



**Evaluación de la actividad antimicrobiana y antioxidante de un extracto acuoso de
*Pleurotus ostreatus***

Miguel Ángel Jiménez García

Trabajo de investigación presentado para optar al título de Biólogo

Asesor

Jorge William Arboleda Valencia, Doctor (PhD) en Ciencias Biológicas énfasis Biología
Molecular Biotecnología

Coasesor

Héctor Alejandro Rodríguez Cabal, Doctor (PhD) en Ciencias Agrarias

Universidad de Antioquia
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Biología

Medellín, Antioquia, Colombia

2024

Cita

(Jiménez García, 2024)

Referencia

Jiménez García, M. Á. (2024). *Evaluación de la actividad antimicrobiana y antioxidante de un extracto acuoso de Pleurotus ostreatus*. [Trabajo de grado profesional]. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Estilo APA 7
(2020)



Biblioteca Carlos Gaviria Díaz

Repositorio Institucional: <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>

Universidad de Antioquia - www.udea.edu.co

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

Dedicatoria

Dedicado a todas las personas que me acompañaron durante todo mi proceso de formación desde cada uno de sus lugares de trabajo, como compañeros, amigos, familia o pareja, así como a quienes ya no están.

Agradecimientos

Agradecimientos al grupo de investigación de Agrobiotecnología por permitirme utilizar sus espacios donde se desarrolló gran parte de este proyecto, al grupo de Taxonomía y Ecología de Hongos (TEHO) por permitirme utilizar su cuarto de cultivo donde se obtuvieron algunos de los basidiocarpos utilizados en el proceso de extracción, al laboratorio de preparaciones de microbiológicas del Instituto de Biología por facilitarme las cepas bacterianas utilizadas para las pruebas de actividad antimicrobiana, y al grupo de Química de Productos Naturales de Agrosavia por permitirme realizar allí la prueba de actividad antioxidante así como también facilitarme los reactivos para la realización de la misma.

A todas las personas a las que va dedicado este trabajo y a mis asesores por la corrección y guianza durante este proyecto.

Contenido

Resumen	7
Abstract.....	8
Introducción.....	9
1 Planteamiento del problema	12
Antecedentes.....	12
2 Justificación	13
3 Objetivos.....	14
4 Hipótesis	14
5 Marco teórico.....	15
5.3 Actividad antimicrobiana	16
6 Metodología.....	17
6.1 Cultivo	17
6.2 Extracción.....	18
6.3 Actividad Antioxidante	19
6.4 Actividad Antimicrobiana	20
6.5 Estadística.....	21
7 Resultados.....	22
7.1 Capacidad antioxidante FRAP	22
7.2 Actividad Antimicrobiana	24
8 Discusión	34

9 Conclusiones.....	38
10 Recomendaciones	38
Referencias	39

Lista de tablas

Tabla 1. Cantidades de reactivo por celda, prueba antioxidante	20
Tabla 2. Diseño del plato.....	21
Tabla 3. ANOVA entre todas las bacterias y todos los tipos de tratamientos	26
Tabla 4. Test de Tukey por tipo de tratamiento.....	26
Tabla 5. Porcentaje de inhibición por bacteria y tratamiento en el tiempo.	34

Lista de figuras

Ilustración 1. Curva de calibración poder antióxidante por reducción del hierro (FRAP).	23
Ilustración 2. Diagrama de Cajas y Bigotes capacidad antioxidante por masa de acuerdo con concentraciones de muestra.....	24
Ilustración 3. Distribución de absorbancias a 600nm de los blancos tras eliminar valores atípicos u outliers.	24
Ilustración 4. Gráfico con barras de error. Absorbancia corregida por absorbancia inicial y del blanco para cada tratamiento y cada bacteria	25
Ilustración 5. Gráfico de intervalos de confianza del 95% del análisis post-hoc de Tukey para detectar diferencias entre las medias globales de cada tratamiento	27

Ilustración 6. Gráfico de intervalos de confianza del 95% del análisis post-hoc de Tukey para detectar diferencias entre las medias globales de la absorbancia corregida de cada especie de bacteria.....28

Ilustración 7. Gráfico de los intervalos de confianza 95% test de Tukey para diferencias de medias entre tratamientos para cada especie de bacteria.29

Ilustración 8. Comparación del porcentaje de inhibición entre el extracto (Tto) y el antibiótico (Ant)34

Resumen

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo estudiar los efectos de un extracto acuoso de *Pleurotus ostreatus*, un hongo comestible con propiedades nutraceuticas, sobre el crecimiento de cinco cepas bacterianas: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* y *Shigella sp.* Para ello, se prepararon diferentes concentraciones del extracto obtenido mediante una modificación del protocolo propuesto por Uddin Pk et al., (2019) y se evaluó su capacidad antioxidante por el método FRAP. Luego, se aplicó una concentración del extracto sobre las bacterias en medio líquido y se midió la absorbancia a 600 nm para estimar el crecimiento. Los resultados mostraron que el extracto de *P. ostreatus* tiene una alta actividad antioxidante y que inhibe significativamente el crecimiento de dos de las cinco especies bacterianas, siendo más efectivo contra *B. subtilis* y *S. aureus*, a la concentración evaluada. Estos hallazgos sugieren que el extracto de *P. ostreatus* obtenido mediante esta modificación de protocolo podría tener potencial como agente antibacteriano natural y que su mecanismo de acción podría estar relacionado con la generación de estrés oxidativo en las células bacterianas; propiedades útiles para el posible desarrollo de productos con potencial los sectores de salud y alimentos.

Palabras clave: *Pleurotus ostreatus*, extracto acuoso, capacidad antioxidante, actividad antibacteriana, nutraceutico.

Abstract

This research work aimed to study the effects of an aqueous extract of *Pleurotus ostreatus*, an edible mushroom with nutraceutical properties, on the growth of five bacterial strains: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* and *Shigella sp.* For this purpose, different concentrations of the extract obtained by a modification of the protocol proposed by Uddin Pk et al., (2019) were prepared and their antioxidant capacity was evaluated by the FRAP method. Then, a concentration of the extract was applied on the bacteria in liquid medium and the absorbance at 600 nm was measured to estimate the growth. The results showed that the *P. ostreatus* extract has a high antioxidant activity and that it significantly inhibits the growth of two of the five bacterial species, being more effective against *B. subtilis* and *S. aureus*, at the evaluated concentration. These findings suggest that the *P. ostreatus* extract obtained by this protocol modification could have potential as a natural antibacterial agent and that its action mechanism could be related to the generation of oxidative stress in the bacterial cells, properties useful for the potential development of products in the health and food sectors.

Keywords: *Pleurotus ostreatus*, aqueous extract, antioxidant capacity, antibacterial activity, nutraceutical.

Introducción

Desde hace más de 2500 años se tiene registro del uso de extractos herbales con propósitos medicinales, esto es algo representativo en medicina tradicional china, romana, y griega; asimismo se han utilizado alimentos propiamente dichos para este propósito, tales como: la miel, el jengibre, menta, canela entre muchos otros. (AlAli et al., 2021; Badalyan et al., 2023).

Es posible unir ambas aproximaciones mediante los nutraceuticos, sustancias presentes en alimentos comunes o basados en fuentes naturales, que pueden ser añadidos a la dieta como alimentos funcionales o como suplementos dietarios. (AlAli et al., 2021; Devi et al., 2024).

El término "nutracéutico" se refiere a alimentos que, además de nutrir, ayudan a mejorar el estado de salud. Estos alimentos se clasifican según sus actividades terapéuticas como anticáncer, antioxidante, antiinflamatoria, hipolipemiente, antienviejimiento y prebiótica, entre otras (AlAli et al., 2021). Los nutraceuticos se diferencian de los alimentos funcionales en reducir el riesgo de enfermedades en lugar de tratarlas, y de los suplementos alimentarios que se consumen como medicamentos y dejan de considerarse nutraceuticos. Aunque los nutraceuticos pueden tener efectos farmacológicos, no deben confundirse con medicamentos, que requieren dosis precisas y supervisión médica para el tratamiento o prevención de enfermedades específicas (Mingyi et al., 2019; Reis et al., 2017).

Los hongos son una rica fuente de compuestos terapéuticos utilizados en la medicina tradicional en diversas sociedades. No obstante, pocas sociedades desarrollaron sistemas de cultivo, y los cultivos se reducen a unas pocas especies en comparación con cultivos vegetales. Dentro de los hongos más cultivados se encuentra el género *Pleurotus*, que cuenta con más de 700 especies y variedades y se distribuye en todo el mundo. Estos hongos son populares debido a su alto rendimiento, facilidad de cultivo y contenido nutricional (Sánchez, 2010; Yin et al., 2021). Se ha encontrado que dicho género contiene diversos compuestos, como terpenoides, esteroides, derivados de ácidos fenólicos, polienos y polisacáridos, todos ellos con actividades biológicas de interés industrial (Yin et al., 2021).

Los polisacáridos presentes en los hongos han sido ampliamente estudiados debido a sus potentes actividades antitumorales, antiinflamatorias, antienvjecimiento y antioxidantes, entre otras propiedades farmacéuticas importantes (Mohammed et al., 2021; Wang et al., 2022; Yim et al., 2010).

En años recientes, el crecimiento poblacional, estrés y estilo de vida moderno han tenido un gran impacto en la salud de las personas, y la sociedad ha comenzado a tomar conciencia de la importancia de una dieta saludable y balanceada, es decir, existe una creciente demanda por soluciones alimenticias naturales y novedosas que puedan ayudar a mantener la salud e incluso mejorarla (Yin et al., 2021). En general, la producción de los alimentos tiene un impacto tanto en la salud de las personas como en la del medio ambiente, por ejemplo, en el cambio climático y la escasez de agua. A menudo, se ha descuidado la salud del medio ambiente en favor de la salud humana (J. Zhang & Chai, 2022).

La producción de alimentos se ha centrado más en la cantidad que en la calidad, lo que ha conducido por ejemplo, a la obtención de cereales con gran producción, pero poco contenido alimenticio. Además, ha incrementado la incidencia de enfermedades metabólicas en la población, lo que ha conducido al aumento de la producción de alimentos funcionales y suplementos alimenticios. Sin embargo, la producción de compuestos antioxidantes puros como suplementos ha demostrado resultados negativos en comparación con la incorporación de alimentos naturales que contienen otros metabolitos que actúan de manera sinérgica (Krishnan et al., 2021).

Los hongos comestibles, como recursos para la producción de nutraceuticos, cosmeceuticos y farmaceuticos, tienen un gran valor agregado. Estos hongos son reconocidos por su contenido de "proteínas de alta calidad, carbohidratos, varias vitaminas, elementos minerales y otros caracterizados por alta proteína, bajo azúcar, baja grasa y bajo colesterol"; llegando a ser considerados superalimentos. Se estima que el consumo mundial de setas en 2018 fue de alrededor de 12.74 millones de toneladas, y se espera que aumente a 20.84 millones de toneladas para 2026 debido a su creciente aceptabilidad y propósitos nutraceuticos y medicinales (Y. Zhang et al., 2021). Un buen ejemplo es la obtención de nuevos antibióticos que aún provienen de fuentes

naturales en gran medida (Balouiri et al., 2016). En los comienzos de la era de los antibióticos, hubo un gran interés en las especies fúngicas y bacterianas como fuentes de estos medicamentos. La penicilina, la griseofulvina y la gramicidina fueron ejemplos destacados. Luego, el descubrimiento de la estreptomicina cambió el foco hacia las especies de *Streptomyces*, que en las décadas de 1950 y 1960 representaron aproximadamente el 70% de los antibióticos descubiertos. En las dos décadas siguientes, las especies de actinomicetales no *Streptomyces*, o actinos raros, aumentaron su importancia, contribuyendo con el 25-30% de los descubrimientos de antibióticos. Este cambio marcó la evolución en la búsqueda de nuevos compuestos efectivos contra infecciones bacterianas. (Bérdy, 2005)

En particular, el género *Pleurotus* es ampliamente cultivado en todo el mundo y es una excelente fuente de fibra y β -glucanos, con un contenido de 10.3% y 25.9%, respectivamente. La puntuación de Aminoácidos (AAS) de *P. ostreatus* cumple con los requerimientos nutricionales de todos los aminoácidos esenciales para adultos. (Carrasco-González et al., 2017)

Es posible comprender entonces que se haya escogido este género y esta especie en particular debido a su amplia disponibilidad, características nutricionales, facilidad de cultivo e impacto ambiental de esta fuente de compuestos que mejoran la calidad de vida de las personas.

1 Planteamiento del problema

Aun cuando las personas son más conscientes de la necesidad de una alimentación saludable, en el caso colombiano, entre el periodo 2005-2015 la calidad de alimentación bajó en el contexto poblacional, con excepciones particulares como las personas con estudios de posgrados (Mora-García et al., 2020). Por lo tanto, es importante presentar opciones llamativas que cumplan con estas necesidades nutricionales.

Se han realizado diferentes estudios con propuestas del uso de *Pleurotus ostreatus* y sus derivados en la elaboración de alimentos con diferentes impactos en la salud, pero existe una acogida pobre de estas investigaciones (Yin et al., 2021), por lo que el desarrollo de protocolos de obtención o la modificación de los mismos de manera simplificada resulta en una necesidad que al momento no se encuentra cubierta, pues los procesos deben ser escalables para su producción industrial.

Entonces la pregunta que surge es ¿puede reducirse el protocolo propuesto por Uddin Pk et al., (2019) para la optimización de la obtención de polisacáridos de *P. ostreatus* solubles en agua y mantener características nutraceúticas importantes?

Antecedentes

El aprovechamiento de las propiedades de los compuestos de *Pleurotus ostreatus* en la industria alimentaria ha sido propuesto en varios estudios, y se han desarrollado alimentos funcionales como galletas que aprovechan estas propiedades (Espinosa-Páez et al., 2021; Parhi, 2020; Y. Zhang et al., 2022). Este hongo se ha utilizado también como ingrediente en alimentos funcionales y nutracéuticos, y su harina se ha sido usada en la producción de productos horneados, mejorando tanto sus cualidades sensoriales como nutritivas (Carrasco-González et al., 2017).

En el mercado se pueden obtener diversos tipos de productos de hongos como nutracéuticos, disponibles bajo diferentes marcas comerciales tales como Ganodex, GanoSuper, Immuna, Purica-Immune FX, Lentinex, Immunoglukan, Cápsula de Reishi Rojo Puro, Eighth

Element, Cordyceps sinensis Orgánico, LifeShield, Bene-X, Hep-Assist, Levolar Forte y Zymucan. Estos productos son utilizados ampliamente como coadyuvantes en la radio- y quimioterapia contra el cáncer.(Devi et al., 2024)

La investigación en torno a los extractos de hongos y su actividad antioxidante ha cobrado importancia, subrayando su valor como antioxidantes naturales y su aplicación terapéutica en diversas patologías. Ante los efectos secundarios asociados al uso crónico de fármacos sintéticos para tratar la diabetes, los hongos medicinales emergen como una alternativa más benigna. Especies como *A. bisporus*, *A. subrufescens*, *Coprinus comatus*, *Inonotus obliquus*, *G. lucidum*, *Cordyceps sinensis*, *P. linteus* y *Pleurotus spp.* han evidenciado un potencial notable en el control glucémico y la reducción de complicaciones diabéticas. Los β -glucanos de *Pleurotus tuber regium* (PTR) se han explorado por su viabilidad en fototerapia oncológica, demostrando estabilidad y mínima toxicidad como recubrimientos de nanovarillas de oro.(Hamza et al., 2024) Además, se ha documentado que la utilización de desechos de dátiles y paja de arroz en proporción 1:1 optimiza la producción de cuerpos fructíferos de *P. ostreatus*, según Jwanny et al., 1995.

2 Justificación

La poca acogida en procesos productivos de los estudios realizados previamente fue la razón por la que se planteó el simplificar un método de extracción desarrollado por Uddin Pk et al. (2019), buscando que pueda ser más atractivo para llevarse a cabo en escalas productivas reduciendo el uso de reactivos y equipos. Se escogió este método debido a que la optimización matemática realizada en ese estudio se hizo sobre parámetros fáciles de controlar y algunos pasos fuera de los optimizados podrían no ser necesarios para obtener un buen desempeño del extracto, se utilizó este estudio como base por centrarse en la obtención de polisacáridos, que es una de las fracciones que mayor rango de actividades biológicas representa (Carrasco-González et al., 2017a; Sołowiej et al., 2023; Yim et al., 2010).

La evaluación de la capacidad antimicrobiana y antioxidante surge de tener un punto de comparación, pues son dos de las principales actividades que se reportan para los polisacáridos de *Pleurotus ostreatus* (Akyüz et al., 2023; Uddin Pk et al., 2019; Yim et al., 2010), y son por lo tanto dos de las actividades que se pretenden conservar (por la amplia gama de acción que estas actividades representan) aun reduciendo el protocolo de extracción.

3 Objetivos

3.1 Objetivo general

Obtener un extracto de *Pleurotus ostreatus* soluble en agua con propiedades nutraceuticas con un protocolo simplificado útil para el desarrollo de productos de interés biotecnológico.

3.2 Objetivos específicos

- Obtener los basidiocarpos de *Pleurotus ostreatus* que serían utilizados para la extracción de compuestos antimicrobianos y antioxidantes.
- Comprobar la actividad antimicrobiana del extracto por medio de ensayo de microdilución en microplatos de ELISA con lecturas de absorbancia a 600 nm.
- Medir la capacidad antioxidante del extracto obtenido por medio del método FRAP.

4 Hipótesis

El extracto obtenido de *Pleurotus ostreatus* cultivado en condiciones de baja luminosidad conserva la actividad antioxidante FRAP y antimicrobiana.

4.1 Hipótesis de trabajo

4.1.1 Actividad antioxidante

Hipótesis nula No existe cambio de absorbancia entre el blanco y el extracto debido a la reducción de Fe^{3+} a Fe^{2+} .

Hipótesis alterna. Hay un cambio de absorbancia del blanco y el extracto debido a la reducción de Fe^{3+} a Fe^{2+} .

4.1.2 Actividad antimicrobiana

Hipótesis nula No existen diferencias en el crecimiento bacteriano sin el extracto y el crecimiento bacteriano con el extracto.

Hipótesis alterna. El tratamiento con el extracto presenta un menor crecimiento bacteriano que el que no tiene el extracto.

5 Marco teórico

5.1 *Pleurotus ostreatus*

Pleurotus ostreatus es una especie de la familia Pleurotaceae, orden Agaricales, clase Agaricomycetes, del filo Basidiomycota, este hongo es la segunda especie más cultivada a nivel mundial, después de los champiñones (*Agaricus bisporus*) y es conocida por su gran capacidad lignolítica, así como por su sabor, propiedades medicinales y facilidad de cultivo comparado con otras especies de hongos (Espinosa-Páez et al., 2021; Yin et al., 2021).

El género *Pleurotus* se distribuye tanto en zonas templadas como tropicales, y tanto en plantas caducifolias como perennes. Su forma característica de concha hace que se les conozca coloquialmente como hongos ostra, más propiamente la especie de la que hablamos también recibe el nombre de girgolas, u orellanas y su epíteto hace referencia a la característica morfológica mencionada en el género (Carrasco-González et al., 2017b; Sánchez, 2010).

En cuanto al componente nutricional destaca por sus abundantes proteínas, lípidos, vitaminas, fibra, minerales, carbohidratos y aminoácidos haciendo que tenga un gran aporte nutricional aun cuando su contenido calórico es bajo. Estos hongos contienen compuestos con una amplia gama de actividades bioquímicas como lo son: antiinflamatorios, antihiperlipidémicos, antioxidantes, anticancerígenos, antimicrobianos, inmunomoduladores u antihipertensivos por mencionar algunas (Carrasco-González et al., 2017b; Zhao et al., 2024).

5.2 Actividad antioxidante

Los antioxidantes son sustancias capaces de retrasar o inhibir la oxidación de otras moléculas, evitando así la formación de radicales libres y protegiendo a las células del daño oxidativo. Estas moléculas son inestables pues poseen un electrón desapareado en su capa externa, y pueden reaccionar con otras moléculas para completar su capa, iniciando así una cadena de reacciones que pueden alterar la estructura y la función de los lípidos, las proteínas, los ácidos nucleicos y otros componentes celulares. El estrés oxidativo se produce cuando hay un desequilibrio entre la producción de radicales libres y la capacidad de defensa antioxidante del organismo, lo que puede contribuir al desarrollo de diversas enfermedades crónicas como cáncer, enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas o envejecimiento (Dedousi et al., 2024; Munteanu & Apetrei, 2021).

Existen dos principales formas de actuar como antioxidantes: por medio de la transferencia de un electrón o por la transferencia de hidrógeno. La diferencia que existe entre los mecanismos de acción de moléculas antioxidantes lleva a que la capacidad evaluada entre métodos no necesariamente pueda ser comparable y se sugiere el uso de más de un método (Munteanu & Apetrei, 2021).

5.3 Actividad antimicrobiana

La resistencia a los antibióticos convencionales por parte de microorganismos patógenos se ha convertido en un grave problema de salud pública mundial. Como alternativa, se están estudiando los antimicrobianos naturales, sustancias de origen vegetal, animal o mineral que

poseen propiedades antibacterianas, antifúngicas, antivirales y antiparasitarias (Balouiri et al., 2016). Estos compuestos pueden ejercer su actividad antimicrobiana a través de diferentes mecanismos, como dañar la membrana celular, inhibir la síntesis de ácidos nucleicos, proteínas o metabolitos esenciales, interferir con los procesos respiratorios o de transporte de electrones, o modular la respuesta inmune del huésped (Rasheed et al., 2024).

Uno de los grupos de antimicrobianos naturales más investigados son los compuestos fenólicos, metabolitos secundarios de las plantas que contienen grupos hidroxilo unidos a anillos aromáticos. Dentro de esta categoría, los flavonoides han demostrado una notable actividad antimicrobiana frente a una amplia gama de microorganismos, incluyendo bacterias grampositivas y gramnegativas, hongos, virus y protozoos parásitos. (Rasheed et al., 2024)

Se cree que los flavonoides ejercen su efecto antimicrobiano mediante la interacción con la membrana celular, alterando su fluidez y permeabilidad, o a través de su unión a enzimas y receptores involucrados en la transducción de señales, lo que perturba el metabolismo y fisiología microbiana (Rasheed et al., 2024).

En el mundo la lucha contra los patógenos de importancia clínica debe acelerarse; dada la gran resistencia de este tipo de microorganismos al arsenal actual de antibióticos disponibles. Por lo anterior, la búsqueda continua por nuevas moléculas con actividad antimicrobiana ofrece la posibilidad de enfrentar este desafío que afecta directamente el bienestar y sobrevivencia de la humanidad.

6 Metodología

6.1 Cultivo

6.1.1 Purificación

Los ejemplares de la diversidad biológica presentes en la cepa de *Pleurotus ostreatus* que se usó durante las actividades para cumplir con los objetivos de este trabajo de grado, corresponden

a una cepa comercial, obtenida del proveedor “Los Hongos de Merlín S.A.S”, NIT 9015143848. Esta cepa fue tratada apropiadamente, en condiciones de laboratorio de 24-28°C y un riego varias veces al día en etapa de fructificación que permitieron su crecimiento y descartada tras ser autoclavada a 121°C por 20 minutos, para el logro de los objetivos.

Para asegurar la pureza se repicó una muestra de la cepa comercial en medio Agar Papa Dextrosa (PDA), y se verificó la ausencia de colonias bacterianas o fúngicas adicionales, cuando presentes, se procedió a repicar el fragmento sin contaminación y se realizó un proceso de purificación mediante la acidificación del medio con ácido láctico, hasta alcanzar un pH de 5.5.

Posteriormente, se realizó cultivo en arroz (300g por bolsa), conteniendo maíz pira (70g por bolsa) y cascarilla de arroz previamente lavada, y conservando una humedad del 40% hasta alcanzar un kilogramo por bolsa, este sustrato fue previamente mezclado y pesado, y posteriormente se esterilizó en autoclave durante 20 minutos a 121°C (las bolsas eran bolsas autoclavables de polipropileno). Se realizó la inoculación en cámara de flujo laminar tras dejar enfriar el sustrato y se sellaron las bolsas, estas contaban con un filtro para intercambio gaseoso, se dejaron durante 45 días, y tras esto se perforaron orificios y se indujo fructificación bajo condiciones de baja luminosidad por lo que los basidiocarpos no salieron oscuros sino claros.

6.2 Extracción

Los cuerpos fructíferos se cosecharon y cortaron manualmente en piezas cúbicas de aproximadamente 3mm de arista, y se calentaron en agua destilada a 72°C durante 60 minutos con una relación sólido-líquido de 1:25 en peso. Se centrifugó en tubos Falcon de 50 mL a 2300 rpm durante 35 minutos, descartando el pellet y conservando el sobrenadante. Posteriormente, se calentó el sobrenadante a 72°C hasta que se redujo a 1/3 de su volumen inicial y se completó con etanol al 95% hasta recuperar el volumen original. Esta solución se almacenó entre 2-4°C durante 12h para insolubilizar una mayor cantidad de producto y se centrifugó nuevamente a 2300 rpm durante 35 minutos. Se descartó el sobrenadante y se realizó un primer lavado con acetona para insolubilizar más el extracto y eliminar restos de lípidos y proteínas, y un segundo lavado con éter

etélico. La muestra se dejó secar a 54°C. Se trituro y almacenó en tubos Eppendorf a 4°C hasta la realización de las pruebas de actividad biológica.

6.3 Actividad Antioxidante: La prueba se realizó por triplicado. Se tomaron varias concentraciones de la muestra: 20, 10, 1 (mg/mL).

6.3.1 La solución de trabajo de FRAP: Se preparó mezclando a, b y c en una proporción 10:1:1 en el momento de uso.

a) Buffer Acetato (300 mM pH 3.6).

b) TPTZ (2, 4, 6-tripiridyl-*s*- triazine) (M.W. 312.33) 10 mM en 40mM de HCl.

c) FeCl₃. 6H₂O (M.W. 270.30) a 20 mM.

6.3.2 Estándar: Se utilizó trolox en concentraciones de 500, 250, 125, 62.5 y 31.25 μM, disueltas en agua destilada, partiendo de una concentración de 1000 μM disuelto en búfer fosfato. Se montó en las mismas cantidades y condiciones que la muestra acorde a la tabla 1.

6.3.3 Muestra: 10μl de la muestra se mezclaron con 250uL de solución de trabajo en platos de 96 pozos, luego la absorbancia se midió a 593nm después de reaccionar 30 minutos en oscuridad.

6.3.4 Blanco: Se prepararon 10μL de agua destilada con 250uL de solución de trabajo en platos de 96 pozos, luego la absorbancia se midió a 593nm después de reaccionar 30 minutos en oscuridad.

SOLUCIÓN	VOLUMEN (μL)		
	Blanco	Muestra	Estándar
Blanco	10	-	-
Muestra	-	10	-
Estándar	-	-	10

(Trolox)			
Solución de trabajo de FRAP	250	250	250
Total	260	260	260

Tabla 1 Cantidades de reactivo por celda, prueba antioxidante

6.3.5 Curva de calibración Se realizó mediante una regresión lineal de las concentraciones de los estándares y su absorbancia a 593nm.

6.4 Actividad Antimicrobiana: Se realizó la prueba con cinco especies de bacterias: *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, y *Shigella sp.* En adelante abreviadas como Ec, Bc, Bs, Sa, Sh respectivamente, utilizando la técnica de microdilución en platos de ELISA.

Para cada cepa bacteriana, se realizó una preinoculación en caldo nutritivo 18 horas antes del experimento. Posteriormente, se incubaron a 28°C durante ese tiempo. Se efectuó una lectura de absorbancia a 600 nm utilizando 200 µL de cada cultivo, repitiendo este proceso por triplicado en una placa de 96 pozos con un espectrofotómetro tipo Multiskan. Se tomó la absorbancia promedio por bacteria y se realizó el cálculo para que en las pruebas cada cepa bacteriana tuviese una absorbancia de 0,05 al momento de preparar la placa de acuerdo con el estándar de turbidez de McFarland.

En el montaje de la prueba propiamente dicha se establecieron como blancos pozos que solo contenían caldo nutritivo. Se agregaron un control positivo (antibiótico) y un control negativo (crecimiento normal de la bacteria en medio NB).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blank1	Blank1		Blank1		Blank1	Blank1		Blank1	Blank1	Blank1	Blank1
B	Ec5	Ec5	Ec5	Bc5	Bc5	Bc5	Bs5	Bs5	Bs5	Sa5	Sa5	Sa5
C	Sh5	Sh5	Sh5									
D	Ec1	Ec2	Ec3	Ec4	Bc1	Bc2	Bc3	Bc4	Sa1	Sa2	Sa3	Sa4
E	Ec1	Ec2		Ec4	Bs1	Bs2		Bs4	Sa1	Sa2	Sa3	Sa4

F	Ec1	Ec2	Ec3	Ec4	Bs1	Bs2	Bs3	Bs4	Sh1	Sh2	Sh3	Sh4
G	Bc1	Bc2		Bc4	Bs1	Bs2		Bs4	Sh1	Sh2		Sh4
H	Bc1	Bc2		Bc4	Sa1	Sa2		Sa4	Sh1	Sh2	Sh3	Sh4

Tabla 2 Diseño del plato (las celdas grises son celdas determinadas inválidas tras análisis estadístico). Los blancos están en la fila A y en todas las bacterias seguidas de un 3, Las bacterias con un 1 tienen el extracto, las bacterias con un 2 tienen antibiótico (ciprofloxacino), y las bacterias con un 4 y 5 son el control negativo (ni antibiótico ni extracto).

Tras lo cual se tomaron lecturas durante 350 minutos o 5 horas y 50 minutos, en intervalos de aproximadamente 30 minutos.

6.5 Estadística

6.5.1 Para la actividad antioxidante se realizó una regresión lineal basada en los estándares y con la ecuación de la recta se calculó el poder antioxidante en micromoles equivalentes de trolox por cada 100g de extracto en polvo. Se realizó la corrección por concentración, y se calcularon los coeficientes de variación, así mismo se verificó la normalidad de los datos para cumplir con los supuestos del análisis de varianza.

6.5.2 Para la actividad antimicrobiana: Todos los análisis estadísticos y gráficos se realizaron utilizando el software R y diversas bibliotecas, como ggplot2, dplyr, car, nortest y lme4.

6.5.2.1 Tratamiento de datos: Se realizó un filtrado de los datos de blancos y controles, descartando aquellos con un coeficiente de variación (CV) superior al 3% para evitar posibles contaminaciones. Se verificó la normalidad de los datos de blancos utilizando la prueba de Anderson-Darling debido a la presencia de empates. Se aplicaron correcciones a las absorbancias, restando la absorbancia del blanco y la absorbancia inicial.

6.5.2.2 Análisis exploratorio de datos: Se generaron gráficos de líneas para visualizar la evolución de la absorbancia en función del tiempo para cada celda y tratamiento. Se realizaron gráficos de barras de error para representar la media y el error estándar de la media de la absorbancia corregida.

6.5.2.3 Análisis estadístico: Se ajustaron modelos lineales de regresión para evaluar la relación entre la absorbancia corregida y el tiempo, para cada combinación de tipo de tratamiento y bacteria. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar si existían diferencias significativas en la absorbancia corregida entre los diferentes tratamientos y bacterias. Se llevó a cabo un análisis post-hoc de Tukey para identificar las diferencias significativas específicas entre los grupos.

Se generaron gráficos de intervalos de confianza del análisis post-hoc de Tukey para visualizar las diferencias entre los grupos.

6.5.2.4 Cálculo del porcentaje de inhibición: Se calculó el promedio del control negativo (bacteria sin tratamiento) en cada instante de tiempo. Se fusionaron los datos originales con el promedio del control negativo. Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento bacteriano utilizando la fórmula: $100 * \frac{(C - T_{to})}{C}$ donde C es la absorbancia del control negativo y Tto la absorbancia del tratamiento con el extracto. Se consolidaron los datos del porcentaje de inhibición, calculando el promedio para cada combinación de tiempo, tipo de tratamiento y bacteria. Se generaron gráficos de líneas para visualizar el porcentaje de inhibición en función del tiempo para cada bacteria y tratamiento.

7 Resultados

7.1 Capacidad antioxidante FRAP

Se obtuvo la curva de calibración (ilustración 1) con una ecuación de $A = 0.001336193C + 0.0196869$ donde A es la absorbancia a 593 nm y C la concentración micromolar equivalente de trolox. R^2 ajustado: 0.9611, valor $p < 2.2e-16$. Estadístico F: el valor de 790.8 con un p-valor menor que $2.2e-16$ indica que el modelo es estadísticamente significativo en su conjunto.

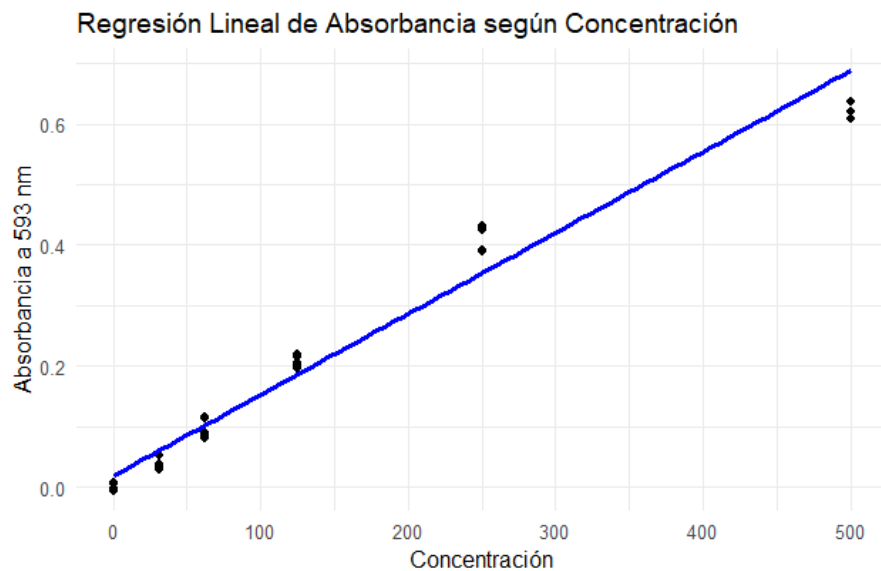
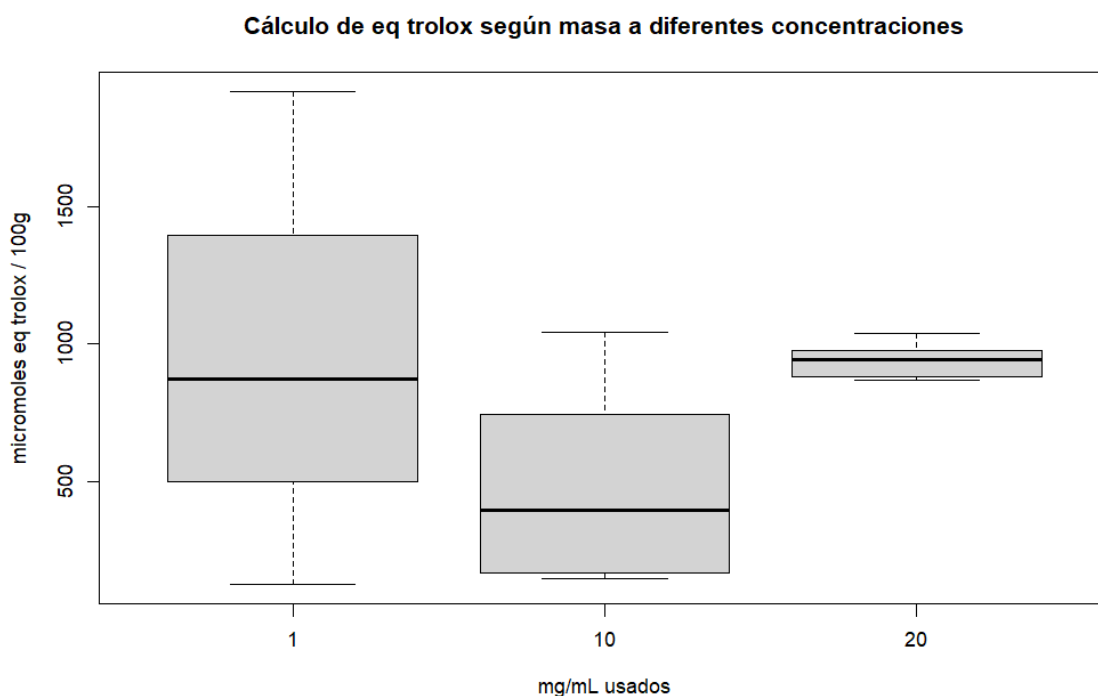


Ilustración 1. Curva de calibración poder antioxidante por reducción del hierro (FRAP).

Tras filtrar los datos atípicos y revisar la normalidad de la concentración equivalente por medio de la prueba de Shapiro-Wilk, se establece normalidad ($p=0.051$, $\alpha=0.05$), por lo cual se puede hacer la comparación de medias por medio de un análisis de varianza, donde se concluye



que no existen diferencias significativas entre medias $\Pr(>F)= 0.1632$, y por ello se determinó la media de la concentración micromolar con base al coeficiente de variación más bajo de las concentraciones del extracto que fue del 6.9% en 20mg/mL, mientras que el mayor fue de 92% en 1mg/mL, determinando así que la capacidad antioxidante del extracto por capacidad antioxidante por poder reductor del hierro es de 941.6 ± 63.5 micromoles equivalentes de trolox por cada 100g. En la ilustración 2 se aprecia la distribución de las medias.

Ilustración 2. Diagrama de Cajas y Bigotes capacidad antioxidante por masa de acuerdo con concentraciones de muestra.

7.2 Actividad Antimicrobiana

Tras el filtrado de outliers la prueba de normalidad de Anderson-Darlin señaló que los datos no se alejaban de la normalidad ($p=0.4818$, $\alpha=0.05$), esto es especialmente importante para los blancos pues las variaciones en las absorbancias se espera que sean aleatorias y no debidas a sesgos, se puede observar el histograma de estas absorbancias en la ilustración 3.

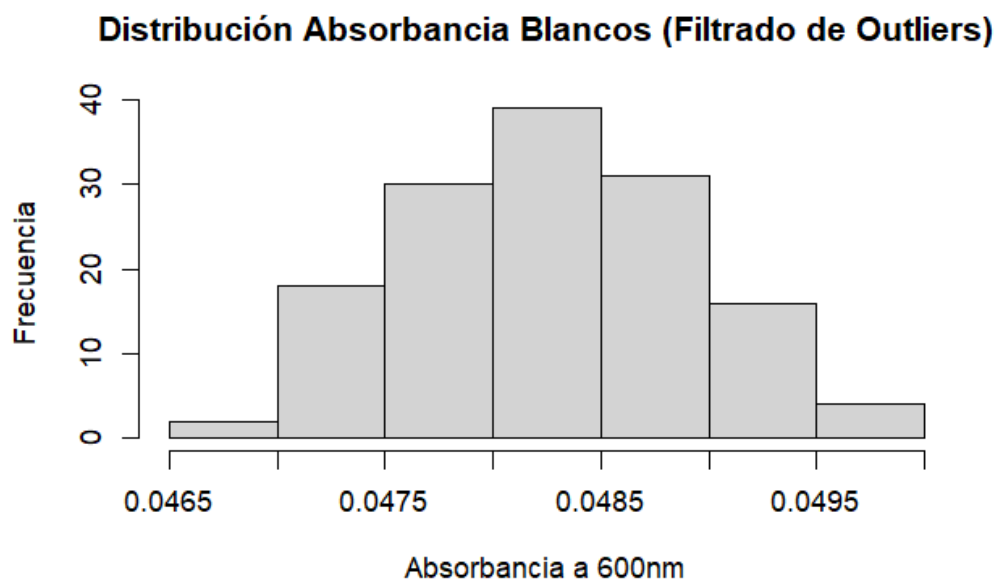


Ilustración 3. Distribución de absorbancias a 600nm de los blancos tras eliminar valores atípicos u outliers, nótese que los datos se toman de todos los tiempos pues la absorbancia para estos no debería tener variaciones en el tiempo más allá de la sensibilidad del instrumento.

En la exploración de datos se logra apreciar que la pendiente del tratamiento es menor que la del control negativo con algunas bacterias, lo cual sugiere que hay actividad antimicrobiana pues esto implica menor velocidad de crecimiento, esto se puede apreciar en algunos de los subgráficos de la ilustración 4.

Al realizar un ANOVA de todo el experimento para establecer si existían diferencias significativas se obtuvieron los resultados de la tabla 3, encontrando que tanto el tipo de tratamiento como la especie de bacteria contenían diferencias de medias significativas en al menos una especie de bacteria y al menos un tratamiento.

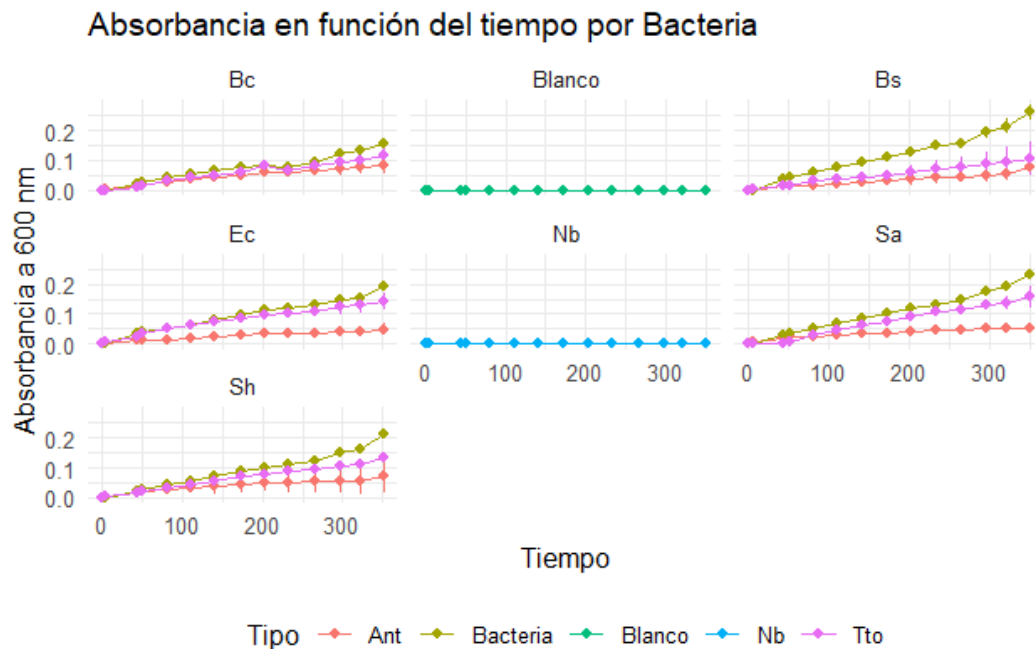


Ilustración 4. Gráfico con barras de error. Absorbancia corregida por absorbancia inicial y del blanco para cada tratamiento y cada bacteria, nótese que el tiempo está dado en minutos y que las unidades de absorbancia son adimensionales.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Tipo	5	1.01e+00	2.01e-01	7.54e+01	8.49e-67
Bacteria	4	3.01e-02	7.54e-03	2.82e+00	2.41e-02
Residuals	970	2.59e+00	2.67e-03		

Tabla 3. ANOVA entre todas las bacterias y todos los tipos de tratamientos

Grupo 1	Grupo 2	Diferencia de medias	Intervalo de confianza (95%)	p-valor ajustado
Bacteria	Ant	0.0571	(0.0427, 0.0715)	0.0000
Blanco	Ant	-0.0341	(-0.0532, -0.0151)	0.0000
Inicial	Ant	0.0534	(0.0390, 0.0678)	0.0000
Nb	Ant	-0.0341	(-0.0563, -0.0119)	0.0002
Tto	Ant	0.0271	(0.0127, 0.0415)	0.0000
Blanco	Bacteria	-0.0912	(-0.1103, -0.0722)	0.0000
Inicial	Bacteria	-0.0037	(-0.0181, 0.0107)	0.9787
Nb	Bacteria	-0.0912	(-0.1134, -0.0690)	0.0000
Tto	Bacteria	-0.0300	(-0.0444, -0.0156)	0.0000
Inicial	Blanco	0.0876	(0.0685, 0.1066)	0.0000
Nb	Blanco	0.0001	(-0.0254, 0.0255)	1.0000
Tto	Blanco	0.0612	(0.0422, 0.0803)	0.0000
Nb	Inicial	-0.0875	(-0.1097, -0.0653)	0.0000
Tto	Inicial	-0.0263	(-0.0408, -0.0119)	0.0000
Tto	Nb	0.0612	(0.0390, 0.0834)	0.0000

Tabla 4. Test de Tukey por tipo de tratamiento.

La prueba post hoc de Tukey para el caso de los diferentes tratamientos arrojó que existían diferencias significativas entre los grupos, con excepción del inóculo inicial respecto a la bacteria y el del medio Nb con el blanco (tabla 4), mientras que entre especies de bacterias no hay diferencias significativas entre los grupos, ya que todos los valores p son mayores que 0.05, el nivel de significancia elegido. Por lo tanto, no se puede rechazar la hipótesis nula de que las medias de los grupos son iguales (ilustración 6).

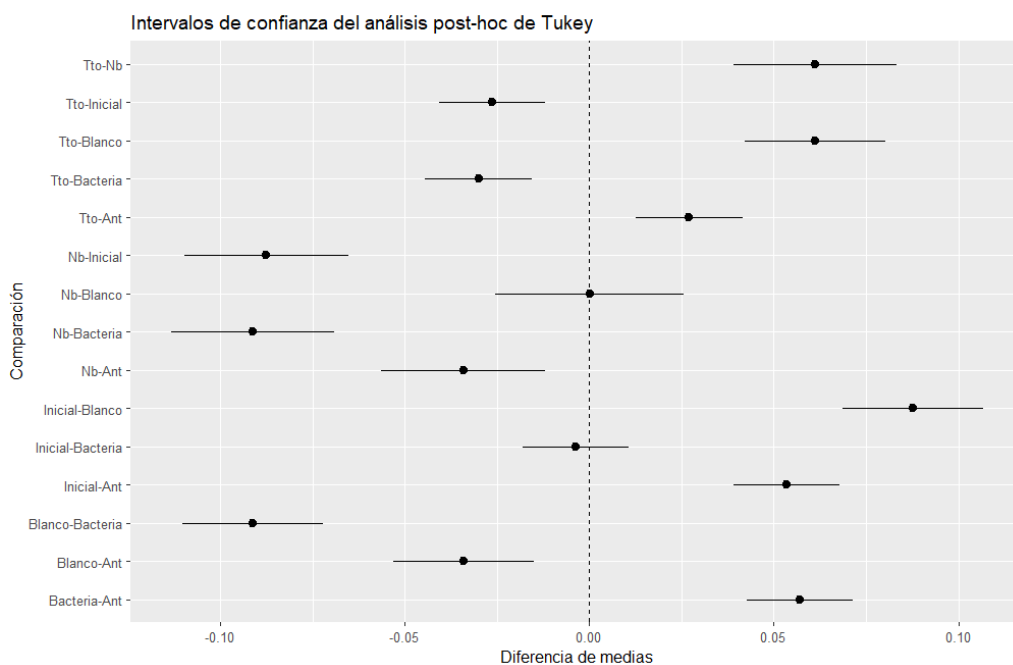


Ilustración 5. Gráfico de intervalos de confianza del 95% del análisis post-hoc de Tukey para detectar diferencias entre las medias globales de cada tratamiento. Las líneas que cruzan el cero (línea punteada) indican que no existen diferencias estadísticamente significativas entre ese par de tratamientos.

Para evaluar el efecto de los tratamientos en cada especie de bacteria se realizó el mismo procedimiento anterior, y los resultados de la prueba de Tukey se reflejan en las figuras

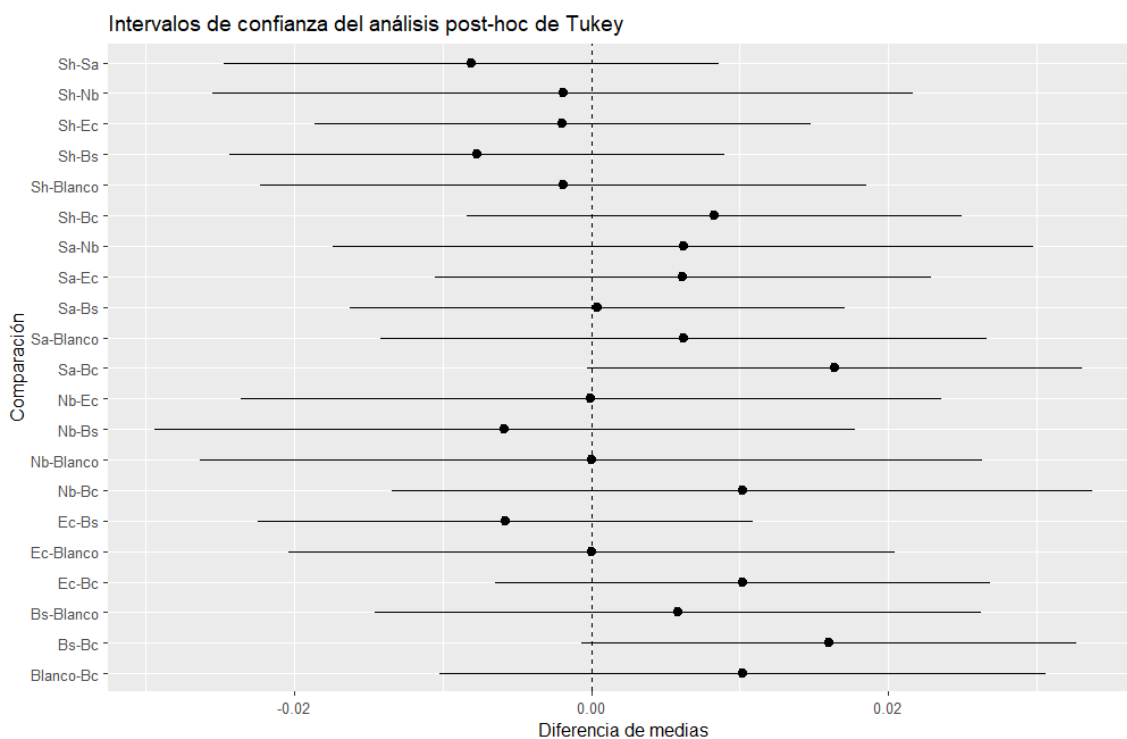


Ilustración 6. Gráfico de intervalos de confianza del 95% del análisis post-hoc de Tukey para detectar diferencias entre las medias globales de la absorbancia corregida de cada especie de bacteria.

Por efectos prácticos los resultados del test de Tukey para cada tratamiento en cada bacteria no se incluyen en este manuscrito, pero se pueden obtener de los anexos, la visualización de estos datos se encuentra en la ilustración 7.

Para *Escherichia coli* no hubo diferencia significativa estadísticamente entre el crecimiento con el extracto y el crecimiento del control negativo. El control positivo presentó diferencias frente a ambos, es decir que para esta bacteria se acepta la hipótesis nula, y por lo tanto el extracto no es inhibidor del crecimiento bacteriano. Para *Bacillus cereus* no existieron diferencias entre el antibiótico y el extracto ni entre el extracto y la bacteria, pero sí entre la bacteria y el antibiótico. Para *Bacillus subtilis* la inhibición del antibiótico y del extracto sobre la bacteria fueron significativas y no hubo diferencia entre la inhibición del antibiótico y el extracto sobre la bacteria. Para *Staphylococcus aureus* todas las combinaciones presentaron diferencias estadísticamente

significativas. Para *Shigella sp.* solamente el antibiótico presentó inhibición sobre la bacteria, pero no hubo diferencias entre el antibiótico y el tratamiento ni entre el tratamiento y la bacteria.

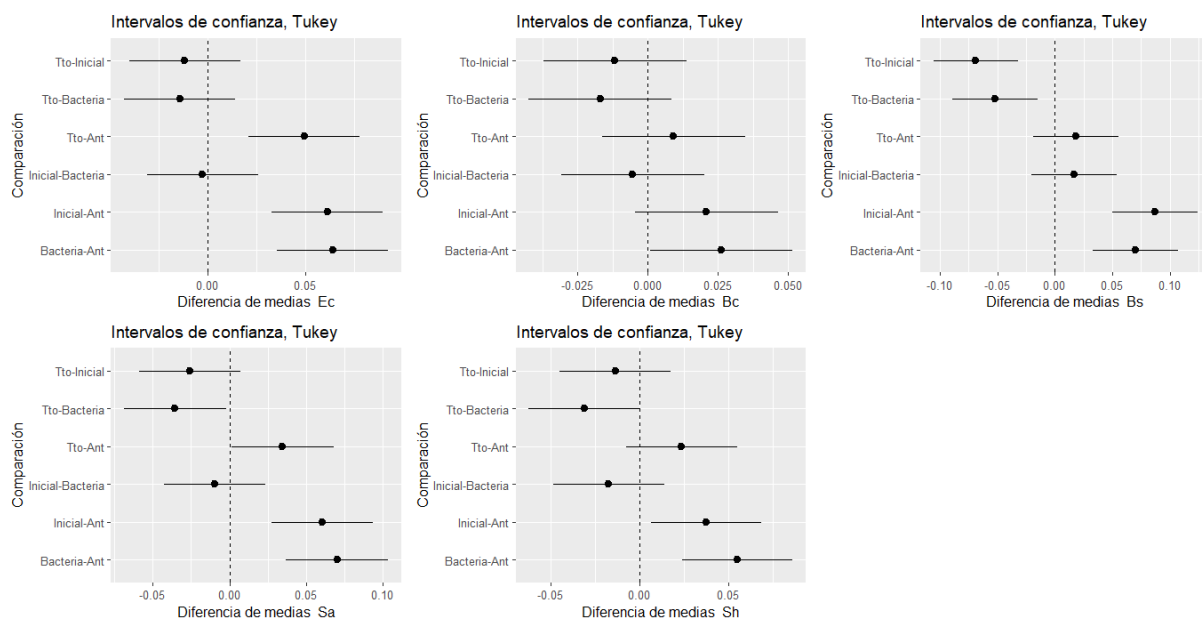


Ilustración 7. Gráfico de los intervalos de confianza 95% test de Tukey para diferencias de medias entre tratamientos para cada especie de bacteria.

Finalmente, en los porcentajes de inhibición (calculados desde el minuto 44 en adelante) se calculó el promedio de las réplicas del tratamiento en cada instante de tiempo (tabla 5), y se puede visualizar el porcentaje de inhibición de acuerdo con el tiempo para el antibiótico y el extracto en la ilustración 8.

Tiempo	Tipo	Bacteria	Porcentaje_Inhibición
44	Ant	Bc	24.265553
51	Ant	Bc	20.038298
81	Ant	Bc	34.022197
111	Ant	Bc	34.25361
141	Ant	Bc	31.777116

Evaluación de la actividad antimicrobiana y antioxidante de un extracto acuoso de

Pleurotus ostreatus. 30

173	Ant	Bc	33.096304
203	Ant	Bc	30.264415
233	Ant	Bc	21.638963
266	Ant	Bc	25.932965
297	Ant	Bc	38.356887
321	Ant	Bc	43.443722
351	Ant	Bc	46.688313
44	Tto	Bc	56.667627
51	Tto	Bc	43.564492
81	Tto	Bc	31.879066
111	Tto	Bc	24.164804
141	Tto	Bc	19.609379
173	Tto	Bc	18.698973
203	Tto	Bc	-0.099554
233	Tto	Bc	11.390061
266	Tto	Bc	10.837384
297	Tto	Bc	20.254324
321	Tto	Bc	25.693858
351	Tto	Bc	24.978247
44	Ant	Bs	64.009132
51	Ant	Bs	62.190643
81	Ant	Bs	73.446178
111	Ant	Bs	72.186927
141	Ant	Bs	72.900439
173	Ant	Bs	71.952201
203	Ant	Bs	69.726265
233	Ant	Bs	71.368788
266	Ant	Bs	72.744329
297	Ant	Bs	75.086062

Evaluación de la actividad antimicrobiana y antioxidante de un extracto acuoso de

Pleurotus ostreatus. 31

321	Ant	Bs	75.721266
351	Ant	Bs	70.47492
44	Tto	Bs	61.989639
51	Tto	Bs	60.434297
81	Tto	Bs	51.018249
111	Tto	Bs	53.298086
141	Tto	Bs	53.073219
173	Tto	Bs	55.651578
203	Tto	Bs	54.604906
233	Tto	Bs	53.272106
266	Tto	Bs	51.360225
297	Tto	Bs	55.244175
321	Tto	Bs	56.534188
351	Tto	Bs	59.316926
44	Ant	Ec	68.938413
51	Ant	Ec	69.795019
81	Ant	Ec	72.524992
111	Ant	Ec	72.090192
141	Ant	Ec	71.274923
173	Ant	Ec	71.730396
203	Ant	Ec	70.320771
233	Ant	Ec	68.872811
266	Ant	Ec	70.674227
297	Ant	Ec	72.225923
321	Ant	Ec	73.227733
351	Ant	Ec	75.152823
44	Tto	Ec	27.788053
51	Tto	Ec	17.025241
81	Tto	Ec	2.031603

Evaluación de la actividad antimicrobiana y antioxidante de un extracto acuoso de

Pleurotus ostreatus. 32

111	Tto	Ec	3.228709
141	Tto	Ec	7.611483
173	Tto	Ec	12.572735
203	Tto	Ec	17.898532
233	Tto	Ec	12.625978
266	Tto	Ec	13.526168
297	Tto	Ec	15.561476
321	Tto	Ec	15.88332
351	Tto	Ec	27.413914
44	Ant	Sa	29.604479
51	Ant	Sa	33.07393
81	Ant	Sa	50.841537
111	Ant	Sa	58.269514
141	Ant	Sa	62.391812
173	Ant	Sa	64.494068
203	Ant	Sa	66.612899
233	Ant	Sa	65.170506
266	Ant	Sa	68.252477
297	Ant	Sa	70.953479
321	Ant	Sa	72.824233
351	Ant	Sa	76.475406
44	Tto	Sa	91.791756
51	Tto	Sa	73.827565
81	Tto	Sa	43.79168
111	Tto	Sa	36.911954
141	Tto	Sa	31.42169
173	Tto	Sa	26.767821
203	Tto	Sa	26.99784
233	Tto	Sa	19.017051

Evaluación de la actividad antimicrobiana y antioxidante de un extracto acuoso de

Pleurotus ostreatus. 33

266	Tto	Sa	24.569997
297	Tto	Sa	27.228752
321	Tto	Sa	29.731034
351	Tto	Sa	32.058743
44	Ant	Sh	16.681628
51	Ant	Sh	20.996711
81	Ant	Sh	33.003802
111	Ant	Sh	37.91841
141	Ant	Sh	43.810914
173	Ant	Sh	49.61067
203	Ant	Sh	53.665346
233	Ant	Sh	54.546273
266	Ant	Sh	56.890421
297	Ant	Sh	62.033181
321	Ant	Sh	66.414963
351	Ant	Sh	66.138185
44	Tto	Sh	30.894674
51	Tto	Sh	25.297243
81	Tto	Sh	25.39924
111	Tto	Sh	20.310321
141	Tto	Sh	18.99807
173	Tto	Sh	18.502814
203	Tto	Sh	25.160704
233	Tto	Sh	20.674434
266	Tto	Sh	24.916496
297	Tto	Sh	29.689118
321	Tto	Sh	31.155995
351	Tto	Sh	38.217504

Tabla 5. Porcentaje de inhibición por bacteria y tratamiento en el tiempo.

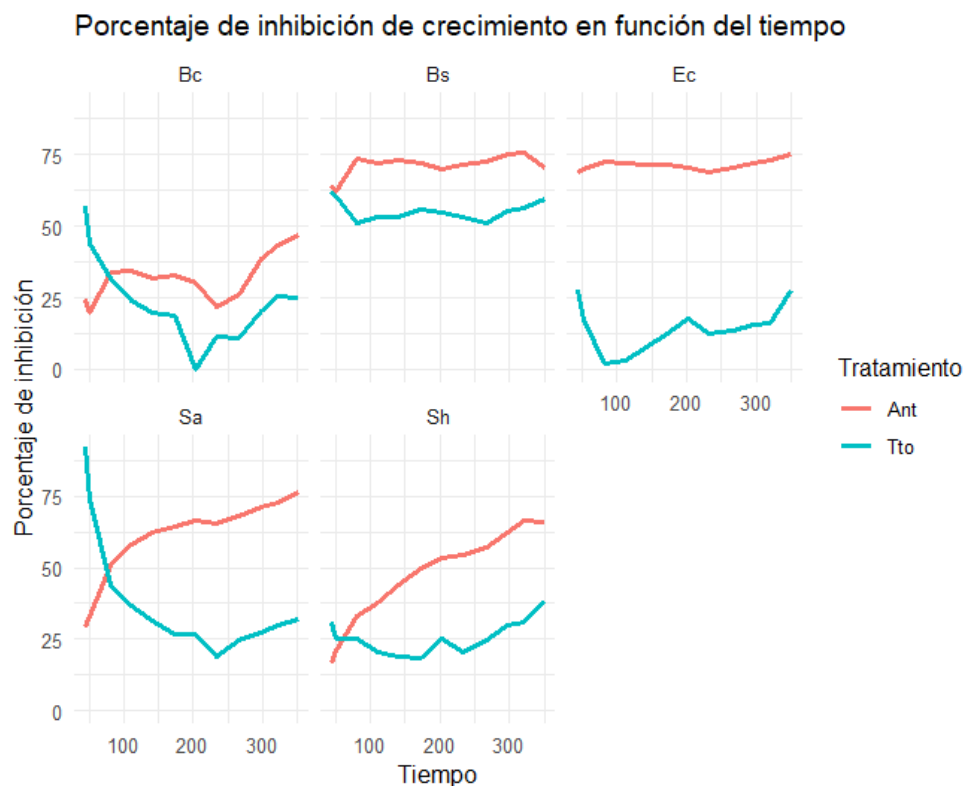


Ilustración 8. Comparación del porcentaje de inhibición entre el extracto (Tto) y el antibiótico (Ant).

8 Discusión

Para la capacidad antioxidante se realizó la prueba únicamente por medio de la capacidad de reducción del hierro, como se plantea en el marco teórico esta es una de las pruebas más realizadas para determinar la capacidad antioxidante, y los equivalentes de trolox son una medida bastante estandarizada en la literatura (Diamantopoulou et al., 2023; Munteanu & Apetrei, 2021; Uddin Pk et al., 2019). No obstante, la desventaja es que este método representa solamente una fracción de las diferentes formas en las que un compuesto puede actuar como antioxidante y los resultados para otras pruebas no realizadas pueden ser incluso contrarios a los obtenidos por este método (Munteanu & Apetrei, 2021).

En estudios previos se ha establecido que existe una fuerte influencia de las condiciones de cultivo con la producción de metabolitos que puedan tener diferentes actividades biológicas, por esto se aclara que las condiciones en las que se dio la fructificación del hongo fueron de baja luminosidad, razón por la cual estos resultados podrían no ser comparables con aquellos que se obtengan de setas que hayan estado expuestas a luz UV (Akçay et al., 2023; Atlı et al., 2019; Dedousi et al., 2024; Diamantopoulou et al., 2023; Hsiao et al., 2023).

La capacidad antioxidante determinada en 941.6 ± 63.5 micromoles equivalentes de trolox (ET) por cada 100g es una capacidad bastante elevada, al revisar en estudios previos se había encontrado que la capacidad antioxidante por este método para otro extracto acuoso de *P. ostreatus* era mayor que la que presentaban el butilhidroxianisol (BHA) y el ácido ascórbico, los cuales son antioxidantes ampliamente utilizados en este tipo de estudios (Yim et al., 2010). Mientras que al comparar con otros extractos acuosos, se encontró que para el caso de la uchuva (*Physalis peruviana*) se obtuvieron 569 ± 27 μ MTrolox/100g y para *Passiflora edulis* 857 ± 18 μ MTrolox/100g (Naranjo-Durán et al., 2023). En una investigación reciente de Diamantopoulou et al. (2023) se obtuvieron hasta 13.41mg eq/trolox por gramo de extracto metanólico para FRAP, en ese estudio analizaron diferentes sustratos, y el que incluía residuos de arroz fue el que tuvo mayor capacidad de reducción del hierro, pero los resultados varían entre 0.25 y 13.41 mg ET o lo que es lo mismo entre 99 micromoles ET y 5358 micromoles ET por cada 100 gramos, cabe recalcar que ese extracto era metanólico por lo que la composición debe diferir de la que se obtuvo en la presente investigación. Es interesante como en esa investigación también se evaluó un extracto metanólico de *Agaricus bisporus* donde la actividad antioxidante por el método mencionado era del orden de 2 mg ET/g u 800 μ moles ET/100g mientras que en un estudio diferente también con dicha especie esta por el orden de 30000 μ moles ET/100g de extracto metanólico (Ghahremani-Majd & Dashti, 2015). Lo cual indica una amplia variabilidad dependiendo de las condiciones de cultivo, y que el proceso de producción de antioxidantes derivados de hongos tiene allí un punto que puede ser incluso más importante para lograr cantidades utilizables fuera del laboratorio que el propio proceso de extracción, esto es un punto que debería ser evaluado en una futura investigación, pues la eventual pérdida de concentración de

antioxidantes por peso fresco podría verse compensada por una mayor eficiencia biológica, en la revisión que hacen Aditya et al., (2024) es uno de los aspectos que más se puede notar que afectan el desempeño de los hongos ostra.

Las demás medias de la actividad antioxidante contenían una desviación estándar muy superior, pero como se apreció en las pruebas no se alejaban de la normalidad, esto sugiere que esta variación es natural y no debida a sesgos. Esa gran variabilidad podría deberse a las macromoléculas extraídas que pueden depender de su estructura tridimensional para su actividad biológica, por lo que la variación en las concentraciones afectará por medio de diferentes interacciones entre el soluto y el agua, dado los lavados que se hicieron con solventes apolares esperaríamos que la mayor cantidad de interacciones que puedan afectar en este sentido se presenten por interacciones dipolo-dipolo, así se podría explicar que puedan existir tanto mayor actividad como menor en muestras de diferentes concentraciones, en este caso dado el uso de buffer no se esperaría un efecto significativo de la variación del pH pero sí posiblemente del efecto de fuerzas por puentes de hidrógeno (Palacios et al., 2012; Zhao et al., 2024).

Para el caso de la actividad antimicrobiana se eliminaron los datos de varias celdas que presentaban datos no concordantes, como se aprecia en la tabla 2 la gran mayoría de estos originalmente eran de controles del caldo nutritivo, para estas celdas o pozos no existían grandes diferencias respecto a las otras del mismo tipo en el instante 0 y a diferencia de las demás empezaron a presentar un incremento en la absorbancia alrededor de la mitad del experimento (ver datos suplementarios) esto indicaba una contaminación con microorganismos, que aunque no llegaba a las absorbancias de los pozos con bacterias no correspondía con lo esperado para un control o un blanco, que en realidad era su principal función, esta contaminación podría deberse a microorganismos ambientales, pues si vemos la distribución de las celdas eliminadas no presenta un patrón claro, la tapa utilizada para el plato de 96 pozos no era una tapa nueva, por lo que aunque desinfectada al no ser autoclavable cabe el riesgo de que existieran esporas bacterianas en ella. No existía normalidad para las absorbancias de estos pozos confirmando que existía un sesgo en estos.

Al tener un gran número de celdas destinadas como blanco y como control del medio como esencialmente eran el mismo tratamiento para el análisis de datos en la parte final al comprobar que no existían diferencias significativas entre ellas se tomaron como grupos experimentales del mismo tipo, nótese que las celdas grises de la fila C nunca fueron utilizadas.

El análisis de varianza (ANOVA) muestra que hay una diferencia significativa entre los grupos de bacterias, ya que el valor p es menor que el nivel de significancia ($p=0.02$, $\alpha=0.05$), esto dice que existe al menos una diferencia significativa entre un par de tratamientos. Para saber qué pares eran diferentes se realizó la prueba post-hoc de Tukey, este test ajusta el valor p para evitar el problema de las comparaciones múltiples, que aumenta la probabilidad de cometer errores de tipo I (rechazar la hipótesis nula cuando es verdadera), por lo cual, aunque el ANOVA haya detectado una diferencia global este test dice que no existen estas diferencias entre las medias de las absorbancias corregidas para las diferentes especies de bacterias. Por otra parte, para las diferencias entre los tipos de tratamiento como se menciona en los resultados y se aprecia en la tabla no existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de las absorbancias corregidas del medio NB con los blancos que solo contenían medio NB, lo cual es lo que esperamos, y que tampoco existen diferencias significativas para esta misma variable en el caso de los pozos que contenían las bacterias que se usaron para el experimento diluidas para ajustarse a absorbancia de 0.05 y las bacterias tomadas del preinóculo, esto también era esperable y por lo mismo se aplicó la misma metodología de tomarlas como grupos experimentales del mismo tratamiento, porque al aumentar el número de réplicas aumenta el poder estadístico.

Con *Shigella sp.* el valor p estuvo bastante cerca del α , por lo que, aunque no se rechaza la hipótesis nula es posible que en una concentración más elevada del extracto la inhibición pueda ser significativa, o que incluso en un tiempo superior bajo la misma concentración lo sea, pues el aumento de la actividad que se empieza a observar con el paso del tiempo puede llevar a que se pase el umbral de significancia estadística.

El rendimiento del 0.66% fue muy bajo (10mg /10g frescos o 64mg/10g secos) si se compara con el obtenido por Uddin Pk et al. (2019) que fue del orden del 5% frescos, quienes

desarrollaron el protocolo en el que se basó el proceso de extracción acá modificado, sin embargo los procedimientos realizados no deberían disminuir la cantidad obtenida sino la pureza, lo que sugiere que los basidiocarpos cosechados produjeron una menor cantidad de polisacáridos solubles en agua probablemente debido a las condiciones de cultivo.

9 Conclusiones

El extracto presenta una alta capacidad de reducción del hierro, por lo cual se puede concluir que presenta actividad antioxidante.

El extracto presenta inhibición del crecimiento bacteriano (concentración probada de 0.5mg/mL) aunque solo para dos de las cinco especies de bacterias evaluadas se rechaza la hipótesis nula y se concluye que particularmente en *Bacillus subtilis* la inhibición promedio a esta concentración es significativa y dicha inhibición es del 55.48% sin presentarse diferencias significativas con la inhibición del antibiótico (ciprofloxacino), además en *Staphylococcus aureus* se presentó una inhibición significativa del 38.67% pero en este caso existió diferencia significativa con el antibiótico, que tuvo una inhibición del 59.91%.

Se concluye que bajo condiciones de baja luminosidad aún se producen compuestos antioxidantes y antimicrobianos de *Pleurotus ostreatus*, y además que la reducción del uso de reactivos resulta en un claro ahorro en costos del proceso.

10 Recomendaciones

Se recomienda investigar más el efecto de las condiciones de cultivo sobre la producción de moléculas antioxidantes y antimicrobianas, y determinar si existen diferencias entre las condiciones de iluminación y los niveles de actividad.

Además, evaluar la capacidad antioxidante por otros métodos combinando tanto metodología de transferencia de un electrón como de transferencia de hidrógeno y caracterizar las moléculas responsables de la actividad biológica mediante técnicas cromatográficas o similares.

Referencias

Aditya, Neeraj, Jarial, R. S., Jarial, K., & Bhatia, J. N. (2024). Comprehensive review on oyster mushroom species (Agaricomycetes): Morphology, nutrition, cultivation and future aspects. *Heliyon*, 10(5), e26539. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e26539>

Akcay, C., Ceylan, F., & Arslan, R. (2023). Production of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) from some waste lignocellulosic materials and FTIR characterization of structural changes. *Scientific Reports*, 13(1), 12897. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40200-x>

AlAli, M., Alqubaisy, M., Aljaafari, M. N., AlAli, A. O., Baqais, L., Molouki, A., Abushelaibi, A., Lai, K.-S., & Lim, S.-H. E. (2021). Nutraceuticals: Transformation of Conventional Foods into Health Promoters/Disease Preventers and Safety Considerations. *Molecules*, 26(9), 2540. <https://doi.org/10.3390/molecules26092540>

Atlı, B., Yamaç, M., Yıldız, Z., & Şölener, M. (2019). Solid State Fermentation Optimization of *Pleurotus Ostreatus* for Lovastatin Production. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 53(9), 858-864. <https://doi.org/10.1007/s11094-019-02090-0>

Badalyan, S. M., Morel, S., Barkhudaryan, A., & Rapior, S. (2023). Mushrooms as Promising Therapeutic Resources: Review and Future Perspectives. En D. C. Agrawal & M. Dhanasekaran (Eds.), *Mushrooms with Therapeutic Potentials: Recent Advances in Research and Development* (pp. 1-54). Springer Nature. https://doi.org/10.1007/978-981-19-9550-7_1

Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>

Bérdy, J. (2005). Bioactive Microbial Metabolites. *The Journal of Antibiotics*, 58(1), 1-26. <https://doi.org/10.1038/ja.2005.1>

Carrasco-González, J. A., Serna-Saldívar, S. O., & Gutiérrez-Urbe, J. A. (2017a). Nutritional composition and nutraceutical properties of the *Pleurotus* fruiting bodies: Potential use

as food ingredient. *Journal of Food Composition and Analysis*, 58, 69-81. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.01.016>

Carrasco-González, J. A., Serna-Saldívar, S. O., & Gutiérrez-Urbe, J. A. (2017b). Nutritional composition and nutraceutical properties of the *Pleurotus* fruiting bodies: Potential use as food ingredient. *Journal of Food Composition and Analysis*, 58, 69-81. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.01.016>

Dedousi, M., Melanouri, E. M., Diamantis, I., Papanikolaou, S., & Diamantopoulou, P. (2024). Biochemical, functional and antioxidant potential of higher fungi cultivated on agro-industrial residues. Part II: Cultures on mixtures of spent mushroom substrates and mushroom cropping by-products. *Resources Chemicals and Materials*. <https://doi.org/10.1016/j.recn.2024.04.001>

Devi, P. V., Islam, J., Narzary, P., Sharma, D., & Sultana, F. (2024). Bioactive compounds, nutraceutical values and its application in food product development of oyster mushroom. *Journal of Future Foods*, 4(4), 335-342. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2023.11.005>

Diamantopoulou, P., Fourtaka, K., Melanouri, E. M., Dedousi, M., Diamantis, I., Gardeli, C., & Papanikolaou, S. (2023). Examining the Impact of Substrate Composition on the Biochemical Properties and Antioxidant Activity of *Pleurotus* and *Agaricus* Mushrooms. *Fermentation*, 9(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/fermentation9070689>

Espinosa-Páez, E., Hernández-Luna, C. E., Longoria-García, S., Martínez-Silva, P. A., Ortiz-Rodríguez, I., Villarreal-Vera, M. T., & Cantú-Saldaña, C. M. (2021). *Pleurotus ostreatus*: A potential concurrent biotransformation agent/ingredient on development of functional foods (cookies). *LWT*, 148, 111727. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111727>

Ghahremani-Majd, H., & Dashti, F. (2015). Chemical composition and antioxidant properties of cultivated button mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 56(3), 376-382. <https://doi.org/10.1007/s13580-015-0124-z>

Hamza, A., Mylarapu, A., Krishna, K. V., & Kumar, D. S. (2024). An insight into the nutritional and medicinal value of edible mushrooms: A natural treasury for human health. *Journal of Biotechnology*, 381, 86-99. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2023.12.014>

Hsiao, Y., Shao, Y., Wu, Y., Hsu, W., Cheng, K., Yu, C., Chou, C., & Hsieh, C. (2023). Physicochemical properties and protective effects on UVA-induced photoaging in Hs68 cells of *Pleurotus ostreatus* polysaccharides by fractional precipitation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 228, 537-547. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.12.254>

Krishnan, V., Awana, M., Raja Rani, A. P., Bansal, N., Bollinedi, H., Srivastava, S., Sharma, S. K., Singh, A. K., Singh, A., & Praveen, S. (2021). Quality matrix reveals the potential of Chak-hao as a nutritional supplement: A comparative study of matrix components, antioxidants and physicochemical attributes. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(1), 826-840. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00677-w>

Mingyi, Y., Belwal, T., Devkota, H. P., Li, L., & Luo, Z. (2019). Trends of utilizing mushroom polysaccharides (MPs) as potent nutraceutical components in food and medicine: A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*, 92, 94-110. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.08.009>

Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3380. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>

Naranjo-Durán, A. M., Quintero-Quiroz, J., Ciro-Gómez, G. L., Barona-Acevedo, M.-J., & Contreras-Calderón, J. de C. (2023). Characterization of the antioxidant activity, carotenoid profile by HPLC-MS of exotic colombian fruits (goldenberry and purple passion fruit) and optimization of antioxidant activity of this fruit blend. *Heliyon*, 9(7), e17819. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17819>

Palacios, I., García-Lafuente, A., Guillamón, E., & Villares, A. (2012). Novel isolation of water-soluble polysaccharides from the fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus* mushrooms. *Carbohydrate Research*, 358, 72-77. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2012.06.016>

Rasheed, H. A., Rehman, A., Karim, A., Al-Asmari, F., Cui, H., & Lin, L. (2024). A comprehensive insight into plant-derived extracts/bioactives: Exploring their antimicrobial mechanisms and potential for high-performance food applications. *Food Bioscience*, 59, 104035. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104035>

Reis, F. S., Martins, A., Vasconcelos, M. H., Morales, P., & Ferreira, I. C. F. R. (2017). Functional foods based on extracts or compounds derived from mushrooms. *Trends in Food Science & Technology*, 66, 48-62. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.05.010>

Sánchez, C. (2010). Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(5), 1321-1337. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2343-7>

Sołowiej, B. G., Nastaj, M., Waraczewski, R., Szafrńska, J. O., Muszyński, S., Radzki, W., & Mleko, S. (2023). Effect of polysaccharide fraction from oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on physicochemical and antioxidative properties of acid casein model processed cheese. *International Dairy Journal*, 137, 105516. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105516>

Uddin Pk, Md. M., Islam, M. S., Pervin, R., Dutta, S., Talukder, R. I., & Rahman, M. (2019). Optimization of extraction of antioxidant polysaccharide from *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm and its cytotoxic activity against murine lymphoid cancer cell line. *PLOS ONE*, 14(1), e0209371. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209371>

Yim, H. S., Chye, F. Y., Tan, C. T., Ng, Y. C., & Ho, C. W. (2010). Antioxidant Activities and Total Phenolic Content of Aqueous Extract of *Pleurotus ostreatus* (Cultivated Oyster Mushroom). *Malaysian Journal of Nutrition*, 16(2), 281-291.

Yin, Z., Sun-Waterhouse, D., Wang, J., Ma, C., Waterhouse, G. I. N., & Kang, W. (2021). Polysaccharides from edible fungi *Pleurotus* spp.: Advances and perspectives. *Journal of Future Foods*, 1(2), 128-140. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2022.01.002>

Zhang, J., & Chai, L. (2022). Trade-off between human health and environmental health in global diets. *Resources, Conservation and Recycling*, 182, 106336. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2022.106336>

Zhang, Y., Wang, D., Chen, Y., Liu, T., Zhang, S., Fan, H., Liu, H., & Li, Y. (2021). Healthy function and high valued utilization of edible fungi. *Food Science and Human Wellness*, 10(4), 408-420. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2021.04.003>

Zhao, Q., Liu, X., Cui, L., & Ma, C. (2024). Extraction and bioactivities of the chemical composition from *Pleurotus ostreatus*: A review. *Journal of Future Foods*, 4(2), 111-118. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2023.06.001>