producción entre 1,53 a 2,46 % y en viruta

de pino entre 0,68 a 1,13 %. Estos resultados son parcialmente comparables a los obtenidos en esta investigación.

Los resultados alcanzados en esta investigación trabajando con mezclas de residuos para el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* confirmaron que la mayor o menor productividad y contenido proteico tiene una alta dependencia con la relación C/N.

Al trabajar con mezclas de residuos lignocelulósicos estandarizadas en la relación C/N para el cultivo del hongo *Pleurotus* se comprobó que es posible la adición de harina de soya hasta un 6 % para suplir el nitrógeno en sustratos pobres en este elemento, valores superiores de adición dificultan el crecimiento micelial debido posiblemente a un incremento en la temperatura del sustrato por las actividades metabólicas más aceleradas. Por lo que cuando se utilicen sustratos pobres en nitrógeno y sea necesario adicionar harina de soya o cualquier otro suplemento nitrogenado (salvados de cereales, etc.), es fundamental que se considere la relación C/N, factor importante para un óptimo desarrollo del hongo ostra (Kang, 2004).

3.6 Caracterización del hongo *Pleurotus ostreatus* obtenido en las mezclas diseñadas

Los cuerpos fructíferos utilizando la cepa ICFC 768/12 a partir de las tres mejores mezclas con las que se obtuvo la mayor eficiencia biológica y contenido de proteína, fueron mezclados para evaluar su composición físico-química, medición del pH y actividad de agua (Tabla 11).

Una de las características de los hongos comestibles es su alto contenido de humedad y bajo contenido de grasa, lo que se ve reflejado en los resultados obtenidos en esta investigación y concuerda con los valores reportados en la literatura para este tipo de hongo, en el caso de la humedad en un intervalo de 85,24 a 93,49 %, y para la grasa de 1,6 a 2,2 % (Buswell y Chang, 1993). En cuanto a la proteína el valor alcanzado en este trabajo es comparable al rango más alto reportado por estos mismos autores (10,5 a 30,4

%) y la fibra es aproximadamente el 50 % superior a la obtenida (7,5 a 8,7 %) por Chang y Miles (1989).

Tabla 11. Composición físico-química del hongo *Pleurotus ostreatus* ($n = 3$)

Componentes	Valor medio	Desviación estándar
Humedad (%)	88,12	1,24
Cenizas (%)	7,69	0,32
Proteína (%)	31,43	0,25
Grasa (%)	1,14	0,02
Fibra total (%)	15,09	0,08
ELN (%)	44,71	0,30
Ca (%)	0,05	0,01
P (%)	0,68	0,01
K (%)	0,29	0,01
Mg (%)	0,17	0,02
Na (%)	0,03	0,01
Cu (mg/kg)	7,0	1,0
Fe (mg/kg)	96,0	1,0
Mn (mg/kg)	8,0	1,0
Zn (mg/kg)	80,0	1,7
β -glucanos (%)	3,88	0,01

Los resultados se expresan en base seca

El resultado del análisis del pH del hongo *Pleurotus* fue de 6,5 a 6,6 y la actividad de agua de 0,954 a 0,973 lo que denota que es un producto altamente perecedero. En la literatura no se encuentran trabajos publicados al respecto.

En cuanto a la composición de minerales es muy variable respecto a lo reportado en la literatura dado fundamentalmente por la composición del sustrato y la cepa utilizada. Los valores encontrados en este hongo en cuanto a hierro y cinc fueron muy superiores respecto a otros trabajos publicados (Ciappini y col., 2004; Mattila y col., 2001).

Se puso especial atención a la determinación del contenido de β -glucanos en los cuerpos fructíferos del hongo ostra por sus características funcionales, el valor obtenido (3,88 % bs) se encuentra dentro de los rangos reportados en la literatura (2,53 a 4,94 %) por otros autores (Nitschke y col., 2011), cabe recalcar que numerosos autores han señalado que la

presencia de este componente en el hongo es lo que le confiere propiedades medicinales como disminución del colesterol, prevención de la diabetes, cáncer incluyendo efectos antitumorales e inmuno-potenciadoras entre otras (Liu y col., 2005; Israilides y col., 2008; Agrawal y col., 2010)

3.7 Evaluación de las propiedades funcionales del hongo *Pleurotus ostreatus* y de la emulsión carne hongo grasa en las diferentes formulaciones

Para utilizar el hongo *Pleurotus* como materia prima en sustitución de la carne de cerdo para la elaboración de la salchicha, fue necesario conocer el comportamiento de sus propiedades funcionales así como de la emulsión carne - hongo - grasa

3.7.1 Evaluación de las propiedades funcionales del hongo *Pleurotus ostreatus*

Se evaluó el comportamiento de sus propiedades funcionales, que incidirían luego en la estabilidad de la emulsión otorgada por las proteínas presentes. Para el caso de la carne estas propiedades han sido evaluadas y se reportan en múltiples trabajos, mientras que para el caso del hongo sometido a un tratamiento térmico (escaldado) no se encuentran reportes en la literatura por lo que sus propiedades funcionales no se conocen. Los resultados se presentan en la Tabla 12.

Tabla 12 Propiedades funcionales del hongo *Pleurotus ostreatus*

Propiedad	Valores medios	Desviación estándar
Capacidad de hinchamiento mL/g de hongo	4,80	0,20
Capacidad de retención de agua g/g de hongo	0,34	0,03
Capacidad emulsificante mL/ g de hongo	8,80	0,80

Como se observa, el hongo muestra una aceptable capacidad de hinchamiento, indicando que es capaz de absorber agua, probablemente debido a su estructura esponjosa. En comparación con otros productos donde se ha estudiado esta propiedad, esta capacidad de hinchamiento es menor. Por ejemplo en un trabajo realizado con un concentrado de fibra

de zanahoria, el valor obtenido fue de 33,3 mL/g de concentrado de fibra (Eim, 2012), resultando mayor al obtenido en esta investigación. Elleuch y col. (2011), han encontrado valores de 4 mL/g de fibra en cereales, resultado muy similar al obtenido en este trabajo. En este sentido, el hongo actúa de forma equivalente a la fibra alimentaria y su hidratación tiene un gran interés tecnológico y nutricional, pues el agua juega un papel fundamental en la plasticidad y la fisiología de la pared celular. Los parámetros más significativos relativos al proceso de hidratación son el hinchamiento, la capacidad de retención de agua, y la solubilidad siendo estas propiedades determinantes en la regulación del flujo digestivo, la disponibilidad de nutrientes, la viscosidad y la mezcla del bolo alimenticio así como en el comportamiento de la fibra alimentaria una vez incorporada a sistemas alimentarios estandarizados.

Con relación a la CRA los valores obtenidos son comparables a los reportados (33,62 %) para carne de cerdo (Gamboa y col., 2011) y superiores a los reportados para la carne de res, (Rengifo y Ordoñez, 2010; Mamami y Gallo, 2011), pollo, conejo ovino y pescado (Rengifo y Ordoñez, 2010). Si bien los métodos empleados no siempre son los mismos, los resultados obtenidos apoyan el criterio del empleo del hongo como sustituto de la carne en productos de pasta fina.

Por otra parte, las propiedades de emulsificación de un ingrediente para un producto de pasta fina, representan un criterio importante para evitar la separación de grasa durante la cocción, para la retención de sabores y para disminuir el desarrollo de la rancidez oxidativa lo que en consecuencia, aumenta la estabilidad durante el almacenamiento. La estabilidad de una emulsión cárnica se relaciona con la cantidad de grasa que puede soportar sin romperse, lo cual es la característica básica de las salchichas y de otros productos cárnicos de pasta fina (bolona, paté, etc.). Los valores encontrados en este trabajo para la capacidad emulsificante, están en el rango reportado por Delgado y

Albarracín (2012) para harinas de diferente origen. (7,46 – 15,35 mL aceite/g harina) y son similares a los reportados para carne de cerdo (8,533) por Rengifo y Ordoñez (2010

3.7.2 Evaluación de las propiedades funcionales de la emulsión carne-hongo-grasa en las formulaciones experimentales de la salchicha

Para la elaboración del producto con la incorporación del hongo *Pleurotus*, primeramente se evaluaron las propiedades funcionales de la emulsión carne-hongo-grasa de las formulaciones obtenidas en forma aleatoria utilizando el programa Design Expert 8.0, tomando en cuenta que no hay estudios precedentes para la elaboración de este tipo de producto. Los resultados se muestran en la Tabla 13

Tabla 13. Valores medios y desviación estándar de las propiedades funcionales de la emulsión carne-hongo- grasa en las formulaciones experimentales

Fórmula	CRA (g/g)	Desviación estándar	CE (mL/g)	Desviación estándar	CRL (g/g)	Desviación estándar
1	0,35 a	0,05	14,8 a	0,1	1,79 b	0,02
2	0,36 a	0,02	10,4 d	0,1	2,83 a	0,02
3	0,35 a	0,01	10,4 d	0,1	1,79 b	0,02
4	0,34 b	0,02	12,8 b	0,7	1,77 b	0,02
5	0,36 a	0,01	15,2 a	0,2	2,84 a	0,03
6	0,36 a	0,02	12,7 b	0,2	2,83 a	0,02
7	0,34 b	0,02	11,2 c	0,2	1,74 b	0,03
8	0,35 a	0,02	10,4 d	0,1	2,83 a	0,02
9	0,35 a	0,03	12,7 b	0,2	2,84 a	0,02
10	0,35 a	0,30	14,8 a	0,2	1,79 b	0,02
11	0,35 a	0,01	14,6 a	0,1	2,80 a	0,01
12	0,33 c	0,01)	10,6 d	0,0	1,76 b	0,01
13	0,33 c	0,03)	10,5 d	(0,2	1,74 b	0,03
14	0,33 c	0,02	14,9 a	0,2	1,75 b	0,01
15	0,35 a	0,01	10,4 d	0,2	1,78 b	0,02
16	0,34 b	0,02)	12,8 b	0,0	1,77 b	0,03

Medias con letras diferentes en la misma columna difieren significativamente ($p < 0,05$).

Al analizar la CRA de las emulsiones, el análisis de varianza muestra tres grupos de valores, los cuales al ser organizados en orden ascendente de contenido de grasa en la formulación muestran también mayores valores de CRA, lo que coincide con lo obtenido por otros autores (Álvarez y col., 2007) quienes encontraron menor tendencia a la

exudación de agua en las emulsiones que contenían mayor contenido de grasa cuando no se emplea grasa en exceso.

Al analizar la CE de las emulsiones formadas, el análisis de varianza muestra cuatro grupos de valores, los cuales al ser organizados en orden ascendente de contenido de carne vacuna independientemente del contenido de grasa en la formulación, muestran que, la capacidad emulsificante en la emulsión aumenta, por el mayor contenido de proteína y disminuye al incrementarse el porcentaje de sustitución de hongo por carne, probablemente debido a la tendencia a la disminución del contenido de proteína. En cambio, cuando se organizan los grupos de valores de CRL, formados en dos grupos mediante el ANOVA en orden ascendente de contenido de grasa, se observa una clara asociación entre el porcentaje de grasa en fórmula y el valor obtenido de CRL, es decir, para emulsiones conteniendo hongo, de bajo contenido de grasa, la retención de lípidos aumenta al aumentar la grasa en fórmula, independientemente del porcentaje de sustitución de carne vacuna por hongo, lo cual puede ser explicado, por las buenas propiedades funcionales observadas para el hongo. Además un componente importante del *Pleurotus ostreatus* son los β glucanos. Un trabajo realizado añadiendo un concentrado de β glucanos a una formulación de hamburguesas, mostró que la ausencia de β glucanos en el control disminuyó significativamente ($p < 0,05$) la retención de grasa (Piñero y col, 2008)

3.8 Evaluación de las formulaciones experimentales de las salchichas con la incorporación del hongo *Pleurotus*

Las variables respuesta (a las 16 formulaciones) fueron evaluados a través del programa “Design Expert 8.0”, la matriz de resultados se muestra en el Anexo 4 (Tabla 14) y los modelos codificados para cada variable se discuten a continuación:

3.8.1 Rendimiento a la cocción

Con respecto al comportamiento de esta variable los valores obtenidos no se ajustaron a ninguno de los modelos analizados ni a sus transformaciones. En todos los casos la probabilidad de falta de ajuste fue $< 0,05$. Esto pudo darse quizá a la poca variabilidad en los resultados, debido a las características funcionales de la emulsión carne-hongo-grasa, con una muy buena capacidad en la retención de agua y la poca permeabilidad de la envoltura (celulosa) utilizada.

3.8.2 Comportamiento del pH

El análisis de varianza correspondiente demostró que el modelo de mejor ajuste fue el lineal, al obtenerse una probabilidad significativa para $p < 0,0001$. La prueba de falta de ajuste no resultó significativa para $p = 0,0675$. Los términos A (carne), B (hongo) y C (grasa) resultaron significativos para un valor $p < 0,05$, con un coeficiente de determinación $R^2 = 0,9688$, lo que significa que el modelo explica el 96,88 de las variaciones de pH en función del hongo empleado. La ecuación matemática del modelo fue la siguiente:

$$\text{pH} = 6,42 \cdot A + 6,61 \cdot B + 6,56 \cdot C$$

Se puede apreciar que todos los coeficientes son positivos y aportan por igual al pH, sin embargo el coeficiente del término B (hongo) es mayor, observándose que esta variable está más influenciada por el hongo que por la carne, resultado que pudiera estar asociado al valor del pH del hongo (6,6) un tanto mayor que el de la carne (5,6).

En el análisis de los residuos (errores) no se detectaron observaciones atípicas y los residuos estandarizados siguen la distribución normal con media 0 y desviación típica 1

3.8.3 Humedad

Para esta variable el modelo que permitió un mejor ajuste fue un especial cúbico, al obtenerse una probabilidad significativa para $p < 0,0001$. La prueba de falta de ajuste no

resultó significativa para $p = 0,3937$. Los términos A, B, C, AB, AC, BC y ABC resultaron significativos para un valor $p < 0,05$, con un coeficiente de determinación $R^2 = 0,9974$ lo que significa que el modelo predice adecuadamente la humedad en la zona experimental.

La ecuación matemática del modelo especial cúbico que define la variable respuesta humedad en función de los componentes que varían se muestra seguidamente:

$$\text{Humedad (\%)} = 52,79*A + 71,28*B - 73,47*C - 3,68*AB + 29,93*AC + 31,60*BC + 17,96*A*B*C$$

Se puede apreciar que los coeficientes son positivos y negativos, observándose que esta variable está más influenciada por la grasa (- 73,47), un aumento en la grasa provoca mayor disminución de la humedad y el incremento del hongo en la formulación provoca un incremento de la humedad, obviamente por el mayor contenido de humedad del hongo. En las combinaciones el incremento de la humedad es menor, seguramente por la presencia de la grasa en la emulsión.

En el análisis de los residuos no se detectaron observaciones atípicas y los residuos estandarizados siguen la distribución normal con media 0 y desviación típica 1

3.8.4 Grasa

El modelo que describió mejor el comportamiento de esta variable fue uno lineal, en el análisis de varianza de la regresión, resultó significativo para un valor de $p < 0,0001$. La prueba de falta de ajuste resultó no significativa para $p = 0,1785$. En este caso los términos lineales A, B y C resultaron significativos para un valor $p < 0,05$ con un coeficiente de determinación R^2 de 0,9539.

La ecuación codificada del diseño fue la siguiente:

$$\text{Grasa (\%)} = 6,74*A + 5,05*B + 11,55*C$$

Todos los coeficientes resultaron positivos, siendo el más alto el de la grasa (11,55), indicando que esta variable tiene el mayor efecto sobre el porcentaje de grasa en el producto y la adición de hongo produce el menor aporte en este componente. Este comportamiento fue el esperado debido a las características bajas en contenido de grasa del hongo utilizado en la formulación reemplazando a la carne de cerdo.

En el análisis de los residuos no se detectaron observaciones atípicas y los residuos estandarizados siguen la distribución normal con media 0 y desviación típica 1

3.8.5 Proteína

El modelo de mejor ajuste fue un cúbico, resultó significativo para un valor de $p < 0,0001$ y la prueba de falta de ajuste resultó no significativa para $p = 0,1539$. Los componentes lineales A, B, C y la combinación AB resultaron significativos para un valor $p < 0,05$, con un coeficiente de determinación $R^2 = 0,9999$.

La ecuación matemática del modelo codificado fue la siguiente:

$$\text{Proteína (\%)} = 12,65*A + 10,37*B + 10,95*C - 0,52 A*B$$

Si bien los tres coeficientes resultan positivos indicando que un aumento en el porcentaje de cualquiera de ellos provocará un aumento en el porcentaje de proteína del producto, resulta obvio que la mayor influencia la ejerce la variable carne debido a que es la que presenta mayor contenido proteico y al combinarse la carne con el hongo hay una disminución en el contenido de proteína en la emulsión.

En el análisis de los residuos no se detectaron observaciones atípicas y los residuos estandarizados siguen la distribución normal con media 0 y desviación típica 1

3.8.6 Prueba de aceptación

El análisis de varianza correspondiente demostró que el modelo de mejor ajuste fue un cuadrático, al obtenerse una probabilidad significativa para un valor de $p < 0,0001$. La prueba de falta de ajuste no resultó significativa para $p = 0,3791$. Los términos A, B, C,

AB, AC, BC y AB^2C resultaron significativos para un valor $p < 0,05$, con un coeficiente de determinación R^2 de 0,9904. La ecuación matemática del modelo correspondiente se detalla a continuación.

$$\text{Aceptación} = 5,77*A + 6,42*B - 2,44*C + 2,81*A*B + 11,61*A*C + 11,93*B*C - 8,90*A*B^2*C$$

Tanto las interacciones carne - grasa y hongo - grasa tienen un mayor coeficiente, indicando que la presencia de la grasa en mayor o menor proporción mejora la aceptación del producto y en la interacción del término cuadrático ($A*B^2*C$), un aumento del hongo disminuye la aceptación

En el análisis de los residuos no se detectaron observaciones atípicas y los residuos estandarizados siguen la distribución normal con media 0 y desviación típica 1

3.8.7 Índice de costo

Esta variable se calculó en base al costo de las materias primas por lo tanto la variabilidad está en función del costo de las mismas. La grasa y la carne en el mercado ecuatoriano tienen un costo más alto por lo tanto a medida que aumentó su contenido en las formulaciones el costo del producto también se incrementó.

La falta de ajuste dio $p = 0,4068$ y un $R^2 = 0,9974$

La ecuación codificada del modelo lineal fue la siguiente:

$$\text{Índice de costo (USD)} = 3,07*A + 2,96*B + 3,24*C$$

En el análisis de los residuos no se detectaron observaciones atípicas y los residuos estandarizados siguen la distribución normal con media 0 y desviación típica 1

3.8.8 Perfil de textura instrumental

Dureza

La dureza se ajustó a un modelo cuadrático especial, resultó significativo para un valor de $p < 0,0001$ y la prueba de falta de ajuste resultó no significativa para $p = 0,3542$. Los

términos A, B, C, BC, A²BC y AB²C resultaron significativos para un valor $p < 0,05$, con un coeficiente de determinación $R^2 = 0,9517$

La ecuación matemática codificada del modelo correspondiente fue la siguiente:

$$\text{Dureza (N)} = 58,97*A + 28,76*B + 25,71*C + 17,63*B*C + 5297,27*A^2*B+C - 2510,35*A*B^2*C$$

Los coeficientes lineales resultaron positivos indicando que una mayor presencia de carne en la formulación aumenta la dureza, mientras que la grasa es la que aporta en menor proporción a la dureza, lo que resulta obvio por cuanto la grasa confiere suavidad al producto y en cuanto a las interacciones de los términos cuadráticos, un aumento de la carne incrementa la dureza, mientras que un aumento del hongo disminuye esta variable.

En el análisis de los residuos no se detectaron observaciones atípicas y los residuos estandarizados siguen la distribución normal con media 0 y desviación típica 1

Fracturabilidad

El modelo de mejor ajuste fue un especial cúbico, resultó significativo para un valor de $p < 0,0001$ y la prueba de falta de ajuste resultó no significativa para $p = 0,3247$. Los componentes lineales A, B, C y la interacción ABC resultaron significativos para un valor $p < 0,05$, con un coeficiente de determinación $R^2 = 0,8611$

La ecuación matemática del modelo codificado correspondiente fue la siguiente:

$$\text{Fracturabilidad (N)} = 33,31*A + 17,92*B + 13,53*C - 311,93*ABC$$

Los coeficientes resultaron positivos y negativos, indicando que la mayor influencia en la fracturabilidad la tiene la carne, sin embargo la carne en combinación con el hongo y la garsa (emulsión) provoca una disminución mayor en la fracturabilidad.

En el análisis de los residuos no se detectaron observaciones atípicas y los residuos estandarizados siguen la distribución normal con media 0 y desviación típica 1

Elasticidad

El modelo de mejor ajuste fue el lineal, resultó significativo para un valor de $p < 0,0001$ y la prueba de falta de ajuste resultó no significativa para $p = 0,4207$. Los componentes lineales A, B y C resultaron significativos para un valor $p < 0,05$, con un coeficiente de determinación $R^2 = 0,9045$

La ecuación matemática del modelo correspondiente fue la siguiente:

$$\text{Elasticidad (mm)} = 0,53*A + 0,64*B + 0,65*C$$

Los coeficientes resultaron todos positivos, indicando que un aumento en el porcentaje de carne, hongo o grasa provocará un aumento en la elasticidad, no obstante el coeficiente de la carne es menor.

En el análisis de los residuos no se detectaron observaciones atípicas y los residuos estandarizados siguen la distribución normal con media 0 y desviación típica 1

Los modelos matemáticos codificados discutidos fueron todos significativos, excepto el rendimiento a la cocción, la cohesividad, gomosidad y masticabilidad.

En el análisis de las 9 variables se obtuvieron modelos lineales, especial cúbico, cúbico, cuadrático y cuadrático especial, los mismos que permiten explicar más del 90 % de la variabilidad en función de las variables respuesta estudiadas, excepto para el caso de la fracturabilidad que tuvo un coeficiente de determinación menor que 90 %.

En la Tabla 15, se presentan los valores de significación de los factores analizados en cada uno de los modelos codificados en el diseño del experimento.

3.9 Optimización de la formulación

Se realizó una optimización numérica que dio como resultado cuatro soluciones, que se muestran en la Tabla 16 que tienen la misma calidad desde el punto de vista deseado, sin embargo se seleccionó la variante 2 conformada por: carne de res (40 %), Hongo (26,7 %) y grasa (8,3 %), por su contenido proteico más alto y menor porcentaje de grasa. Los

Tabla 16. Soluciones encontradas en la optimización de la formulación

No.	C. de res (%)	Hongo (%)	Grasa (%)	pH	Humedad (%)	Grasa analítica (%)	Proteína (%)	Sensorial	Costo (USD)
1	39,64	27,04	8,32	6,45	72,59	8	12,51	6,36	3,179
2	40	26,69	8,31	6,44	72,57	8	12,57	6,34	3,182
3	39,18	27,48	8,34	6,45	72,62	8	12,45	6,38	3,174
4	37,72	28,89	8,39	6,47	72,76	8	12,23	6,43	3,16

resultados esperados de las variables que se utilizaron para la optimización de la formulación óptima se muestran en la Tabla 17, así como los resultados analíticos reales realizados por triplicado a la formulación óptima elaborada.

Tabla 17. Valores medios y desviación estándar de los resultados esperados de la formulación óptima y de los resultados analíticos reales.

Indicadores	Resultados esperados	Resultados reales	Desviación estándar
pH	6,44	6,41	0,02
Humedad	72,57	72,36	0,22
Grasa	7,89	7,92	0,12
Proteína	12,57	12,62	0,05
Evaluación sensorial	6,34	6,3	0,0
Costo	3,18	3,05	0,00

Como puede observarse los resultados esperados son muy cercanos a los reales obtenidos en el laboratorio.

3.9.1 Evaluación de las características físico-químicas, de la formulación óptima y de la salchicha patrón

Con la formulación seleccionada como óptima y el patrón tipo vienesa, se elaboró por triplicado un lote de 3 kg para cada una de las formulaciones, según la metodología indicada en el acápite (2.5.4). Los resultados de los análisis físico-químicos realizados por triplicado a la variante seleccionada como óptima y a la salchicha tipo vienesa elaborada como patrón, se muestran en la Tabla 18.

Tabla 18. Indicadores de la formulación óptima de la salchicha con la incorporación de hongo y de la tipo vienesa elaborada como patrón

Indicador	Formulación óptima	Desviación Estándar	Formulación patrón	Desviación estándar
pH	6,41	0,02	6,50	0,03
Actividad de agua	0,977	0,010	0,975	0,01
Humedad (%)	72,36	2,12	65,36	1,88
Cenizas (%)	3,36	0,44	1,43	0,36
Grasa (%)	7,92	1,12	19,2	2,14
Proteína (%)	12,62	1,28	13,26	0,62
Fibra dietética (%)	1,85	0,03	-	-
β - glucanos (%)	0,91	0,02	-	-
Carbohidratos (%)	4,68	0,04	0,76	0,01
Cloruro (%)	2,25	0,04	2,25	0,04
Nitritos (mg/kg)	26,0	0,00	130,0	0,00

Analizando las dos formulaciones se observa que el contenido proteico de la formulación óptima, si bien es un poco menor que el de la formulación patrón, cumple con la Norma Ecuatoriana RTE INEN 056 (2011) que establece que debe ser mínimo del 12 % y que se cumplió con el objetivo de reducir su contenido de grasa, resultando ser un 58,75 % menor que la patrón y que si bien los valores de a_w fueron ligeramente mayores, esto no afectó la conservación del producto, como se analiza más adelante, esto pudiera explicarse debido a que el hongo posee sustancias con propiedades antimicrobianas.

En cuanto al nitrito residual, el valor reportado tiene relación a la cantidad utilizada, que correspondió a la quinta parte de la recomendada por las Normas NTE INEN 1 338 (2010) y el Codex Alimentario (2006) (máximo 125 mg/kg), por los riesgos nocivos para la salud que conlleva el uso de nitritos que luego en el organismo se convierten en nitrosaminas (cancerígenas). Esto se corresponde con el propósito de obtener un producto final más sano, sin afectar sus propiedades de calidad.

Cabe destacar como positivo la presencia de los β glucanos y la fibra, en la formulación óptima que son características positivas desde el punto de vista nutricional y medicinal.

También se evaluó la composición de los dos tipos de salchichas en cuanto al perfil de aminoácidos, los resultados se reportan en la Tabla 19.

El análisis del perfil aminoacídico de la salchicha elaborada con la formulación óptima contiene todos los aminoácidos esenciales y es comparable al de la salchicha patrón, por lo que se puede concluir que la incorporación del hongo no afectó mayormente la composición aminoacídica del producto, debido a las cualidades nutritivas del *Pleurotus*.

Tabla 19. Composición aminoacídica de la formulación óptima y de la elaborada como patrón

Aminoácidos	Formulación óptima		Formulación patrón	
	Valores (%)	Desviación estándar	Valores (%)	Desviación estándar
Acido aspártico	3,90	0,42	4,51	0,32
Treonina	1,59	0,04	2,01	0,04
Serina	1,62	0,01	1,96	0,02
Ácido glutámico	7,37	1,02	8,12	0,98
Prolina	1,84	0,03	2,28	0,04
Glicina	2,25	0,20	2,57	0,20
Alanina	1,26	0,02	1,72	0,03
Valina	3,02	0,06	3,67	0,04
Metionina	0,82	0,01	0,91	0,02
Isoleucina	3,45	0,20	3,14	0,60
Leucina	4,74	0,30	4,69	0,20
Tirosina	1,33	0,03	1,83	0,020
Fenilalanina	2,59	0,12	2,96	0,20
Histidina	1,12	0,02	1,31	0,01
Lisina	3,57	0,14	3,49	0,66
Arginina	0,71	0,02	0,63	0,01

3.10 Resultados de los indicadores evaluados durante el almacenamiento de la salchicha óptima y la elaborada como patrón

Las evaluaciones se realizaron por triplicado en un período de 14 semanas.

3.10.1 Evaluación del pH, humedad, actividad de agua (a_w) e índice de peróxido

Los resultados de los indicadores evaluados, durante el almacenamiento se presentan en la Tabla 20

Tabla. 20. Valores medios y desviación estándar de los índices evaluados durante el almacenamiento de la formulación óptima y la patrón.

Tiempo (días)	Formulación óptima				Formulación patrón			
	pH	Humedad (%)	aw	IP (mEqO ₂ /kg)	pH	Humedad (%)	aw	IP (mEqO ₂ /kg)
0	6,41 (0,01)	72,36 (2,48)	0,975 (0,01)	11,21 (1,44)	6,5 (0,03)	66,36 (2,2)	0,969 (0,02)	13 (1,02)
7	6,43 (0,02)	72,28 (0,389)	0,975 (0,02)	11,21 (1,03)	6,52 (0,8)	66,35 (1,28)	0,967 (0,02)	13,2 (1,44)
14	6,6 (0,04)	72,22 (0,24)	0,974 (0,02)	11,22 (0,98)	6,53 (0,35)	66,22 (0,479)	0,966 (0,01)	14,06 (1,04)
21	6,61 (0,6)	72,21 (1,06)	0,974 (0,01)	11,28 (0,44)	6,5 (0,04)	66,18 (0,4)	0,966 (0,02)	14,66 (0,98)
28	6,56 (0,03)	72,2 (1,15)	0,973 (0,01)	11,66 (0,22)	6,55 (0,03)	65,89 (1,12)	0,964 (0,01)	14,86 (1,03)
35	6,62 (0,35)	71,98 (1,12)	0,972 (0,02)	11,88 (0,66)	6,6 (0,04)	65,32 (0,4)	0,963 (0,03)	14,98 (1,04)
42	6,62 (0,2)	71,87 (1,08)	0,972 (0,01)	12,04 (0,22)	6,58 (0,35)	63,14 (0,47)	0,959 (0,01)	15,22 (1,02)
49	6,63 (0,13)	71,64 (0,24)	0,972 (0,02)	12,44 (0,44)	6,57 (0,03)	60,19 (1,08)	0,953 (0,01)	15,96 (1,44)
56	6,63 (0,12)	71,38 (1,22)	0,971 (0,02)	12,67 (0,66)	6,61 (0,04)	59,04 (1,06)	0,952 (0,01)	18,92 (1,03)
63	6,61 (0,2)	71,36 (0,75)	0,971 (0,01)	12,92 (0,22)	6,58 (0,1)	58,84 (1,12)	0,951 (0,02)	20,02 (0,98)
70	6,57 (0,03)	71,18 (0,47)	0,97 (0,02)	13,21 (1,04)	6,6 (0,13)	58,66 (0,2)	0,95 (0,02)	20,22 (1,44)
77	6,53 (0,1)	71,01 (0,22)	0,97 (0,01)	13,22 (0,44)	6,6 (0,13)	58,88 (0,4)	0,95 (0,01)	20,66 (0,42)
84	6,57 (0,02)	69,56 (0,32)	0,968 (0,01)	13,23 (1,02)	6,63 (0,1)	57,96 (0,2)	0,946 (0,01)	20,78 (1,04)
91	6,53 (0,03)	67,44 (0,12)	0,964 (0,02)	13,25 (0,44)	6,66 (0,03)	58,21 (1,06)	0,947 (0,02)	21,18 (1,04)
98	6,49 (0,02)	66,18 (0,25)	0,964 (0,01)	13,3 (1,12)	6,5 (0,13)	58,22 (1,12)	0,947 (0,01)	21,51 (0,44)

Leyenda:

a_w: Actividad de agua

IP: Índice de peróxido

Como se observa en las dos formulaciones los valores de pH no varían apreciablemente durante el almacenamiento, pero si ocurre una pérdida de humedad en ambas formulaciones, correspondiente a un valor de 8,53 % en la óptima y en la patrón de 9,56 %, siendo por lo tanto más notable la pérdida de humedad en la formula patrón que en la óptima, lo que también afecta las propiedades texturales y sensoriales de ambas

Al mismo tiempo, esa pérdida de humedad incide en que los valores de a_w vayan disminuyendo progresivamente, efecto que es más marcado en la fórmula patrón por ser mayor la pérdida de humedad. En cuanto al IP, los valores son mucho más bajos para la fórmula óptima (probablemente debido a su menor contenido de grasa y la presencia de sustancias antimicrobianas aportadas por el hongo), sin embargo la tendencia es al aumento, pero su cambio es mucho más notable en la fórmula patrón, probablemente debido al mayor contenido de grasa, evidenciándose a partir de los 56 días un aumento más súbito y los valores tienden a ubicarse fuera de las especificaciones establecidas como aceptables (Normas INEN 277, 2005) y a partir de los 63 días este valor rebasa dichas normas (máximo 20 mEq O₂/kg).

3.10.2 Evaluación del color instrumental y sensorial descriptivo

El color es el indicador que más afecta el aspecto de la carne y los productos cárnicos durante su ciclo de vida, siendo de gran importancia en la preferencia del consumidor y vital en la definición de la durabilidad de este tipo de alimentos. En consideración a la importancia de este indicador se realizó la evaluación instrumental y sensorial de la formulación óptima y patrón.

Resultados de la evaluación del color mediante medición instrumental

La Tabla 21 muestra los resultados medios de la medición instrumental del color.

Tabla 21. Valores medios para el color instrumental de la fórmula óptima y la patrón

Fórmula	Tiempo (días)	L*	a*	b*	C*	h*	IC
Óptima	0	51,78	9,66	10,38	14,18	46,74	19,32
		(2,14)	(1,18)	(1,22)	(1,08)	(2,4)	(2,18)
	49	51,22	9,82	10,07	14,06	46,35	19,52
		(1,12)	(2,2)	(0,8)	(1,16)	(1,13)	(1,14)
	98	50,62	9,52	10,15	13,92	46,72	19,76
		(2,22)	(0,8)	(0,4)	(1,22)	(3,26)	(2,42)
Patrón	0	53,37	11,45	9,18	14,68	38,65	18,74
		(2,88)	(1,06)	(0,06)	(0,82)	(2,22)	(0,92)
	49	54,56	12,38	8,75	15,16	35,26	18,33
		(1,88)	(1,24)	(0,7)	(0,82)	(1,22)	(0,92)
	98	53,49	10,03	8,71	13,28	41	18,70
		(2,18)	(1,02)	(0,6)	(0,44)	(0,88)	(0,88)

Como puede apreciarse, el valor de la luminosidad (L) en las dos muestras (óptima y patrón) es mayor a 50 por lo que pueden considerarse muestras claras, sin embargo la fórmula patrón presenta mayor luminosidad que la óptima (Tabla 21) La componente “a”, indicadora del color rojo, es un tanto menor para la formulación óptima y no se ve mayormente afectada por el porcentaje de hongo utilizado (27 %) en sustitución de la carne de cerdo, mientras que b (amarillo) es más marcado para la formulación óptima. El color de la salchicha correspondiente a la formulación óptima se mantuvo estable durante el almacenamiento con un índice de color que representa un color de naranja intenso a rojo pero no muy marcado. Estos resultados coinciden con lo encontrado por Wan Rosli y col. (2011a), para embutidos de pollo elaborados con adición del hongo ostra.

Al comparar los valores de la fórmula óptima con los valores de salchichas comerciales (Tabla 22), se puede apreciar que los valores de IC para la fórmula óptima están comprendidos dentro de los valores de las salchichas comerciales, pero alejados de los valores de IC para la salchicha de pollo tipo I, que resulta más clara que el resto de los productos evaluados y como era de esperar, tiene los menores valores de la componente

cromática “a*” y de cromaticidad “C*”, pero tiene consecuentemente el valor más alto del matiz.

Tabla 22. Valores medios para el color instrumental de la fórmula patrón y algunas fórmulas comerciales

Fórmula	L*	a*	b*	C*	h*	IC
Patrón	54,56 (3,66)	10,02 (0,44)	8,63 (0,04)	13,48 (1,12)	40,53 (2,22)	18,61 (1,12)
Vienesas comercial, tipo I	54,44 (3,18)	10,62 (1,18)	9,41 (0,06)	18,48 (0,88)	42,22 (3,12)	18,36 (1,44)
Vienesas comercial, tipo II	55,37 (2,18)	11,91 (0,42)	8,65 (0,04)	18,57 (1,22)	36,75 (2,18)	18,06 (1,28)
Salchicha de pollo, tipo I	60,30 (1,22)	7,78 (0,06)	8,02 (0,08)	13,95 (0,94)	45,05 (2,22)	15,96 (0,66)

Resultados de la evaluación descriptiva sensorial de la apariencia

La Tabla 23 muestra el comportamiento de la evaluación sensorial del análisis descriptivo de la fórmula óptima y del patrón durante el almacenamiento.

Tabla 23. Resultados del análisis cuantitativo descriptivo sensorial de la apariencia interna y externa de la fórmula óptima y la patrón durante el almacenamiento

Fórmula	Tiempo (días)	Externo		Interno		
		Color	Superficie	Color	Brillo	Aspecto al corte
Óptima	0	4,53	3,70	4,87	5,46	7,70
	49	5,24	4,10	5,38	5,33	7,83
	98	5,61	5,90	5,79	5,04	8,02
Patrón	0	7,36	1,60	7,48	7,28	9,06
	49	8,16	1,70	8,34	7,54	9,10
	98	7,21	1,80	7,18	6,42	9,30

Los valores de color mayores a 5 representan color rosa y los valores inferiores representan color crema, mientras que para el brillo, los valores mayores a 5 representan brillante y los valores inferiores representan opaco. Como se aprecia, la fórmula patrón resultó más rosada y más brillante que la fórmula óptima, lo cual concuerda con los resultados del matiz, del índice de color y de la luminosidad. El ligero aumento de color rosa observado en ambas fórmulas puede explicarse por la continuidad de las reacciones

bioquímicas que tienen lugar durante el almacenamiento. Respecto a la superficie, los valores más bajos se corresponden con superficie lisa y en el aspecto al corte los mayores valores representan mayor homogeneidad. Como se aprecia, la fórmula patrón fue más lisa y homogénea que la fórmula óptima, lo cual puede explicarse por la mejor ligazón lograda con la carne de res en relación al empleo del hongo. En cambio, durante el almacenamiento, la fórmula patrón prácticamente no sufrió cambios, pero la fórmula óptima se fue haciendo más rugosa, debido probablemente a los cambios de humedad.

3.10.2.3 Comportamiento de los atributos sensoriales aroma y sabor

La Tabla 24 muestra el comportamiento de la evaluación sensorial del aroma de ambas fórmulas durante el almacenamiento.

Tabla 24. Resultados del análisis cuantitativo descriptivo del aroma de la fórmula óptima y el patrón durante el almacenamiento

Fórmula	Tiempo (días)	Aroma			
		A carne	A hongo	Ácido	Rancio
Óptima	0	5,60	2,7	1,3	0,7
	49	5,80	2,5	1,5	0,9
	98	6,10	2,5	1,4	0,8
Patrón	0	8,56	0	0,3	0,7
	49	9,18	0	1,6	2,1
	98	9,30	0	3,5	4,6

Como se aprecia, la fórmula patrón presenta mayor aroma a carne (marcado) y para la fórmula óptima los jueces encontraron un moderado aroma a carne y un muy ligero aroma a hongo. El aroma ácido y rancio fue débil en la fórmula óptima mientras que en la patrón se detecta un ligero incremento en el tiempo de almacenamiento, aunque resultó más pronunciado el aroma ácido en la última semana de almacenamiento (muy ligero - ligero), Por tanto, se puede concluir que el débil aroma ácido y rancio en la fórmula óptima es característico del empleo del hongo en este tipo de producto y la variación detectada en la formulación patrón para el aroma ácido puede deberse al incremento de la

microbiota láctica, mientras que el incremento en aroma rancio (ligero - moderado) puede deberse a su mayor contenido de grasa y se corresponde con el aumento del valor del índice de peróxido (IP).

En la Tabla 25 se muestran los resultados del comportamiento durante el almacenamiento del sabor para la fórmula óptima y la patrón

Tabla 25. Resultados del análisis cuantitativo descriptivo del sabor de la fórmula óptima y el patrón durante el almacenamiento

Fórmula	Tiempo (días)	Sabor						
		A carne	A hongo	Ácido	Rancio	Salado	Picante	Regusto
Óptima	0	5,2	3	1,9	1,0	2,8	2,4	3,2
	49	6,1	3,3	1,8	0,8	2,5	1,8	2,5
	98	6,4	3,5	2,3	1,0	2,4	2,2	3,1
Patrón	0	8,8	0	0,4	0,3	2,5	3,2	1,6
	49	8,9	0	2,8	3,2	2,4	3,6	2,3
	98	9,3	0	4,4	4,1	2,3	3,6	3,3

El comportamiento del sabor a carne, a hongo, ácido y rancio, es similar al del aroma para las dos formulaciones, pudiéndose explicar de la misma forma.. El sabor salado aunque los jueces lo evaluaron como débil, fue similar en ambos productos, por lo que puede considerarse el típico y que la valoración se corresponde con el nivel de sal que los jueces esperan en este tipo de producto. La fórmula patrón resultó ligeramente más picante y rancia que la formula sustituida y por último, el regusto estuvo casi ausente en ambos embutidos, lo cual es lo deseado. Debe destacarse que la formulación óptima presenta mejor estabilidad en el almacenamiento, el incremento observado en la fórmula patrón para el sabor ácido y sabor rancio se corresponde con la variación en el aroma detectado por los jueces y se explica de manera similar. Las salchichas comerciales traen declarado en su etiqueta un tiempo de consumo alrededor de 43-45 días.

Estos resultados concuerdan de modo general con lo reportado por otros autores al sustituir carne de diferentes orígenes por el hongo *Pleurotus ssp* (Alahakoon y col., 2010;

Jaramillo y col., 2011; Wan Rosli y Solihah, 2012; Wan Rosli y Solihah, 2014), aunque en productos diferentes.

3.10.3 Análisis del perfil de textura instrumental y descriptivo sensorial

3.10.3.1. Comportamiento del análisis del perfil de textura instrumental

La Tabla 26 muestra el comportamiento de las propiedades texturales instrumentales para las dos formulaciones

Tabla 26. Resultados de la evaluación instrumental de las propiedades texturales de la formulación óptima y la patrón durante el almacenamiento

Fórmula	Tiempo (días)	Propiedades texturales instrumentales					
		D	F	E	C	G	M
Óptima	0	61,39	30,32	0,669	0,226	13,87	9,65
	49	64,81	32,55	0,647	0,228	14,77	9,32
	98	66,81	32,85	0,624	0,227	14,94	9,55
Patrón	0	56,99	33,56	0,633	0,278	15,84	10,02
	49	58,54	36,58	0,611	0,281	16,44	10,04
	98	63,84	41,58	0,567	0,282	18,00	10,21

Leyenda:

D - dureza (N); F- fracturabilidad (N); E- elasticidad (mm); C- cohesividad; G- gomosidad; M masticabilidad

Los valores instrumentales corresponden con lo reportado por los jueces. La mejor correspondencia entre estos valores se manifiesta en la dureza, la cual tanto en la apreciación de los jueces como en la medición instrumental, es mayor para la formulación óptima que para el patrón, además de que en ambas mediciones puede observarse el incremento de dureza que ocurre durante el almacenamiento, debido a la pérdida de humedad. Este incremento de dureza posiblemente explique el incremento observado en la fracturabilidad, así como en la gomosidad durante el almacenamiento. La formulación óptima resultó ser más elástica probablemente debido a la fibra presente en

su composición y se observó una ligera disminución de la elasticidad durante el almacenamiento en ambas fórmulas posiblemente por la pérdida de humedad.

La Tabla 27 muestra el comportamiento de la evaluación sensorial de las propiedades texturales de ambas fórmulas durante el almacenamiento

Tabla 27. Resultados de la evaluación sensorial de las propiedades texturales de ambas fórmulas durante el almacenamiento

Tabla 27. Comportamiento de la evaluación sensorial de las propiedades texturales de ambas fórmulas durante el almacenamiento

Fórmula	Tiempo (días)	Propiedades texturales					
		D	C	F	G	M	A
Óptima	0	4,0	3,9	4,5	2,8	5,4	4,2
	49	5,3	4,3	5,3	3,1	6,0	3,4
	98	6,0	4,7	5,5	2,9	6,5	3,5
Patrón	0	4,1	3,0	4,1	2,0	4,8	1,2
	49	4,4	2,8	4,0	1,9	4,8	1,0
	98	4,4	2,8	4,0	1,9	4,8	1,1

Leyenda:

D Dureza, C Cohesividad, F Fracturabilidad; G Gomosidad; M Masticabilidad; A Arenosidad.

Como puede apreciarse, los jueces consideraron a la fórmula óptima como menos fracturable, lo que pudiera deberse a la presencia de la fibra en el producto y así mismo como ligeramente más dura, cohesiva, gomosa, masticable y arenosa que la fórmula patrón. Estos resultados son comparables con los reportados por Wan Rosli y col. (2011a), a pesar que se trata de productos diferentes y que la disminución del contenido de grasa cambia la percepción sensorial del producto (Wan Rosli y col., 2011b).

3.10.4 Análisis microbiológico

Los resultados de los análisis microbiológicos de las dos formulaciones realizados en el estudio de almacenamiento, se presentan en la Tabla 28.

Tabla 28. Análisis microbiológicos en el estudio de almacenamiento de los dos tipos de salchichas

Fórmula	Tiempo (días)	Mesófilos aerobios totales (ufc/g)	Mohos y levaduras (ufc/g)	Coliformes totales	Coliformes termotolerantes
Óptima	0	$< 1 \times 10^6$	$< 5,0 \times 10^5$	Ausencia	Ausencia
Patrón	0	$< 1 \times 10^6$	$< 5,0 \times 10^5$	Ausencia	Ausencia
Óptima	49	$< 1 \times 10^6$	$< 5,0 \times 10^5$	Ausencia	Ausencia
Patrón	49	$< 1 \times 10^6$	$< 5,0 \times 10^5$	Ausencia	Ausencia
Óptima	98	$< 1 \times 10^6$	$< 5,0 \times 10^5$	Ausencia	Ausencia
Patrón	98	$1,8 \times 10^6$	$6,1 \times 10^5$	Ausencia	Ausencia

Especificaciones según las Normas INEN

Los valores encontrados en los análisis microbiológicos realizados tanto a la salchicha óptima como a la patrón, en cuanto a: mesófilos aerobios, mohos y levaduras, coliformes totales y termotolerables, indican que no hubo alteración hasta el final del almacenamiento para la salchicha óptima, manteniéndose los valores dentro de los especificados por las Normas INEN (768, 1 529-15) y en el caso de la patrón, únicamente se detecta una variabilidad en los datos para mesófilos aerobios, mohos y levaduras, luego del día 49. Estos resultados son congruentes con los otros análisis realizados y que han tenido mayor variación en el almacenamiento para la salchicha patrón.

3.11 Estimación del costo de producción del hongo y de la salchicha

3.11.1 Estimación del costo del hongo

Para estimar los costos del producto, se consideraron primeramente los costos de producción del hongo utilizado como materia prima para la elaboración de la salchicha (Tabla 29). Los costos de producción del producto (salchicha) se presentan en la (Tabla 30) y en la (Tabla 31) los costos fijos y variables. En la Figura 15 se presenta el punto de equilibrio (PE)

En las Figuras del (Anexo 5), se presentan los productos obtenidos

Tabla 29. Costos de producción para 1.000 kilogramos (1tm) de hongos

Costos	USD	USD	USD
1. Costos de fabricación			199495
Costo Directo		1926,10	
- Materia Prima (rastrajo, micelio, carbonato de calcio, harina de soya	273,10		
- Materiales directos(fundas plásticas, ligas)	53,00		
- Mano de obra directa, Incluidas prestaciones sociales	1600,00		
Costo Indirecto (Gastos de Fabricación)	60,00	68,85	
- Útiles de aseo, oficina.	5,00		
- Combustibles (diesel)	3,85		
- Agua, energía eléctrica			747,30
2. Costo de administración			
Gastos de administración	347,30	747,30	
- Depreciación Maquinarias y Equipos.	400,00		
- Depreciación Cuartos climatizados			
Costo Total			2742,25

Costo Unitario x kilogramo = Costo Total/Cantidad total

= 2 742.25/1.000

1 kg de hongo = 2,74 USD

Nota: En esta fase del proceso productivo no se consideran costos financieros ni de ventas.

Tabla 30. Costos de producción para 1.000 kg. (1tm) de producto cárnico

Costos	Fijo	Variable	Total
1. Costos de fabricación			
Costo Directo			
- Materia Prima		2 392,87	
- Materiales directos			
- Mano de obra directa	400,00	180,00	
Incluido prestaciones sociales			
Costo Indirecto (Gastos de Fabricación.)			
- Materiales indirectos	60,00		
- Combustibles	5,00		
- Agua, energía eléctrica	0,94		
2. Costo de administración	30,75		
Gastos de administración			
- Depreciación Maquinaria y equipos.			
3. Costo de ventas			
Gastos de Ventas		100,00	
Costo Total	496,69	2 672,87	3 169,56

Costo Unitario (kg) = Costo Total/Cantidad total

=3 169,56 USD/1.000kg.

1 kg de salchicha = 3,17 USD.

Tabla 31. Costos fijos y variables para una producción de 1.000 kg

Costos	Fijo	Variable	Total
2. Costos de fabricación			
Costo Directo			
- Materia Prima		2 392,87	
- Materiales directos			
- Mano de obra directa	400,00	180,00	
Incluido prestaciones sociales			
Costo Indirecto (Gastos de Fabricación.)			
- Materiales indirectos	60,00		
- Combustibles	5,00		
- Agua, energía eléctrica	0,94		
2. Costo de administración	30,75		
Gastos de administración			
- Depreciación Maquinaria y equipos.			
3. Costo de ventas			
Gastos de Ventas		100,00	
Costo Total	496,69	2 672,87	3 169,56

Nota: No presenta costos financieros.

Como se aprecia el costo de producción del hongo fue de 2,74 USD y el costo de producción del producto (salchicha) de 3,17 USD el kg. Para elaborar el producto se consideró el costo del hongo de 3,10 USD por los costos de almacenamiento y embalaje.

CÁLCULO DEL PUNTO DE EQUILIBRIO ECONÓMICO

Para determinar cuál es el nivel de producción y ventas con el cual no se obtiene ganancias, pero tampoco se incurren en pérdidas, utilizamos la siguiente fórmula:

$$PE = \frac{CFT}{p-v}$$

Dónde:

CFT = Costo Fijo Total 496,69 USD

p = Precio de Venta. 4,00 USD

v = Costo Variable Unitario. 2,67 USD
\$ 496,69

$$PE = \frac{496,69}{4,00 - 2,67}$$

PE = 373,45 kg en el mes de producción

Esto significa que el nivel de producción con el cual no se incurre en pérdidas, pero tampoco se obtiene ganancias es produciendo 373,45 kilogramos.

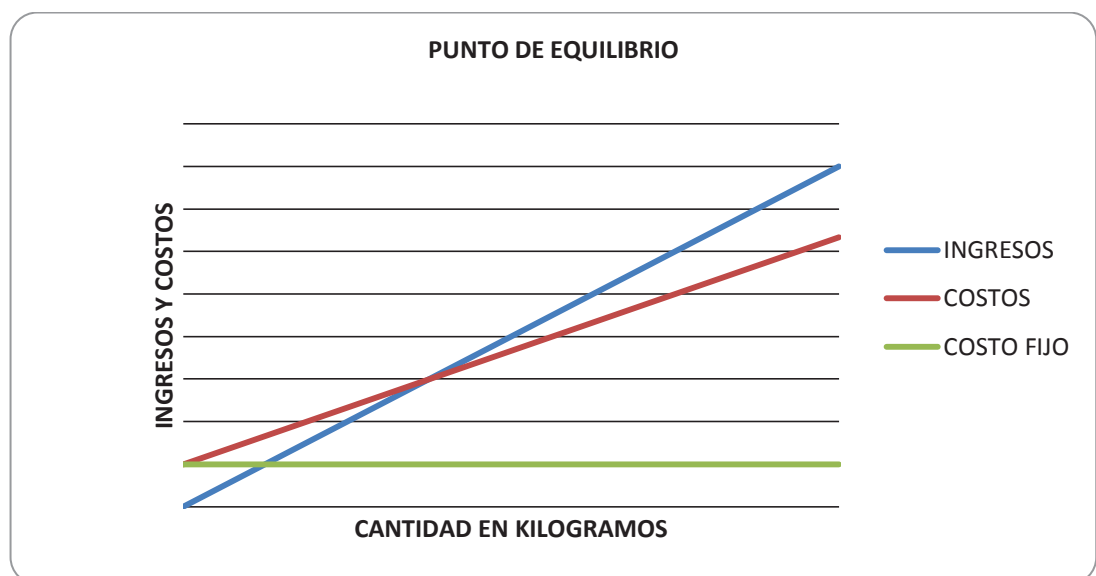


Figura.15 Punto de equilibrio de producción de la salchicha óptima

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

1. Los materiales lignocelulósicos analizados presentaron un contenido de nitrógeno que fluctuó entre 0,38 a 1,29 %, carbono de 48,02 – 53,54 % (relación C/N de 39,68 - 140,89) y composición adecuada en cuanto a minerales, por lo que pueden emplearse solos o en mezclas con los de mayor contenido de nitrógeno, o adicionando suplementos nitrogenados para enriquecer el sustrato, con la finalidad de alcanzar la mayor productividad y contenido proteico en el hongo.
2. Se desarrolló el Programa de Mezclas de Residuos Agrícolas que permite diseñar mezclas estandarizadas en la relación C/N (manipulando el contenido de N), introduciendo los datos de la composición de los materiales lignocelulósicos que van a ser utilizados como sustrato para el cultivo del *Pleurotus ostreatus* o cualquier otro tipo de hongo comestible.
3. De las mezclas diseñadas utilizando la cepa 768/12 para el cultivo de *Pleurotus* las que mejores resultados presentaron en los indicadores de productividad y contenido proteico, fueron las estandarizadas en el rango C/N de 37,31 a 53,15, con los residuos: rastrojo de maíz, cascarilla de arroz, paja de cebada, rastrojo de lenteja y bagazo de caña de azúcar, enriquecidas con harina de soya del 2 al 6 %.
4. Los resultados de la composición físico-química de *Pleurotus*, principalmente la proteína, presencia de β - glucanos y fibra, las propiedades funcionales tanto del hongo como de la emulsión carne hongo permitieron confirmar sus características

beneficiosas y adecuadas para su utilización como sustituto de la carne en productos cárnicos convencionales.

5. Fue posible optimizar una formulación (carne de res 40 %, hongo 27 % y grasa de cerdo 8 %) para la elaboración de una salchicha tipo Vienesas, baja en grasa, utilizando al *Pleurotus ostreatus* como sustituto de la carne de cerdo, la adición del hongo no afectó mayormente la composición nutricional del nuevo producto, si no por el contrario presentó características beneficiosas en su composición por la presencia de β – glucanos y fibra.
6. El nuevo producto presentó adecuadas características texturales, sensoriales, microbiológicas y mayor vida de almacenamiento que la salchicha comercial.
7. El costo de producción del hongo *Pleurotus ostreatus* considerando los costos directos, indirectos y de administración fue de 2,74 USD/kg y el del nuevo producto cárnico (salchicha potencialmente funcional) fue de 3,17 USD/kg, costo menor que el de la salchicha comercial.

Recomendaciones

1. El programa de mezclas puede ser utilizado para diseñar cualquier tipo de mezclas lignocelulósicas, considerando la relación C/N
2. Proponer al Instituto Nacional Ecuatoriano de Normalización (INEN) conjuntamente con la Universidad Estatal de Bolívar la elaboración de las normas de procedimiento para la elaboración de la salchicha con la incorporación del hongo.
3. Establecer un acercamiento con la industria privada para la producción del producto a nivel industrial, para su consumo popular como una alternativa de solución a los

problemas de salud detectados por el consumo de los productos análogos, contribuyendo a satisfacer las necesidades de preferencia sobre todo por los niños y población joven, que muchas veces se ve restringido su consumo por especificaciones médicas.

4. Los resultados obtenidos permiten proyectar el aprovechamiento de los residuos provenientes de las cosechas agrícolas de la región de acuerdo a su disponibilidad, como sustratos únicos o en mezclas utilizando o no suplementos nitrogenados

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACEVES, M.; ARIZA, R. (2010). *Producción de hongos comestibles Pleurotus Spp.*, México, 21 p
- ACOSTA, U.; BUSTOS, Z. & PORTUGAL, P. (1988). Aislamientos y caracterización de cepas de *Pleurotus ostreatus* y su cultivo en residuos agroindustriales en el estado de Morelos. *Revista Mexicana de Micología*, 4: 13-20.
- AFNOR (2010). *Placas para Recuento de Coliformes. Guía de interpretación* Certificado Número 3M 01/2-09/89C Asociación Francesa de Normalización
- AGRAWAL, R.; CHOPRA, A.; LAVEKAR, G.; PADHI, M.; SRIKANTH, N.; OTA, S. & JAIN, S. (2010). Effect of oyster mushroom on glycemia, lipid profile and quality of life in type 2 diabetic patients. *Australian Journal of Medical Herbalism*, 22 (2): 50-54.
- AHMAD, W; IQBAL, J.; SALIM, M.; AHMAD, I.; AQEEL, M.; ASIF, M & RAFIQ, A. (2011). Performance of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on Cotton Waste Amended with Maize and Banana Leaves. Institute of Horticultural Sciences, University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan, *Journal of Nutrition*, 10 (6): 509-513
- AHMED, A.; KADAM, J.; MANE, V.; PATIL, S. AND BAING, V. (2009). Biological efficiency and Nutritional content of *Pleurotus florida* singer cultivated on different Agro wastes. *J. nature and science*; 7 (1): 510 - 515

- AHMED, M.; ABDULLAH, N.; AHMED, K. & BHUYAN, B. (2013). Yield and nutritional composition of oyster mushroom strains newly introduced in Bangladesh. *Journal Brasília*, 48 (2), 197-202.
- AISHAH, M. S.; WAN ROSLI, W. I. (2013). The effect of addition of oyster mushroom (*Pleurotus sajor - caju*) on nutrient composition and sensory acceptance of selected wheat- and rice-based products. *International Food Research Journal*, 20 (1): 183-188
- AJONINA, A; TATAH, L. (2012). Growth Performance and Yield of Oyster Mushroom (*Pleurotus Ostreatus*) on Different Substrates Composition in Buea South West Cameroon. *Science Journal of Biochemistry*, 139, 1-6
- ALAHAKOON, C. S.; WIJESOORIYA, K.; COLONNE , A. & GUNAWARDANA, A. (2010). *Improvement and characterization of low fat healthy sausage by using american oyster mushroom (Pleurotus ostreatus)*. Proceedings of the Research Symposium. Department of Agricultural Systems, Faculty of Agriculture, Rajarata University of Sri Lanka.
- ALAIZ, M., NAVARRO, J L.; Girón, J.; Vioque, E. (1992). Amino acid analysis by high-performance liquid chromatography after derivatization with diethyl ethoxymethylenemalonate. Elsevier, *Journal of Chromatography*, 591:181-186).
- ALBERTÓ, E. (2008). *Cultivo Intensivo de los Hongos Comestibles*. Editorial Hemisferio Sur, Argentina, pp: 1-88
- ALI, M. S., KIM, G. D., SEO, H. W., JUNG, E. Y., KIM, B. W., YANG, H. S., & JOO, S. T. (2011). Possibility of Making Low-fat Sausages from Duck Meat with Addition of Rice Flour. *Asian - Australia Journal of Animal Science*, 24 (03): 421 – 428.

- ÁLVAREZ, D.; CASTILLO, M.; GARRIDO, M. D.; BAÑÓN, S.; NIETO, G.; DÍAZ, P. & PAYNE, F. (2007). Efecto de la composición y el tiempo de procesado sobre las propiedades tecnológicas y ópticas de las emulsiones cárnicas, *Murcia* 23: 25-34.
- AMUNEKE, E.; DIKE K. & OGBULIE J. (2011). Cultivation of *Pleurotus ostreatus*: An edible mushroom from agro base waste products. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, 1 (3):1-14
- ANDRADE, M.; ZIED, D.; MINHONI, M. & KOPYTOWSKI, J. (2008). Yield of four *Agaricus bisporus* strains in three compost formulations and chemical composition analyses of the mushrooms. *Braz. J. Microbiol*, 39, 593-598
- ANDRINO, A.; MORTE, A.; HONRUBIA, M. (2011). *Caracterización y cultivo de tres cepas de Pleurotus eryngii (Fries) Quélet sobre sustratos basados en residuos agroalimentarios*, Thader Biotechnology, Universidad de Murcia.
- ANONYMOUS, (2008). Model on oyster mushroom cultivation. *International Journal of Life Sciences, Africa*, 2 (6): 211-217
- AOAC. (1990). *Official methods of analysis*. Total dietary fiber enzymatic-gravimetric method. Centre for food safety. Washington D. C.
- AOAC. (2005). *Official methods of analysis*. Association of Official Analytical Chemists. 18' ed. Washington D. C.
- ARIHARA, K. (2006). Strategies for designing novel functional meat products. *Meat Science*, 74:219 – 229.
- ARROYO, Y.; CARRASCO, M.; BUENO, A.; CARDEÑA, R. & LUÍZA, C. (2008). Obtención y caracterización físico química y funcional de las fibras dietéticas del

- níspero común (*Mespilus germanica*). *Revista de la Sociedad Química de Perú*, 74 (4): 269 – 281
- ASGAR, M.; FAZILAH, A.; HUDA, N.; BHAT, R. & KARIM, A. (2010). Nonmeat Protein Alternatives as Meat Extenders and Meat Analogs. *Food Science and Food Safety*, 9, 513 -529.
- AYODELE, S. & AKPAJA, E. (2007). Yield evaluation of *Lentinuss quarosulus* (Mont) Sing. On selected sawdust of economic tree species supplemented with 20% oil palm fruit fibres. *Asian J. Plant Sci.*, 6, 1098 - 1102
- BALDRIAN, P. & VALASKOVÁ, V. (2008). Degradation of cellulose by basidiomycetous fungi. *FEMS. Microbiol. Rev.*, 32, 501 - 521
- BANO, Z. & RAJARATHNAM, S. (1988). Pleurotus Mushroom, Part II, Chemical composition, nutritional value, postharvest physiology, preservation and role as human food. *Food Science and Nutrition*, 27 (2): 86 - 157.
- BARBADO, J. (2003). *Hongos comestibles*. Editorial Albatros, Buenos Aires.
- BARROS, L.; CRUZ, T.; BAPTISTA, P; ESTTEVINHO, L. &d FERREIRA, I. (2008). Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 2742-2747.
- BASAK, M.; CHADA, S.; BHADURI, S.; MONDAL, S.; NANDI, R. (1996). Recycling of jute waste for edible mushroom production. *Industrial Crops and Products*, 5, 173-176
- BELTRÁN, K; RODRÍGUEZ, P & RODRÍGUEZ, J. (2001). *Proyecto Ecu/99/g 31. GEI-PNUD. Cambio climático, inventario nacional de emisiones gaseosas que producen*

el efecto invernadero en el sector agrícola. Ministerio del Ambiente y Ministerio de Agricultura y Ganadería, Quito, Ecuador:

- BELUHAN, S. & RANOGAJEC, A. (2011). Chemical composition and non-volatile components of Croatian wild edible mushrooms. *Food Chemistry*, 124, 1076-1082.
- BERMÚDEZ, R.; GARCÍA, N. & MOURLOT, A. (2007). Fermentación sólida para la fermentación del *Pleurotus ssp.* Sobre mezclas de pulpa de café y viruta de cedro. *Tecnología Química*, XXVII (2), 55- 62
- BERMÚDEZ, R.; GARCÍA, N. & SERRANO, M. (2013) Una tecnología sostenible, aporte a la seguridad alimentaria *Tecnología Química*, XXXIII, 2, 147-155
- BERMÚDEZ, R.; MORRIS, H.; DONOSO, C.; MARTINEZ, C. & RAMOS, E. (2003). Influencia de la luz en la calidad proteica de *Pleurotus ostreatus*, var. *florida*. *Rev Cub Invest Biomed.*, 22 (4): 226-31.
- BERNARDI, E.; DONINI L.; MINOTTO, E. & NASCIMENTO J., (2007). Cultivation of three *Pleurotus* species on pasteurized elephant grass (*Pennisetum purpureum*) substrate. *Int. J. Med. Mushr.*, 9 (3-4): 373-378
- BERNAS, E.; JAWARASKA, G. & LISIEWSKA, Z. (2006). Edible mushroom as a source of valuable nutritive constituents. *Technol. Aliment.*, 5 (1), 5-20
- BERTOLA, N., BEVILACQUA, A. & ZARITZKY, N.E (1992). Proteolytic and rheological evaluation of maturation of Tybo Argentino cheese. *J. Dairy Sci.*, 75:3273
- BHAKTA, M. & KUMAR, P. (2013). Mushroom Polysaccharides as a Potential Prebiotics. *International Journal of Health Sciences & Research.*, 3 (8): 77 - 84

- BIESALSKI, H. (2005). Meat as a component of a healthy diet-are there any risks or benefits if meat is avoided in the diet?. *Meat Science*, 70, 509-524
- BOBEK, P.; ONDREICKA, R.; KLVANOVA, J. & OZDIN, L. (1994). Oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) decrease serum and cholesterol and increases cholesterol 7 alpha-hidrolase fecal excretion of neutral sterols and bile hypercholesterolemic rats. *Nutrition Research*, 14, 1683-1688.
- BOBEK, P.; OZDIN, I. & KUNIAK, I. (1997). Effect of oyster mushroom and isolated P-glucan on lipid peroxidation and on the activities of antioxidative enzymes in rats fed the cholesterol diet. *Nutritional Biochemistry* 8, 469-471.
- BRAUN, R. & PATTACINI S. (2011) Calidad de carne porcina. Evaluación de propiedades tecnológicas de la res en cerdos alimentados con sorgo termoprocesado en la región semiárida pampeana. *Revista de la Facultad de Agronomía – UNLP.*, 22, 5-12
- BUAH, J.; PUIJE, G.; BEDIAKO, V.; ABOLE, E. & SHOWEMIMO, E. (2010). The Growth and Yield Performance of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on Different Substrates. *Biotechnology*, 9, 338-342
- BUSWELL, J. & CHANG, S. (1993). *Edible mushrooms: attributes and applications*. In: Eds. Chang, S.; Buswell, J.; Chiu, S. *Mushroom Biology and Mushroom Products*. Pp. 3-20. The Chinese University PRESS, Hong Kong.
- CARDONA, L. (2001). Anotaciones acerca de la bromatología y el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus*. *Medellin*, (16), 30 - 119
- CASTRO, A.; ACEVES, M.; OTERO, A. & DÍAZ, E. (2010). *Manual Producción de Hongos Comestibles Pleurotus spp.* INIFAT. La Habana.

- CENGIZ, E. & GOKOGLUN. (2007). Effects of fat reduction and fat replacer addition on some quality characteristics of frankfurter type sausages. *International Journal Food Science and Technology*, 42 (3): 366-372.
- CHA, D., Y; PARK, J.;YOU, C.; KIM, G.; JEON, C. & LEE, D. (1998). Oyster mushroom cultivation technology and management. *MushWorld*, Corea, 83-133
- CHANG, S. & BUSWELL, J. (1996). Mushroom nutraceuticals. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 12, 473 - 476
- CHANG, S. & MILES, P. (1989). *Edible Mushroom and their cultivation*. CRC. PRESS Washington, D.C.
- CHANG, S. & MILES, P. (2004). *Mushrooms. Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect and Environmental Impact*. 1^{ra} ed. CRC. PRESS. Washington, D.C.
- CHANG, S. & Miles, P. (2009). *Mushrooms. Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect and Environmental Impact*. 2nd ed. CRC. PRESS Washington, D.C.
- CHANG, S. & QUÍMIO, T. (1989). *Tropical mushrooms, Biological nature and cultivation methods*. Hong Kong
- CHANG, S.; BUSWELL, J. & CHIU, S (1993). *Mushroom Biology and Mushroom Products*. The Chinese University of Hong Kong, 369 p
- CHANG, S.; GANTULGA, G.; ADHIKARY, K.; CHOE, K. & CHANG, P. (2009). *Training Manual on Mushroom cultivation Technology*, Beijing, China. pp - 65.
- CHEN, A.; LARKIN, J.; CLARK, C.; & IRWING, W. (1979). Textural analysis of cheese *J. Dairy Sci.*, 62: 901-907

- CHOCKCHAISA WASDEE, S.; NAMJAIDEE, S.; POCHANA, S. & STATHOPOULOS, C. (2010). Development of fermented oyster - mushroom sausage. *Asian Journal of Food and Agro-Industry.*, 3 (01): 35-43
- CHOI, Y.; CHOI, J.; HAN, D.; KIM, H.; LEE, M.; KIM, H.; JEONG, J. & KIM, C., (2009). Characteristics of low-fat meat emulsion systems with pork fat replaced by vegetable oils and rice bran fiber. *Meat Science*, 82, 266–271
- CIAPPINI, MA.; GATTI, B. & LÓPEZ, L. (2004). *Pleurotus ostreatus* una opción en el menú, estudio sobre las gírgolas en la dieta diaria, *Redalyc. Org.*, 7 (12): 127-132.
- CODEx ALIMENTARIUS (2006). Carne y productos cárnicos. Salchichas. Especificaciones, norma NORDOM 392 1^{era} rev. pp 1-7
- CORTÉS, A.; CHÁVEZ, O.; GÁLVEZ, H.; GUADARRAMA, L.; LÓPEZ, V.; PAREDES, L. & PÉREZ, G. (2007). *Desarrollo de una Pasta a base de Setas para la elaboración de Alimentos de Consumo Rápido*. Memorias de IX pp 213-217
- CORTÉS, M.; GARCÍA, A.; SUÁREZ, H. (2007). Fortificación Congreso de Ciencia de los Alimentos y V Foro de Ciencia y Tecnología de Alimentos de Hongos comestibles (*Pleurotus ostreatus*) con calcio, selenio y vitamina C. *Revista Scielo*, 14 (1): 1-11.
- CROAN, S. (2004). Conversion of conifer wastes into edible and medicinal mushrooms. *Forest Products Journal*, 54, 68-76
- CRUZ, D.; LÓPEZ, L. & PASCUAL, M. (2010). Evaluación de mezclas de pulpa de café con olote de maíz. *Journal Agricultura and Environment for International Development*, 139 – 154.

- CUNHA, D.; SAVOIE, J. & PARDO, A. (2011). *Soybean the main nitrogen source in cultivation substrates of edible and medicinal mushrooms*. Shanghai, China, 430-453
- CURVETTO, N.; FIGLAS, D.; DEVALIS, R. & DELMASTRO S. (2002). Growth and productivity of different *Pleurotus ostreatus* strains on sunflower seed hulls supplemented with N-NH₄⁺ and/or Mn (II). *Bioresource Technology*, 84, 171-176.
- DE VUYST, L.; FALONY, G. & LEROY, F. (2008). Probiotics in fermented sausages. *Meat Science* 80: 75-78
- DELFÍN, I. & DURAN, C. (2003). Biodegradación de residuos lignocelulósicos por *Pleurotus*. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 37-45
- DELGADO, J. (2013). *Diseño y desarrollo de productos cárnicos con perfil lipídico optimizado. Evaluación del efecto funcional en humanos*. Tesis doctoral, Universidad autónoma de Madrid, España
- DELGADO, N. & ALBARRACIN, W. (2012). Microestructura y propiedades funcionales de harinas de quinoa (*Chenopodium Quinoa* W) y chachafruto (*Erythrina edulis*): potenciales extensores cárnicos *Vitae* 19 (Supl. 1): 430-432
- DÍAS, M.; RODRÍGUEZ, J.; ALBINO, S.; OLIVEIRA, J. & CATARINA, M. (2012). Nitrogen Supplementation on the Productivity and the Chemical Composition of Oyster Mushroom. *Journal of Food Research*, 1 (2): 113-122.
- DOYLE, M., & GLASS, K. (2010). Sodium Reduction and Its Effect on Food Safety, Food Quality, and Human Health. *Comprehensive Food Science and Food Safety*, 9 (1): 44-56.

- DÜNDAR, A. & YILDIZ, A. (2009). Comparative Study on *Pleurotus ostreatus* Cultivated on Different Agricultural Lignocellulosic Wastes. *Turkish Journal of Biology* 33 (2): 171-179.
- DUNDAR, A.; YILDIZ, A. & ACAY, H. (2009). Effect of using defferent lignocellulosic wastes for cultivation of *Pleurotus ostreatus* on mushroom yield, chemical composition and nutritional value. *African J. of Biot.*, 8, 662 - 666
- EIM, V. (2012). *Optimización del proceso de secado en base a criterios de calidad. Aplicación al diseño de un alimento cárnico enriquecido en fibra alimentaria*. Tesis doctoral. Universidad de las Illes Balears
- ELLEUCH, M., BEDIGIAN, D., ROISEUX, O., BESBES, S., BLECKER, C., & ATTIA, H. (2011). Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterization, technological functionality and commercial applications. *Food Chemistry*. 124 (2): 411-421.
- ESPINOSA, J. (2007) *Evaluación Sensorial*. Editorial Universitaria, Ministerio de Educación Superior, La Habana.
- FANADZO, M.; ZIREVA, D.; DUBE, E. & MASHINGAIDZE, (2010). Evaluation of various substrates and supplements for biological efficieny of *Pleurotus sajor caju* and *Pleurotus ostreatus*. South Africa. *African Journal of Biotechnology*. 9 (19): 2756-2761.
- FAO, (2008). *(Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). Los hongos comestibles, perspectiva global de su uso e importancia para la población*, Roma: 1-170

- FAO, (2014). (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*). *The State of Food Insecurity in the world, Roma. 1-150.*
- FERNÁNDEZ, F.; RUILOVA, M.; HERNÁNDEZ, A. 2013. *Programa para el diseño de mezclas de residuos agrícolas para el cultivo del hongo Pleurotus ostreatus*. XII Conferencia Internacional sobre Ciencia y Tecnología de los Alimentos. La Habana.
- FERRI, F. (1985). *I Funghi: Micologia, Isolamento, Coltivazione*. Edagricole, Bolonia, Italia.
- FIGUEROA, V. & LAMA, J. (2007). *Conservación artesanal y natural de hongos comestibles en Cuba*. Proyecto de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- FORERO, C.; HOYOS, O. y BAZANTE, (2008). Evaluación de residuos de ají (*Capsicum spp.*) como sustrato en la producción de setas comestibles (*Pleurotus ostreatus*). *Facultad de Ciencias Agropecuarias*. 6 (1): 40 - 53
- FRACCHIÁ, S.; ARANDA, A. & TERRIZZANO, E. (2009). Cultivo de una cepa comercial de *Pleurotus ostreatus* en desechos de *Simmondsia chinensis* y *Jatropha macrocarpa* *Revista de Micología*. 29, 112 - 128
- FURLANY, R. & GODOY, H. (2008). Vitamina B1 and B2 contents in cultivated mushrooms. *Food Chemistry, Brazil*. 106, 816 - 819
- GAITÁN-HERNÁNDEZ, R.; SALMONES, D.; PÉREZ, R Y MATA, G. (2009). Evaluación de la eficiencia biológica de cepa de *Pleurotus pulmonarius* en paja de cebada fermentada. *Rev. Mex. Mic.* 30: 63-71.
- GAMBOA, J.; GALLEGOS, R.; ARCOS, J. L.; LÓPEZ, R.; RAMÍREZ, E. J. & ALARCÓN, A. (2011). Efecto del método de insensibilización sobre los parámetros

más importantes que influyen en el sacrificio y calidad de la carne de cerdo.

NACAMEH. 5 (2): 40-55

GAMERO, M.; VELASCO, O.; CARRILLO, M. & IBARRA, M (2010). *Análisis comparativo de seis marcas comerciales de salchicha tipo Viena*. XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Guanajuato, México

GEA, F. (2011). Cultivo de setas *Pleurotus*. Instituto de Ecología, México. 431-452

GETAHUN, A. (2011). *Successful Oyster (Pleurotus ostreatus) Mushroom Cultivation substrates Performance, Yield, Quality and efficiency of Mushroom Production*. Publisher: VDM Verlag Dr. Muller GMBH & Co. KG. USA. 80 p

GHORAI, S.; BANIK, S.; VERMA, D.; CHOWDHURY, S.; MUKHERJEE, S. & KHOWALA, S. (2009). Fungal biotechnology in food and feed processing. *Food Research International*, 42, 577-587.

GINTEROVÁ, A. & MAXINOVÁ, A. (1974). The Balance of Nitrogen and Composition of Proteins in *Pleurotus ostreatus*. Grown on Natural Substrates, *Folia Microbiol* 246-250

GONZÁLEZ, M.; SUÁREZ, H. & MARTÍNEZ, O. (2009). Relación entre las características fisicoquímicas y sensoriales en jamón de cerdo durante el proceso de cocción y temperatura de almacenamiento. *Vitae*, 16 (02): 183 - 189.

GUZMÁN, G.; MATA, G. & SALMONES, D. (2008). *El cultivo de los hongos comestibles*. Xalapa. México.

GUZMÁN, L.; MARTÍNEZ, D.; MORALES, P. & SOTO C. (1987). El cultivo de hongos comestibles (*Pleurotus*) sobre el bagazo del maguey en la industria tequilera. *Rev. Mex. Mic.* 3, 47-49

- HAMMEL KE & CULLEN D. (2008). Role of fungal peroxidases in biological ligninolysis. ELSEVIER. *Curr. Opin Plant Biol.* 11, 349 – 355.
- HASSAN, S.; MOHAMMED, A. & KIRAMAT, K. (2011). Cultivation of the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in two different agroecological zones of Pakistan. *African Journal Biotechnology*, 10, 183 - 188.
- HATHWAR, S.C.; RAI, A.K.; MODI, V.K. & NARAYAN, B. (2012). Characteristics and consumer acceptance of healthier meat and meat product formulations. *Journal of Food Science and Technology*, 49 (6): 653 - 664
- HAWKSWORTH, D. & KIRK, S. (1995). *Ainsworth & Bisbys Dictionary of the Fungi*. VIII Ed. International Mycological Institute. CAB International, London.
- HERNÁNDEZ, D.; SÁNCHEZ J. & YAMASAKI, K. (2003). A simple procedure for preparing substrate for *Pleurotus ostreatus* cultivation. *Biores. Techn*, 145-150
- HERNÁNDEZ, J. (2012). *La fungicultura y el desarrollo sostenible en la Orinoquia Colombiana*, Editorial Académica Española, publicado en Alemania.
- Hong, J.S. (1978). Studies on the physicochemical properties and the cultivation of the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*), *Korean Agr. Chem. Soc.* 21: 3, 150-184.
- IMRAN, M.; RAJA, M.; BASITH, M. & ASARUDIN, A. (2011). Determination of total phenolic, flavonoid and antioxidant activity of edible mushrooms *Pleurotus florida* and *Pleurotus eous*. *International Food Research Journal* 18: 2, 574-579.
- INIAP. (2012). Análisis de minerales, Universidad Florida, adaptado en el Departamento de Nutrición y Calidad, laboratorio de servicios de análisis e investigación en alimentos

- INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN). (2011). *Reglamento Técnico Ecuatoriano RTE INEN 056 "Carne y Productos cárnicos"*, Quito, Ecuador
- INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN). (2012) *Carne y Productos Cárnicos. Definiciones*. NTE INEN 1217
- ISRILIDES, C.; KLETSAS, D.; ARAPOGLOU, D.; PHILIPPOUSSIS, A.; PRATSINIS, H.; EBRINGEROVA, A.; HRIBALOVA, V. & HARDING, S. (2008). In vitro cytostatic and immunomodulatory properties of the medicinal mushrooms *Lentinula edodes*. *Phytomedicine*, 15: 512-519
- JARAMILLO, D.; YEPES, L.; HINCAPIÉ, G.; VELÁSQUEZ, A. & VÉLEZ, L. (2011). Desarrollo de productos a partir de la orellana (*Pleurotus ostreatus*) *Revista Investigaciones Aplicadas*, 10: 32-41
- JEDINAK, A.; DUDHGAONKAR, S.; IANG, J.; SANDUSKY, G. & SLIVA, D. (2010). *Pleurotus ostreatus* inhibits colitis-related colon carcinogenesis in mice. *International Journal of Molecular Medicine*, 26, 643-650.
- JIMÉNEZ, F. (2010). Productos Cárnicos Funcionales Preparados con Nuez: Una Introducción. *Mundo Lácteo y Cárnico*, 3, 31
- JOLY, G. & ANDERSTEIN, B. (2009). *Starches*. En "Ingredients in meat products: Properties, functionality and applications", R. Tarter. Springer Science Business Media, LLC. New York: pp. 25-55
- JOO, S.; KIM, G.; HWANG, Y. & RYU, Y. (2013). Control of fresh meat quality through manipulation of muscle fiber characteristics. *Meat Science*, 95, 828-836
- KANG W. S. (2004) *Introduction to oyster mushroom, mushrooms growers handbook*, Mush world, Korean

- KHARE, K.; MUTUKU, J.; ACHWANIA, O. & OTAYE, D. (2010). Production of two oyster mushrooms, *Pleurotus sajor - caju* and *P. florida* on supplemented and un-supplemented substrates, *Bots. J. Agric. Appl. Sci.*, 6: 4-11
- KIRK R. S.; SAWYER R.; EGAN, H., (1996). Composición y análisis de alimentos de Pearson segunda edición; Compañía editorial continental SA de CV, México
- Kumar, M.; RAVINDER, N.; KUMAR, R.; HEMALATHA, R.; VERMA, V.; KUMAR, A.; CHAKRABORTY, CH.; SINGH, B.; MAROTTA, F.; JAIN, SH. AND YADAV H. (2012). Cholesterol-Lowering Probiotics as Potential Biotherapeutics for Metabolic Diseases, Department of Microbiology & Immunology, National Institute of Nutrition, Hyderabad, India, 10: 1-14
- LAWRIE, R. & LEDWARD, D. (2006). *Lawrie's meat science*. Seventh English edition 2006 Wood head Publishing Limited and CRC Press England
- LIU, J.; VIJAYAKUMAR, C.; CLIFFORD, A.; HADLEY, M. & CHARLENE, E. (2005). Sensory and chemical analyses of oyster mushrooms (*Pleurotus sajor - caju*) harvested from different substrates. *Journal of Food Science*, 70 (9), 586 - 592.
- LLAURADÓ, G.; MORRIS, H.; LEBEQUE, Y.; FONTAINE, R.; BERMÚDEZ, R. & MARCOS, J. (2005). Acerca de la funcionalidad de setas comestibles *Pleurotus* spp. propiedades bioestimulantes de un extracto acuoso. *Rev Cub Quím.* XVII, 102-07.
- LLAURADÓ, G.; MORRIS, H.; MARCOS, J.; CASTÁN, L. & BERMÚDEZ, R. (2011). Plantas y hongos comestibles en la modulación del sistema inmune *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 30 (4): 511-527
- LONG, N.H.B.S.; GÁL, R. & BUŇKA, F. (2011) Use of phosphates in meat products. *African Journal of Biotechnology*, 10 (86): 19874-19882.

- LÓPEZ, C.; HERNÁNDEZ, SUÁREZ. & BORRERO. (2008). Evaluación del crecimiento y producción de *Pleurotus ostreatus* sobre diferentes residuos agroindustriales del Departamento de Cundinamarca, Colombia. *Revista Universitas Scientiarum Redalyc*, 13 (2): 128 - 137
- MALLIKA, E.; PRABHAKAR, K. & REDDY, P. (2009). Low fat meat products-an overview. *Veterinary World*, 2 (9): 364-366.
- MAMANI, L.; & GALLO, C .(2011). Composición Química y Calidad Instrumental de Carne de Bovino, Llama (*Lama glama*) y Caballo. *Revista de Investigación Veterinaria de Perú*, 22 (4): 301-311.
- MANU TAWIAH, W & MARTÍN, A. (1988). Nitrogen sources and the growth response of *Pleurotus ostreatus* mushroom mycelium. *Can. Inst. Food.Sci. Technol.*, 21 (2): 194-199
- MANZI, P.; MARCONI, S.; AGUZZI, A. & PIZZOFERRATO, L. (2004). Nutritional quality and effect of cooking. *Food Chemistry*, 84, 201-206.
- MARTÍNEZ, A. (2010). Propiedades nutricionales y medicinales del champiñón y otros hongos cultivados. Centro de Investigación Biomédica de La Rioja (CIBIR). España. Disponible en: http://www.ctich.com/principal/prop_nutricionales. Consultado febrero 13 de 2014
- MARTÍNEZ, D. (1989). Simple tecnology to cultivate of *Pleurotus* on coffee pulp in the tropics. *Mushroom Sci.* 12, (part. II), 169-178
- MARTÍNEZ, D.; MORALES, P. & SOBAL, M. (1990). Cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre bagazo de caña enriquecido con pulpa de café o paja de cebada. *Micol. Neotrop. Apl.* 3, 49-52

- MATA, M. (2002). *Macro hongos de Costa Rica*. Editorial INBio, Costa Rica. 254 p
- MATTILA, P.; KONKO, K.; EUROLA, M.; PHLAVA, J.; ASTOLA, J.; VAHTERISTO, L.; HIETANIEMI, V.; KUMPULAINEN, J.; VALTONEN, M. & PIIRONEN, V. (2001). Contents of vitamins, Mineral Elements, and some Phenolic compounds in Cultivated Mushrooms. *J. Agric. Food Chem.* 49, 2343-2348.
- MAZZA, G. (2000) *Alimentos funcionales: aspectos bioquímicos y de procesado*. Ed Acribia, España, 1-32 p.
- MCAFEE, A.; MCSORLEY, E.; CUSKELLY, G.; MOSS, B.; WALLACE, J.; BONHAM, M. & FEARON, A. (2010). Red meat consumption: An overview of the risks and benefits. *Meat Science*, 84 (1): 1-13
- Megazyme International (2011). Assay procedure McCLEARY Method AOAC 995.16 y la AACC 32-23, Ireland, 1-16 p
- MELO DE CARVALHO, C.; SALES-CAMPOS, C. & NOGUEIRA DE ANDRADE, M. (2010). Mushrooms of the *Pleurotus* genus: a review of cultivation techniques. *Journal Interciencia*, 35 (3): 177- 182.
- MEMBRILLO, I.; SÁNCHEZ, C.; MENESES, M.; FAVELA, E. & LOERA, O. (2008). Effect of substrate particle size and additional nitrogen source on production of lignocellulolytic enzymes by *Pleurotus ostreatus* strains. *Bioresource Technology*, 842-878.
- MILES, P. & CHANG, S. (1999). *Mushroom biology, Concise Basics and current development*. Fifth Edition. World scientific. Singapore

- MOAWAD, R.K.; ABOZEID, W. & NADIR, A. (2012). Effect of Nitrite Level and Tea Catechins on Residual Nitrite and Quality Indices of Raw-Cured Sausages. *Journal of Applied Sciences Research*, 8 (2): 815-822
- MODA, E.; HORII, J. & SPOTO, M. (2005). Edible mushroom *Pleurotus sajor-caju* production on washed and supplemented sugarcane bagasse. *Scientia Agric.* 127-132
- MORRIS, H.; LEBEQUE, Y.; FONTAINE, R.; BERMÚDEZ, R.; LLAURADÓ, G. & MARCOS, J. (2007) A note on the in vitro macrophage stimulating activity of water-soluble extracts from mycelium of *Pleurotus spp.* *Food Agric Immunol.* 18 (1): 31-37.
- MORRIS, H.; MARCOS, J.; LLAURADÓ, G.; FONTAINE, R.; TAMAYO, V. & GARCÍA, N. (2003). Immunomodulating effects of the hot water extract from *Pleurotus ostreatus* mycelium on cyclophosphamide treated mice. *Micol Apl Int.* 15 (1): 7-13.
- MUEZ, M. & PARDO, J. (2008). *La preparación del sustrato*. En: Sánchez, J.; Royse, D. (eds). *La biología y el cultivo de Pleurotus Spp.* Limusa. México.
- NAGA, E.; PRABHAKAR, K.; REDDY, P. (2009). Low Fat Meat Products -*Veterinary World.* 2 (9):364-366
- NARAIN, R.; SAHU, R.; KUMAR, S.; GARG, S.; SINGH, C., & KANAUIA, R. (2008). Influence of different nitrogen rich supplements during cultivation of *Pleurotus florida* on maize cobs substrate. *Environmentalist*, 29, 1-7.
- NINCO, A.; CUASQUER, L.; BONILLA, S.; CARRERO, M. & REY, J. (2010) Evaluación de un producto cárnico de caprino con sustitución de grasa. *Épsilon* 14, 59 - 87.

- NITSCHKE, J.; MODICK, H.; BUSCH, E.; REKOWSKIR, W.; ALTENBACH, H. & MÖLLEKEN, H. (2011). A new colorimetric method to quantify b-1,3-1,6 - glucans in comparison with total b-1,3-glucans in edible mushrooms. *Food Chemistry*, 127, 791-796
- NORMA TÉCNICA ECUATORIANA 780 (2010). *Carne y Productos cárnicos, determinación de Cloruros*. Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN. Quito, Ecuador
- NORMA TÉCNICA ECUATORIANA 784 (2010). *Carne y Productos cárnicos, determinación de Nitritos*. Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN. Quito, Ecuador
- NORMA TÉCNICA ECUATORIANA 0767 (2013). *Control microbiológico de los alimentos. Mohos y levaduras*. Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN. Quito, Ecuador
- NORMA TÉCNICA ECUATORIANA 1529-15 (2013). *Control microbiológico de los alimentos. Salmonella. Método de detección*. Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN. Quito, Ecuador
- NORMA TÉCNICA ECUATORIANA 1529-2 (2013). *Control microbiológico de los alimentos. Toma, envío y preparación de muestras para el análisis microbiológico*. Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN. Quito, Ecuador
- NORMA TÉCNICA ECUATORIANA 1529-5 (2013) *Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos. REP*. Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN. Quito, Ecuador

- NORMA TÉCNICA ECUATORIANA 1529-6 (2013). *Control microbiológico de los alimentos. Determinación de microorganismos coliformes por la técnica del número más probable*. Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN. Quito, Ecuador
- NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 783 (2013) *Carne y Productos cárnicos Determinación del pH*. Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN. Quito, Ecuador
- NORMA TÉCNICA ECUATORIANA INEN NTE 277 (2005). *Determinación del índice de peróxido*. Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN. Quito, Ecuador
- NORMA TÉCNICA ECUATORIANA INEN NTE 1338 (2010). *Carne y Productos Cárnicos. Productos cárnicos crudos, productos cárnicos curados-madurados y productos cárnicos precocidos-cocidos. Requisitos*. Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN. Quito, Ecuador
- OEI, P. (2003). *Mushroom Cultivation* 3rd edition - Appropriate technology for mushroom growers. Backhuys Publishers, Leiden. The Netherlands. 429p.
- OSANI, T.; DLAMINI, S.; EARNSHAW, D. & MASARIRAMBI. (2012). Effect of substrate pre-treatment methods on oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) production. *International Journal of agriculture & biology*, 14 (2), 251-258
- OSANI, T.; DUBE, S.; WAHOME, P.; MASARIAMBI, M. & EARNSHAW, D. (2012). Effect of Wheat Bran Supplement on Growth and Yield of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on Fermented Pine Sawdust Substrate. *Experimental Agriculture & Horticulture, Luyengo*, 12 (4): 30 - 40
- OSPINA, S.; RESTREPO D. & LÓPEZ, J. (2011). Derivados cárnicos como alimentos funcionales. *Revista Lasallista de Investigación*, 08 (02): 163-172.

- PALANCA, V.; RODRÍGUEZ, E.; SEÑORÁNS, J. & REGLERO, G. (2006). Alimentos funcionales. Bases científicas para el desarrollo de productos cárnicos funcionales con actividad biológica combinada. *Nutrición hospitalaria*, 21, 199-202
- PARDO, J.; PERONA, M. & PARDO, A. (2008). Materiales y técnicas para la elaboración de sustratos de Cultivo de *Pleurotus spp*, IV Jornadas Técnicas del Champiñón y Otros Hongos Comestibles en Castilla-La Mancha pp. 11-31.
- Park YK, Ikegakim, M., Alencar S.M. & Aguiar, C.L. (2003). Determination of β - glucan concentration in *Agaricus blazei* Murill mushroom by enzymatic method *Cienc. Tecnol. Aliment.* 23:312 - 316
- PARRA, R. (2011). *Buen vivir y constitución*_: Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo (SENPLADES), Editorial Pedagógica Freire, Ecuador: 1-170
- PEREIRA, P. & LI, Y. (2011). Mushrooms as a functional food mediator in preventing and ameliorating diabetes. *Functional Foods in Health and Disease*. 4, 161-171.
- PÉREZ-MERLO, R. & MATA, G. 2005. Cultivo y selección de cepas de *Pleurotus ostreatus* y *P. pulmonarius* en viruta de pino: obtención de nuevas cepas y evaluación de su producción. *Revista Mexicana de Micología*, 20, 53-59
- PETRIDIS, D.; RITZOULIS, C.; TZIVANOS, I.; VLAZAKIS, E.; DERLIKIS, E. & VARELTZIS, P. (2013). Effect of fat volume fraction, sodium caseinate, and starch on the optimization of the sensory properties of frankfurter sausages. *Food Science, & Nutrition*, 1 (1): 32-44
- PIÑERO, M.; PARRA, K.; HUERTA-LEIDENZ, N.; DE MORENO, L.; FERRER, M.; ARAUJO, S. & BARBOZA, Y. (2008). Effect of oat's soluble fibre (b-glucan) as a

fat replacer on physical, chemical, microbiological and sensory properties of low-fat beef patties. *Meat Science*, 80, 675-680.

PRAKASH, P.; ANURADHA, S.; DHANALAKSHMI & NIVEDITHA, N. (2010). Application of statistical methods to optimize medium for increased yield of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*), India. *Journal of Biological Technology*, 1 (1): 66-74

RAJARATHMAN, S. & BANO, Z. (1991). *Pleurotus* Mushrooms Cultivation. CRC. *Food Science and nutrition*, 157-223

RAJARATHNAM, S.; SHASHIREKA, M. & BANO, Z. (1992). Biopotentialities of the basidiomycetes. *Adv. Appl. Microbiol.* 37, 223-361.

RAMÍREZ, A. (2009). *Estudio de las propiedades bioactivas de hongos comestibles para el diseño de productos cárnicos funcionales*. Tesis doctoral Departamento de Química Física Aplicada, Facultad De Ciencias, Universidad Autónoma De Madrid. España.

RAMY, S. & YEHIA, (2012). Nutritional value and biomass yield of the edible mushroom *Pleurotus ostreatus* cultivated on different wastes in Egipto. *Food Biotechnology*, 11, 9-14

RANDIVE, S. (2012). Cultivation and study of growth of oyster mushroom on different agricultural waste substrate and its nutrient analysis. *Advances in Applied Science Research*, 3, 1938-1949,

RENGIFO, L. & ORDOÑEZ, E. (2010). Efecto de la temperatura en la capacidad de retención de agua y pH en carne de res, cerdo, pollo, ovino, conejo y pescado paco. *ECI Perú*, 7 (2): 77-85

- REY, J. & GUALDRON, L. (2011). Evaluación de la Sustitución de Grasa Animal por Grasa Vegetal Insaturada en la Elaboración de un Embutido de Carne de Búfalo (*Bubalus bubalis*). *Información Tecnológica*, 22 (02): 43-54.
- RIVERA, I. (2012). Reducción de grasa y alternativas para su sustitución en productos cárnicos emulsionados, una revisión. *Nacameh*, 6 (1): 1-14.
- RIVERA, Y. & GALLARDO, Y. (2010). Non-dairy probiotic products. *Food Microbiology*, 27 (1):1-11.
- RODRÍGUEZ, N.; ARAQUE, M.; & PERDOMO, F. (2006). *Producción de los Hongos comestibles Orellanas y Shiitake*. Manual SENA, Cenicafé, La Angostura, Colombia, 1-45
- ROMERO, O.; HUERTA, M.; DAMIÁN, M.; MACÍAS, A.; TAPIA, A.; PARRAGUIRRE, J. & JUÁREZ, J. (2010). *Evaluación de la capacidad productiva de Pleurotus ostreatus con el uso de hoja de plátano (Musa paradisiaca) L.; CV. Roatan) deshidratada, en relación con otros sustratos agrícolas*. Agronomía Costarricense, Colegio de Postgraduados, Puebla, México. 34(1): 53-63
- ROPY, O.; MLCEK, J. & JURIKOVA, T. (2009). Beta-glucans in higher fungi and their health effects. *Nutrition Reviews*, 67 (11): 624-631
- SAAVEDRA, M. (2007). *Biodegradación de alperujo utilizando hongos del género Pleurotus y anélidos de la especie Eisenia foetina*. Tesis doctoral. Universidad de Granada, Instituto de Biotecnología, Granada, México.
- SALMONES, D.; MATA, G. & WALISZEWSKI, K. (2005). Comparative culturing of *Pleurotus spp.* on coffee pulp and wheat straw: biomass production and substrate biodegradation, *Technology*, 6, 537-544

- SAMPAIO, G., CLAUDIA, C., CASTELLUCCI, G.; PINTO, E.; SILVA, M. & TORRES, E. (2004). Effect of fat replacers on the nutritive value and acceptability of beef frankfurters. *Journal of Food Composition and Analysis*. 17 (3-4): 469-474.
- SÁNCHEZ, A. & ROYSE, B. (2002). *La biología y el cultivo de Pleurotus spp.* Editorial Limusa S. A. Ciudad México. 288 p
- SÁNCHEZ, J. & MATA, G. (2012). *Hongos comestibles y medicinales en Iberoamérica*, LIMUSA, México. pp: 145-154
- SANTOS, R. (2003). *Manual de tecnología de elaboración de productos cárnicos embutidos*. Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia. Vice dirección de carne.
- SEBRANEK, J. 2009. *Basic curing ingredients*. En “Ingredients in meat products: Properties, functionality and applications”, R. Tarté, ed. Springer Science Business Media, LLC. New York: pp. 1-24
- SHAH, Z.; ASHRAF, M. & ISHTIAQ, C. 2004. Comparative study on cultivation and yield performance of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on different substrates (Wheat straw, leaves, saw dust). *Journal of nutrition Pakistan*, 3 (3): 158-160
- SHARMA, S & MADAN, M. (1993). Microbial protein from leguminous and Non leguminous substrates. *Acta Biotechnology*, 13 (2): 131-139
- SHARMA, S; KAILASH, R. & POKHREL, CH. (2013). Growth and Yield of Oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on different substrates. *Journal on New Biological Reports*, 2 (1): 03-08
- SHASHIREKHA, M.; RAJARATHNAM, S. & BANO, Z. (2005). Effects of supplementing rice straw growth substrate with cotton seed on the analytical

- characteristics of the mushroom, *Pleurotus florida* (Block & Tsao). *Food Chemistry*, 92, 255 -259.
- SHEIKH, M.; KUMAR, A.; ISLAM, M. & MAHOMUD, M. (2010). The effects of mushroom powder on the quality of cake. *Progress. Agric.* 21 (1-2): 205-214
- SILVA, E.; DÍAS, E.; SIQUEIRA, F. & SCHWAN, R. (2007). Analise química de corpos de frutificação de *Pleurotus sajor-caju* cultivado em diferentes concentrações de nitrogênio. *Ciencia e Tec. dos Alim.* 27 (1): 72-75
- SIN, M.; HYDE, K.; POINTING, S. (2002). Comparative Enzyme Production by Fungi from Diverse Lignocellulosic Substrates. *J. Microbiol.* 3, 241-244.
- SINDELAR, J. & MILKOWSKI, A. (2011). Sodium Nitrite in Processed Meat and Poultry Meats: A Review of Curing and Examining the Risk/Benefit of Its Use. *American Meat Science Association*, 3, 1-16.
- SINGH, M.; VIJAY, B; KAMAL, S. & WALKCHAURE, G., (2011). *Mushrooms cultivation, marketing and consumption*. Directorate of Mushroom Research, India, pp 1-254.
- SIQUEIRA, F.; MACIEL, W.; MARTOS, E.; DUARTE, G.; MILLER, R.; DA SILVA, R. & DIAS, E. (2012). Cultivation of *Pleurotus* mushrooms in substrates obtained by short composting and steam pasteurization. *Journal of Biotechnology*, 11 (53): 11630-11635
- SMITH, J.; ROWAN, N. & SULLIVAN, R. (2002). *Medicinal mushrooms: their therapeutic properties and current medical usage with special emphasi on cancer treatments*. University of Strathclyde, Reino Unido, 118 - 129

- SOBIERALSKI, K.; SIWULSKI, M. & SAS-GOLAK, I. (2013). Potential utilization of vegetables and mushrooms as components of functional food. *Folia Horticulture*, 25 (1): 79-88
- SOLER-RIVAS, C.; RAMÍREZ-ANGUIANO, A.; REGLERO, G. & SANTOYO, S. (2010). Effect of cooking, *in vitro* digestion and Caco2- cells absorption on radical scavenging activities of edible mushrooms. *International Journal of Food Science & Technology*, 44, 2189-2197
- SOTO, A.; GARCÍA, M.; & SELGAS, M. (2009) Productos Cárnicos Madurados Enriquecidos Con Gluconato D-Cálcico. *Revista Complutense de Ciencias*, 3 (2): 41-50.
- STAMETS P. (2000). *Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms* Ten Speed Press, Washington. Ed. Agarikon. Press, pp 1-372
- SUÁREZ, C. & NIETO, I. (2012). Cultivo biotecnológico de macrohongos comestibles: una alternativa en la obtención de nutraceuticos, *Revista Iberoamericana de Micología*. 30, 1-8
- SUN, X. & HOLLEY, R. (2011). Factors influencing gel formation by myofibrillar proteins in muscle foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10 (1): 33-51.
- TAIZ, L. & ZEIGER, E. (2002). *Plant Physiology*. Third Edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts, 690 pp
- TAVARES, A.; MENDES, E.; TEIXEIRA, J.; PEREIRA, G., SOUZA, A. & FONTES, P. (2011). Effects of the addition of mechanically deboned poultry meat and collagen

- fibers on quality characteristics of frankfurter-type sausages. *Meat Science*, 89, 519-525.
- TOTOSAUS, A. (2007). Productos cárnicos emulsionados bajos en grasa y sodio. *Nacameh*, 01 (01): 53-66.
- UPADHYAY, R.; VERMA, R.; SINGH, S. & YADAV, M. (2002). *Effect of Organic nitrogen supplementation in Pleurotus species. India*. Sanchez y col. (Eds), 2002, UAEM. 228-232.
- VALENCIA, N. & LÓPEZ, C. (2006). *Cultivo de hongos comestibles del género Pleurotus sobre residuos agrícolas de la zona cafetera. Centro Nacional de Investigaciones de café "Pedro Uribe Mejía", Cenicafé. Chinchina-Caldas-Colombia, Boletín Técnico n° 27.*
- VAN SOEST, P. (1967). Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for determination of fiber and lignin. *J. Assn. Offic. Anal. Chem.* 355 p
- VARNERO, M.; QUIROZ, M. & ÁLVAREZ, C. (2010). *Utilización de Residuos Forestales Lignocelulósicos para Producción del Hongo Ostra (Pleurotus ostreatus). Scientific Electronic Library Online – Chile.* 13 (2): 13-20
- VÁZQUEZ-OVANDO, A.; ROSADO-RUBIO, G.; CHEL-GUERRERO, L.; & BETANCUR-ANCONA, D. (2009). Physico chemical properties of a fibrous fraction from chia (*Salvia hispanica* L.) *LWT Food Science and Technology* 42, 168-173
- VIZZOTTO, M.; KROLOW, A. & CARDOSO, F. (2010). *Alimentos Funcionais: Conceitos Básicos* Documentos 312 Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Embrapa Clima Temperado Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento,
Brasil

- WALKLEY, A. & BLACK, I. (1996). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37: 29-38
- WAN ROSLI, W. & AISHAH, M. (2012). *Pleurotus sajor-caju* (PSC) Improves Nutrient Contents and Maintains Sensory Properties of Carbohydrate-based Products. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 63 (3): 490-492
- WAN ROSLI, W. & SOLIHAI, M. (2012). Effect in the addition of *Pleurotus sajor-caju* (PSC) on physical and sensorial properties of beef patty. *International Food Research Journal*, 19 (3): 993-999.
- WAN ROSLI, W. & SOLIHAI, M. (2012). Effect on the addition of *Pleurotus sajor-caju* (PSC) on physical and sensorial properties of beef patty. *International Food Research Journal*, 19 (3): 993-999
- WAN ROSLI, W. & SOLIHAI, M. (2014). Nutritional Composition and Sensory Properties of Oyster Mushroom-based Patties Packed with Biodegradable Packaging. *Sains Malaysiana*, 43 (1): 65-71
- WAN ROSLI, W. I.; SOLIHAI, M. A.; AISHAH, M.; NIKFAKURUDIN, N. & MOHSIN, S. (2011a). Colour, textural properties, cooking characteristics and fibre content of chicken patty added with oyster mushroom (*Pleurotus sajor-caju*). *International Food Research Journal*, 18 (1): 621-627
- WAN ROSLI, W.; SOLIHAI, M. & MOHSIN, S. (2011). On the ability of oyster mushroom (*Pleurotus sajor-caju*) conferring changes in proximate composition and

- sensory evaluation of chicken patty. *International Food Research Journal*, 18 (4): 1463-1469
- WAN ROSLI, W.; SOLIHAI, M.; NIKFAKURUDIN, N.; AISHAH, M. & MOHSIN, S. (2011b). The Effect of *Pleurotus sajor-caju* (PSC) Addition on the Nutritional Composition and Sensory Properties of Poultry-Based Patty. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 52 (04): 859-862
- WANG, H.; ZHANG, M.; & CHANG, J. (2011). A Study on Color Conserve and Flavor Improvement of Oyster Mushroom Products. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 6 (7): 832-837
- WANG, P.; XU, X. & ZHOU, G. (2009). Effects of Meat and Phosphate Level on Water-Holding Capacity and Texture of Emulsion-Type Sausage During Storage. *Agricultural Sciences in China*, 8 (12): 1475-1481
- WASSER, H. (2011). Pleureryn, a novel protease from fresh fruiting bodies of the edible mushroom *Pleurotus eryngii*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 289, 750-755.
- WASSER, S. DIDUKH, M. & NEVO, E. (2004). Dietary supplements from culinary-medicinal mushrooms: a variety of regulations and safety concerns for the 21st century. *Inter J Med Mushrooms*, 6, 231-48.
- WEISS, J.; GIBIS, M.; SCHUH, V. & SALMINEN, H. (2010). Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. *Meat Science*, 86, 196-213
- XIONG, Y. (2009). *Dairy proteins*. En “Ingredients in meat products: Properties, functionality and applications”, R. Tarté, ed. Springer Science Business Media, LLC. New York, 131–144

- YOO, S.; KOOK, S.; PARK, S.; SHIM, J. & CHIN, K. (2007). Physicochemical characteristics, textural properties and volatile compounds in comminuted sausages as affected by various fat levels and fat replacers. *International Journal of Food Science and Technology*, 42 (9): 1114-122.
- ZABEL, R. & MORREL, J. (1992). *Wood Microbiology. Decay and its prevention*. Academic Press, San Diego, California.
- ZANDRAZIL, F. & KURTZMAN, R.; (1982). The biology of *Pleurotus* cultivation in the tropics in Tropical mushrooms. *The Chinese Press*, 493, 277-298.
- ZANETTI, A. & RANAL, M. (1996). Efeito de diferentes resíduos agroindustriais na miceliação de *Pleurotus spp.* “Florida”, em Uberlândia, MG. *Pesq. Agrop. Bras.* 31 (3): 215-220
- ZHANG, W.; XIAO, S.; SAMARAWEERA, H.; LEE, E. & AHN, D. (2010). Improving functional value of meat products. *Meat Sci.* 86 (1): 15-31
- ZHANG, Y.; HIMMEL, M. & MIELENZ, J. (2006). Outlook for cellulase improvement: Screening and selection strategies. *Biotechnol. Adv.* 24, 452-481.
- ZIED, D. J.; SAVOIE, A. & PARDO-GIMÉNEZ, (2011). Soybean the main nitrogen source in cultivation substrates of edible and medicinal mushrooms. Soybean and nutrition. *In Tech China. Shangai*, 307-317.

ANEXOS

Anexo 1.

Formulación de la salchicha vienesa comercial y con la incorporación de hongo

Ingredientes	Cantidad (%)	Ingredientes (%)	Cantidad (%)
Carne estofado	40	Carne de res	40
Carne de cerdo	25	Hongo	27
Grasa de cerdo	10	Grasa de cerdo	8
Hielo	20	Hielo	17,5
Proteína	2	Proteína de soya	2,2
Almidón	3	Almidón de papa	2,2
Sal	2	Sal	2
Nitrito	0,0125	Nitrito	0,0024
Ácido ascórbico	0,03	Ácido ascórbico	0,03
Eritorbato	0,02	Eritorbato	0,44
Tripolifosfato	0,44	Tripolifosfato	0,0024
Oleoresina (Vienes)	0,06	Nuez moscada en polvo	0,1
Nuez moscada en polvo	0,01	Ajo en polvo	0,1
Ajo en polvo	0,3	Pimienta blanca	0,1
Azúcar	0,2	Orégano	0,1
		Romero	0,1
		Jengibre	0,1
		Azúcar	0,1

Anexo 2

PRUEBA DE ACEPTABILIDAD DE LA SALCHICHA DE CARNE-HONGO

Instrucciones:

Para la muestra de salchicha recibida, marque con una (X) sobre la escala según su aceptación. Por favor escriba el código de la muestra en la línea superior según corresponda. Enjuáguese la boca con agua antes de probar cada muestra.

	Código			
	M1	M2	M3	M4
Me gusta extremadamente (7)	_____	_____	_____	_____
Me gusta mucho (6)	_____	_____	_____	_____
Me gusta ligeramente (5)	_____	_____	_____	_____
Ni me gusta ni me disgusta (4)	_____	_____	_____	_____
Me disgusta ligeramente (3)	_____	_____	_____	_____
Me disgusta mucho (2)	_____	_____	_____	_____
Me disgusta extremadamente (1)	_____	_____	_____	_____

Valores entre () = Puntuación

Fecha:_____

Anexo 3

Boleta de cata análisis descriptivo de la salchicha de carne hongo

Fecha: _____

Código: _____

Instrucciones

Evalúe cada uno de los atributos de la salchicha, situando una marca en la línea de abajo:

Apariencia externa

Color

1	5	10
Crema		Rosa

Superficie

1	5	10
Lisa		Rugosa

Apariencia interna

Color

1	5	10
Crema		Rosa

Brillo

1	5	10
Opaco		Brillante

Aspecto al corte

1	5	10
No homogéneo		Homogéneo

Aroma

A carne

1	5	10
Débil	muy ligero	ligero moderado marcado muy intenso

A hongo

1	5	10
Débil	muy ligero	ligero moderado marcado muy intenso

Ácido

1	5	10
Débil	muy ligero	ligero moderado marcado muy intenso

Rancio

1	5	10
Débil	muy ligero	ligero moderado marcado muy intenso

Sabor

A carne	1	5			10	
	Débil	muy ligero	ligero	moderado	marcado	muy intenso
A hongo	1	5			10	
	Débil	muy ligero	ligero	moderado	marcado	muy intenso
Ácido	1	5			10	
	Débil	muy ligero	ligero	moderado	marcado	muy intenso
Rancio	1	5			10	
	Débil	muy ligero	ligero	moderado	marcado	muy intenso
Salado	1	5			10	
	Débil	muy ligero	ligero	moderado	marcado	muy intenso
Picante	1	5			10	
	Débil	muy ligero	ligero	moderado	marcado	muy intenso
Regusto	1	5			10	
	Débil	muy ligero	ligero	moderado	marcado	muy intenso

Textura

Dureza	1		5		10
	Blando				Duro
Cohesividad	1		5		10
	No cohesivo				Cohesivo
Fracturabilidad	1		5		10
	No fracturable				Fracturable
Gomosidad	1		5		10
	No gomoso				Gomoso
Masticabilidad	1		5		10
	Baja				Alta
Arenosidad	1		5		10
	Ausente				Arenoso

Anexo 4

Tabla 14. Matriz experimental y resultados

No	Carne (%)	Hongo (%)	grasa (%)	pH	H (%)	G (%)	P (%)	Aceptab	Dureza (N)	Fractura (N)	Elast (mm)	Cohes	Gomos (N)	Mastic (N)	RC (%)	Costo (USD)
1	40	25	10	6,5	72,46	9,4	12,79	6,7	61,81	32,85	0,551	0,242	15,926	8,775	97,31	3,21
2	23	40	12	6,6	73,48	10,8	10,38	5,1	28,80	13,97	0,657	0,384	11,059	7,266	98,79	3,07
3	25	40	10	6,6	74,03	8,99	10,41	5,6	29,84	15,01	0,647	0,372	11,1	7,182	98,8	3,06
4	33	33	9	6,6	73,33	8,42	11,43	6,5	49,25	17,31	0,595	0,337	17,608	10,48	97,45	3,12
5	40	23	12	6,4	71,28	11,9	12,81	6,4	60,18	30,32	0,541	0,247	15,445	8,356	97,36	3,24
6	31,5	31,5	12	6,5	71,48	11,6	11,4	6,5	38,84	22,81	0,575	0,333	12,934	7,437	97,54	3,16
7	35,67	31,33	8	6,5	73,12	7,48	12,1	6,1	50,98	17,4	0,567	0,326	15,997	9,07	97,53	3,13
8	23	40	12	6,6	73,02	9,99	10,37	5,3	28,80	13,97	0,611	0,38	10,944	6,687	98,79	3,07
9	31,5	31,5	12	6,5	71,47	11,5	11,38	6,5	49,07	13,81	0,571	0,336	16,448	9,414	97,54	3,16
10	40	25	10	6,4	72,43	9,46	12,78	6,7	61,23	30,73	0,562	0,24	15,665	8,798	97,31	3,21
11	36,25	27,75	11	6,5	71,66	9,82	12,15	6,7	37,44	19,72	0,551	0,316	11,831	6,519	97,47	3,19
12	29,75	36,25	9	6,6	73,67	8,03	10,78	6,2	42,32	12,65	0,652	0,366	16,953	11,56	97,32	3,09
13	27	40	8	6,6	74,11	7,31	10,47	5,5	29,07	13,91	0,635	0,392	11,395	7,236	98,81	3,05
14	40	27	8	6,4	72,48	7,45	12,65	6,3	65,98	35,73	0,55	0,233	15,373	8,455	97,32	3,18
15	25	40	10	6,6	74,02	8,95	10,8	5,6	29,84	13,01	0,633	0,37	11,041	6,989	98,8	3,05
16	33	33	9	6,5	73,34	8,34	11,42	6,5	45,24	17,31	0,584	0,33	17,243	10,07	97,46	3,12



Figura 16. Hongo *Pleurotus ostreatus* en desarrollo



Figura 17. Hongo *Pleurotus ostreatus* en estado de cosecha

