

Comparación del contenido proteico de la biomasa de *Aspergillus oryzae*, *Rhizopus oligosporus*, *Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus djamor* como potenciales productos alimenticios

Abril Alfaro, Daniel Felipe; Marbello, Angelis; Cárdenas, Martha; Restrepo, Silvia y Bolaños, Natalia.

Resumen

Se estima que la actividad antropogénica que mayor impacto tiene sobre el medio ambiente y el clima global es la agricultura y sus modelos tradicionales de producción de alimentos. Por lo tanto, es imperativo investigar y desarrollar nuevas formas de producción de alimentos, así como el estudio de nuevos productos alimenticios que tengan un menor impacto sobre el planeta. Por este motivo, en el presente estudio se llevó a cabo el análisis de la cantidad de proteína de la biomasa de cuatro especies de hongos de tres Phyla distintos, *Aspergillus oryzae*, *Rhizopus oligosporus*, *Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus djamor* (Ascomycota, Mucoromycota y Basidiomycota, respectivamente), con el fin de determinar cuál de estos puede ser propuesto como una materia prima para el desarrollo de alimentos procesados con altos valores proteicos. El proyecto se llevó a cabo cultivando estos hongos mediante la técnica de fermentación líquida sumergida, ya que permite un rápido crecimiento y fácil manejo de cultivo. Posteriormente, realizando el análisis de cuantificación de nitrógeno total de la biomasa del micelio mediante el método de Kjeldahl se obtuvo la cantidad de proteína presente en cada muestra. Los resultados permitieron determinar que *Pleurotus djamor* (seta rosa) es el hongo con mayor cantidad de proteína en su biomasa con 23,7 gramos en promedio, seguido de *Pleurotus ostreatus* (seta ostra) con 22,7 gramos por cada 100 gramos de muestra, la cual es comparable a otras fuentes proteicas tanto de origen animal como vegetal, pero con la ventaja de que *P. djamor* y *P. ostreatus*, así como las otras especies de hongos analizadas en este proyecto, pueden economizar recursos energéticos, naturales y financieros.

Palabras Clave

Fermentación líquida sumergida, *Aspergillus oryzae*, *Rhizopus oligosporus*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus djamor*, cuantificación proteica, método Kjeldahl, proteína fúngica

Introducción

El Objetivo de Desarrollo Sostenible número 2 de las Naciones Unidas se refiere a que para el 2030 se debe alcanzar el hambre cero en el mundo, ya que se estima que actualmente 690 millones de personas están en condiciones en las que el derecho a una alimentación segura no es atendido adecuadamente (FAO et al., 2020). Adicionalmente, este número puede seguir en aumento ya que desde el 2014 este número se incrementó considerablemente, exacerbado principalmente por conflictos regionales en algunas partes del planeta, cambio climático, crecimiento económico y crecimiento poblacional (Crippa et al., 2021; Godfray et al., 2018). Sumado a esto, la actual pandemia de la COVID-19 puede incrementar los números de personas vulnerables de caer en inseguridad alimentaria entre 83 a 132 millones de individuos nuevos, según las condiciones económicas de algunos países derivadas de esta coyuntura (FAO et al., 2020; FSIN, 2020).

Asimismo, es importante recalcar que existen otros problemas de seguridad alimentaria asociados con la malnutrición, principalmente en la niñez como la obesidad, retraso del crecimiento y desnutrición, que tienen que ser atendidos con prontitud (FAO et al., 2020; FSIN, 2020). Es por esto, que es importante buscar nuevas estrategias de producción de alimentos con un valor nutricional elevado, es decir, con valores adecuados tanto de macronutrientes (proteínas, carbohidratos y grasas) como de micronutrientes (minerales y vitaminas) (FAO et al., 2020), que permita suplir los requerimientos alimenticios diarios necesarios de la población general y, por la misma vía contribuir a mejorar la seguridad alimentaria mundial.

Asimismo, la agricultura y todo lo relacionado con la producción de alimentos con actividades tales como cultivos agrícolas, ganadería, cambio de uso de la tierra, son los mayores responsables del cambio climático acelerado, exacerbando la pérdida de biodiversidad, contaminación de ecosistemas terrestres y acuáticos, cambios en los ciclos biogeoquímicos del nitrógeno y fósforo por el uso indiscriminado de fertilizantes, plaguicidas y abonos; además, aproximadamente un tercio del total de emisiones de gases de efecto invernadero a nivel global son producidas por estas prácticas (Edenhofer, 2015; Foley et al., 2005; Godfray et al., 2018; Robertson & Vitousek, 2009; Springmann et al., 2018). Se estima que aproximadamente el 31 % y el 27 % del total de las emisiones de gases de efecto invernadero globales provenientes de la agricultura son emitidas por las actividades relacionadas con la ganadería/pescaderías y

cultivos agrícolas, respectivamente (Godfray et al., 2018; Poore & Nemecek, 2018). Además, esto sumado al aumento de la población mundial y el crecimiento socioeconómico implica que el uso de la tierra destinado a la producción de alimentos también debe incrementar.

En este sentido, en los años recientes se ha incrementado el cultivo y consumo de los hongos debido a que, por su facilidad de manejo, crecimiento rápido, y poco espacio necesario para su crecimiento, surgen como una alternativa a otros productos cuyo crecimiento o cultivo necesitan de mayores cantidades de tierra, tiempo y dinero (González et al., 2020; Hüttner et al., 2020; Souza Filho et al., 2018). Algunas especies de hongos de diferentes Phyla han tomado relevancia dadas sus características nutricionales reportadas, principalmente por la cantidad de proteína que se puede obtener de estos (Hüttner et al., 2020; Raman et al., 2021; Souza Filho et al., 2018). Lo anterior, constituye a los hongos como una alternativa práctica para sustituir, diversificar o complementar la ingesta proteica en las dietas tradicionales donde priman la proteína de origen animal y vegetal.

Un ejemplo de hongos con potencial alimenticio, son algunas especies del género *Pleurotus* perteneciente al Phylum Basidiomycota, como *Pleurotus ostreatus* (seta ostra) y *Pleurotus djamor* (seta rosa) las cuales son de distribución pantropical, de las cuales sus cuerpos fructíferos son ampliamente comercializados y consumidos en países asiáticos (González et al., 2020; Gregori et al., 2007; Mumpuni et al., 2017; Raman et al., 2021; Zhang et al., 2019). Son hongos saprófitos que crecen sobre la madera descomponiendo materia orgánica puesto que secretan enzimas lignocelulolíticas que les facilitan su desarrollo en estos sustratos, provocando lo que se conoce como pudrición blanca de la madera (Raman et al., 2021; Sekan et al., 2019). Las especies de *Pleurotus*, como las mencionadas anteriormente, se destacan por sus altos valores nutricionales como la cantidad elevada de proteínas entre un 17%-39 % de su peso seco según Bach et al., (2017), con aminoácidos no esenciales y esenciales, en especial leucina y lisina, propiedades nutraceuticas, medicinales, así como su fibra digerible que lo formula como un potencial prebiótico (Kurnia et al., 2014; Mumpuni et al., 2017; Raman et al., 2021; Synytsya et al., 2009).

Por otro lado, el hongo *Aspergillus oryzae*, perteneciente al Phylum Ascomycota, es un organismo que es empleado en países asiáticos en productos alimenticios, por ejemplo, como fermentador de la soya y el arroz para la elaboración de la salsa de soya (shoyu) y el sake, respectivamente (Hüttner et al., 2020; Hyde et al., 2019).

Igualmente, *A. oryzae* se caracteriza por tener un alto contenido proteico y es utilizado ampliamente en la producción de productos lácteos sin lactosa, así como en la coagulación de la leche, mejoramiento del pan y la cerveza, también como un imitador de productos cárnicos, como los elaborados por la empresa Prime Roots (Copetti, 2019; Hüttner et al., 2020).

Otro hongo comestible conocido por sus altos valores nutricionales es *Rhizopus oligosporus*, perteneciente al Phylum Mucoromycota, el cual se distingue principalmente por fermentar los granos de soya dando como resultado un alimento de origen asiático llamado Tempeh y aumentando su valor nutricional aportándole mayor cantidad de proteína (Ferreira et al., 2012; Hüttner et al., 2020; Hyde et al., 2019). Asimismo, se ha encontrado que utilizando el bagazo de yuca como sustrato para el crecimiento de *R. oligosporus*, la cantidad de proteína puede aumentar considerablemente en su biomasa (Sukara et al., 2020).

Teniendo en cuenta lo anterior, dadas las condiciones de cambio climático acelerado, la necesidad de encontrar nuevas formas de agricultura sostenible para la alimentación de una población mundial en aumento se hace imperativa. Además, es importante encontrar nuevos productos alimenticios capaces de suplementar o sustituir los productos proteicos actuales de origen animal o vegetal que pueden llegar a tener mayor impacto sobre el medio ambiente, proporcionando una cantidad de proteína comparable con estos últimos, por ejemplo, con la carne, pollo, huevo, leche, lentejas, frijoles, etc (Coelho et al., 2020; Godfray et al., 2018).

Es por esto que, en este proyecto se propuso analizar la cantidad de proteína de la biomasa de cuatro especies de hongos, *Aspergillus oryzae*, *Rhizopus oligosporus*, *Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus djamor* pertenecientes a tres Phyla distintos (Ascomycota, Mucoromycota y Basidiomycota, respectivamente), con el fin de determinar cuál de estos puede ser propuesto como materia prima para el desarrollo de alimentos más procesados con altos valores proteicos comparables con otros alimentos proteicos de origen animal y vegetal. Es importante señalar que, estos hongos fueron escogidos debido a que han sido ampliamente empleados en dietas orientales y su crecimiento y cultivo son muy rápidos y requieren de mínimos cuidados (Filho et al., 2018; González et al., 2020; Raman et al., 2021). Asimismo, se ha encontrado que estos organismos cuentan con valores nutricionales altos como alta cantidad de proteína y propiedades prebióticas. Sin embargo, las condiciones ambientales y de cultivo pueden

modificar las composiciones de los hongos por lo que es necesario evaluar las características propias de aquellos utilizados en este estudio.

Metodología

Preparación de los organismos.

Las cuatro especies de hongos *Aspergillus oryzae*, *Rhizopus oligosporus*, *Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus djamor* fueron obtenidas de la siguiente forma: El *A. oryzae* fue proporcionado por el cepario de hongos del Laboratorio de Micología y Fitopatología de la Universidad de los Andes (LAMFU); *P. ostreatus* y *P. djamor* fueron adquiridos de un cultivo de estos hongos en la ciudad de Bogotá y *R. oligosporus* se aisló directamente de Tempeh comercial. Estos organismos se sembraron en agar PDA y agar SDY para tener cultivos puros, y fueron incubados a 25° C durante dos semanas con el fin de que los hongos tuvieran un tamaño adecuado y pudieran ser recolectados y utilizados. Se emplearon estos medios de cultivo porque permiten un crecimiento rápido de los hongos por el tipo de nutrientes de fácil asimilación que contienen.

Fermentación líquida sumergida.

Cuando ya se obtuvieron los cultivos puros de *A. oryzae*, *P. djamor*, *P. ostreatus* y *R. oligosporus* en los medios sólidos SDY y PDA se procedió a sembrarlos en medios líquidos durante cuatro semanas a 25° C, con una agitación constante entre 110- 115 rpm. Cada hongo fue sembrado en diez Erlenmeyers; se utilizó un volumen de 500 mL en cada recipiente, para un total de 5 litros por cada uno.

Las especies *A. oryzae* y *R. oligosporus* fueron sembradas en el medio SDY líquido (Peptona, extracto de levadura, dextrosa) debido a que sus ingredientes son óptimos para favorecer el crecimiento de manera rápida. Este medio es utilizado para la activación y el mantenimiento de hongos de acuerdo con Li et al., (2021), así como para la producción de biomasa según Filho et al., (2018). En cada medio se inocularon aproximadamente 1×10^5 propágulos/ mL (conidios y esporangiosporas para *A. oryzae* y *R. oligosporus*, respectivamente), con el fin de equiparar y estandarizar la cantidad de hongo inoculado.

Por otra parte, *P. ostreatus* y *P. djamor* fueron sembradas en el medio descrito por Mumpuni et al. (2017), compuesto por extracto de levadura, sulfato de calcio (CaSO₄), dextrosa, y

salvado de trigo, el cual promueve un crecimiento rápido de la biomasa de *Pleurotus spp.* Esto se realizó tomando las muestras con un sorbete de 6mm de diámetro y una altura aproximada de 10 mm, obteniendo así un volumen de 282 mm^3 para cada Erlenmeyer.

Preparación de la biomasa

Después de las cuatro semanas de crecimiento con las condiciones especificadas para cada especie, se filtró la biomasa obtenida en los medios líquidos, y con un desecador al vacío se eliminó la mayor cantidad de líquido presente proveniente del medio. Posteriormente, se llevó la biomasa a un liofilizador a 0,081 mBar y -41° C durante 24 horas para terminar de retirar la mayor cantidad de agua dentro de la biomasa. Se depositaron las muestras en tubos Falcon de 50 mL con el fin de almacenarlos en un recipiente cerrado. Para finalizar se pesaron cada una de las muestras de biomasa y, se almacenaron los tubos cerrados en neveras a 4° C para mantenerlos frescos hasta el análisis de cuantificación de proteínas.

Cuantificación de proteína de la biomasa

Con la biomasa liofilizada se procedió a realizar la cuantificación de la proteína presente en ella. Este procedimiento se realizó en el laboratorio de Análisis químico y Microbiológico Biopolab en la ciudad de Bogotá el 23 de junio de 2021, mediante el método de Kjeldahl (Jones Jr, 1991), en el cual se calcula el valor de proteína aproximada según la cantidad de Nitrógeno presente en la muestra. Estos análisis se realizaron por triplicado para cada especie de hongo.

Análisis estadístico

Para determinar si los resultados de la proteína encontrada en la biomasa de cada especie de hongo fueron significativamente distintos, primero se realizó un análisis de Shapiro-Wilk para evaluar la normalidad de los datos y, seguido a esto, se realizó un análisis de varianza ANOVA, seguido de un análisis de Tukey de comparación múltiple de medias, los cuales se realizaron en el software de análisis estadístico RStudio versión 1.4.1717 (RStudio Team, 2020).

Resultados

Luego de las cuatro semanas de crecimiento de las cuatro especies de hongos, se liofilizó la biomasa producida y se pesó, encontrando que *A. oryzae* fue la especie que mayor cantidad de biomasa fúngica produjo en los 5 litros de medio líquido con un total aproximado de 120,4

gramos de peso seco, seguido de *R. oligosporus* con 103,2 gramos, *P. djamor* con 76,6 gramos y por último, *P. ostreatus* con 70,4 gramos (Tabla 1). Es importante recalcar que las medidas de la masa corresponden al valor de la biomasa ya liofilizada.

Tabla 1. Peso seco de la biomasa obtenida en un período de cuatro semanas a 25° C con agitación constante entre 110-115 rpm para las cuatro especies de hongos evaluadas en este estudio *P. djamor*, *P. ostreatus* en medio especial para *Pleurotus* y *R. oligosporus*, *A. oryzae* en medio SDY.

Especie	Biomasa Peso Seco (gr)
<i>P. djamor</i>	76,6
<i>P. ostreatus</i>	70,4
<i>R. oligosporus</i>	103,2
<i>A. oryzae</i>	120,4

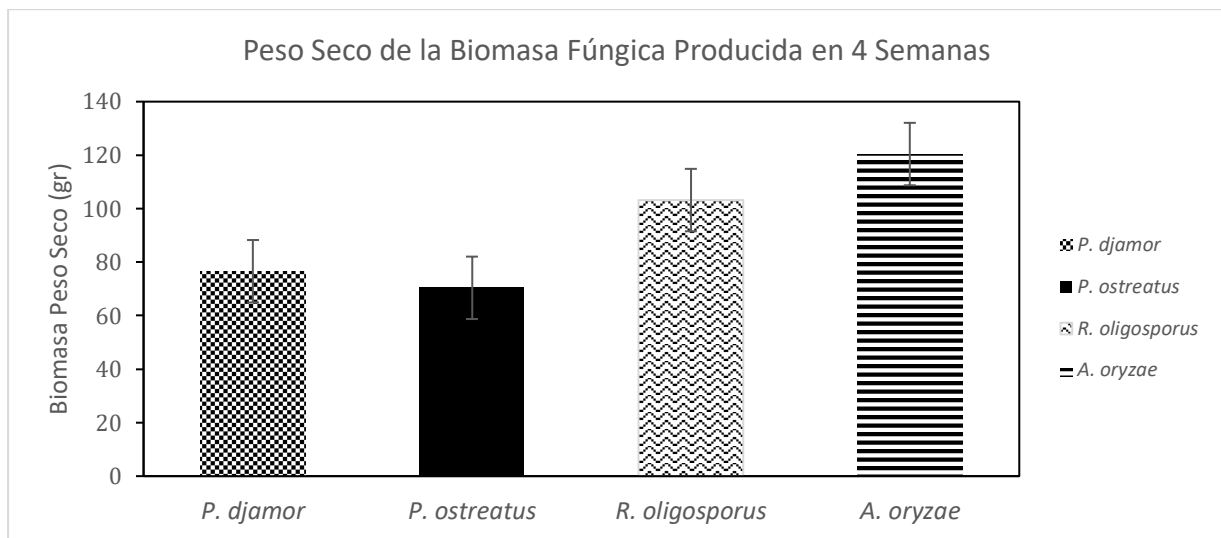


Figura 1. Gráfico de barras del peso seco de la biomasa obtenida en un período de cuatro semanas a 25° C con agitación constante entre 110-115 rpm para las cuatro especies de hongos evaluadas en este estudio *P. djamor*, *P. ostreatus* en medio especial para *Pleurotus* Spp y *R. oligosporus*, *A. oryzae* en medio SDY.

Posteriormente, se realizó la cuantificación de proteína mediante el método de Kjeldahl encontrando que las especies con mayor cantidad de proteína presente en su biomasa fueron las especies de *Pleurotus*, donde la mayor cantidad la tuvo *P. djamor* con un promedio de 23,7/100 gramos, seguida de *P. ostreatus* con 22,7/100 gramos aproximadamente. Contrario a lo observado en la figura 1 se determinó que las especies que tuvieron mayor cantidad de biomasa fueron las que menor cantidad de proteína reportaron, en este sentido, se puede observar que *A. oryzae* fue la que menos proteína reportó con 18,0/100 gramos y *R. oligosporus* con 18,4/100 gramos (Figura 2, Tabla 2).

Tabla 2. Cuantificación de proteína obtenida para las cuatro especies evaluadas en este estudio *P. djamor*, *P. ostreatus*, *R. oligosporus*, *A. oryzae* por 100 gramos de biomasa mediante el método de Kjeldahl

Ensayo No.	<i>P. djamor</i>	<i>R. oligosporus</i>	<i>A. oryzae</i>	<i>P. ostreatus</i>
1	23,6	18,4	17,9	22,6
2	23,3	18,2	18,3	22,9
3	24,2	18,7	17,7	22,7
Media	23,7	18,4	18,0	22,7
Mediana	23,6	18,4	17,9	22,7

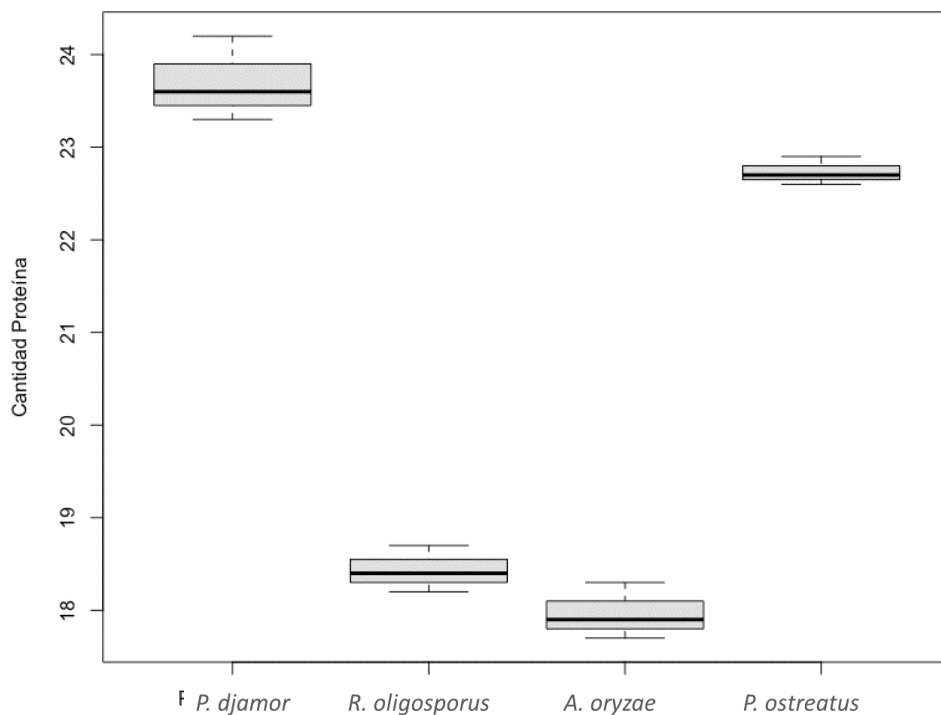


Figura 2. Box Plot de Cuantificación de proteína obtenida para las cuatro especies evaluadas en este estudio *P. djamor*, *P. ostreatus*, *R. oligosporus*, *A. oryzae* por 100 gramos de biomasa mediante el método de Kjeldahl

A este respecto, para analizar si los resultados de la cantidad de proteína de las especies de hongos eran significativamente distintos entre ellos, primero se evaluó la normalidad de los datos realizando una prueba de Shapiro-Wilk comprobando que las muestras siguen una distribución normal como se evidencia en la Tabla 3 ($p\text{-value} > 0,05$). Seguido a esto, se realizó una prueba de ANOVA para descartar la hipótesis nula la cual formula que no hay diferencia entre los datos, encontrando que existían diferencias significativas entre los grupos de datos evaluados con un intervalo de significancia del 95 %.

Tabla 3. Resultado Test de Shapiro-Wilk para análisis de normalidad con un intervalo de confianza del 95% en la cuantificación de proteína obtenida para las cuatro especies evaluadas en este estudio *P. djamor*, *P. ostreatus*, *R. oligosporus*, *A. oryzae* por 100 gramos, realizado en el Software RStudio

	<i>P. djamor</i>	<i>R. oligosporus</i>	<i>A. oryzae</i>	<i>P. ostreatus</i>
p-value	0,6369	0,7804	0,6369	0,6369

Por lo tanto, se realizó una prueba de Tukey para verificar cuales eran aquellas diferencias en las medias de la cantidad de proteína entre las especies de hongos (Tabla 4). Con ello, se logró determinar que entre *P. djamor* y *P. ostreatus* y entre *R. oligosporus* y *A. oryzae* no se presentaron diferencias significativas (p-value > 0,05). Asimismo, entre los otros grupos sí existen diferencias significativas, por lo que se pudo determinar que *Pleurotus spp.* produce una cantidad significativamente mayor de proteína comparado tanto con *R. oligosporus* como con *A. oryzae* (p-value < 0,05).

Tabla 4. Comparación múltiple de medias de Tukey. Nivel de confianza del 95%

```

Fit: aov(formula = `Cantidad Proteina en 100 gr` ~ Hongo)

$Hongo
          diff      lwr      upr    p adj
P. djamor-A. oryzae  5.7333333  4.9168906  6.5497761 0.0000001
P. ostreatus-A. oryzae  4.7666667  3.9502239  5.5831094 0.0000003
R. oligosporus-A. oryzae  0.4666667 -0.3497761  1.2831094 0.3272286
P. ostreatus-P. djamor -0.9666667 -1.7831094 -0.1502239 0.0220742
R. oligosporus-P. djamor -5.2666667 -6.0831094 -4.4502239 0.0000001
R. oligosporus-P. ostreatus -4.3000000 -5.1164428 -3.4835572 0.0000007
    
```

Discusión

La finalidad de este proyecto buscó encontrar y estudiar una fuente con altos niveles proteicos diferente a las mayormente consumidas en la actualidad. Se encontró que las especies *P. djamor* y *P. ostreatus* pueden ser utilizadas como alimentos en su forma liofilizada para complementar, diversificar o sustituir las dietas basadas en fuentes proteicas animales y/o vegetales. Por lo tanto, se vuelve indispensable investigar y desarrollar nuevas formas de producción de alimentos, así como el estudio de nuevos productos alimenticios que tengan menos impacto sobre el planeta, que suplementen o diversifiquen las actuales dietas que tienen más impacto sobre el planeta como la dieta occidental (Godfray et al., 2018).

De acuerdo con Springmann y colaboradores (2018), debido a las perturbaciones las presiones en el ambiente (emisión de gases de efecto invernadero, cambio de uso de la tierra por cultivos agrícolas, eutrofización por aumento de fósforo y nitrógeno, uso de agua, aumento de desperdicios alimenticios) pueden aumentar entre un 50-92 % para el año 2050 si no se realizan medidas correctivas o mejoras tecnológicas que disminuyan los efectos colaterales.

Adicionalmente se conoce que la actividad humana que más utiliza agua es la agricultura (Eshel et al., 2014; Godfray et al., 2018). A este respecto, la producción de los hongos aquí presentados (especialmente *P. djamor* y *P. ostreatus*) pueden tener una ventaja sobre la cantidad de agua que se requiere para producir un kilogramo de biomasa, ya que es menor comparado con la cantidad de agua que se necesita para producir otro tipo de alimento con una cantidad similar de proteína.

Por ejemplo, se sabe que para producir un kilogramo de trigo se necesitan aproximadamente 500-2.000 litros de agua, para producir un kilogramo de carne de res se necesitan cerca de 15.000 litros y un huevo cerca de 200 litros de agua (Institute of Mechanical Engineers, 2013; Mekonnen & Hoekstra, 2012). Mientras que utilizando la metodología de fermentación líquida sumergida para producir un kilogramo de *P. djamor* se necesitan alrededor de 65,8 litros de agua, puesto que con 5 litros de medio líquido se obtuvieron más o menos 76,6 gramos de peso seco de biomasa (Tabla 1, Figura 1).

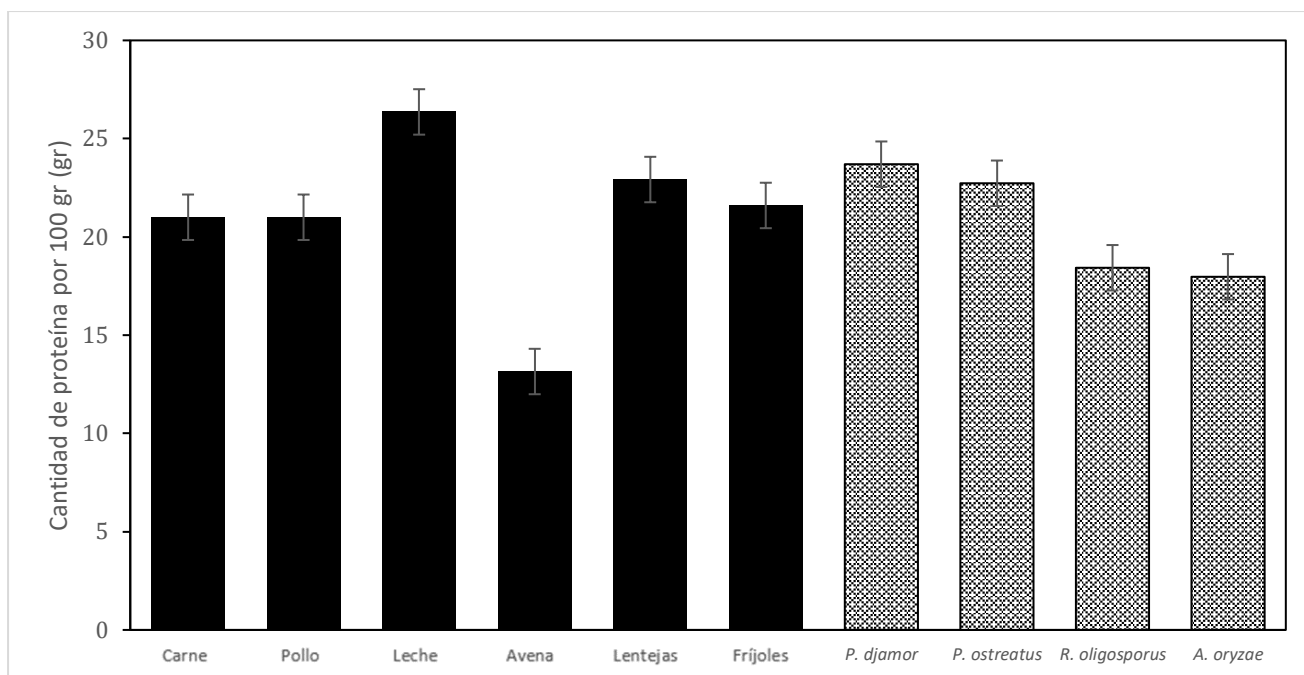


Figura 3. Cantidad de proteína por cada 100 gramos de alimentos comunes en la dieta occidental de origen animal y vegetal en comparación con la cantidad de proteína obtenida de las cuatro especies de hongos evaluadas en este estudio *P. djamor*, *P. ostreatus*, *R. oligosporus*, *A. oryzae*. Adaptado de: (Coelho et al., 2020; González et al., 2020).

Por otra parte, como se puede observar en la Figura 3, las cuatro especies de hongos analizadas tienen niveles de proteína similares a alimentos comunes en las dietas occidentales como la carne, pollo, huevo, lentejas o frijoles, rondando los 20-25 gramos de proteína por cada 100 gramos del producto. Por lo tanto, es posible plantear cualquiera de los hongos aquí estudiados como candidatos para sustituir o complementar los productos proteicos utilizados en las diferentes dietas. Por ejemplo, se puede observar que *P. djamor* y *P. ostreatus* con 23,7 % y 22,7 % de cantidad de proteína respectivamente, son comparables con la cantidad presente en la carne o el pollo, de modo que, estos son las especies de hongos que proponemos como potenciales productos alimenticios proteicos que pueden resultar en una materia prima importante que ayude a diversificar o complementar las actuales dietas.

En este estudio solo se tuvo en cuenta solo la biomasa del micelio porque de acuerdo con Mumpuni y colaboradores (2017), la relación entre la cantidad de proteína y el peso neto de los cuerpos fructíferos es relativamente inferior con respecto a la misma relación con la biomasa del micelio, en este sentido, el resultado de la cantidad de proteína presente en el micelio de *P. djamor* y *P. ostreatus* es previsible según lo estudiado por Miles & Chang, (2004).

Por otra parte, es importante destacar que de acuerdo a las pruebas estadísticas (Tabla 3 y Tabla 4) el análisis de cuantificación de proteína arrojó como resultado que aquel hongo que tenía una cantidad significativamente mayor de proteína fue *P. djamor* y *P. ostreatus*, sin embargo, este no corresponde con aquellos hongos que mayor proporción de biomasa produjeron (Tabla 1, 2; Figura 1, 2). Asimismo, *A. oryzae* fue el organismo que produjo más biomasa, pero el que menor relación peso/proteína obtuvo, por lo tanto, es importante realizar este tipo de estudios ya que como pudimos demostrar no implica que a mayor cantidad de biomasa producida mayor será la cantidad de proteína obtenida. Por el contrario, Filho y colaboradores (2018), encontraron que aun cuando se utiliza el mismo medio, *A. oryzae* tiene un porcentaje de proteína por cada gramo de biomasa fúngica seca más alto. Sin embargo, esta diferencia se puede atribuir a que tienen en cuenta una variable adicional que es la adición de α -amilasa.

P. djamor y *P. ostreatus* toman relevancia dadas sus características de prebióticos al poseer fibra dietaria y una gran variedad de aminoácidos tanto esenciales como no esencial, en específico leucina y lisina (Raman et al., 2021; Synytsya et al., 2009).

También, es importante destacar que hoy en día tener la biomasa en forma liofilizada permite un almacenamiento de fácil manejo, previniendo una contaminación por humedad acumulada y asegurando la inocuidad del producto durante un periodo de tiempo prolongado (Awotwe-Otoo & Khan, 2015), lo cual es importante para la producción de alimentos no perecederos, que garanticen la seguridad alimentaria en lugares en los que puedan ser imprescindibles. Asimismo, la fermentación líquida sumergida al ser una técnica realizada en elementos como Erlenmeyers o biorreactores no necesita la utilización de plaguicidas o fertilizantes, como los cultivos agrícolas que pueden contaminar directamente el suelo o las fuentes hídricas con la adición de exceso de nutrientes como nitrógeno o fósforo (Gregori et al., 2007).

Además, la fermentación líquida sumergida es una técnica que permite que los organismos aprovechen de una mejor manera los nutrientes provistos en el medio, promoviendo su crecimiento en menor tiempo, disminuyendo el exceso de nutrientes y los costos de producción, ya que se debe buscar el mejor porcentaje de rendimiento de la relación costo-beneficio (Gregori et al., 2007). Sin embargo, en futuros estudios se recomienda realizar los análisis de rendimiento en la producción de *P. djamor* y *P. ostreatus* para maximizar tanto el crecimiento de la biomasa como la disminución de exceso de nutrientes. También, se sugiere realizar pruebas para evaluar la presencia de micotoxinas en la biomasa, llevar a cabo ensayos

disolviendo la biomasa liofilizada pulverizada o la proteína extraída en productos que requieren suplementación proteica, como yogures, bebidas azucaradas, entre otras, y realizar ensayos de degustación adicionando la biomasa liofilizada a productos de interés.

Conclusiones:

En conclusión, en el presente estudio se pudo determinar que en el análisis de cuantificación de proteína en cuatro especies de hongos de tres Phyla distintos como lo son *Aspergillus oryzae*, *Rhizopus oligosporus*, *Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus djamor*, aquellos que tuvieron la mayor cantidad de proteína en su biomasa fueron *P. djamor* y *P. ostreatus*. Del mismo modo, nosotros proponemos que el uso de su biomasa liofilizada puede ser aprovechado como materia prima para suplementar productos alimenticios más elaborados tales como yogures, bebidas azucaradas, batidos proteicos, entre otros, con el fin de elevar sus valores nutricionales, ya que adiciona una cantidad de proteína importante.

Además, como se ha descrito por algunos autores, *P. djamor* y *P. ostreatus* cuentan con propiedades de prebiótico como la fibra dietaria y un perfil muy completo de aminoácidos no esenciales y esenciales como leucina y lisina (Raman et al., 2021). Así pues, la biomasa liofilizada en forma pulverizada o no de *P. djamor* y *P. ostreatus* podría diversificar y complementar las actuales dietas, con el propósito de contribuir al objetivo de desarrollo sostenible número dos de hambre cero en el mundo para el 2030, propuesto por las Naciones Unidas.

Referencias:

- Awotwe-Otoo, D., & Khan, M. A. (2015). Lyophilization of Biologics: An FDA Perspective. In D. Varshney & M. Singh (Eds.), *Lyophilized Biologics and Vaccines: Modality-Based Approaches* (pp. 341–359). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2383-0_15
- Bach, F., Helm, C. V., Bellettini, M. B., Maciel, G. M., & Haminiuk, C. W. I. (2017). Edible mushrooms: A potential source of essential amino acids, glucans and minerals. *International Journal of Food Science & Technology*, 52(11), 2382-2392.
- Coelho, M. O. C., Monteyne, A. J., Dunlop, M. V., Harris, H. C., Morrison, D. J., Stephens, F. B., & Wall, B. T. (2020). Mycoprotein as a possible alternative source of dietary protein to support muscle and metabolic health. *Nutrition Reviews*, 78(6), 486–497. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuz077>
- Copetti, M. V. (2019). Fungi as industrial producers of food ingredients. *Current Opinion in Food Science*, 25, 52–56. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.02.006>
- Crippa, M., Solazzo, E., Guizzardi, D., Monforti-Ferrario, F., Tubiello, F. N., & Leip, A. (2021). Food systems are responsible for a third of global anthropogenic GHG emissions. *Nature Food*, 2(3), 198–209. <https://doi.org/10.1038/s43016-021-00225-9>
- Edenhofer, O. (2015). *Climate change 2014: mitigation of climate change* (Vol. 3). Cambridge University Press.
- Eshel, G., Shepon, A., Makov, T., & Milo, R. (2014). Land, irrigation water, greenhouse gas, and reactive nitrogen burdens of meat, eggs, and dairy production in the United States. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(33), 11996–12001.
- FAO, IFAD, UNICEF, WFP, & WHO. (2020). *The State of Food Security and Nutrition in the World 2020. Transforming food systems for affordable healthy diets*. (Vol. 10, Issue 3). FAO, IFAD, UNICEF, WFP and WHO. <https://doi.org/https://doi.org/10.4060/ca9692en>
- Ferreira, J. A., Lennartsson, P. R., Niklasson, C., Lundin, M., Edebo, L., & Taherzadeh, M. J. (2012). Spent sulphite liquor for cultivation of an edible *Rhizopus* sp. *BioResources*, 7(1), 173–188.
- Foley, J. A., DeFries, R., Asner, G. P., Barford, C., Bonan, G., Carpenter, S. R., Chapin, F. S., Coe, M. T., Daily, G. C., Gibbs, H. K., Helkowski, J. H., Holloway, T., Howard, E. A., Kucharik, C. J., Monfreda, C., Patz, J. A., Prentice, I. C., Ramankutty, N., & Snyder, P. K. (2005). Global Consequences of Land Use. *Science*, 309(5734), 570 LP – 574. <https://doi.org/10.1126/science.1111772>

- Food Security Information Network (FSIN). (2020). *2020 Global report on food crises: Joint analysis for better decisions*. <https://www.fsinplatform.org/global-report-food-crises-2020>
- Godfray, H. C. J., Aveyard, P., Garnett, T., Hall, J. W., Key, T. J., Lorimer, J., Pierrehumbert, R. T., Scarborough, P., Springmann, M., & Jebb, S. A. (2018). Meat consumption, health, and the environment. *Science*, *361*(6399), eaam5324. <https://doi.org/10.1126/science.aam5324>
- González, A., Cruz, M., Losoya, C., Nobre, C., Loredó, A., Rodríguez, R., Contreras, J., & Belmares, R. (2020). Edible mushrooms as a novel protein source for functional foods. *Food and Function*, *11*(9), 7400–7414. <https://doi.org/10.1039/d0fo01746a>
- Gregori, A., Švagelf, M., & Pohleven, J. (2007). Cultivation techniques and medicinal properties of *Pleurotus* spp. *Food Technology and Biotechnology*, *45*(3), 238–249.
- Hüttner, S., Johansson, A., Gonçalves Teixeira, P., Achterberg, P., & Nair, R. B. (2020). Recent advances in the intellectual property landscape of filamentous fungi. *Fungal Biology and Biotechnology*, *7*(1), 1–17. <https://doi.org/10.1186/s40694-020-00106-z>
- Hyde, K. D., Xu, J., Rapior, S., Jeewon, R., Lumyong, S., Niego, A. G. T., Abeywickrama, P. D., Aluthmuhandiram, J. V. S., Brahamanage, R. S., Brooks, S., Chaiyasen, A., Chethana, K. W. T., Chomnunti, P., Chepkirui, C., Chuankid, B., de Silva, N. I., Doilom, M., Faulds, C., Gentekaki, E., ... Stadler, M. (2019). The amazing potential of fungi: 50 ways we can exploit fungi industrially. *Fungal Diversity*, *97*(1), 1–136. <https://doi.org/10.1007/s13225-019-00430-9>
- Institute of Mechanical Engineers. (2013). *Global Food Report: Waste not, Want not*. https://www.imeche.org/docs/default-source/reports/Global_Food_Report.pdf
- Jones Jr, J. B. (1991). Kjeldahl method for nitrogen determination. *Kjeldahl Method for Nitrogen Determination*.
- Kurnia, Y. F., Yasni, S., & Nurtama, B. (2014). Optimization formula of goat milk yoghurt and white oyster mushroom powder with mixture design methods. *Pakistan Journal of Nutrition*, *13*(5), 296–302. <https://doi.org/10.3923/pjn.2014.296.302>
- Li, J. S., Chew, Y. M., Lin, M. C., Lau, Y. Q., & Chen, C. S. (2021). Enhanced glucosamine production from *Aspergillus oryzae* NCH-42 via acidic stress under submerged fermentation. *CyTA-Journal of Food*, *19*(1), 614–624.
- Mekonnen, M. M., & Hoekstra, A. Y. (2012). A global assessment of the water footprint of farm animal products. *Ecosystems*, *15*(3), 401–415.
- Miles, P. G., & Chang, S.-T. (2004). *Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact*. CRC press.
- Mumpuni, A., Ekowati, N., Purnomowati, P., & Purwati, E. S. (2017). Growth and Protein Content Establishment of *Pleurotus ostreatus* on Liquid and Solid Medium.

- Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 9(3), 572.
<https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v9i3.11660>
- Poore, J., & Nemecek, T. (2018). Reducing food's environmental impacts through producers and consumers. *Science*, 360(6392), 987–992.
- Raman, J., Jang, K. Y., Oh, Y. L., Oh, M., Im, J. H., Lakshmanan, H., & Sabaratnam, V. (2021). Cultivation and Nutritional Value of Prominent *Pleurotus* Spp.: An Overview. *Mycobiology*, 49(1), 1–14. <https://doi.org/10.1080/12298093.2020.1835142>
- Robertson, G. P., & Vitousek, P. M. (2009). Nitrogen in Agriculture: Balancing the Cost of an Essential Resource. *Annual Review of Environment and Resources*, 34(1), 97–125. <https://doi.org/10.1146/annurev.envIRON.032108.105046>
- RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA
 URL <http://www.rstudio.com/>.
- Sekan, A. S., Myronycheva, O. S., Karlsson, O., Gryganskyi, A. P., & Blume, Y. (2019). Green potential of *Pleurotus* spp. in biotechnology. *PeerJ*, 7, 1–27. <https://doi.org/10.7717/peerj.6664>
- Souza Filho, P. F., Nair, R. B., Andersson, D., Lennartsson, P. R., & Taherzadeh, M. J. (2018). Vegan-mycoprotein concentrate from pea-processing industry byproduct using edible filamentous fungi. *Fungal Biology and Biotechnology*, 5(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s40694-018-0050-9>
- Springmann, M., Clark, M., Mason-D'Croz, D., Wiebe, K., Bodirsky, B. L., Lassaletta, L., de Vries, W., Vermeulen, S. J., Herrero, M., Carlson, K. M., Jonell, M., Troell, M., DeClerck, F., Gordon, L. J., Zurayk, R., Scarborough, P., Rayner, M., Loken, B., Fanzo, J., ... Willett, W. (2018). Options for keeping the food system within environmental limits. *Nature*, 562(7728), 519–525. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0594-0>
- Sukara, E., Hartati, S., & Ragamustari, S. K. (2020). State of the art of Indonesian agriculture and the introduction of innovation for added value of cassava. *Plant Biotechnology Reports*, 14(2), 207–212. <https://doi.org/10.1007/s11816-020-00605-w>
- Synytsya, A., Míčková, K., Synytsya, A., Jablonský, I., Spěváček, J., Erban, V., Kovářiková, E., & Čopíková, J. (2009). Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: Structure and potential prebiotic activity. *Carbohydrate Polymers*, 76(4), 548–556. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.11.021>
- Zhang, W. R., Liu, S. R., Kuang, Y. B., & Zheng, S. Z. (2019). Development of a Novel Spawn (Block Spawn) of an Edible Mushroom, *Pleurotus ostreatus*, in Liquid Culture and its Cultivation Evaluation. *Mycobiology*, 47(1), 97–104. <https://doi.org/10.1080/12298093.2018.1552648>