



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS PUEBLA

POSTGRADO EN ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

**CARACTERIZACIÓN Y VIABILIDAD FINANCIERA DE
EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE *Ganoderma
lucidum* POR MACERACIÓN, COMO ESTRATEGIA DE
APROVECHAMIENTO DE LOS RECURSOS GENÉTICOS
NATIVOS**

BEATRIZ INÉS PETLACALCO SÁNCHEZ

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE**

MAESTRA EN CIENCIAS

PUEBLA, PUEBLA

2016



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

SUBDIRECCIÓN DE EDUCACIÓN
CAMPUS PUEBLA

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS
CAMPECHE-CÓRDOBA-MONTECILLO-PUEBLA-SAN LUIS POTOSÍ-TABASCO-VERACRUZ

CAMPUE- 43-2-03

CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALÍAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, la que suscribe **Beatriz Inés Petlascalco Sánchez**, alumna de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta Institución, bajo la dirección del Profesor **Dr. Porfirio Morales Almora**, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis **Caracterización y viabilidad financiera de extractos hidroalcohólicos de *Ganoderma lucidum* por maceración, como estrategia de aprovechamiento de los recursos genéticos nativos**, y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del Colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, el Consejero y la que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Puebla, Puebla, 5 de diciembre de 2016

Beatriz Inés Petlascalco Sánchez

Vo. Bo.

Dr. Porfirio Morales Almora
Profesor Consejero

Km. 125.5 carretera federal México-Puebla (actualmente Boulevard Forjadores de Puebla), C.P. 72760, Puebla, Puebla.
Teléfonos: (222) 285 14 42, 285 14 43, 285 14 45, 285 14 47, 285 07 38; exts. 2018, 2056, 2058.

Correos electrónicos: edar@colpos.mx ; admisionescampuspuebla@colpos.mx

La presente tesis, titulada: **Caracterización y viabilidad financiera de extractos hidroalcohólicos de *Ganoderma lucidum* por maceración, como estrategia de aprovechamiento de los recursos genéticos nativos**, realizada por la alumna: **Beatriz Inés Petlacalco Sánchez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS
ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



DR. PORFIRIO MORALES ALMORA

ASESOR:



DR. DANIEL CLAUDIO MARTÍNEZ CARRERA

ASESORA:



DRA. MERCEDES SOBAL CRUZ

ASESOR:



DR. MIGUEL SÁNCHEZ HERNÁNDEZ

ASESORA:



DRA. MARÍA ROSA MAIMONE CELORIO

Puebla, Puebla, México, a 5 de diciembre de 2016

CARACTERIZACIÓN Y VIABILIDAD FINANCIERA DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE *Ganoderma lucidum* POR MACERACIÓN, COMO ESTRATEGIA DE APROVECHAMIENTO DE LOS RECURSOS GENÉTICOS NATIVOS

Beatriz Inés Petlalcalco Sánchez, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2016

Dentro de los recursos genéticos de México, destacan los hongos comestibles y medicinales por su uso ancestral. *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. es un hongo medicinal que crece de manera silvestre en diversas regiones del país. Investigaciones sobre *G. lucidum* han demostrado que contiene una gran variedad de compuestos bioactivos con propiedades funcionales y medicinales. La velocidad y eficiencia de la extracción de estos compuestos bioactivos es afectada por factores físicos, químicos y biológicos, los cuales determinan su viabilidad económica y financiera. En este trabajo, se estudió el método estandarizado de maceración para la extracción de compuestos bioactivos de *G. lucidum* a nivel de laboratorio, analizando variables físicas (tiempo de maceración, reposo o agitación del macerado; tamaño del poro de filtración, 20 μm o 0.45 μm), variables químicas (solvente y su volumen), y variables biológicas [cultivo del hongo en aserrín de encino (AE) y AE con ácido acetilsalicílico (AAS) 10 mM; sección del basidiocarpo analizado (píleo o estípite)]. Las muestras se maceraron en obscuridad y a temperatura ambiente, para su posterior caracterización y evaluación de las propiedades funcionales. A partir del rendimiento de los extractos, se realizó un análisis financiero del extracto a una concentración de 20 mg/mL y 10 mg/mL, utilizando como indicadores el valor actual neto (VAN), la tasa de interés real (TIR) y la relación beneficio costo (B/C). Se incluyeron principalmente costos directos, tales como el equipo, la materia prima, la mano de obra, la luz y el gas. Se encontró que las condiciones de maceración para obtener un extracto hidroalcohólico de *G. lucidum*, con un rendimiento alto de propiedades funcionales, son: 10 g de píleo cultivado en AE suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente hidroalcohólico (32% por volumen), macerado por 72 h en reposo esterilizado y filtrado (0.45 μm). Estas condiciones generaron un rendimiento de 136.76 ± 0.80 mg/mL, con un contenido de polifenoles totales de $2,399.81 \pm 33.91$ mg EAG/10 g de hongo seco y una actividad antioxidante de $84.51 \pm 0.11\%$. El extracto estandarizado con el costo de producción más bajo corresponde al extracto E49 (10 g de píleo cultivado en aserrín de encino con AAS 10 mM + 150 mL de solvente) con 48 h de maceración filtrado (20 μm), con un costo de MN \$4.68 pesos/mL (USD \$0.25/mL) y MN \$2.40 pesos/mL (USD \$0.12 /mL) para las concentraciones de 20 mg/mL y 10 mg/mL, respectivamente; su valor B/C fue el más alto de 1.69 y 3.26. El valor de TIR fue de 202% y 622%, mientras que el VAN de MN \$1, 316,181.41 pesos/mL (USD \$70, 384.03) y MN \$4, 434,276.17 pesos/mL (USD\$237,127.06). Estos datos indicaron que la producción de estos extractos estandarizados de *G. lucidum* es rentable y que puede desarrollarse una estrategia para su aprovechamiento y de agregación de valor por parte de los productores.

Palabras clave: Actividad antioxidante, análisis financiero, *Ganoderma lucidum*, maceración, México.

CHARACTERIZATION AND FINANCIAL VIABILITY OF MACERATED HYDROALCOHOLIC EXTRACTS FROM *Ganoderma lucidum* AS STRATEGY FOR UTILIZATION OF NATIVE GENETIC RESOURCES

Beatriz Inés Petlascalco Sánchez, Ms.C.
Colegio de Postgraduados, 2016

Within the genetic resources of Mexico, the edible and medicinal mushrooms highlight for their ancestral use. *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. is a medicinal mushroom that grows wild in many parts of the country. Research on *G. lucidum* has shown that it contains a variety of bioactive compounds with functional and medicinal properties. The speed and efficiency of the extraction of these bioactive compounds is affected by physical, chemical and biological factors, which determine their economic and financial viability. In this research, the standardized mashing for the extraction of bioactive compounds from *G. lucidum* at laboratory level was studied by analysing physical variables (maceration time, stationary or shaking conditions, filter pore size of 20 or 0.45 μm), chemical variables (solvent and its volume), and biological variables [mushroom growing on oak sawdust (OS) and OS with acetylsalicylic acid (ASA) 10 mM; basidiocarp analysed section (pileus or stipe)]. The samples were macerated in dark and at room temperature for further characterization and evaluation of functional properties. From the performance of the extracts, a financial analysis of the extract at a concentration of 20 mg/mL and 10 mg/mL was performed, using as indicators the net present value (NPV), the real interest rate (IRR) and benefit cost ratio (B/C). Direct costs such as equipment, raw materials, labour, light and gas were included. It was found that the conditions of maceration to obtain a hydroalcoholic extract of *G. lucidum*, with high performance of functional properties are 10 g of pileus grown in OS supplemented with ASA 10 mM + 500 mL of solvent hydroalcoholic (32% by volume), macerated for 72 h, in stationary conditions and filtered (0.45 μm). These conditions generated a yield of 136.76 ± 0.80 mg/mL with a total polyphenol content of $2,399.81 \pm 33.91$ mg EAG/10 g of dried mushroom and antioxidant activity of $84.51 \pm 0.11\%$. The standardized extract with the lower production costs corresponded to extract E49 (10 g of pileus grown on sawdust oak with ASA 10 mM + 150 mL of solvent) with 48 h of maceration filtered (20 μm) at a cost of MN \$ 4.68 per mL (USD\$ 0.25/mL) and MN \$ 2.40 per mL (USD\$ 0.12/mL) for concentrations of 20 mg/mL and 10 mg/mL, respectively; its the highest value B/C of 1.69 and 3.26. The IRR value was 202% and 622%, while the NPV of MN \$1,316,181.41 per mL (USD\$70,384.03) and MN \$4,434,276.17. per mL (USD\$237,127.06). These data indicated that the production of these standardized extracts of *G. lucidum* is profitable and that a strategy can be developed for their use and value added by the producers.

Key words: Antioxidant activity, financial analysis, *Ganoderma lucidum*, maceration, Mexico.

Dedicatoria

Dedico esta tesis a la mujer más importante de mi vida, mi mamá, por todo su amor y apoyo en esta etapa de mi vida.

A mí papá y a mis hermanos, por estar siempre conmigo.

Agradecimientos

Al pueblo de México a través del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por haber financiado mis estudios de Maestría en el Colegio de Postgraduados, *Campus* Puebla durante el periodo 2015-2016.

Al Colegio de Postgraduados *Campus* Puebla que, a través de su planta académica y los integrantes de mi consejo particular: Dra. Mercedes Sobal Cruz, Dr. Porfirio Morales Almora, Dr. Daniel Claudio Martínez Carrera, Dr. Miguel Sánchez Hernández y Dra. María Rosa Maimone Celorio, quienes fueron la base fundamental en mi formación académica y profesional, por haberme brindado sus conocimientos y guiarme en el desarrollo de este trabajo.

A Liz Pérez Martell y el Dr, Pablo Hernández Jauregui, por su apoyo en esta etapa de mi vida, buscando lo mejor para mí.

A Iván Omar Castillo por todo su apoyo en la realización de este trabajo.

A mis compañeros y amigos del PROEDAR en especial a los integrantes del Laboratorio de Biotecnología de Hongos: Myrna, Joan, Anabel, Willis, Helios, Mago, Hugo con quienes compartí muchos momentos gratos.

	Página
I. CONTENIDO	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1 Biotecnología y desarrollo en México.....	4
2.2 Los hongos comestibles funcionales y medicinales en México.....	4
2.3 Generalidades de <i>Ganoderma lucidum</i>	6
2.4 Propiedades medicinales y funcionales de <i>G. lucidum</i>	9
2.5 Métodos de obtención de compuestos bioactivos.....	9
2.6 Factores que intervienen en el proceso de obtención de compuestos bioactivos.....	11
2.7 Compuestos bioactivos de <i>G. lucidum</i>	13
2.8 Regulación en el mercado para el uso de compuestos bioactivos.....	15
2.9 Análisis de la viabilidad financiera de proyectos de inversión.....	16
2.9.1 Valor actual neto (VAN).....	17
2.9.2 Tasa interna de retorno (TIR).....	17
2.9.3 Relación beneficio/costo (B/C).....	18
III. MARCO DE REFERENCIA	19
3.1 Proyectos productivos de cultivo y obtención de extractos de <i>G. lucidum</i> en México.....	19
3.2 Cultivo de <i>G. lucidum</i> en sustratos sólidos suplementados.....	20
3.3 Recursos genéticos nativos de <i>G. lucidum</i> en México.....	21
3.4 Estado del arte de las propiedades de <i>G. lucidum</i> en México.....	22
3.5 Presentaciones comerciales de productos a base de extractos de <i>G. lucidum</i> en México.....	24
3.6 Control de calidad y sanidad de productos funcionales en México.....	24
IV. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	27
V. HIPÓTESIS	28
VI. OBJETIVOS	28
6.1 Objetivo general.....	28
6.2 Objetivos específicos.....	28
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	29
7.1 Condiciones de obtención de los compuestos bioactivos.....	30
7.1.1 Cultivo de la CP-145 de <i>G. lucidum</i> en sustratos sólidos suplementados...	30
7.1.2 Preparación de las muestras de basidiocarpos deshidratados.....	31
7.1.3 Condiciones experimentales para la obtención de compuestos bioactivos por maceración.....	31
7.1.4 Concentración de los macerados (obtención del extracto).....	33
7.2 Caracterización de las muestras líquidas.....	37
7.2.1 pH, conductividad y resistividad.....	37
7.2.2 Grados Brix.....	37
7.2.3 Rendimiento por gravimetría (mg/mL).....	37
7.2.4 Espectro de absorción de los barridos (extractos y soluciones exploratorias).....	38
7.3 Preparación de las soluciones exploratorias.....	38
7.4 Propiedades funcionales de los extractos y soluciones exploratorias.....	38
7.4.1 Polifenoles totales.....	38

7.4.2	Cuantificación de la actividad antioxidante por DPPH.....	40
7.5	Análisis estadístico (SAS).....	41
7.6	Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por el método de microdilución para la solución exploratoria.....	41
7.6.1	Obtención del inóculo bacteriano.....	41
7.6.2	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).....	42
7.6.3	Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB).....	43
7.7	Propuesta de un proyecto de producción de extractos estandarizados de hongos medicinales.....	44
VIII.	RESULTADOS	49
8.1	Caracterización de las muestras líquidas.....	49
8.1.1	Macerados.....	49
8.1.2	Extractos.....	66
8.1.3	Soluciones exploratorias.....	80
8.2	Propiedades funcionales de las muestras líquidas.....	91
8.2.1	Polifenoles totales.....	91
8.2.2	Actividad antioxidante.....	97
8.3	Análisis estadístico SAS.....	102
8.3.1	Prueba de Duncan.....	102
8.3.2	Análisis de componentes principales.....	108
8.4	Efecto bacteriostático del extracto sobre <i>Escherichia coli</i>	110
8.5	Efecto bactericida del extracto sobre <i>E. coli</i>	112
8.6	Análisis financiero del proyecto de obtención de extractos de <i>G. lucidum</i> ..	113
8.6.1	Valor actual neto (VAN).....	114
8.6.2	Tasa interna de retorno (TIR).....	115
8.6.3	Relación beneficio costo (B/C).....	116
8.7	Acondicionamiento del extracto.....	117
IX.	DISCUSIÓN	120
X.	CONCLUSIONES	124
XI.	ESTRATEGIA PARA LA OBTENCIÓN DE EXTRACTOS DEL HONGO MEDICINAL <i>Ganoderma lucidum</i> CON BASE EN SU ANÁLISIS FINANCIERO	125
XII.	LITERATURA CITADA	130

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1.	Ciclo de vida de <i>Ganoderma lucidum</i> (Modificado de Mukhin y Votintseva, 2002; Campbell y Reece, 2007).....	8
Figura 2.	Diagrama de flujo para la extracción de compuestos bioactivos de CP-145 <i>Ganoderma lucidum</i> (primera etapa).....	29
Figura 3.	Diagrama de flujo para la extracción de compuestos bioactivos de CP-145 <i>G. lucidum</i> (segunda etapa).....	30
Figura 4.	Proceso de molido de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145).....	31
Figura 5.	Macerados en frascos con diferente volumen de solvente + sobre de papel filtro con 10 g de <i>Ganoderma lucidum</i> . A) Frascos con 150 mL, B) Frasco con 500 mL, C) Frasco con 1L de solvente hidroalcohólico al 32%.....	31
Figura 6.	Proceso de prensado de la muestra de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) en el sobre de papel filtro.....	32
Figura 7.	Métodos para la filtración del macerado de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145). A) Filtrado por papel filtro poro de 20 μm . B) Filtrado por papel filtro poro de 0.45 μm	33
Figura 8.	Concentración del macerado de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) en rotavapor.....	33
Figura 9.	A) Extracto de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) aforado a 10 mL con solvente hidroalcohólico al 32% B) Esterilización del extracto de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) por el sistema Sterifil.....	34
Figura 10.	Potenciómetro utilizado para la medición de pH, conductividad y resistividad.....	37
Figura 11.	Refractómetro para medir grados Brix de las muestras de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145).....	37
Figura 12.	Metodología para la determinación de polifenoles totales en microplaca.....	39
Figura 13.	Ajuste de la cantidad de las bacterias a una concentración de 1×10^8 UFC/mL para el diseño experimental y, de 1×10^4 UFC/mL para verificar el inóculo con 50 Unidades Formadoras de Colonias (UFC).....	42
Figura 14.	Modo de inoculación de la caja de Petri con agar Mueller Hinton para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) de los extractos de <i>Ganoderma lucidum</i> , sembrado con la cepa bacteriana <i>Escherichia coli</i> (CPB-8). C.E.= Control de esterilidad del medio de cultivo. C.C.= Control de crecimiento bacteriano CPB-8 (Blanco positivo de la bacteria). CEE= Control de esterilidad del extracto. D= Dilución.....	43
Figura 15.	Propuesta de línea de producción de compuestos bioactivos de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145).....	47
Figura 16.	Macerados de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) obtenidos en la primera etapa a las 24, 48 y 72 horas de maceración, cultivado en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico 10 mM.....	49

Figura 17.	pH de los extractos de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) obtenidos en la primera etapa a las 72 horas de maceración, cultivado en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico 10 mM.....	67
Figura 18.	pH de los extractos de basidiocarpo con píleo de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) en la segunda etapa.....	68
Figura 19.	Conductividad de los extractos de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) obtenidos en la primera etapa a las 72 horas de maceración, cultivados en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico 10 mM....	69
Figura 20.	Conductividad de los extractos de basidiocarpo con píleo de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) en la segunda etapa.....	70
Figura 21.	Resistividad de los extractos de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) obtenidos en la primera etapa a las 72 horas de maceración, cultivado en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico 10 mM...	71
Figura 22.	Resistividad de los extractos de 10 g de píleo de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) en la segunda etapa.....	72
Figura 23.	Grados Brix de los extractos de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) obtenidos en la primera etapa a las 72 horas de maceración, cultivado en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico 10 mM....	73
Figura 24.	Grados Brix de los extractos de 10 g de píleo de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) en la segunda etapa.....	74
Figura 25.	Rendimiento de los extractos de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) obtenidos en la primera etapa a las 72 horas de maceración, cultivado en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico 10 mM....	75
Figura 26.	Rendimiento de los extractos de 10 g de píleo de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) en la segunda etapa.....	76
Figura 27.	Espectro de absorción del barrido a una longitud de onda entre 200-1000 nm de los extractos de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) obtenidos en la primera etapa a las 72 horas de maceración, cultivado en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico 10 mM.....	77
Figura 28.	Espectro de absorción del barrido a una longitud de onda entre 200-1000 nm de los extractos de 10 g de píleo de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) en la segunda etapa.....	78
Figura 29.	Espectro de absorción del barrido a una longitud de onda entre 200-1000 nm de las soluciones exploratorias de 20 mg/mL de extractos obtenidos en la segunda etapa.....	88
Figura 30.	Espectro de absorción del barrido a una longitud de onda entre 200-1000 nm de las soluciones exploratorias de 10 mg/mL de extractos obtenidos en la segunda etapa.....	90
Figura 31.	Polifenoles totales de los extractos de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) de la primera etapa obtenidos a las 72 horas de maceración, cultivado en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico 10 mM....	91
Figura 32.	Polifenoles totales de los extractos de 10 g de píleo de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) en la segunda etapa.....	92
Figura 33.	Polifenoles totales de la solución exploratoria de 20 mg/mL de los extractos de 10 g de píleo de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) obtenidos en la segunda etapa.....	94

Figura 34.	Polifenoles totales de la solución exploratoria de 10 mg/mL de los extractos de 10 g de píleo de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) obtenidos en la segunda etapa.....	96
Figura 35.	Actividad antioxidante de los extractos de 10 g de píleo de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) obtenidos en la segunda etapa.....	98
Figura 36.	Actividad antioxidante de la solución exploratoria de 20 mg/mL de los extractos de 10 g de píleo de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) obtenidos en la segunda etapa.....	100
Figura 37.	Actividad antioxidante de la solución exploratoria de 10 mg/mL de los extractos de 10 g de píleo de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) obtenidos en la segunda etapa.....	101
Figura 38.	Análisis de componentes principales (pH, conductividad, resistividad, grados Brix, actividad antioxidante y polifenoles totales) de las muestras de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145).....	109
Figura 39.	Efecto bacteriostático de la solución exploratoria de <i>Ganoderma lucidum</i> del extracto E41 (10 g de píleo + 150 mL de solvente, macerado por 24 horas) sobre <i>Escherichia coli</i> a las 24 horas de incubación. SE= Solución exploratoria. CPS= Control positivo del solvente. CCB= Control de crecimiento bacteriano.....	110
Figura 40.	Efecto bacteriostático de la solución exploratoria de <i>Ganoderma lucidum</i> del extracto E37 (10 g de píleo + 500 mL de solvente, macerado por 24 horas) sobre <i>Escherichia coli</i> a las 24 horas de incubación. SE= Solución exploratoria. CPS= Control positivo del solvente. CCB= Control de crecimiento bacteriano.....	111
Figura 41.	Efecto bacteriostático de la solución exploratoria de <i>Ganoderma lucidum</i> del extracto E61 (10 g de píleo + 500 mL de solvente, macerado por 24 horas) alicuotado para su concentración sobre <i>Escherichia coli</i> a las 24 horas de incubación bacteriana. SE= Solución exploratoria. CPS= Control positivo del solvente. CCB= Control de crecimiento bacteriano.....	111
Figura 42.	Efecto bactericida de la solución exploratoria (20 mg/mL) de <i>Ganoderma lucidum</i> del extracto E41 (10 g de píleo + 150 mL de solvente, macerado por 24 horas) sobre <i>Escherichia coli</i> a las 24 horas de incubación.....	112
Figura 43.	Efecto bacteriostático de la solución exploratoria de <i>Ganoderma lucidum</i> del extracto E37 (10 g de píleo + 500 mL de solvente, macerado por 24 horas) sobre <i>Escherichia coli</i> a las 24 horas de incubación.....	112
Figura 44.	Efecto bactericida de la solución exploratoria de <i>Ganoderma lucidum</i> del extracto E61 (10 g de píleo + 500 mL de solvente, macerado por 24 horas) alicuotado para su concentración sobre <i>Escherichia coli</i> a las 24 horas de incubación.....	113
Figura 45.	Envase primario para extracto de <i>Ganoderma lucidum</i>	119
Figura 46.	Actores de la estrategia para la producción de compuestos bioactivos...	126
Figura 47.	Metodología para la obtención de compuestos bioactivos.....	129

LISTA DE CUADROS

		Página
Cuadro 1.	Taxonomía de <i>Ganoderma lucidum</i>	7
Cuadro 2.	Disolventes más usados para extraer compuestos bioactivos en orden de polaridad.....	12
Cuadro 3	Compuestos bioactivos de <i>Ganoderma lucidum</i> y efectos reportados a la fecha (Basado en Paterson, 2006).....	15
Cuadro 4.	Relación de los macerados y extractos de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) analizados considerando los factores biológicos, químicos y físicos con sus respectivas claves.....	35
Cuadro 5.	Concentración de la muestra y estándar para la determinación de la actividad antioxidante.....	40
Cuadro 6.	Distribución de las muestras en la microplaca.....	42
Cuadro 7.	Concentración del extracto de <i>Ganoderma lucidum</i> CP-145 en las microdiluciones.....	43
Cuadro 8.	Costos de producción de <i>Ganoderma lucidum</i> por unidad de producción (UP) y por día.....	45
Cuadro 9.	Equipos para la obtención del extracto de <i>Ganoderma lucidum</i>	45
Cuadro 10.	Depreciación del equipo para la producción de extractos de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145).....	46
Cuadro 11.	Número de empleos generados, incluidos los salarios, para la producción de extractos de <i>Ganoderma lucidum</i> mensualmente.....	46
Cuadro 12	Costo para producir 8.5 mL de extracto de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145).....	48
Cuadro 13.	pH de los macerados de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) a las 24 horas de maceración en la primera etapa.....	51
Cuadro 14.	pH de los macerados de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) a las 48 horas de maceración en la primera etapa.....	52
Cuadro 15.	pH de los macerados de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) a las 72 horas de maceración en la primera etapa.....	52
Cuadro 16.	pH de los macerados de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) en la segunda etapa.....	53
Cuadro 17.	Conductividad eléctrica de los macerados de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) a las 24 horas de maceración en la primera etapa.....	54
Cuadro 18.	Conductividad eléctrica de los macerados de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) a las 48 horas de maceración en la primera etapa.....	55
Cuadro 19.	Conductividad eléctrica de los macerados de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) a las 72 horas de maceración en la primera etapa.....	56
Cuadro 20.	Conductividad eléctrica de los macerados de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) en la segunda etapa.....	57
Cuadro 21.	Resistividad de los macerados de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) a las 24 horas de maceración en la primera etapa.....	58
Cuadro 22.	Resistividad de los macerados de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) a las 48 horas de maceración en la primera etapa.....	58
Cuadro 23.	Resistividad de los macerados de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) a las 72 horas de maceración en la primera etapa.....	59

Cuadro 24.	Resistividad de los macerados de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) en la segunda etapa.....	60
Cuadro 25.	Grados Brix de los macerados de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) a las 24 horas de maceración en la primera etapa.....	61
Cuadro 26.	Grados Brix de los macerados de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) a las 48 horas maceración en la primera etapa.....	61
Cuadro 27.	Grados Brix de los macerados de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) a las 72 horas de maceración en la primera etapa.....	62
Cuadro 28.	Grados Brix de los macerados de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) en la segunda etapa.....	63
Cuadro 29.	Rendimiento de los macerados de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) a las 24 horas de maceración en la primera etapa.....	64
Cuadro 30.	Rendimiento de los macerados de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) a las 48 horas de maceración en la primera etapa.....	64
Cuadro 31.	Rendimiento de los macerados de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) a las 72 horas de maceración en la primera etapa.....	65
Cuadro 32.	Rendimiento de los macerados de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) en la segunda etapa.....	66
Cuadro 33.	pH de las soluciones exploratorias de 20 mg/mL de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) en la segunda etapa.....	80
Cuadro 34.	pH de las soluciones exploratorias de 10 mg/mL de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) en la segunda etapa.....	81
Cuadro 35.	Conductividad de las soluciones exploratorias de 20 mg/mL de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) en la segunda etapa.....	82
Cuadro 36.	Conductividad de las soluciones exploratorias de 10 mg/mL de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) en la segunda etapa.....	83
Cuadro 37.	Resistividad de las soluciones exploratorias de 20 mg/mL de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) en la segunda etapa.....	84
Cuadro 38.	Resistividad de la solución exploratoria de 10 mg/mL de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) en la segunda etapa.....	85
Cuadro 39.	Grados Brix de las soluciones exploratorias de 20 mg/mL de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) en la segunda etapa.....	86
Cuadro 40.	Grados Brix de las soluciones exploratorias de 10 mg/mL de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) en la segunda etapa.....	87
Cuadro 41.	Prueba de Duncan para rendimiento, polifenoles totales y grados Brix de los macerados de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) en las dos etapas..	103
Cuadro 42.	Diferencia de medias por la Prueba de Duncan $\alpha= 0.05$ para los extractos de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145) obtenidos en la primera y segunda etapa.....	105
Cuadro 43.	Prueba de Duncan para polifenoles totales y actividad antioxidante de las soluciones exploratorias de 20 mg/mL y 10 mg/mL de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145).....	106
Cuadro 44.	Costo de producción por mL de los extractos y soluciones exploratorias de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145).....	114
Cuadro 45.	Valor actual neto de las soluciones exploratorias de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145).....	115

Cuadro 46.	Tasa interna de retorno de las soluciones exploratorias de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145).....	116
Cuadro 47.	Relación beneficio costo (B/C) de las soluciones exploratorias de <i>Ganoderma lucidum</i> (CP-145).....	117

I. INTRODUCCIÓN

El presente trabajo tuvo por objetivo analizar el efecto de los principales factores físicos, químicos, y biológicos sobre la extracción hidroalcohólica estandarizada de compuestos bioactivos de *Ganoderma lucidum*.

Los compuestos bioactivos asociados directamente a las propiedades funcionales y medicinales de los hongos comestibles cultivados son únicos y bastante complejos, por lo que sólo ha sido posible extraerlos, purificarlos y caracterizarlos básicamente durante las últimas dos décadas empleando diversos protocolos y técnicas de última generación (Zhang *et al.*, 2007).

Este trabajo comienza con una revisión bibliográfica acerca de la Biotecnología en México de los hongos comestibles y funcionales. Las propiedades medicinales y funcionales de *Ganoderma lucidum*. Los métodos de obtención de compuestos bioactivos, y que factores afectan este proceso. Se hace énfasis en la regulación en el mercado de alimentos funcionales actualmente. Y se mencionan los principales indicadores de un análisis financiero para conocer la viabilidad de proyectos.

En el marco de referencia se hace una revisión bibliográfica acerca de proyectos productivos y obtención de compuestos bioactivos de otros hongos comestibles en México comparándolos con *G. lucidum* del cual solo hay información de estudios en el extranjero. Se menciona el cultivo en sustratos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) usado actualmente para el cultivo *G. lucidum*, para obtener un mayor rendimiento. Se citan estudios actuales acerca de las propiedades de *G. lucidum in vivo*. Así como las presentaciones comerciales de productos a base de extractos de *G. lucidum* que se comercializan en México, y los principales productores. Se hace referencia al control de calidad y sanidad que deben cumplir los productos funcionales en México ante la COFEPRIS para su venta.

Martínez-Carrera *et al.* (2014), patentaron un método estandarizado de extracción de compuestos bioactivos utilizando extractos hidroalcohólicos (32% por volumen). Sin embargo, no se han realizado investigaciones sobre el efecto del método de cultivo, tipo de basidiocarpo, volumen del solvente, tiempo de maceración, la agitación y tipo de filtración del macerado sobre las propiedades funcionales de los extractos de *G. lucidum*.

La maceración es uno de los métodos de obtención de compuestos bioactivos en el que la velocidad y eficiencia de la obtención es afectada por diversos factores, principalmente por aquellos que tienen relación directa con la solubilidad de los componentes que se desean extraer, ya que estos permiten la obtención de compuestos bioactivos del interior de la célula al exterior, hasta que se produce un equilibrio de concentraciones y se agota el disolvente utilizado. A partir del problema de investigación se establecen los objetivos que nos permitieron la contrastación de la hipótesis planteada en este trabajo. El estudio del efecto de los principales factores físicos, químicos y biológicos que intervienen en el método estandarizado de extracción hidroalcohólica de compuestos bioactivos de *Ganoderma lucidum*, permitirá obtener mayores propiedades funcionales (antioxidantes, antimicrobianas) al menor costo de producción. Esta hipótesis se relaciona con la teoría de la difusión que establece que la velocidad de la difusión depende de factores, como el movimiento de las partículas y el tiempo de contacto del soluto y el solvente (Aljanti *et al.*, 2009).

Se estableció una metodología que consto de dos etapas para evaluar las variables físicas (tiempo de maceración, reposo o agitación del macerado; tamaño del poro de filtración, 20 μm o 0.45 μm , volumen de solvente), variables químicas (tipo de solvente), y variables biológicas [cultivo del hongo en aserrín de encino (AE) y AE suplementado con ácido acetilsalicílico (AAS) 10 mM]. Se caracterizaron los macerados, extractos y soluciones exploratorias obtenidas a partir del rendimiento de cada extracto con una concentración de 20 y 10 mg/mL.

Lo que permitió tener una proyección financiera acerca de la viabilidad del proyecto de inversión, y tomar en cuenta que el mercado de medicinas alternativas y medicamentos naturales está tomando cada vez más fuerza.

Los resultados mostraron que las mejores condiciones para la obtención de compuestos bioactivos de *G. lucidum* al menor costo y con propiedades funcionales es 10 g de píleo cultivado en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente con 48 h de maceración filtrado con filtro de poro de 20 μm . El cual tiene un costo de M.N. \$4.68 pesos/mL (\$0.25 USD/mL) y M.N. \$2.40 pesos/mL (\$0.12 USD/mL) para las concentraciones de 20 mg/mL y 10 mg/mL, respectivamente; como valor de la relación beneficio costo (B/C) fue de 1.69 y 3.26. La tasa interna de retorno (TIR) fue de 202% y

622%, mientras que el valor actual neto (VAN) es de 1, 316,181.41 y 4, 434,276.17. Estos datos indican que la producción de estos extractos estandarizados de *G. lucidum* es rentable y que puede desarrollarse una estrategia para su aprovechamiento y agregación de valor por parte de los productores.

Debido al interés por conservar la salud a través de consumo de alimentos funcionales o de “nutricéuticos” se ha creado un sector demandante de productos alimenticios de origen natural, en el cual el productor de hongos comestibles a través de la capacitación y transferencia de conocimientos generados por instituciones gubernamentales, le permite establecerse como proveedor de un nuevo mercado al cual puede acceder y situar su producto obteniendo un incremento en sus ingresos mejorando no solo su calidad de vida sino también la de sus comunidades, impulsando el desarrollo regional. Por ello se requiere generar información acerca de cuáles son las mejores condiciones de obtención de compuestos bioactivos por el método de maceración, sin la pérdida de las propiedades funcionales, con un buen rendimiento y una elevada pureza, que permita ofrecer un producto que cumpla con las normas de sanidad, que sea inocuo para el consumidor y que aporte evidencia científica de sus propiedades y beneficios a la salud.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Biotecnología y desarrollo en México

La biotecnología en México en relación a la investigación, el desarrollo y la comercialización se encuentra en fase de expansión y diversificación de especies y ecosistemas debido a su privilegiada posición geográfica, a su variedad de climas y a su compleja topografía. Al albergar a cerca del 10% de la biodiversidad global de especies. La gran cantidad de recursos biológicos y genéticos que posee México representa un importante activo no solamente para el desarrollo y el bienestar del país, sino también para encontrar soluciones innovadoras a los grandes retos a los que se enfrenta la humanidad. Por esa razón, el desarrollo de la industria de la biotecnología en México, y el uso sostenible con fines comerciales de la biodiversidad, constituyen un área de oportunidad significativa para organizaciones tanto nacionales como internacionales (Valdés y Quezada, 2013; Izquierdo y Pérez, 2014).

Sin embargo el cambio climático, el impacto humano negativo sobre los hábitats naturales, la creciente producción comercial de hongos, la pérdida del conocimiento tradicional, la biopiratería, y la escasa capacidad de conservación *in situ* e *in vitro* (infraestructura, recursos humanos especializados, validación de técnicas de criopreservación, atención a zonas estratégicas) representa serias amenaza en el corto plazo para los recursos genéticos de hongos comestibles y medicinales en México. Por lo que es importante fortalecer la investigación científica básica y aplicada para resolver problemas de carácter cognoscitivo y de interés social. Es posible desarrollar estrategias integrales para los recursos genéticos nativos de hongos comestibles y medicinales involucrando su recolección, conservación, identificación, caracterización, y aplicaciones biotecnológicas (Morales *et al.*, 2010)

2.2 Los hongos comestibles funcionales y medicinales en México

México alberga una gran diversidad biológica y cultural, la cual se ve reflejada en el extenso conocimiento que poseen los diversos grupos étnicos sobre la biota. En partícula, es de los países más ricos en tradición sobre los hongos y existe un arraigado conocimiento micológico desde la época prehispánica, el cual se ha manifestado en una tradición que algunos pueblos antiguos y actuales tienen de comer hongos, utilizarlos como medicina, en

festividades, en ceremonias mágico-religiosa y en general en su cultura (Ruan-Soto *et al.*, 2006).

Se han realizado diversos análisis para poder tener una aproximación acerca del conocimiento y la cantidad de especies de hongos registrados en el país. Se estima que se conocen 4 500 especies de macrohongos y 2 000 de microhongos, esto basado en revisiones bibliográficas y especímenes de colecciones. Sin embargo, considerando las propuestas de estimación de Hawksworth, se calcula que en México habrá más de 20 000 especies de hongos por lo que solo se conoce el 3.2% de las que crecen en el país (Aguirre-Acosta *et al.*, 2014). En México, el aprovechamiento y cultivo de hongos comestibles se ha desarrollado por más de 70 años, desde 1933, en pequeña escala (rural) y gran escala. Actualmente, la producción comercial de hongos comestibles se ha estimado en 47,468 toneladas anuales, incluyendo el champiñón (*Agaricus*: 95.3%), las setas (*Pleurotus*: 4.6%), y el shiitake (*Lentinula*: 0.1%). Su valor económico supera los 200 millones de dólares anuales, generando alrededor de 25,000 empleos directos e indirectos (Mayett y Martínez-Carrera., 2010). Sin embargo, a pesar de la relevancia social, económica y ecológica que tienen los hongos comestibles en México se tiene poco conocimiento acerca de sus propiedades medicinales y funcionales.

Los hongos comestibles están considerados como genuinos nutraceuticos o alimentos funcionales (alimentos que además de su contenido nutrimental, mejoran la salud y reducen el riesgo de contraer enfermedades) (Pisqueras, 2004; Reyes-García *et al.*, 2009). Los alimentos funcionales están desempeñando un papel cada vez más importante en los esfuerzos nacionales de los países occidentales para reducir los gastos médicos y también para mejorar los hábitos alimenticios de su población (Smith y Sullivan 2004). Sin embargo, los pobladores de México no aprovechan en su totalidad las especies susceptibles de ser consumida por falta de tradición o por temor a sufrir intoxicaciones (Moreno-Fuentes *et al.*, 1994). A pesar de que en México el consumo de hongos forma parte del acervo cultural de la población rural con arraigo indígena, esta costumbre de comer hongos se mantiene vigente gracias a las tradiciones que pasan de generación en generación; en contraste con el conocimiento de la población urbana para quienes la mayoría de los hongos son venenosos y generalmente conocen solo los hongos cultivados (Reyes-García *et al.*, 2009). En el país se han encontrado reportes de comestibilidad para 349 especies de hongos silvestres de los

cuales muchos son medicinales (Garibay-Orijel y Ruan-Soto, 2014). La confirmación científica de propiedades funcionales en un gran número de hongos comestibles y medicinales, tanto en la fase vegetativa (micelio) como reproductora (cuerpo fructífero), así como el descubrimiento de sus mecanismos biológicos de acción en el organismo humano, están promoviendo un gran impulso al desarrollo de esta industria (Martínez-Carrera *et al.*, 2010).

Los efectos atribuidos a los hongos medicinales han sido principalmente; antimicrobianos, antifúngicos, antivirales, antiinflamatorios, antioxidantes, antihipertensivos, antitumorales, citostáticos, cardiotónicos, reductores de los niveles de colesterol y estimulantes del sistema inmunitario (Brizuela *et al.*, 1998; Pérez-Moreno *et al.*, 2010). Entre sus diversas propiedades medicinales, su actividad antitumoral ha sido la más investigada, esta actividad se debe a la presencia de polisacáridos, glicoproteínas y ácidos nucleicos (Brizuela *et al.*, 1998). Aunque recientemente diversas lecitinas y terpenoides están siendo investigados como prometedores de agentes antitumorales (Pisqueras, 2004). Hasta el 2002 se tenía el registro de alrededor 650 especies de basidiomicetos con actividad antitumoral, ocasionada principalmente por la activación de la respuesta inmune del organismo huésped, a esto se le conoce como inmunomodulación (Wasser, 2002). Sus efectos antibióticos están relacionados con la presencia de compuestos fenólicos, ácidos fenilglicoxídicos sustituidos, purinas, quinonas y derivados terpénicos (Brizuela *et al.*, 1998).

Las propiedades funcionales de los hongos comestibles y medicinales pueden concentrarse mediante extractos acuosos y alcohólicos, a través de los cuales pueden obtenerse lecitinas y polisacáridos de alto peso molecular, tales como α - glucanos, β - glucanos, heteroglicanos, proteoglicanos y polisacaropéptidos. Se ha demostrado ampliamente que estas macromoléculas bioactivas purificadas tienen propiedades funcionales sin efectos secundarios adversos y que incluso pueden modificarse químicamente para mejorarlas (Martínez-Carrera *et al.*, 2010).

2.3 Generalidades de *Ganoderma lucidum*

G. lucidum es un Basidiomycete de la familia Ganodermateaceae (Cuadro 1), reconocido por sus múltiples propiedades beneficiosas para la salud por muchos siglos en China, Japón y

Corea. *Ganoderma lucidum* recibe diferentes nombres según el país, por ejemplo, en Japón es conocido como “Reishi”, en China como “Lingzhi” y en Corea como “Youngzhi”. *G. lucidum* pertenece a la familia de hongos que naturalmente crecen en árboles caídos y en troncos de otros árboles de hojas amplias (Shao *et al.*, 2004; Bidegain *et al.*, 2014). *G. lucidum* es de gran tamaño satinado al exterior y con textura leñosa. La estructura microscópica de su micelio se caracteriza por ser trimitica (Shi *et al.*, 2010).

Cuadro 1. Taxonomía de *Ganoderma lucidum*.

Reino: Fungí	Familia: Ganodermataceae
Filo: Basidiomycota	Género: <i>Ganoderma</i>
Clase: Basidiomycetes	Especie: <i>Ganoderma lucidum</i>
Orden: Polyporales	

El ciclo de vida de *G. lucidum* (Fig. 1) inicia cuando una basidiospora germina para formar una colonia de ramificación de hifas filamentosas. Este micelio joven está compuesto de múltiples compartimientos, separados por tabiques con doliporo y núcleo haploide. Estos núcleos se forman por mitosis, empezando por la primera división del único núcleo de la espora de origen. El micelio resultante se denomina homocarión debido a que todos sus núcleos son clones genéticamente idénticos. El micelio homocarión se expande a través del suelo y la madera, u otros materiales alimenticios. Cuando un par de homocariones sexualmente compatibles se combinan producen micelio heterocariótico en el que cada compartimiento hifal contiene un par de núcleos, derivado de cada homocarión. Los términos dicarión y micelio dicariótico también se usan para describir estas colonias. La aparición de un hongo a partir de la colonia comienza con el desarrollo de un nudo de hifas. Este agregado es del tamaño de la punta de un alfiler, donde las células esperan las condiciones ambientales propicias para una rápida expansión del cuerpo fructífero. Los basidios se forman en los extremos de las hifas cuyas puntas dejar de crecer en la superficie de las laminillas del cuerpo fructífero, éstos tejidos del cuerpo fructífero se conoce como himenio. Como los miles de millones de otros compartimientos de células dentro del tejido del hongo, los jóvenes basidios son heterocarióticos. Se fusionan y luego se someten a la meiosis para producir cuatro núcleos haploides, cada uno de los cuales se desplazan a una de las cuatro basidiosporas formadas a partir del basidio. Las esporas se caen desde la

superficie de las laminillas por mecanismos diferentes. *Ganoderma* puede arrojar 30 mil millones de esporas por día, unos más de 5 billones en los 6 meses que el soporte perineal está activo cada año (Money, 2015) en Castillo (2016).

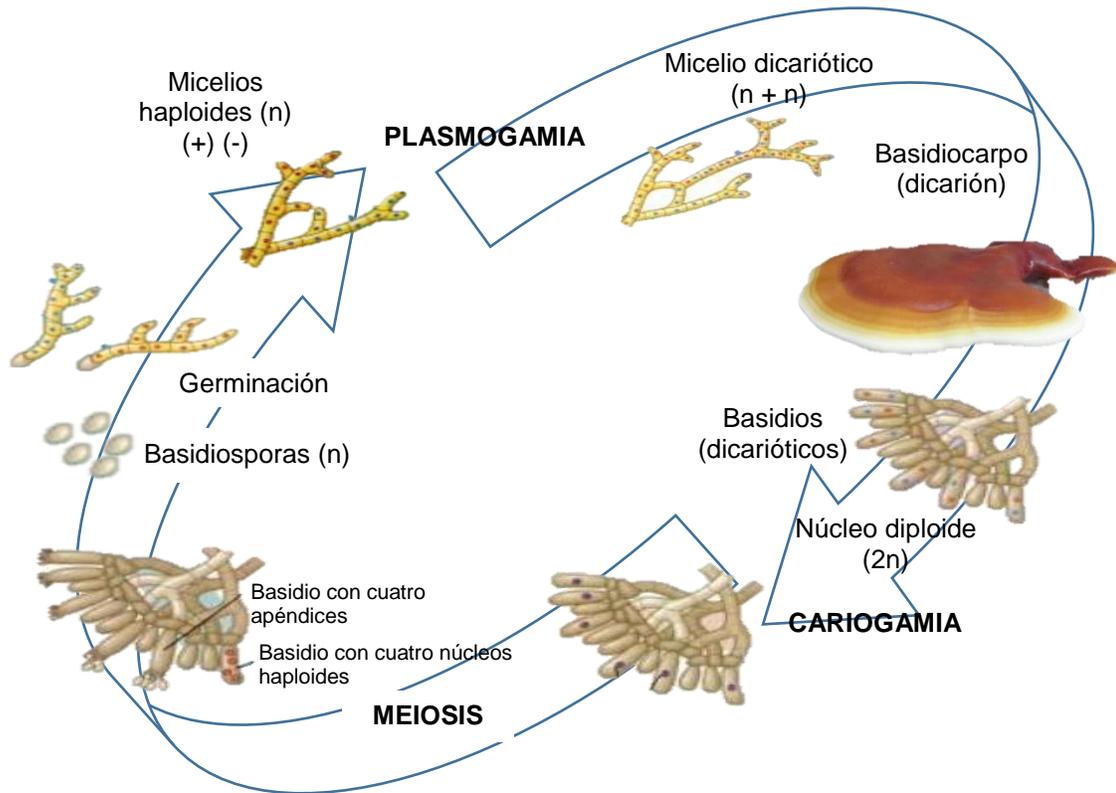


Figura 1. Ciclo de vida de *Ganoderma lucidum* (Modificado de Mukhin y Votintseva, 2002; Campbell y Reece, 2007).

El cuerpo fructífero conocido como basidioma en los basidiomicetos, puede estar integrado por un sombrero o píleo que en su parte inferior presenta láminas o himenio, pie o estípote, anillo y un saco o volva. En el himenio se desarrollan las esporas y de acuerdo a la especie además de láminas, también se pueden observar en forma de venas, poros, dientes o aparente liso (Tello, 2010).

2.4 Propiedades medicinales y funcionales de *G. lucidum*

G. lucidum es y ha sido ampliamente utilizado por el hombre para mejorar su salud, aumentar su longevidad y para combatir diversas enfermedades, por lo que fue reconocido en la Shen Nong Ben Cao Jing (Materia Medica de Shen Nong) publicada en 206 a.C. como “promotor de longevidad y tónico de clase superior”. Su empleo proviene de 2000 años a.C. (Zhanga *et al.*, 2016). La medicina tradicional china moderna presenta tres características para la prevención y tratamiento de enfermedades con *G. lucidum*. En primer lugar, el uso de *G. lucidum* sin toxicidad y la ausencia de efectos secundarios; en segundo lugar, no tiene ninguna permanencia en un órgano especial; y el último es su efecto de mejora sobre la normalización de la función del órgano. Con el desarrollo de la biotecnología, muchos investigadores han estudiado intensamente los componentes bioactivos de *G. lucidum*. La farmacológica moderna y los ensayos clínicos han demostrado que *G. lucidum* mostró un efecto significativo en la prevención y tratamiento de diversas enfermedades (Zhou *et al.*, 2012). Las aplicaciones específicas y beneficios para la salud atribuidos a *G. lucidum* incluyen el control de los niveles de glucosa en la sangre, la modulación del sistema inmune, hepatoprotección, efecto bacteriostático, anti-hipertensión, anti-oxidación, hipercolesterolemia y enfermedades inmunológicas. Así como el uso de *G. lucidum* en la prevención y tratamiento de diversas enfermedades como la hepatitis, la bronquitis crónica, gastritis, crecimiento de tumores y trastornos inmunológicos (Zhanga *et al.*, 2016).

2.5 Métodos de obtención de compuestos bioactivos

Un componente bioactivo en el campo de la alimentación y específicamente, en alimentos funcionales, se define como aquellos compuestos químicos que ejercen un efecto benéfico para alguna función corporal del individuo, produciendo una mejora en su salud y bienestar o reduciendo un riesgo o enfermedad (Barragán-Valbuena, 2011). La extracción de compuestos bioactivos de hongos comestibles y medicinales significa la necesidad de un método adecuado para obtener la mayor cantidad posible de estos componentes activos, dentro de los métodos de extracción los más importantes son:

Maceración: El proceso de maceración consiste en remojar el material a extraer, debidamente fragmentado, con un disolvente apropiado, hasta que este penetre en los tejidos ablandando y disolviendo las porciones solubles. En un recipiente que no reaccione con el

disolvente (preferentemente de vidrio), se coloca el material a extraer y se cubre con el disolvente elegido. Se tapa y se deja en reposo, con agitación esporádica. Posteriormente se filtra el líquido y si el material contuviera las sustancias de interés, se repite el proceso con disolvente fresco (puro) tantas veces como sea necesario.

Reflujo: En este proceso, el material fragmentado disuelto en un disolvente se somete a ebullición. La temperatura elevada del disolvente permite una mejor extracción de los componentes deseados ya que la solubilidad de la mayoría de las sustancias aumenta con la temperatura. Este método presenta el inconveniente de que muchos compuestos termolábiles se alteran o descomponen. Es un proceso ampliamente difundido que consiste en colocar el material fragmentado en un recipiente cónico o cilíndrico, hasta pasar un disolvente apropiado a través del mismo. Sin embargo, el material debe estar debidamente compactado de modo que el disolvente eluya con cierta lentitud dando tiempo al mismo a tomar contacto con los tejidos y extraer los componentes deseados

Extracción por arrastre con vapor de agua: El más antiguo y sencillo método para obtener aceites, a partir del material vegetal, lo más fresco posible. Si un líquido orgánico es insoluble en agua y tiene una presión de vapor apreciable a la temperatura de ebullición de aquella, puede destilarse arrastrándolo con vapor de agua.

Extracción continua: Para efectuar una extracción eficiente y “agotar” el material que se está extrayendo, muchas veces se requieren volúmenes muy grandes del disolvente de extracción. Existen tres diseños básicos de aparatos para realizar una extracción continua (Lamarque *et al.*, 2008).

1. Aparato de Soxhlet para extracción sólido-líquido.
2. Aparato para extracción líquido-líquido con un disolvente menos denso que la solución que contiene la sustancia a extraer.
3. Aparato para extracción líquido-líquido con un disolvente más denso.

Extracción asistida por microondas: Las microondas mejoran el rendimiento de extracción al aplicar un tratamiento térmico, que utiliza radiaciones electromagnéticas que se encuentran en el rango de 0.3 a 300 GHz ($\lambda = 1$ hasta 0.001 m) para generar calor dentro del material y que éste se caliente en periodos de tiempo más cortos. Con todo ello se evita una posible degradación de los compuestos de interés al aplicar tratamientos de larga duración.

Extracción asistida por ultrasonidos: Los ultrasonidos son vibraciones mecánicas en un sólido, un líquido o un gas con una frecuencia superior a la audible por los humanos. Estas ondas mecánicas sólo se transmiten a través de la materia, ya que implica ciclos de expansión y compresión.

Extracción mediante tratamiento enzimático: Las enzimas actúan como catalizadores de la reacción, acelerando el proceso. Con las enzimas apropiadas se consigue romper la estructura de las membranas celulares para provocar la liberación del compuesto de interés.

Extracción con disolventes acelerada: En este caso el proceso se lleva a cabo a presiones elevadas para trabajar con disolventes en fase líquida a temperatura por encima de su punto de ebullición.

Extracción con fluidos supercríticos: Un fluido supercrítico posee propiedades de disolvente que se parecen a las de un líquido, pero también exhibe propiedades de transporte parecidas a las de un gas. De esta manera, un fluido supercrítico no solo puede disolver solutos sino que también es miscible con los gases ordinarios y puede penetrar en los poros de los sólidos facilitando la extracción.

2.6 Factores que intervienen en el proceso de obtención de compuestos bioactivos

La velocidad y eficiencia de la extracción es afectada por diversos factores, principalmente por aquellos que tienen relación directa con la solubilidad de los componentes que se desean extraer entre los que se menciona:

Tamaño de partícula: La eficiencia del proceso extractivo será mayor cuanto menor sea el tamaño de las partículas, ya que al reducir el tamaño del sólido al cual se le quiere extraer alguna fracción, se logra una mayor área de contacto sólido líquido, acelerando e incrementando la extracción. La extracción termina cuando se produce un equilibrio de concentraciones y se agota el disolvente utilizado (Burriel *et al.*, 2008).

Agitación: La eficiencia del proceso extractivo, es función del equilibrio de saturación del disolvente. La agitación continua tiende a romper, no solo la fase a dispersar sino también el medio de dispersión.

Temperatura: Contribuye al desplazamiento de la constante de equilibrio de saturación y aumenta la eficiencia del proceso. Sin embargo, muchos principios activos son termolábiles y pueden ser destruidos, total o parcialmente a temperaturas elevadas (Riaño,

2007). Se ha observado que la extracción a temperaturas elevadas afectan la estabilidad de los compuestos fenólicos, debido a la degradación enzimática y química y a las pérdidas causadas por la volatilización y descomposición térmica (González-Montelongo *et al.*, 2010).

pH: Influye en la solubilidad de diversos compuestos, ya que permite la posibilidad de formación de sales. El pH deberá ser diferente para cada especie de hongo utilizada.

Naturaleza del disolvente: Dependiendo de la finalidad deseada, el disolvente utilizado extrae selectivamente o no, cierta clase de compuestos. La elección del disolvente de extracción depende de la solubilidad del compuesto a extraer, de la volatilidad, inflamabilidad y toxicidad de los posibles disolventes a emplear. El alcohol etílico y sus mezclas con agua, es el disolvente por excelencia para la obtención de extractos y tinturas vegetales. Se aplica la regla que dice “lo semejante disuelve a lo semejante” es decir cuanto mayor sea la afinidad de la muestra orgánica por el disolvente de extracción elegido, más fácilmente se extraerá en la cuadro 2 se muestran ejemplos de disolventes del menos polar al más polar (La Fuente y Santiago, 1997).

Cuadro 2. Disolventes más usados para extraer compuestos bioactivos en orden de polaridad.

n- Hexano	Menos polar
Ciclohexano	
Tolueno	
Cloroformo	
Éter etílico	
Acetato de etilo	
Acetona	
Etanol	
Metanol	
Agua	
Ácido acético	Más polar

Escoger el solvente adecuado es uno de los factores más importantes en la obtención de extractos con alto contenido de compuestos bioactivos. En general las formas aglicinas altamente hidroxiladas de los compuestos fenólicos son solubles en solventes tales como etanol, metanol y agua. Los solventes como el acetato de etilo, acetona y cloroformo se utilizan para las menos polares y altamente metoxiladas (Paulino *et al.*, 2013).

Cantidad de disolvente: El volumen del disolvente en una extracción de compuestos bioactivos dependerá de la naturaleza y cantidad de sustancia a separar (Lamarque, 2008). Comúnmente se utiliza 1:1 y 1:10, sin embargo mayores relaciones como 1:20 a 1:100 han dado mejores resultados (Dorta *et al.*, 2013). Cuanto mayor sea la cantidad, más elevado será el agotamiento de los principios activos.

Tiempo de extracción: Otro factor importante en la obtención de compuestos bioactivos es el tiempo de maceración en el solvente, este debe ser suficiente para permitir la separación de los compuestos de interés, dependiendo de las características de la materia prima (dureza, grado de división) y de la naturaleza de los principios activos (volátiles, hidrolizables, oxidables, entre otros).

2.7 Compuestos bioactivos de *G. lucidum*

Durante las últimas dos décadas, las investigaciones modernas han revelado que *Ganoderma* contiene una gran variedad de compuestos químicos, que incluyen, triterpenes/triterpenoides, polisacáridos, nucleósidos, esteroides, ácidos grasos, alcaloides, proteínas, péptidos, aminoácidos y otros elementos inorgánicos. Entre estos compuestos, los triterpenes y los polisacáridos han adquirido gran atención, ya que se ha probado que poseen propiedades farmacológicas diversas y posiblemente significativas. Los triterpenes/triterpenoides son los componentes amargos de *Ganoderma* que han recibido gran atención debido a sus tan conocidas propiedades farmacológicas (Huie y Di, 2004). Cuanto más amargo es, mayor será el nivel de triterpenoides. Los triterpenoides son hidrocarburos hidrofóbicos cíclicos (Lin *et al.*, 2003). Se ha encontrado que los triterpenoides poseen propiedades bioactivas importantes, tales como anti-oxidación, hepatoprotección, anti-alergia, antihipertensión, disminución de colesterol, así como también la inhibición de la agregación plaquetaria, debido a la inhibición de ciertas enzimas (tales como β -galactosidasa, enzima convertidora de angiotensina, colesterol sintasa). Los componentes principales de la fracción triterpénica son los ácidos ganodéricos A, B, C y D, el ácido lucidénico B y ganodermanontriol (Lin *et al.*, 2003). En el presente, más de 200 polisacáridos han sido aislados de los cuerpos fructíferos, esporas, micelio y caldo de cultivo de *G. lucidum* (Huie y Di, 2004). Los polisacáridos de *Ganoderma* son las principales fuentes de su actividad biológica y usos terapéuticos. Los polisacáridos presentes en

Ganoderma poseen propiedades inmunomoduladoras, que incluyen el aumento de la proliferación de linfocitos y la producción de anticuerpos (Liu *et al.*, 2002). Los esteroides de *G. lucidum* también poseen propiedades relevantes. El peróxido de ergosterol mejora el efecto inhibitorio del ácido linoleico sobre la ADN polimerasa de mamíferos, y la fracción esterolítica total disminuye el estrés oxidativo y la respuesta inflamatoria en cultivos neuronales corticales de rata expuesta a hipoxia y reoxigenación.

La oxidación es esencial para muchos organismos vivos para la producción de energía para alimentar los procesos biológicos. Sin embargo, los radicales libres de oxígeno y otras especies reactivas de oxígeno, que se producen continuamente, dan como resultado la muerte celular y el daño tisular. El daño oxidativo causado por los radicales libres puede estar relacionado con el envejecimiento y enfermedades, tales como la aterosclerosis, la diabetes, el cáncer y la cirrosis (Halliwell y Gutteridge, 1984). La actividad antitumoral de *G. lucidum* está relacionada con sus propiedades antioxidantes, ya que los polisacáridos solubles en agua de *G. lucidum* mostraron ser eficaces en la prevención de roturas de la cadena de ADN (Paterson, 2006). Una fracción aminopolisacárida de *G. lucidum* (G009) se encontró que tenía la capacidad de proteger contra especies reactivas de oxígeno (ERO), que están implicadas en la fisiopatología de cáncer (Pincemail, 1995). G009 inhibe la peroxidación lipídica inducida por hierro e inactiva radicales y aniones superóxido y radicales hidroxilo. Además, G009 también redujo el daño oxidativo en el ADN, lo que sugiere que la fracción aminopolisacárido de *G. lucidum* posee potencial quimiopreventivo (Lee *et al.*, 2001). En el cuadro 3 se describen las principales propiedades de los compuestos bioactivos de *G. lucidum* en los últimos años.

Cuadro 3. Compuestos bioactivos de *Ganoderma lucidum* y efectos reportados a la fecha (Basado en Paterson, 2006).

Compuestos bioactivos	Efecto	Referencia
Adenosina	Antiagregante plaquetario	Kawagishi <i>et al.</i> (1993)
Lecitinas	Mitogénesis	Ngai y Ng. (2004)
	Antifibrótico	Park <i>et al.</i> (1997)
	Antihipertensivo	Kim <i>et al.</i> (2000), Oh <i>et al.</i> (2000)
	Antiinflamatorio	Ukai <i>et al.</i> (1983)
	Hepatoprotector	Zhang <i>et al.</i> (2002)
	Hipoglucemiante	Bastami <i>et al.</i> , 2007; Zhang y Lin, 2004; Zhang <i>et al.</i> , 2003
Polisacáridos	Inmunomodulador anti-tumoral	Zhang y Lin (2004); Gao <i>et al.</i> (2000 a, b); Li <i>et al.</i> , (2000) ; Li y Zhang (2000); Ooi <i>et al.</i> , (2002) ; Li <i>et al.</i> , (2007); Paterson, (2006); Yuen y Gohel, (2008); Zhang <i>et al.</i> , (2007); Shao <i>et al.</i> (2004)
	Proteína (“LZ-8”)	Inmunomodulador Inmunosupresor Antimicrobiano Anti-inflamatorio Antioxidante
Terpenoides	Antiagregante plaquetario	Shiao (1992)
	Antiviral	Mothana <i>et al.</i> (2003)
	Citotóxico	Gao <i>et al.</i> (2002), González <i>et al.</i> (2002), Kimura <i>et al.</i> (2002), Su <i>et al.</i> (2000), Wu <i>et al.</i> (2001)
	Hepatoprotector	Chen y Yu, (1999)
	Hipolipemiante	Shiao (1992), Hajjaj <i>et al.</i> (2005); Gao <i>et al.</i> (2004); Meneses <i>et al.</i> (2016)
	Hipotensivo	Morigiwa <i>et al.</i> (1986)

2.8 Regulación en el mercado para el uso de compuestos bioactivos

Como respuesta al creciente interés sobre alimentos funcionales, han aparecido nuevos productos y ahora el interés se centra en la necesidad de establecer normas y directrices que regulen el desarrollo y la publicidad de dichos alimentos. A nivel internacional Japón es el país con el mercado más desarrollado para alimentos funcionales, se caracteriza por contar con un sistema de reglamentación (FOSFU) “Alimentos para uso especificado de la Salud”, a partir del cual se aprueban las declaraciones hechas en las etiquetas de los alimentos sobre

los efectos de estos en el cuerpo. De esta manera los productos alimenticios para su aprobación por la aplicación de FOSHU son científicamente evaluados en términos de su eficacia y seguridad por el Consejo de Asuntos Farmacéuticos e Higiene de los Alimentos en el marco del MHLW (Ministerio Japonés de Salud, Trabajo y Bienestar).

La Comisión Europea y los Estados miembros, basados en la evaluación científica, para lo cual en una acción concertada la Comisión Europea, crea un nuevo programa denominado Proceso para la Valoración de Soporte Científico de las Alegaciones con respecto a los Alimentos (Process for the Assessment of Scientific Support for Claims on Foods. "PASSCLAIM"), que tiene como objetivo resolver los temas relativos a la validación y verificación científica de las alegaciones en los alimentos y la información al consumidor. En los Estados Unidos tres agencias muy importantes intervienen en el campo de alimentos funcionales estas son: la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), la Asociación Americana del Corazón (AHA) y el Instituto de Medicina (IOM), todas ellas trabajan en el control y estudio científico de estos alimentos. Además cuentan con el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USA), quien ha prestado gran interés en los alimentos funcionales específicamente en los compuestos antioxidantes (Barragán-Valbuena, 2011; <http://www.eufic.org/article/es/expid/basics-alimentos-funcionales/>).

2.9 Análisis de la viabilidad financiera de proyectos de inversión

Los proyectos de inversión surgen como respuesta a determinadas necesidades humanas y su éxito depende de la importancia de la necesidad a satisfacer, en función del número de personas y del valor que éstas le asignan. Desde el punto de vista empresarial, lo que interesa es la posibilidad de que dicho valor corresponda a una determinada capacidad y disposición a pagar existiendo la generación de beneficios para financiar al menos los costos económicos. De manera que la evaluación financiera de proyectos de inversión se entiende como el análisis que permite anticipar el futuro al identificar, medir y valorar la cantidad de inversión, ingresos, gastos, utilidad de la operación del proyecto de inversión, nivel de inventarios requeridos, capital de trabajo, depreciaciones, amortizaciones, sueldos, etc., a fin de identificar con precisión la rentabilidad y tomar la decisión final de invertir o no. En el estudio financiero de un proyecto de inversión se encuentra presente el riesgo y la incertidumbre, el cual representa la probabilidad de cambio en las variables

macroeconómicas y operacionales, por lo que puede ocasionar la reducción y/o eliminación de la rentabilidad de la inversión (Pérez *et al.*, 2011). Los indicadores para la evaluación económica de proyectos son conceptos valorizados que expresan el rendimiento económico de la inversión en una empresa que permite obtener información para tomar las mejores decisiones de inversión (Ramírez, 2000). Los indicadores más utilizados para determinar la rentabilidad de una organización o empresa son: la Relación Benéfico Costo, el Valor Actual Neto (VAN) y la Tasa Interna de Retorno (TIR) (García, 2008).

2.9.1 Valor actual neto (VAN)

El VAN de un proyecto de inversión es la ganancia o pérdida en términos del valor del dinero en el momento cero después de haber recuperado la inversión inicial a una tasa de interés de oportunidad. La tasa de interés de oportunidad, es la tasa de interés de referencia, sobre la cual todo inversionista se basa para hacer sus inversiones. La expresión matemática para obtener este indicador es la siguiente:

$$VPN = \sum_{n=1} FC_t / (1+r)^t$$

Donde:

t = tiempo

n = años de vida útil del negocio

FCt = Flujo de caja neto en el periodo indicado

r = tasa de descuento

El criterio de aceptación para el VAN, es que este valor sea > 0 (mayor que cero), como consecuencia, se obtienen beneficios adicionales. Lo anterior implica que el proyecto de inversión genera una tasa de interés mayor que la tasa de oportunidad con la cual se descontaron los flujos.

2.9.2 Tasa interna de retorno (TIR)

Es la tasa de interés real máxima que podría pagar un proyecto por los recursos monetarios utilizados sin perder dinero. La TIR representa la rentabilidad promedio generada por el proyecto durante su vida útil, es decir la retribución al capital invertido (Anzil, 2005). Su fórmula matemática es:

$$TIR = \sum_{n=1} \left[\frac{FC_t}{(1+i)^t} \right] - I_0 = 0$$

Donde:

I_0 = inversión inicial

FC = flujo de caja del proyecto (ingresos menos egresos)

i = tasa de descuento o costo de oportunidad del capital

t = tiempo

n = vida útil del proyecto.

El criterio de aceptación para este indicador, es que el resultado obtenido sea $> i$ (tasa de descuento), es decir, $TIR > i$ (Álvarez, 2001).

2.9.3 Relación beneficio costo (B/C)

Esta razón indica el retorno en dinero obtenido por cada unidad monetaria invertida durante la vida útil del proyecto. Se basa en el "valor presente" y consiste en dividir el valor presente de los ingresos entre el valor presente de los egresos.

$$B/C = VPI/VPe$$

Donde:

VPI= Valor Presente de los ingresos

VPe= Valor Presente de los egresos

El criterio formal de selección para medir la relación beneficio-costos, es que el resultado sea >1 ; este análisis por sí solo no debe ser usado para determinar la viabilidad o no de un proyecto (Álvarez, 2001).

III. MARCO DE REFERENCIA

3.1 Proyectos productivos de cultivo y obtención de extractos de *G. lucidum* en México

En México, el cultivo de hongos comestibles se inició desde mediados de la década de los 30's, sin embargo, la actual industria en el país data de apenas 40 años, cultivando solamente el champiñón, con técnicas y cepas extranjeras y a partir de 1974 empezó con las setas blancas (*P. ostreatus*) (Martínez-Carrera *et al.*, 1991). México es un país esencialmente agrícola, produce millones de toneladas anuales de esquilmos y residuos agrícola-industriales, por lo que se incrementa el potencial para cultivar los hongos en tales desechos, como lo demostraron Mata y Martínez-Carrera (1998).

El mercado mundial de los hongos medicinales se ha estimado en 3.9 billones de dólares Americanos solo para 1995, representando el mercado de tónicos y medicinas (Quiriz, 2012). Durante la década pasada, su crecimiento ha sobrepasado en forma consistente el desarrollo rápido de hongos comestibles. Sin embargo la demanda de hongos medicinales está concentrada en Asia, su atractivo está aumentando en Europa y en Norte América. El valor por comparación de los tónicos y nutracéuticos de *Ganoderma* en los Estados Unidos de América es solo de 10 millones de dólares (Tello, 2010). El mercado de *G. lucidum* va en aumento sin embargo en México no hay estudios financieros acerca de si el cultivo de *G. lucidum* es una buena inversión que sea viable para cualquier persona o sociedad, pues la mayoría de estudios se basan en otros tipos de hongos comestibles como las setas.

Aguilar (1993), realizó un análisis económico y financiero en una planta de hongos comestibles en Cuetzalan, tras el análisis de las inversiones realizadas en 1988 la planta resultó ser rentable por el periodo de vida útil calculado en 20 años, desde el punto de vista financiero como económico, la cual tuvo una relación B/C de 2.24 y 3.33, respectivamente; el VAN de 903.262 y 1, 468.062 una tasa superior al 50% en ambos casos. Herrera y Ancona (2006), realizaron el estudio de un proyecto de inversión de una unidad productora de setas en el municipio de Las Vigas, Veracruz" donde el estudio económico y la evaluación financiera, arrojaron resultados positivos, factibles y muy favorables económicamente hablando. Así mismo los rendimientos que arroja la tasa interna de retorno (TIR) son mucho mayores a la tasa mínima de rendimiento, el valor actual neto (VAN) de producción arrojó resultados positivos, así que por estos parámetros se concluye que el proyecto es viable y factible.

Existen estudios financieros de *G. lucidum* en el extranjero como el realizado por Martínez *et al.* (2012), sobre un proyecto de producción y comercialización de dicho hongo, el cual se encuentra basado en un plazo de 5 años, que genera utilidades importantes para los inversionistas debido a que el margen de Ebitda a partir del segundo año es en promedio del 54%, y genera unos flujos de caja libre operacional de 203 millones de pesos en promedio.

3.2. Cultivo de *G. lucidum* en sustratos sólidos suplementados

En los últimos años se ha centrado el interés mundial en la búsqueda de alternativas para la gestión y la utilización de la elevada cantidad de residuos lignocelulósicos derivados de las actividades agroforestales. Las alternativas de aprovechamiento implementadas hasta el momento se han enfocado fundamentalmente hacia su recuperación energética (Cerdeira, 1998). Sin embargo, considerando su alto contenido en fuentes de carbono lignocelulósicos (Bonatti *et al.*, 2004), resulta interesante explorar las posibilidades de estos residuos como sustrato para el cultivo y producción de setas nutraceuticas (comestibles y medicinales). La crisis energética, el deterioro del medio ambiente y el crecimiento demográfico ponen de manifiesto la importancia de producir alimentos proteicos de calidad, de manera sustentable y en equilibrio con la conservación de la naturaleza. Los hongos comestibles constituyen una importante fuente de alimento, y algunos países en vías de desarrollo los consideran una alternativa novedosa para la obtención de alimentos de bajo costo (Wang y Hall 2004).

La fermentación sólida en medio natural, brinda la posibilidad de mejorar los rendimientos de la producción de setas con adecuada composición nutricional, a la vez que se ahorran recursos al emplearse estos sustratos que son subproductos disponibles y fáciles de manipular (García-Oduardo *et al.*, 2011). Las técnicas de cultivo de hongos comestibles más conocidas son las empleadas en la producción de *Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach (champiñones), *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler (shiitake) y *Pleurotus spp.* (setas) que alcanzan 38, 20 y 16%, respectivamente, de la producción mundial según Chang (2006). Las setas comestibles convierten los desechos agrícolas en alimentos, por lo que son considerados como una fuente barata de proteína. La mayoría pueden ser producidos en un corto período de tiempo a bajo costo y en áreas reducidas. Además, el desarrollo del cultivo de setas a pequeña escala en países en desarrollo necesita una tecnología sencilla, de condiciones poco sofisticadas. La pulpa de café, la viruta de madera, las cáscaras de cacao y

coco son empleados como sustratos naturales en la fermentación en estado sólido (FES) para la producción de setas comestibles. *G. lucidum* puede ser cultivado en sustratos sólidos sintéticos formulados a base de diferentes residuos agroindustriales. Usualmente, su cultivo produce rendimientos menores comparado con otros hongos comestibles cultivables. Los altos costos asociados a su producción y su alto valor en el mercado hacen que cualquier mejora en los rendimientos redunde en un beneficio económico. Por lo que la selección del sustrato, de los aditivos y el manejo de las condiciones de cultivo, resultaron estrategias eficientes para aumentar los rendimientos de la producción. Bidegain *et al.* (2013), desarrollaron una tecnología de bajo costo de producción de *G. lucidum* utilizando como sustrato base cáscara de girasol, un residuo abundante de la industria aceitera, logrando incrementar los rendimientos en un 43% y acortar significativamente el tiempo de producción.

La especie de *G. lucidum* (cepa CP-145) conocida por las comunidades indígenas y campesinas en México se ha cultivado axénicamente en medios y sustratos convencionales, así como modificados a través de la adición de ácido acetilsalicílico (AAS). El AAS tiene un efecto importante sobre el rendimiento, la composición, así como las propiedades funcionales y medicinales de los extractos hidroalcohólicos estandarizados obtenidos a partir de los basidiocarpos cosechados en ambas condiciones de estudio (control *versus* tratamiento con AAS). En comparación con los extractos naturales obtenidos a partir de basidiocarpos de *G. lucidum* cultivados sobre aserrín de encino, se obtiene un mayor rendimiento (8.7%) en los extractos modificados obtenidos a partir de basidiocarpos cultivados sobre aserrín de encino con AAS (Martínez- Carrera *et al.*, 2016).

3.3 Recursos genéticos nativos de *G. lucidum* en México

Los recursos genéticos para la alimentación y la agricultura son la materia prima de la que el mundo depende para mejorar la productividad y calidad de los cultivos, la ganadería, la silvicultura y la pesca así como para mantener poblaciones saludables de especies silvestres. Por tanto, la conservación y uso sostenible de los recursos genéticos para la alimentación y la agricultura es un aspecto central de la seguridad alimentaria y la nutrición. Conservar y utilizar un amplio abanico de diversidad- tanto entre especies como dentro de las especies- significa garantizar opciones para responder a los retos del futuro (<http://www.fao.org/genetic->

[resources/es/](#)). México es un centro importante de domesticación y de diversidad de numerosos cultivos, algunos de gran importancia global (Bellon, 2009).

Los hongos comestibles silvestres son un recurso de gran importancia en México. Se reconocen aproximadamente 275 especies utilizadas como alimento o de uso medicinal. En años recientes, se ha intensificado el aprovechamiento intensivo de poblaciones silvestres de algunos hongos comestibles con fines de exportación por algunas compañías extranjeras. (Garibay-Orijel *et al.*, 2010).

Por la notable biodiversidad que caracteriza al país, existen especies novedosas de hongos comestibles que son consumidas o utilizadas tradicionalmente por las comunidades rurales de diversas regiones del país. Este es el caso, por ejemplo, de los “Hongos del Maguey” (*Pleurotus* sp.), el “Hongo de Encino” [*Lentinula boryana* (Berk. y Mont.) Pegler], y las “Repisas” (*Ganoderma* spp.), cuyo cultivo intensivo ha sido desarrollado sobre sustratos estériles suplementados. Estos recursos genéticos nativos tienen gran potencial para incorporarse en el corto plazo a la producción comercial de los hongos comestibles, funcionales y medicinales en México (Martínez-Carrera *et al.*, 2010). Sin embargo, los recursos humanos, económicos y de infraestructura que actualmente se dedican a la preservación de los recursos genéticos de hongos comestibles y medicinales son mínimos (Morales *et al.*, 2010). Por ello es relevante el desarrollo del Centro de Recursos Genéticos de Hongos Comestibles (CREGENHC), en el Colegio de Postgraduados, *Campus* Puebla (Sobal *et al.*, 2007).

3.4 Estado del arte de las propiedades de *G. lucidum* en México

Meneses *et al.* (2014; 2015a-b), realizaron el primer estudio en nutrigénomica sobre el efecto de los extractos estandarizados de *G. lucidum* sobre el metabolismo de lípidos en modelo animal (*in vivo*), determinando su impacto potencial en la obesidad, el síndrome metabólico y las enfermedades cardiovasculares. Meneses *et al.* (2016), analizaron extractos estandarizados de *G. lucidum* (GI) de origen mexicano cultivados en sustrato adicionado con ácido acetilsalicílico (10 mM) en ratones C57BL/6 alimentados con una dieta alta en colesterol y comparándolo con el medicamento simvastatina. Donde se evaluaron los efectos de los extractos sobre los parámetros bioquímicos séricos, el contenido de lípidos del hígado, el metabolismo del colesterol, y la composición de la microbiota intestinal. En

comparación con el grupo de dieta alta en colesterol, el consumo de los extractos de *G. lucidum* GI-1 control y GI-2 cultivo adicionado con ácido acetilsalicílico (10 mM) reducen significativamente el colesterol total en suero (por 19,2% a 27,1%), LDL-C (por 4,5% a 35,1%), la concentración de triglicéridos (por 16,3% a 46,6%), colesterol hepático (por 28,7% a 52%) y los triglicéridos hepáticos (por 43,8% a 56,6%). En varios casos, GI-1 o GI-2 mostraron mejores efectos sobre el metabolismo lipídico que la simvastatina. Mientras que los efectos prebióticos de los extractos GI-1 y GI-2 modulan la composición de la microbiota intestinal y produjeron un aumento en el nivel de género *Lactobacillus* en comparación con el grupo control.

Asimismo, se llevaron a cabo las primeras investigaciones genómicas sobre las propiedades anticancerígenas de los hongos comestibles, funcionales y medicinales (Peña-Luna *et al.*, 2016, 2015 a-b). Con estos estudios se aporta evidencia científica de alta resolución sobre el efecto de los extractos estandarizados de los hongos comestibles funcionales y medicinales en la salud, partiendo del análisis integral del genoma y el transcriptoma en líneas celulares y modelos animales. Proporcionando las bases para pruebas clínicas que garanticen la inocuidad y uso de los productos de hongos comestibles, funcionales y medicinales con fines terapéuticos (Martínez- Carrera *et al.*, 2016).

Un extracto de *G. lucidum* usando como solvente metanol demostró actividad inhibitoria de la 5 α -reductasa fuerte entre 19 hongos comestibles y medicinales (Noguchi *et al.*, 2005). Los triterpenos de *G. lucidum* reprimieron el crecimiento de células cancerosas, mientras que los polisacáridos estimularon el sistema inmune en un estudio (Silva, 2006). Los extractos de *G. lucidum* inhibieron marcadamente la señalización intracelular y el comportamiento invasivo de las células cancerosas (Aydemir, 2002). Stanley *et al.* (2005), demostraron que *G. lucidum* induce la apoptosis, inhibe la proliferación celular, y suprime la migración celular de las células de cáncer de próstata humano. Sin embargo, el mecanismo molecular no ha sido totalmente dilucidado. *G. lucidum* puede tener un efecto inmunomodulación en pacientes con cáncer colorectal avanzado (Chen *et al.*, 2006). Se necesitan más estudios para explorar los beneficios y la seguridad de los pacientes de cáncer. Además, existe más evidencia de que *G. lucidum* inhibe la proliferación de células de cáncer de próstata (Johnston, 2005). Müller *et al.* (2006), usaron un extracto de *G. lucidum* para la actividad anti-proliferativa usando una línea celular de cáncer humano. Los resultados

indicaron que *G. lucidum* tenía una actividad profunda contra la leucemia, linfoma y células de mieloma múltiple por que representa una terapia adyuvante para el tratamiento hematológico y tumores malignos. Estos estudios aportan evidencia científica de alta resolución sobre el efecto de los extractos de *G. lucidum* en la salud.

3.5 Presentaciones comerciales de productos a base de extractos de *G. lucidum* en México

A partir del 2005, se ha registrado una creciente oferta y demanda de productos con las propiedades funcionales y medicinales de los hongos comestibles, tanto procesados (cápsulas, en polvo), como bebidas (jabones, cremas). Su comercialización se lleva a cabo por comercio electrónico, venta directa o tiendas especializadas (Martínez-Carrera *et al.*, 2016).

Actualmente, son varias las compañías que ofrecen productos de extractos de *Ganoderma lucidum* en mezclas de bebidas como café, té, chocolate, o bien en capsulas y extractos líquidos. Se sabe que alrededor del año 1972 se comenzó a cultivar *G. lucidum* de una forma exitosa en países de Centroamérica; en México, Octavio Pérez Ortiz, productor de los hongos comestibles medicinales Senguihongo, refirió en una entrevista que en el Municipio de Senguio, Michoacán se encontró a *G. lucidum* de manera natural en húmedos bosques de la región y al ser un hongo degradador de la madera, permitió su domesticación, a base de la espora que se capta en el monte, la cual se ingresó a laboratorio para su cultivo y producción. Senguio, Michoacán-Productores de Sengui promueven el consumo de hongo Reishi o Ling Zhi (*G. lucidum*). En los últimos quince años, Senguio se ha convertido en uno de los mayores productores a nivel estatal, dentro de sus límites territoriales de *G. lucidum*. Otra empresa en México se encuentra en el estado de Oaxaca Hongomex la cual ofrece capsulas con extracto de *G. lucidum* en polvo.

3.6 Control de calidad y sanidad de productos funcionales en México

La Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), es la autoridad en México encargada del control sanitario de productos, servicios y de su importación y exportación y de los establecimientos dedicados al proceso de los productos. En materia de alimentos, suplementos alimenticios y sus materias primas, productos

cosméticos y aditivos, la COFEPRIS emite los siguientes documentos: certificado de exportación de libre venta, certificado de análisis de producto, certificado de buenas prácticas y certificado de sólo exportación.

Suplementos alimenticios: Son productos a base de hierbas, extractos vegetales, alimentos tradicionales, deshidratados o concentrados de frutas, adicionados o no, de vitaminas o minerales que se puedan presentar en forma farmacéutica y cuya finalidad de uso es incrementar la ingesta dietética total, complementarla o suplir algún componente, de acuerdo al artículo 215, fracción V, de la ley General de Salud.

Los suplementos alimenticios no requieren contar con registros sanitarios es decir, no pasan pruebas exhaustivas para demostrar su eficacia, calidad y seguridad antes de ser comercializados. Su vigilancia se realiza cuando ya están en el mercado, por lo que es muy importante que los productores actúen con responsabilidad y cumplan con los requisitos de ingredientes y etiquetado. Los productores de suplementos alimenticios presentan un trámite llamado “aviso de funcionamiento”, por el cual declaran que indican operaciones de un cierto establecimiento donde se producirán determinados productos. (<http://www.cofepris.gob.mx/>).

El marco regulatorio de los suplementos alimenticios se basa en:

1. Ley general de salud

Artículo 200

Artículo 201

Artículo 202

Artículo 212

Artículo 215

Artículo 216

2. Reglamento de control sanitario de productos y servicios

Artículo 168

Artículo 170

Artículo 171

Artículo 172

Artículo 173

Artículo 174

3. Reglamento de la ley general de salud en materia de publicidad

Artículo 21

Artículo 22

Artículo 27

Artículo 79

4. Norma Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009, Practicas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios.
5. Anexo 1: Del acuerdo por el que se dan a conocer los trámites y servicios, así como los formatos que aplica la secretaria de salud, a través de la comisión federal para la protección contra riesgos sanitarios, inscritos en el registro federal de trámites y servicios de la comisión federal de mejora regulatoria (D.O.F. 19 de junio de 2009).
6. Acuerdo por el que se determina los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias (16/07/2010).
7. Acuerdo por el que se determinan las plantas o prohibidas o permitidas para tés, infusiones y aceites vegetales comestibles (15/12/1999).
8. Farmacopea herbolaria. Los establecimientos relacionados con la fabricación, preparación, almacenamiento y venta de productos.

IV. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

Las actuales tendencias de la alimentación humana están dando un giro definitivo hacia el consumo de productos orgánicos naturales y con altos beneficios para la salud (Martínez-Carrera *et al.*, 2012). En México, según las estadísticas del INEGI en mayo 2016, reportó que las tres principales causas de mortalidad son enfermedades al corazón, diabetes y cáncer (www.inegi.org.mx). Con los efectos cancerígenos de muchos químicos y pesticidas empleados en la producción moderna de alimentos, así como el ritmo de vida de la población actual, ha ocasionado efectos negativos en la salud. Como respuesta a ello, existe una tendencia hacia el uso de las propiedades medicinales de algunos remedios tradicionales. En México, se tiene el registro del uso de hongos en la medicina tradicional desde tiempos prehispánicos; sin embargo, el estudio histórico y actual sobre este tema ha sido poco abordado. La mayoría de las investigaciones sobre los hongos comestibles con atributos medicinales son producidas en países asiáticos y europeos. Diversos estudios de *G. lucidum* han demostrado que posee compuestos con propiedades para prevenir y tratar enfermedades. Asimismo, su potencial de comercialización en el campo de los alimentos funcionales puede representar una alternativa de agregación de valor (Pérez-Armendáriz *et al.*, 2010). Por ello, la importancia de realizar investigaciones con los recursos genéticos nativos de México que contribuyan al desarrollo de la producción del hongo medicinal de *G. lucidum*. Martínez-Carrera *et al.* (2014) patentaron un método estandarizado de extracción de compuestos bioactivos utilizando extractos hidroalcohólicos (32% por volumen), el cual ha sido la base de diversas investigaciones sobre las propiedades funcionales y medicinales de diversas especies de hongos, así como pruebas clínicas exploratorias (Pérez-Armendáriz *et al.*, 2010; Martínez-Carrera *et al.*, 2016; Meneses *et al.*, 2016; Peña-Luna *et al.*, 2016). Sin embargo, no se han realizado investigaciones sobre el efecto del método de cultivo, tipo de basidiocarpo, volumen del solvente, tiempo de maceración, la agitación y tipo de filtración del macerado sobre las propiedades funcionales de los extractos de *G. lucidum*. En la presente investigación se estudiaron estos factores para optimizar el método estandarizado de extracción de compuestos bioactivos de hongos comestibles utilizando extractos hidroalcohólicos, determinando la viabilidad financiera y rentabilidad del proceso biotecnológico en su conjunto.

V. HIPÓTESIS

El estudio del efecto de los principales factores físicos, químicos y biológicos que intervienen en el método estandarizado de extracción hidroalcohólica de compuestos bioactivos de *Ganoderma lucidum*, permitirá obtener mayores propiedades funcionales (antioxidantes, antimicrobianas) al menor costo de producción.

VI. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Analizar el efecto de los principales factores físicos (tiempo de maceración, agitación, filtración), químicos (volumen del solvente), y biológicos (método de cultivo, parte del basidiocarpo) sobre la extracción hidroalcohólica estandarizada de compuestos bioactivos de *Ganoderma lucidum*, para obtener mayores propiedades funcionales (antioxidantes, antimicrobianas) al menor costo de producción.

6.2 Objetivos específicos

1. Comparar las propiedades del píleo y de los estípites provenientes de los basidiocarpos cultivados en aserrín de encino y aserrín de encino adicionado con ácido acetilsalicílico (AAS).
2. Evaluar las propiedades funcionales (antioxidantes, antimicrobianas) de los extractos obtenidos en diferentes condiciones experimentales, analizando el efecto de los principales factores físicos (tiempo de maceración, agitación, filtración), químicos (volumen del solvente), y biológicos (método de cultivo, parte del basidiocarpo).
3. Desarrollar una estrategia para producir extractos estandarizados de alto valor agregado, rentable, a partir de los recursos genéticos nativos de hongos comestibles, funcionales y medicinales en México.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de Hongos Comestibles, Funcionales y Medicinales del Colegio de Postgraduados, *Campus Puebla*. Consistió en dos etapas. En la primera etapa se definió el tipo de muestra, el volumen de solvente, y la forma de maceración (Fig. 2).

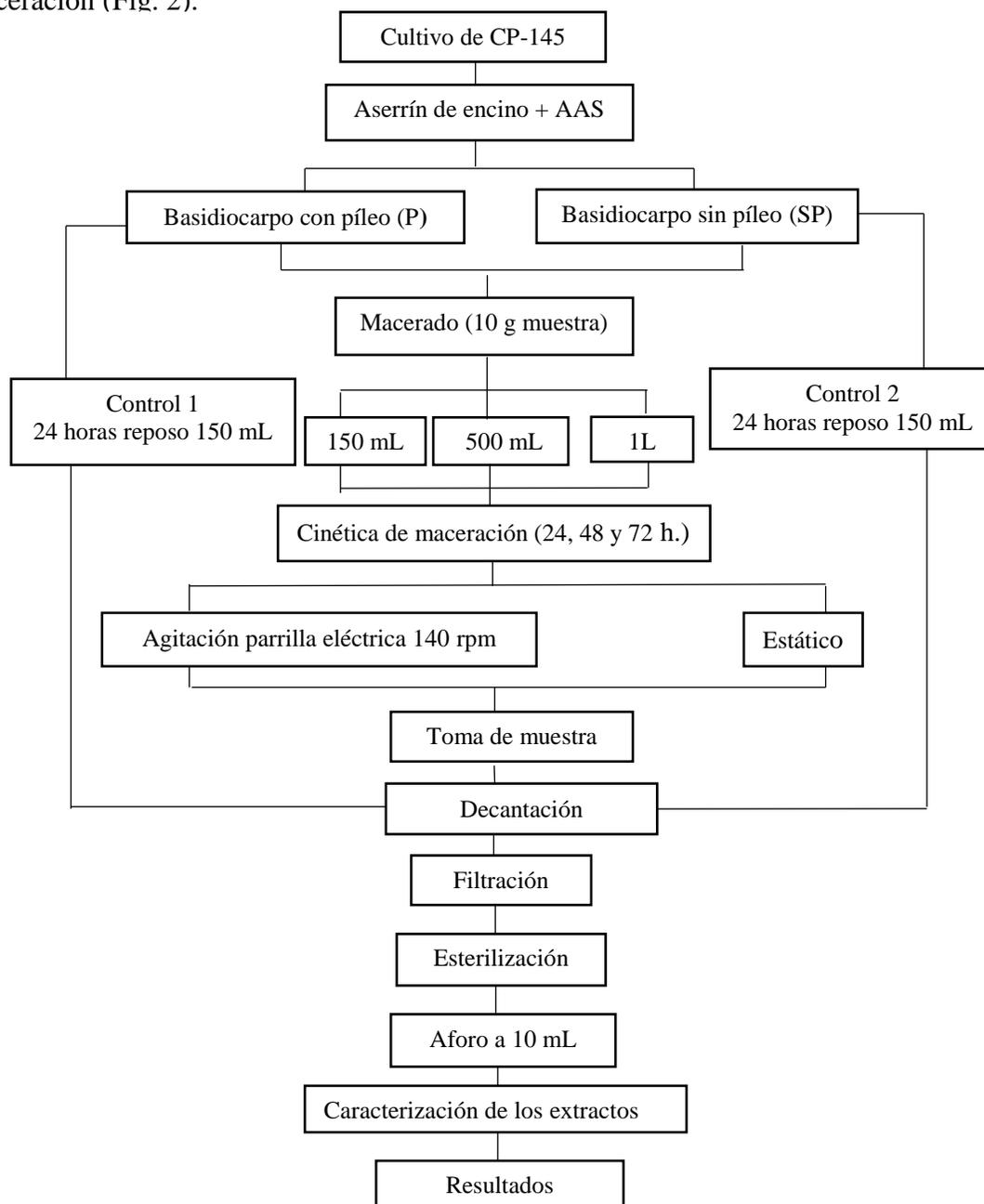


Figura 2. Diagrama de flujo para la extracción de compuestos bioactivos de CP-145 *Ganoderma lucidum* (primera etapa).

En la segunda etapa (Fig. 3) se seleccionaron muestras de *G. lucidum* cultivados sobre aserrín de encino (testigo) y aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM (tratamiento). Se usaron tres tiempos de extracción y dos tipos de filtración. En ambas etapas se consideraron muestras control basadas en los resultados de Escudero (2015), empleando al hongo *Lentinula edodes*.

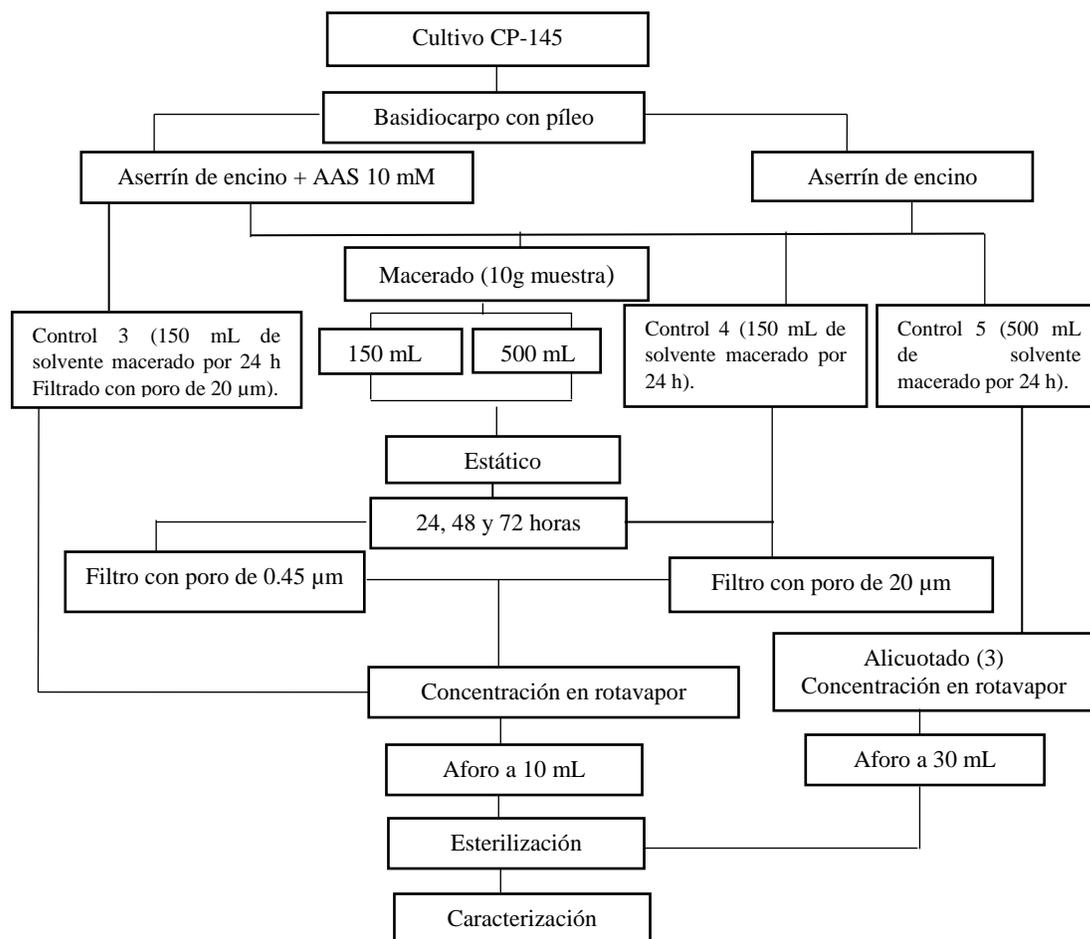


Figura 3. Diagrama de flujo para la extracción de compuestos bioactivos de CP-145 *G. lucidum* (segunda etapa).

7.1 Condiciones de obtención de los compuestos bioactivos

7.1.1 Cultivo de la CP-145 de *G. lucidum* en sustratos sólidos suplementados

La cepa CP-145 de *G. lucidum* se cultivó sobre aserrín de encino (testigo) y aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM (tratamiento). Los basidiocarpos se separan en dos muestras determinadas por su pñleo (P) y sin pñleo o estípite (SP).

7.1.2 Preparación de las muestras de basidiocarpos deshidratados

Una vez seleccionadas las muestras se procedió al molido. Se colocaron 10 g en un vaso de licuadora (marca *Osterizer*) con 2 pulsos de 10 s cada uno para evitar el calentamiento de la muestra y obtener un tamaño de partícula lo más fina posible. Una vez molido, se colocó la muestra molida (10 g) en sobres de papel filtro de poro medio de 6.5 cm x 9.0 cm los cuales fueron cosidos con hilo blanco (marca Seralón) como se muestra en la figura 4.



Figura 4. Proceso de molido de *Ganoderma lucidum* (CP-145).

7.1.3 Condiciones experimentales para la obtención de compuestos bioactivos por maceración

Volumen de solvente: Para obtener los extractos por maceración se usaron frascos de vidrio con boca ancha y tapón de rosca de tres tamaños diferentes. Se usó un solvente hidroalcohólico al 32% v/v. Se usaron tres volúmenes de solvente 150 mL, 500 mL y 1000 mL (Fig. 5).



Figura 5. Macerados en frascos con diferente volumen de solvente + sobre de papel filtro con 10 g de *Ganoderma lucidum*. A) Frascos con 150 mL, B) Frasco con 500 mL, C) Frasco con 1L de solvente hidroalcohólico al 32%.

Temperatura: Las muestras se conservaron a temperatura ambiente y en oscuridad.

Agitación y reposo: La maceración se llevó a cabo en dos condiciones para cada muestra.

1) En agitación utilizando una parrilla eléctrica (Cimarec, Thermo Fisher Scientific U.S.A) a 140 rpm para mantener el macerado en movimiento.

2) En estado estático o reposo, las cuales se agitaron cada 24 horas.

Tiempos: Los macerados se obtuvieron después de 24, 48 y 72 horas.

Toma de muestras de la cinética:

a) Macerados se tomaron 3 mL de cada macerado a las 24, 48 y 72 horas y se colocaron en tubos estériles Falcón y se almacenaron a 4 °C hasta su uso.

En la segunda etapa el tiempo de maceración fue de 24, 48 y 72 horas a partir de las cuales se llevó a cabo la extracción, tomando 3 mL de cada macerado antes de concentrar en el rotavapor para su caracterización.

a) Extractos se tomaron 3 mL de cada extracto y se colocaron en tubos estériles Falcón y se almacenaron a 4 °C hasta su uso.

Decantación: Al término del tiempo de maceración se vertió la fase líquida en un vaso de precipitado, la muestra se presionó manualmente y después con una prensa hidráulica a 2.6 toneladas de presión (nanómetro 300 Kg/cm²) como se muestra en la figura 6.

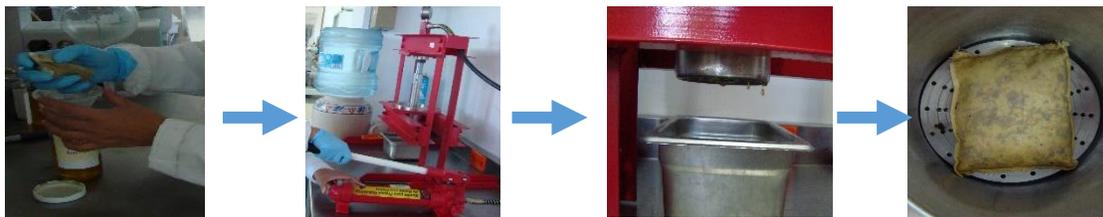


Figura 6. Proceso de prensado de la muestra de *Ganoderma lucidum* (CP-145) en el sobre de papel filtro.

Filtración de los macerados: En la primera etapa se llevó a cabo la filtración del macerado antes de concentrar en el rotavapor con papel filtro de poro de 20 µm (poro convencional) mientras que en la segunda etapa se filtró en 2 condiciones por papel filtro de poro de 20 µm y en condiciones de esterilidad por sistema Sterilfil (Merck Millipore) con membrana de filtración de 0.45 µm como se muestra en la figura 7.



Figura 7. Métodos para la filtración del macerado de *Ganoderma lucidum* (CP-145). A) Filtrado por papel filtro poro de 20 µm. B) Filtrado por papel filtro poro de 0.45 µm.

7.1.4 Concentración de los macerados (obtención del extracto)

Concentración de los macerados: Los macerado se concentraron en un rotavapor (Hahn Shin Scientific) a 38 °C y 90 rpm (Fig.8) hasta obtener un volumen final de 7 mL del concentrado, para ambas etapas de extracción de compuestos bioactivos. Posteriormente se recuperó el extracto con una pipeta Pasteur utilizando el mismo solvente hidroalcohólico al 32% para lavar el matraz en el cual se concentró el macerado.



Figura 8. Concentración del macerado de *Ganoderma lucidum* (CP-145) en rotavapor.

Esterilización del extracto: En la primera etapa el concentrado obtenido de 7 mL se esterilizó por sistema Sterilfil (Merck-Millipore) con membrana de filtro de 0.45 µm y posteriormente se aforo a 10 mL con el mismo solvente hidroalcohólico al (32% por volumen) en un matraz aforado, mientras que en la segunda etapa se llevó acabo primero la aforación del concentrado a 10 mL con el mismo solvente hidroalcohólico al (32% por volumen), para después esterilizar por sistema Sterifil en la figura 9 se muestra el matraz de aforación y la esterilización del extracto. Una vez esterilizado cada extracto se guardaron en tubos Falcón estériles de 15 mL y se conservaron refrigeración a 4 °C para su posterior caracterización.

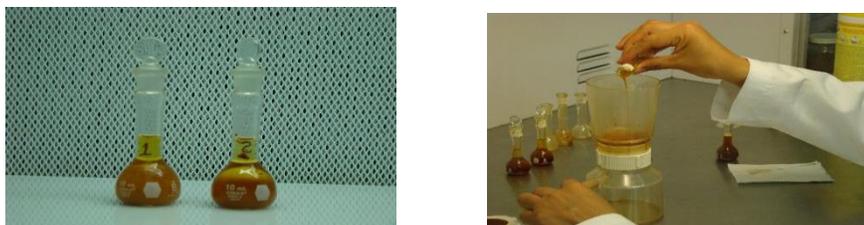


Figura 9. A) Extracto de *Ganoderma lucidum* (CP-145) aforado a 10 mL con solvente hidroalcohólico al 32% B) Esterilización del extracto de *Ganoderma lucidum* (CP-145) por el sistema Sterifil.

A cada muestra de macerado y extracto se le asignó una clave (Cuadro 4) para su identificación considerando todas las variables: variables biológicas [cultivo del hongo en aserrín de encino (AE) y AE suplementado con ácido acetilsalicílico (AAS) 10 mM; sección del basidiocarpo analizado (píleo o estípite)], variables químicas (volumen de solvente), y las variables físicas (tiempo de maceración, reposo o agitación del macerado; tamaño del poro de filtración, 20 μm o 0.45 μm). A los macerados obtenidos en la primera etapa a las 24 h y 48 h, no se obtuvo un extracto, por lo que solo se analizó el macerado. Estos macerados se denominaron sin extracto (SE), tal como puede verse en el cuadro 4.

Cuadro 4. Relación de los macerados y extractos de *Ganoderma lucidum* (CP-145) analizados considerando los factores biológicos, químicos y físicos con sus respectivas claves.

Biológicos		Químicos y físicos				Clave de maceración	Clave de extracción
Cultivo	Muestra	Maceración					
		Solvente (mL)	Condición	Tiempo (horas)	Tamaño del poro del papel filtro (µm)		
AE + AAS 10 mM	Píleo	150	Agitación	24	20	M1	SE
	Estípíte	150	Agitación	24	20	M2	SE
	Píleo	500	Agitación	24	20	M3	SE
	Estípíte	500	Agitación	24	20	M4	SE
	Píleo	1000	Agitación	24	20	M5	SE
	Estípíte	1000	Agitación	24	20	M6	SE
	Píleo	150	Reposo	24	20	M7	SE
	Estípíte	150	Reposo	24	20	M8	SE
	Píleo	500	Reposo	24	20	M9	SE
	Estípíte	500	Reposo	24	20	M10	SE
	Píleo	1000	Reposo	24	20	M11	SE
	Estípíte	1000	Reposo	24	20	M12	SE
AE + AAS 10 mM	Píleo	150	Agitación	48	20	M13	SE
	Estípíte	150	Agitación	48	20	M14	SE
	Píleo	500	Agitación	48	20	M15	SE
	Estípíte	500	Agitación	48	20	M16	SE
	Píleo	1000	Agitación	48	20	M17	SE
	Estípíte	1000	Agitación	48	20	M18	SE
	Píleo	150	Reposo	48	20	M19	SE
	Estípíte	150	Reposo	48	20	M20	SE
	Píleo	500	Reposo	48	20	M21	SE
	Estípíte	500	Reposo	48	20	M22	SE
	Píleo	1000	Reposo	48	20	M23	SE
	Estípíte	1000	Reposo	48	20	M24	SE
AE + AAS 10 mM	Píleo	150	Agitación	72	20	M25	E25
	Estípíte	150	Agitación	72	20	M26	E26
	Píleo	500	Agitación	72	20	M27	E27
	Estípíte	500	Agitación	72	20	M28	E28
	Píleo	1000	Agitación	72	20	M29	E29
	Estípíte	1000	Agitación	72	20	M30	E30

AE + AAS 10 mM	Píleo	150	Reposo	72	20	M31	E31
	Estípite	150	Reposo	72	20	M32	E32
	Píleo	500	Reposo	72	20	M33	E33
	Estípite	500	Reposo	72	20	M34	E34
	Píleo	1000	Reposo	72	20	M35	E35
	Estípite	1000	Reposo	72	20	M36	E36
AE + AAS 10 mM	Píleo	500	Reposo	24	20	M37	E37
		500	Reposo	24	0.45	M38	E38
AE	Píleo	500	Reposo	24	20	M39	E39
		500	Reposo	24	0.45	M40	E40
AE + AAS 10 mM	Píleo	150	Reposo	24	20	M41	E41
		150	Reposo	24	0.45	M42	E42
AE	Píleo	150	Reposo	24	20	M43	E43
		150	Reposo	24	0.45	M44	E44
AE + AAS 10 mM	Píleo	500	Reposo	48	20	M45	E45
		500	Reposo	48	0.45	M46	E46
AE	Píleo	500	Reposo	48	20	M47	E47
		500	Reposo	48	0.45	M48	E48
AE + AAS 10 mM	Píleo	150	Reposo	48	20	M49	E49
		150	Reposo	48	0.45	M50	E50
AE	Píleo	150	Reposo	48	20	M51	E51
		150	Reposo	48	0.45	M52	E52
AE + AAS 10 mM	Píleo	500	Reposo	72	20	M53	E53
		500	Reposo	72	0.45	M54	E54
AE	Píleo	500	Reposo	72	20	M55	E55
		500	Reposo	72	0.45	M56	E56
AE + AAS 10 mM	Píleo	150	Reposo	72	20	M57	E57
		150	Reposo	72	0.45	M58	E58
AE	Píleo	150	Reposo	72	20	M59	E59
		150	Reposo	72	0.45	M60	E60
AE	Píleo	500	Reposo	24	20	M61	E61
AE	Estípite	150	Reposo	24	0.45	M62	E62
AAS	Píleo	150	Reposo	24	20	M63	E63
AAS	Estípite	150	Reposo	24	0.45	M64	E64

AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. M= Macerado. E= Extracto. SE= Sin extracto.

7.2 Caracterización de las muestras líquidas

7.2.1 pH, conductividad y resistividad

Se llevó a cabo la medición de pH, conductividad y resistividad, con un potenciómetro (Mettler Toledo E.U.A) como se muestra en la figura 10, se realizaron 3 réplicas de 2 mL de los macerados antes de la concentración en rotavapor, de los extractos y la solución exploratoria. De cada muestra se tomó 1 mL con la ayuda de una pipeta y se colocó en una probeta de 10 mL.



Figura 10. Potenciómetro utilizado para la medición de pH, conductividad y resistividad.

7.2.2 Grados Brix

Con una micropipeta de 1 mL (Thermo Scientific, Finnpiquette) se tomaron réplicas (n=3) de 300 μ l de cada macerado antes de concentrar en el rotavapor, de cada extracto y de la solución exploratoria. Cada muestra se colocó en el lector del refractómetro (PAL-1 ATAGO), como se observa en la figura 11, previamente se calibró con agua destilada.



Figura 11. Refractómetro para medir grados Brix de las muestras de *Ganoderma lucidum* (CP-145).

7.2.3 Rendimiento por gravimetría (mg/mL)

De los macerados antes de concentrar en rotavapor y los extractos obtenidos, con ayuda de una micropipeta de 1 mL (marca Thermo Scientific, Finnpiquette) se hicieron 5 réplicas de cada muestra de 0.2 mL en cajas de Petri previamente pesadas y se colocaron en un horno de

secado (Lab-line, U.S.A.) a 40 °C por 24 horas hasta la evaporación del solvente y peso constante. Posteriormente, se realizaron las operaciones para calcular el rendimiento en mg/mL de cada muestra.

7.2.4 Espectro de absorción de los barridos (extractos y soluciones exploratorias)

De cada muestra se tomaron 100 µL con una micropipeta (Thermo Scientific, Finnpiptett) y se colocaron en un pozo de una microplaca transparente de 96 pozos y se leyó en un espectrofotómetro de microplacas (EPOCH, Biotek) a longitudes de onda de 200 a 1000 nm.

7.3 Preparación de las soluciones exploratorias

A partir de los rendimientos obtenidos de cada extracto en la segunda etapa se obtuvieron dos soluciones exploratorias con una concentración de 20 mg/mL y 10 mg/mL. Se usó el mismo solvente hidroalcohólico al 32% (v/v) para diluir. Estas soluciones también se caracterizaron fisicoquímicamente como se describió anteriormente.

7.4 Propiedades funcionales de los extractos y soluciones exploratorias

7.4.1 Polifenoles totales

Para la cuantificación de los polifenoles totales en los extractos se usó el método colorimétrico-espectrofotométrico de Folin-Ciocalteau (Müller *et al.*, 2010). Para la determinación de Polifenoles totales se prepararon las siguientes soluciones:

Solución saturada de carbonato de sodio (Sigma, Aldrich). Se disolvieron 7.5 g de carbonato de sodio en 100 mL de agua destilada. Para inducir a la precipitación se agregaron 0.3 g de carbonato de sodio y se colocó en refrigeración durante una hora.

Folin-Ciocalteau. En un matraz volumétrico de 10 mL se puso 1 mL del reactivo Folin-Ciocalteau (Sigma, Aldrich) y se aforó con agua.

Solución stock de ácido gálico (Sigma, Aldrich) a 1000 ppm. Se pesaron 0.010050 g de ácido gálico y se disolvió en 0.5 mL de etanol para ayudar a su disolución, se aforó a 10 mL con agua destilada.

Curva de calibración. En matraces aforados de 10 mL y envueltos con papel aluminio para evitar la luz, se pusieron 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 mL de la solución stock de ácido gálico

(Meyer) y se aforaron con agua destilada. Dichas soluciones tuvieron una concentración de 0, 25, 50, 100, 150 y 200 ppm, respectivamente.

Técnica: En una microplaca de 96 pozos se tomaron 5 réplicas de 20 μL de cada muestra, solo en el caso de los extractos debido a la intensidad de su color se tuvo que hacer diluciones 1/10 para evitar que los valores de la absorbancia fueran mayores a 1.5. Posteriormente, se agregaron 100 μL de reactivo de Folin-Ciocalteu, 75 μL de solución saturada de carbonato de sodio. La placa se incubó a temperatura ambiente y en oscuridad por 2 horas. Al término del tiempo de incubación, se leyó la placa en un espectrofotómetro de microplacas (EPOCH, Biotek) a una longitud de onda de 740 nm. La secuencia para el método de Folin se muestra en la figura 12.

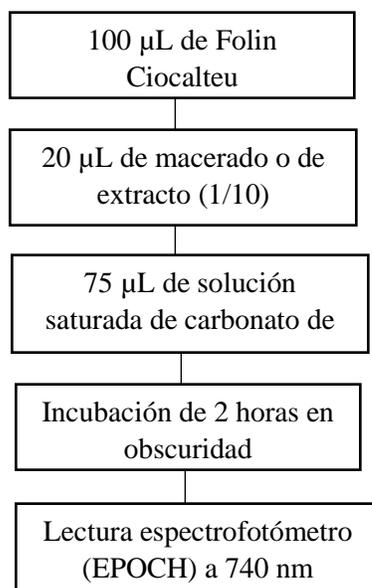


Figura 12. Metodología para la determinación de polifenoles totales en microplaca.

La ecuación para el cálculo de polifenoles totales como equivalentes de ácido gálico se determinó en el programa de cómputo Excel, en base a los datos graficados de la curva de calibración. Con los valores de la solución estándar de ácido gálico se construyó una línea de tendencia, la ecuación de la recta y el valor de R^2 . Los valores de la ecuación ($y = mx + b$) se utilizaron para determinar la concentración del ácido gálico presente en los extractos.

7.4.2 Cuantificación de la actividad antioxidante por DPPH

Preparación de la muestra

A partir de los extractos se prepararon las soluciones stock, en el programa Excel “Diluciones”, donde se determinaron las respectivas alícuotas, necesarias para preparar concentraciones de 1000, 500, 250, 100, 50, 10 y 0 µg/mL de los extractos.

Preparación de los estándares. A partir de una solución stock de cada estándar en el programa Excel archivo “DPPH Original” se hicieron diluciones para determinar las curvas de concentración siendo las mostradas en el cuadro 5.

Cuadro 5. Concentración de la muestra y estándar para la determinación de la actividad antioxidante.

Muestra (µg/mL)	BHT (µg/mL)
0	0
10	0.25
50	0.5
100	0.75
250	1
500	5
1000	10
2000	25

BHT= Butilhidroxitolueno.

Preparación de la solución de DPPH: La solución del radical libre 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH) (0.4 mM) en metanol grado analítico se preparó en un matraz completamente cubierto con papel aluminio. El volumen a preparar depende de la cantidad de muestras a evaluar (4 mL por microplaca de 96 pozos). Se preparó 10 mL a una concentración 0.4 mM de 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH).

Preparación de la microplaca: Se hicieron 5 réplicas por columnas; y se pusieron 160 µL de cada macerado y los extractos estériles, en sus diferentes concentraciones. Posteriormente, se adicionaron 40 µL de la solución de DPPH (0.4mM). Las placas se incubaron en obscuridad por 30 minutos; posteriormente, se leyó en el espectrofotómetro (Epoch, Biotek) a la longitud de onda de 517nm.

Cálculos: a partir de las absorbancias obtenidas se determinó el porcentaje de actividad antioxidante con la ecuación que se presenta en la siguiente ecuación (Murillo *et al.*, 2007).

$$\text{Actividad Antioxidante (\%)} = \frac{A \text{ control (-)} - A \text{ extracto}}{A \text{ control}} \times 100$$

A control (-): Absorbancia del DPPH (solo) al tiempo 0.

A extracto: Absorbancia de los extractos.

7.5 Análisis estadístico (SAS)

Todos los experimentos se analizaron mediante un diseño experimental completamente al azar y se evaluaron mediante un análisis de varianza (ANOVA), se les aplicó la prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$), y se realizó un análisis de componentes principales en el programa SAS 9.4.

7.6 Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por el método de microdilución para la solución exploratoria

A partir de las soluciones exploratorias de 20 mg/mL con 10 g de muestra, y dos volúmenes de solvente 150 y 500 mL, macerados por 24 horas, y la solución exploratoria del extracto E61 (alícuotado para su concentración) se realizó la prueba de susceptibilidad antimicrobiana.

7.6.1 Obtención del inóculo bacteriano

Se utilizó un cultivo previamente crecido de 24 horas a 35 °C de la cepa de *Escherichia coli* (CPB-8), del cual se tomó una asada para inocular un matraz Erlenmeyer con 20 mL de cultivo líquido estéril de Muller Hinton, el matraz fue incubado por 24 horas a 120 rpm a 35 °C en una incubadora orbital (Thermo Scientific, modelo MAXQ 4000). Transcurrido el tiempo de incubación se tomaron 100 µl (n=3) con una micropipeta (Finnpipette) y se colocaron en una microplaca para leerla en el espectrofotómetro (Epoch, BIOTEX) a una longitud de onda de 600 nm, una vez obtenidas las lecturas se procesaron en el programa Excel, lo que permitió conocer que volumen de cultivo era necesario para diluirlo en otro matraz con 20 mL de cultivo estéril y obtener una concentración de 1×10^8 UFC/mL. Para la confirmación de esta concentración se determinó en el programa Excel el volumen de cultivo para inocular en otro matraz con medio de cultivo estéril y obtener una concentración de 1×10^4 UFC/mL (Fig. 13) del cual se tomaron 3 réplicas de 4 µl y se sembraron en cajas

de Petri con medio de cultivo agar Muller Hinton para confirmar con una población de 50 unidades formadoras de colonias (UFC).



Figura 13. Ajuste de la cantidad de las bacterias a una concentración de 1×10^8 UFC/mL para el diseño experimental y, de 1×10^4 UFC/mL para verificar el inóculo con 50 Unidades Formadoras de Colonias (UFC).

7.6.2 Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Posteriormente se procedió al llenado de la microplaca de 96 pozos (Corning) siguiendo el orden que se muestra en el cuadro 6, se establecieron controles positivos para la bacteria y controles negativos para el solvente, el medio de cultivo líquido Muller Hinton y el extracto.

Cuadro 6. Distribución de las muestras en la microplaca.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
D1	A	C (+)	C (+)	C (+)	C (+)	E	E	E	E	B (-)	B (-)	B (-)	PE
D 2	B	C (+)	C (+)	C (+)	C (+)	E	E	E	E	B (-)	B (-)	B (-)	PE
D 3	C	C (+)	C (+)	C (+)	C (+)	E	E	E	E	B (-)	B (-)	B (-)	PE
D 4	D	C (+)	C (+)	C (+)	C (+)	E	E	E	E	B (-)	B (-)	B (-)	PE
D 5	E	C (+)	C (+)	C (+)	C (+)	E	E	E	E	B (-)	B (-)	B (-)	PE
D 6	F	C (+)	C (+)	C (+)	C (+)	E	E	E	E	B (-)	B (-)	B (-)	PE
D 7	G	C (+)	C (+)	C (+)	C (+)	E	E	C (-)					
	H	B (+)	B (+)	B (+)	B (+)	B(+)	B(+)	C(-)	C(-)	C (-)	C (-)	C (-)	C(-)

D= Dilución. C = Control. B = Blanco. E = Experimento. PE= Prueba de esterilidad.

Al término del llenado la microplaca (Corning) se acondiciono en un recipiente de plástico hermético para evitar que las muestras se evaporaran durante la incubación por lo que uso agua destilada estéril para mantener humedad dentro del recipiente simulando una cámara húmeda, la microplaca se incubo por 24 horas a 35 °C en una incubadora (Biometra, modelo OV5). Transcurrido el tiempo de incubación se procedió a la lectura de la

microplaca en el espectrofotómetro (Epoch, BIOTEK Instruments) a una longitud de onda de 600 nm. Las lecturas obtenidas fueron procesadas en el programa Excel para determinar si el extracto tiene efecto antimicrobiano sobre la bacteria en sus diferentes diluciones con sus diferentes concentraciones (Cuadro 7).

Cuadro 7. Concentración del extracto de *Ganoderma lucidum* CP-145 en las microdiluciones.

Dilución	Concentración mg/mL
1	20
2	10
3	5
4	2.5
5	1.25
6	0.625
7	0.312

7.6.3 Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Después de leer en el espectrofotómetro la placa de la prueba de susceptibilidad bacteriana (24 horas de incubación) y para comprobar la concentración mínima inhibitoria se realizó una resiembra (n=3) de 2 µl en medio sólido Muller Hinton de cada dilución del extracto con la bacteria como se muestra en la Figura 14, la placa se incubo por 24 h a 35 °C, para determinar el efecto de crecimiento del extracto sobre la bacteria y de esta forma conocer la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima bactericida (CMB).

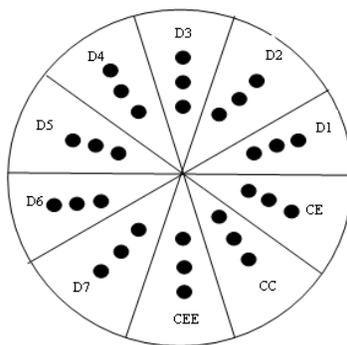


Figura 14. Modo de inoculación de la caja de Petri con agar Mueller Hinton para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) de los extractos de *Ganoderma lucidum*, sembrado con la cepa bacteriana *Escherichia coli* (CPB-8). C.E.= Control de esterilidad del medio de cultivo. C.C.= Control de crecimiento bacteriano CPB-8 (Blanco positivo de la bacteria). CEE= Control de esterilidad del extracto. D= Dilución.

7.7 Propuesta de un proyecto de producción de extractos estandarizados de hongos medicinales

A continuación se describen las áreas necesarias para llevar a cabo la elaboración de extractos:

Unidad de producción de hongos de *G. lucidum*: En esta área se lleva a cabo la siembra de las unidades de producción (UP), se prepara el sustrato, se esteriliza, inocula, se incuban, se cosecha y deshidrata el hongo.

Área de almacenamiento de los basidiocarpos: En esta área se debe tener un congelador de -80 °C para almacenar los basidiocarpos.

Área de procesamiento de la muestra: Esta área cuenta con una balanza analítica (Ohaus, U.S.A.) y una licuadora (*Osterizer*), donde se lleva a cabo el molido del hongo para obtener un tamaño de partícula lo más fina posible.

Área de maceración y extracción de compuestos bioactivos: El área de maceración se encuentra en obscuridad y a temperatura ambiente. Mientras que en el área de extracción se encuentran dos rotavapores (Hahn Shin Scientific) con sistema de enfriamiento y una bomba de vacío, también se cuenta con un área de prensado para los sobres de papel filtro y un área de esterilidad para la cámara de flujo en donde se obtiene el extracto estéril.

Acondicionamiento del extracto: En el área de acondicionamiento se llevará a cabo el almacenamiento del producto en el envase primario que consta de frascos de 50 mL con gotero y etiquetado, este envase será colocado en una caja (envase secundario) para su protección y comercialización.

Materiales y equipo: La información financiera se basa en los datos obtenidos en el módulo de la Unidad de Recursos Genéticos de Hongos Comestibles, Funcionales y Medicinales (UREGENHCFyM) del Colegio de Postgraduados, *Campus Puebla*. En donde se elaboran 20 unidades de producción (UP) de 3 kg de peso fresco por día, con un contenido de humedad del 70%. Se consideró el cultivo de *Ganoderma lucidum* para conocer el costo por UP y por día (Cuadro 8).

Cuadro 8. Costos de producción de *Ganoderma lucidum* por unidad de producción (UP) y por día.

Concepto	Cantidad	Unidad de medida	Costo por UP cultivada en AE (US\$)	Costo por UP cultivada AE suplementado con AAS (US\$)	Costo por 20 UP en AE (US\$)	Costo por 20 UP en AE + AAS (US\$)
Aserrín de encino	1.25	Kg	0.16	0.16	3.21	3.21
Bolsa con filtro	1	Pieza	0.29	0.29	5.88	5.88
Semilla	200	g	0.32	0.32	6.42	6.42
Gas	1	L	0.14	0.14	2.81	2.81
Agua	1.75	L	0.09	0.09	1.87	1.87
Sueldo			1.47	1.47	29.41	29.41
Energía eléctrica	100	W	0.01	0.01	0.21	0.21
Depreciación del equipo			0.42	0.42	8.56	8.56
AAS 10 mM	1.2	L	0	0.43	0	8.75
Total			2.93	3.35	58.66	67.12

AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. 1 US= 18.70 pesos M.N.

Los costos de materiales y equipamiento se basaron en el utilizado en Laboratorio de Biotecnología de Hongos Comestibles, Funcionales y Medicinales del Colegio de Postgraduados, *Campus* Puebla y adquiridos en el año 2013, a un tipo de cambio actual de \$18.70 por dólar del día 10 de agosto 2016 (Cuadro 9).

Cuadro 9. Equipos para la obtención del extracto de *Ganoderma lucidum*.

Equipo	Cantidad	Valor unitario (USD)	Valor (US\$)
Rotavapor	2	2,139.03	4,278.07
Sistema de enfriamiento	1	614.97	614.97
Prensa	1	1336.89	1336.89
Campana de flujo	1	1,604.27	1604.27
Autoclave	1	320.85	320.85
Balanza	1	53.47	53.47
Licuada	1	26.73	26.73
Bomba de vacío	1	2139.03	2139.03
Trampa de vacío	1	80.21	80.21
Filtro de vacío (Sterifil)	1	53.47	53.47
		Total	10,507.96

1 US= 18.70 pesos M.N.

Depreciación: Los equipos a depreciar son maquinaria y equipo esta se hace a 5 años, considerando un valor de rescate del 20 % de acuerdo al Diario Oficial de la Federación (DOF), publicado el 27 de diciembre del 2010 (Cuadro 10).

Cuadro 10. Depreciación del equipo para la producción de extractos de *Ganoderma lucidum* (CP-145).

Valor	Costo (US\$) inicial	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5
Activos	10,507.96					
Depreciación		1,681.28	1,681.28	1,681.28	1,681.28	1,681.28

Recursos humanos (salarios): El número de personas necesarias para la producción de basidiocarpos y del extracto, se muestra en la cuadro 11. Se generan dos empleos con un monto total de (US\$) 1,176.47 por mes.

Cuadro 11. Número de empleos generados, incluidos los salarios, para la producción de extractos de *Ganoderma lucidum* mensualmente.

Cultivo	Producción de extractos	Salarios (US\$)
1	1	1,176.47

AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. 1 US= 18.70 pesos M.N.

A continuación se muestra la línea de producción (Fig. 15) de los extractos de *Ganoderma lucidum* donde se incluyen los insumos y los trabajadores para cada etapa.

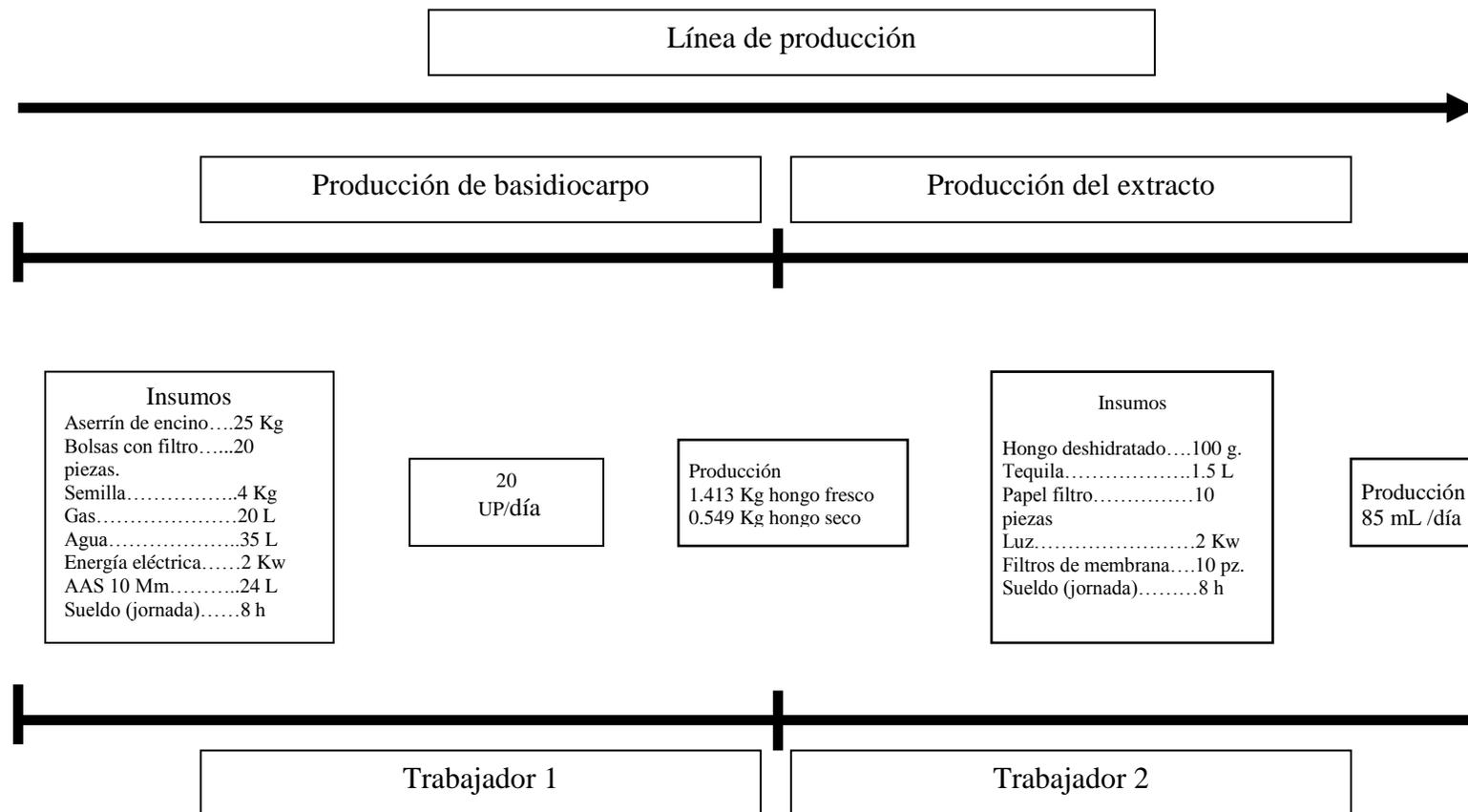


Figura 15. Propuesta de línea de producción de compuestos bioactivos de *Ganoderma lucidum* (CP-145).

Análisis económico y financiero de los extractos: A partir del rendimiento se hizo un análisis de viabilidad financiera utilizando como indicadores valor actual neto (VAN), tasa interna de retorno (TIR) y relación beneficio costo B/C). El presente estudio está basado en extractos obtenidos a nivel de laboratorio, se incluyen costos de equipo, materia prima, mano de obra, luz y gas, los costos de infraestructura y costos indirectos no fueron considerados. Se tomaron en cuenta los precios de extractos de *G. lucidum* que ya se encuentran en el mercado para el cálculo de los indicadores. En la cuadro 12 se muestran los costos de producción de los extractos, considerando el equipo necesario y la mano de obra.

Cuadro 12. Costo para producir 8.5 mL de extracto de *Ganoderma lucidum* (CP-145).

Concepto	Costo extracto AE (US\$)	Costo extracto AE+ AAS (US\$)
Basidiocarpos deshidratados	1.01	1.28
Tequila blanco	0.96	0.96
Papel filtro poro medio	0.05	0.05
Luz rotavapor	0.12	0.12
Filtros de membrana	3.21	3.21
Sueldo	2.94	2.94
Inversión de Equipo	0.58	0.58
Total	8.95	9.22

1 US= 18.70 M.N. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico.

VIII. RESULTADOS

8.1 Caracterización de las muestras líquidas

8.1.1 Macerados

Los macerados dependiendo del tiempo de maceración mostraron diferente color en agitación y reposo en la figura 16 se muestran los macerados de basidiocarpo con estípite a las 24, 48 y 72 horas de maceración.

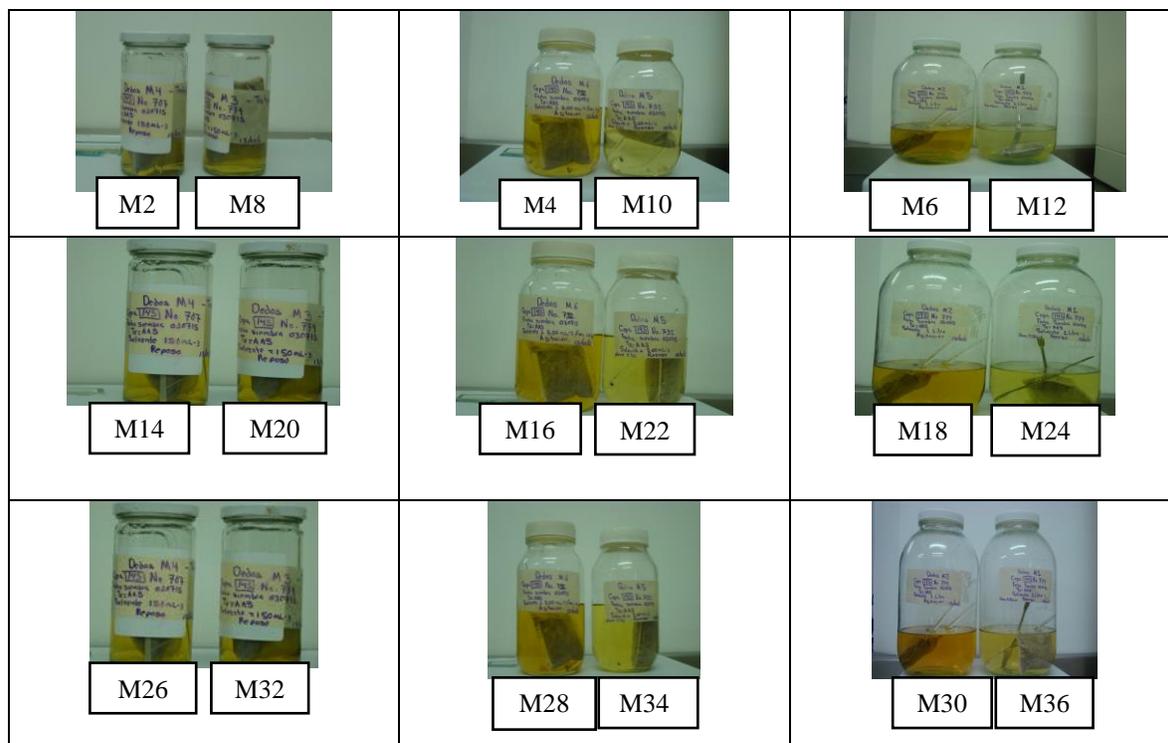


Figura 16. Macerados de *Ganoderma lucidum* (CP-145) obtenidos en la primera etapa a las 24, 48 y 72 horas de maceración, cultivado en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico 10 mM. M2= Macerado de 10 g de estípite + 150 mL de solvente a las 24 horas en agitación. M8= Macerado de 10 g de estípite + 150 mL de solvente a las 24 horas en reposo. M4= Macerado de 10 g de estípite + 500 mL de solvente en agitación a las 24 horas. M10= Macerado de 10 g de estípite + 500 mL de solvente en reposo a las 24 horas. M6= Macerado de 10 g de estípite + 1000 mL de solvente en agitación a las 24 horas. M12= Macerado de 10 g de estípite + 1000 mL de solvente en reposo a las 24 horas. M14= Macerado de 10 g de estípite + 150 mL de solvente en agitación a las 48 horas. M20= Macerado de 10 g de estípite + 150 mL de solvente en reposo a las 48 horas. M16 = Macerado de 10 g de estípite + 500 mL de solvente en agitación a las 48 horas. M22= Macerado de 10 g de estípite + 500 mL de solvente en reposo a las 48 horas. M18= Macerado de 10 g de estípite + 1000 mL de solvente en agitación a las 48 horas. M24= Macerado de 10 g de estípite + 1000 mL de solvente en reposo a las 48 horas. M26= Macerado de 10 g de estípite + 150 mL de solvente en agitación a las 72 horas. M32= Macerado de 10 g de estípite + 150 mL de solvente en reposo a las 72 horas. M28= Macerado de 10 g de estípite + 500 mL de solvente en agitación a las 72 horas. M34= Macerado de 10 g de estípite + 500 mL de solvente en reposo a las 72 horas. M30= Macerado de 10 g de estípite + 1000 mL de solvente en agitación a las 72 horas. M36= Macerado de 10 g de estípite + 1000 mL de solvente en reposo a las 72 horas.

El tiempo de concentración de los macerados en el rotavapor dependió del volumen de solvente a concentrar: los macerados de 150 mL de solvente hidroalcohólico se concentraron en 50 minutos para obtener un volumen final de 7 mL, mientras que los macerados de 500 mL de solvente hidroalcohólico tuvieron un tiempo de concentración de 4 horas y los macerados de 1000 mL de solvente hidroalcohólico la concentración se llevó a cabo en 8 horas. Debido a que el tiempo de concentración es largo para los macerados de 500 mL se tomó un control en la segunda etapa el cual fue alicuotado en 3 partes para su concentración y así tener un tiempo de 50 minutos para cada alícuota.

El cuadro 13 muestra los valores de pH de la primera etapa a las 24 horas de maceración de *G. lucidum* en cada condición. Se realizó la prueba de separación de medias de Duncan con un $\alpha= 0.05$ para ver las diferencias entre los macerados. Se puede observar que el macerado con clave M2 (10g de estípite + 150 mL de solvente) en agitación es el valor más bajo de pH= 4.88 ± 0.006 y el valor más alto corresponde al macerado con clave M3 (10 g de píleo + 500 mL de solvente) en agitación con un valor de pH= 5.51 ± 0.02 .

Cuadro 13. pH de los macerados de *Ganoderma lucidum* (CP-145) a las 24 horas de maceración en la primera etapa.

Cultivo	Muestra	Volumen de solvente (mL)	Condición	Clave	pH
AE + AAS 10 mM	Píleo	150	Agitación	M1	5.09 ± 0.003^h
	Estípite	150	Agitación	M2	4.88 ± 0.006^i
	Píleo	500	Agitación	M3	5.51 ± 0.02^a
	Estípite	500	Agitación	M4	5.47 ± 0.008^{bc}
	Píleo	1000	Agitación	M5	5.30 ± 0.003^e
	Estípite	1000	Agitación	M6	5.49 ± 0.004^{ba}
	Píleo	150	Reposo	M7	5.35 ± 0.003^d
	Estípite	150	Reposo	M8	5.44 ± 0.001^c
	Píleo	500	Reposo	M9	5.44 ± 0.01^c
	Estípite	500	Reposo	M10	5.23 ± 0.0008^f
	Píleo	1000	Reposo	M11	5.12 ± 0.01^g
	Estípite	1000	Reposo	M12	5.35 ± 0.01^d

*Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha= 0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. M= Macerado.

En el cuadro 14 se muestran los valores de pH de la primera etapa a las 48 horas de maceración de *G. lucidum*. Donde la prueba de separación de medias de Duncan con un $\alpha= 0.05$ mostró diferencia entre los macerados, siendo el M16 (10 g de estípite + 500 mL de solvente) en agitación con un pH= 5.52 ± 0.001 , M18 (10 g de estípite + 1000 mL de solvente) en agitación con un pH= 5.52 ± 0.007 y el M20 (10 g de estípite + 150 mL de solvente) en reposo con un pH= 5.55 ± 0.006 donde se obtuvieron los valores de pH más altos y sin diferencia significativa entre ellos. Mientras que el valor más bajo lo presenta el macerado M13 (10 g de estípite + 150 mL de solvente) en agitación con un pH= 4.86 ± 0.003 .

Cuadro 14. pH de los macerados de *Ganoderma lucidum* (CP-145) a las 48 horas de maceración en la primera etapa.

Cultivo	Muestra	Volumen de solvente (mL)	Condición	Clave	pH
AE + AAS 10 mM	Píleo	150	Agitación	M13	5.07 ± 0.007 ^g
	Estípite	150	Agitación	M14	4.86 ± 0.003 ^h
	Píleo	500	Agitación	M15	5.44 ± 0.01 ^b
	Estípite	500	Agitación	M16	5.52 ± 0.001 ^a
	Píleo	1000	Agitación	M17	5.32 ± 0.008 ^d
	Estípite	1000	Agitación	M18	5.52 ± 0.007 ^a
	Píleo	150	Reposo	M19	5.21 ± 0.01 ^e
	Estípite	150	Reposo	M20	5.55 ± 0.006 ^a
	Píleo	500	Reposo	M21	5.46 ± 0.01 ^b
	Estípite	500	Reposo	M22	5.39 ± 0.01 ^c
	Píleo	1000	Reposo	M23	5.16 ± 0.02 ^f
	Estípite	1000	Reposo	M24	5.38 ± 0.009 ^c

*Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha=0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. M=Macerado.

En el cuadro 15 se muestran los valores de pH de la primera etapa a las 72 horas de maceración. Donde la prueba de separación de medias de Duncan con un $\alpha=0.05$ mostró que el macerado con clave M28 (10 g estípite + 500 mL de solvente) en agitación muestra el pH mayor con un valor de 5.55 ± 0.006 , mientras que el macerado que mostro un pH menor es el M26 (10 g de estípite + 150 mL de solvente) en agitación con un pH= 4.97 ± 0.11

Cuadro 15. pH de los macerados de *Ganoderma lucidum* (CP-145) a las 72 horas de maceración en la primera etapa.

Cultivo	Muestra	Volumen de solvente (mL)	Condición	Clave	pH
AE + AAS 10 mM	Píleo	150	Agitación	M25	5.02 ± 0 ^e
	Estípite	150	Agitación	M26	4.97 ± 0.11 ^e
	Píleo	500	Agitación	M27	5.47 ± 0.003 ^{ba}
	Estípite	500	Agitación	M28	5.55 ± 0.006 ^a
	Píleo	1000	Agitación	M29	5.37 ± 0.006 ^{bd}
	Estípite	1000	Agitación	M30	5.51 ± 0.005 ^{ba}
	Píleo	150	Reposo	M31	5.25 ± 0.002 ^d
	Estípite	150	Reposo	M32	5.31 ± 0.001 ^d
	Píleo	500	Reposo	M33	5.40 ± 0.002 ^d
	Estípite	500	Reposo	M34	5.24 ± 0.002 ^{ba}
	Píleo	1000	Reposo	M35	5.43 ± 0.01 ^d
	Estípite	1000	Reposo	M36	5.24 ± 0.02 ^b

*Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha=0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. M= Macerado.

En el cuadro 16 se muestran los valores de pH en la segunda etapa para los macerados de *G. lucidum* antes de concentrar en rotavapor. Donde la prueba de separación

de medias de Duncan con un $\alpha= 0.05$ mostró que el macerado con clave M61 (10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente), macerado por 24 horas, presenta el pH más alto con un valor de 5.79 ± 0.003 . Mientras que los macerados con un pH menor sin diferencia significativa entre ellos se observa en los macerados con clave M41 (10 g muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 24 horas, con un pH= 5.33 ± 0.03 y el macerado con clave M49 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 48 horas, con un pH= 5.35 ± 0.01 .

Cuadro 16. pH de los macerados de *Ganoderma lucidum* (CP-145) en la segunda etapa.

Cultivo	Volumen de solvente (mL)	Tiempo de maceración (horas)	Filtración	Clave	pH
AE + AAS 10 mM	500	24	Papel filtro	M37	5.50 ± 0^{fg}
	500	24	Sterifil	M38	5.40 ± 0^h
AE	500	24	Papel filtro	M39	5.65 ± 0.02^c
	500	24	Sterifil	M40	5.69 ± 0^{cb}
AE + AAS 10 mM	150	24	Papel filtro	M41	5.33 ± 0.03^i
	150	24	Sterifil	M42	5.37 ± 0.03^{ih}
AE	150	24	Papel filtro	M43	5.60 ± 0.03^d
	150	24	Sterifil	M44	5.55 ± 0.01^e
AE + AAS 10 mM	500	48	Papel filtro	M45	5.60 ± 0^d
	500	48	Sterifil	M46	5.60 ± 0^d
AE	500	48	Papel filtro	M47	5.69 ± 0^{cb}
	500	48	Sterifil	M48	5.67 ± 0.01^{cb}
AE + AAS 10 mM	150	48	Papel filtro	M49	5.36 ± 0.01^i
	150	48	Sterifil	M50	5.37 ± 0.003^{ih}
AE	150	48	Papel filtro	M51	5.49 ± 0.003^{fg}
	150	48	Sterifil	M52	5.51 ± 0.003^f
AE + AAS 10 mM	500	72	Papel filtro	M53	5.60 ± 0^d
	500	72	Sterifil	M54	5.50 ± 0^{fg}
AE	500	72	Papel filtro	M55	5.71 ± 0.003^b
	500	72	Sterifil	M56	5.70 ± 0.003^b
AE + AAS 10 mM	150	72	Papel filtro	M57	5.48 ± 0.01^{fg}
	150	72	Sterifil	M58	5.46 ± 0.003^g
AE	150	72	Papel filtro	M59	5.59 ± 0.003^d
	150	72	Sterifil	M60	5.51 ± 0.006^{fe}
	**500	24	Papel filtro	M61	5.79 ± 0.003^a

*Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha= 0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. **Extracto dividido en alícuotas de 3 durante la concentración en rotavapor. M= Macerado.

La conductividad eléctrica de los macerados a las 24 horas se muestra en el Cuadro 17, siendo el mayor el M1 (10 g de píceo + 150 mL de solvente) en agitación con un valor de $1124 \pm 2.64 \mu\text{S/cm}$ y los valores más bajos corresponden a los macerados M11(10 g de

píleo + 1000 mL de solvente) en reposo con un valor de $179 \pm 1.24 \mu\text{S/cm}$ y M12 (10 g de estípite + 1000 mL de solvente) en reposo con un valor de $172 \pm 1.78 \mu\text{S/cm}$ sin diferencia significativa entre ellos.

Cuadro 17. Conductividad eléctrica de los macerados de *Ganoderma lucidum* (CP-145) a las 24 horas de maceración en la primera etapa.

Cultivo	Muestra	Volumen de solvente (mL)	Condición	Clave	Conductividad ($\mu\text{S/cm}$)
AE + AAS 10 mM	Píleo	150	Agitación	M1	1124 ± 2.64^a
	Estípite	150	Agitación	M2	1100.3 ± 3.17^c
	Píleo	500	Agitación	M3	527.63 ± 3.15^f
	Estípite	500	Agitación	M4	733 ± 6.13^e
	Píleo	1000	Agitación	M5	350 ± 1.56^h
	Estípite	1000	Agitación	M6	382.1 ± 2.35^g
	Píleo	150	Reposo	M7	990.1 ± 4.53^d
	Estípite	150	Reposo	M8	1112.6 ± 7.75^b
	Píleo	500	Reposo	M9	132.83 ± 348^k
	Estípite	500	Reposo	M10	159.7 ± 0.6^j
	Píleo	1000	Reposo	M11	179 ± 1.24^i
	Estípite	1000	Reposo	M12	172 ± 1.78^i

Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha= 0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. M= Macerado.

La conductividad eléctrica de los macerados a las 48 horas se puede observar en el cuadro 18, siendo la mayor en el macerado con clave M20 (10 g de estípite + 150 mL de solvente) con un valor de $1641.97 \pm 20.94 \mu\text{S/cm}$, mientras que el macerado con clave M24 (10 g de estípite + 1000 mL de solvente) con un valor de $288.4 \pm 1.73 \mu\text{S/cm}$ es el que presento una menor conductividad.

Cuadro 18. Conductividad eléctrica de los macerados de *Ganoderma lucidum* (CP-145) a las 48 horas de maceración en la primera etapa.

Cultivo	Muestra	Volumen de solvente (mL)	Condición	Clave	Conductividad ($\mu\text{S/cm}$)
AE + AAS 10 Mm	Píleo	150	Agitación	M13	1332.2 ± 11.8^c
	Estípite	150	Agitación	M14	1210.3 ± 9.32^d
	Píleo	500	Agitación	M15	622.93 ± 0.72^f
	Estípite	500	Agitación	M16	770.9 ± 4.33^e
	Píleo	1000	Agitación	M17	361.6 ± 2.88^i
	Estípite	1000	Agitación	M18	372.33 ± 0.72^i
	Píleo	150	Reposo	M19	1414.17 ± 1.8^b
	Estípite	150	Reposo	M20	1641.9 ± 20.9^a
	Píleo	500	Reposo	M21	559.3 ± 4.45^g
	Estípite	500	Reposo	M22	481.57 ± 6.47^h
	Píleo	1000	Reposo	M23	238.07 ± 9.06^k
	Estípite	1000	Reposo	M24	288.4 ± 1.73^j

Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha= 0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. M= Macerado.

Se muestra en el cuadro 19, observándose que la conductividad eléctrica de los macerados a las 72 horas mayor en el macerado con clave M31 (10 g de píleo + 150 mL de solvente) en reposo con un valor de 1694.7 ± 2.88 , mientras que los macerados con un valor de conductividad eléctrica menor sin diferencia significativa entre ellos, corresponde a los macerados con clave M29 (10 g de píleo +1000 mL de solvente) en agitación con un valor de $387.43 \pm 4.08 \mu\text{S/cm}$, M30 (10 g de estípite + 1000 mL de solvente) en agitación con un valor de $418.9 \pm 1.45 \mu\text{S/cm}$, M35 (10 g de píleo + 1000 mL de solvente) en reposo con un valor de $352.73 \pm 4.56 \mu\text{S/cm}$ y M36 (10 g de estípite + 1000 mL de solvente) en reposo con un valor de $407.97 \pm 1.22 \mu\text{S/cm}$.

Cuadro 19. Conductividad eléctrica de los macerados de *Ganoderma lucidum* (CP-145) a las 72 horas de maceración en la primera etapa.

Cultivo	Muestra	Volumen de solvente (mL)	Condición	Clave	Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
AE + AAS 10 mM	Píleo	150	Agitación	M25	1505.87 ± 1.1^b
	Estípite	150	Agitación	M26	1403.1 ± 6.6^c
	Píleo	500	Agitación	M27	699.03 ± 6^e
	Estípite	500	Agitación	M28	830.67 ± 9.85^d
	Píleo	1000	Agitación	M29	387.43 ± 4.08^f
	Estípite	1000	Agitación	M30	418.9 ± 1.45^f
	Píleo	150	Reposo	M31	1694.73 ± 2.88^a
	Estípite	150	Reposo	M32	1583.5 ± 4.75^b
	Píleo	500	Reposo	M33	626.37 ± 6.36^e
	Estípite	500	Reposo	M34	696.2 ± 9.95^e
	Píleo	1000	Reposo	M35	352.73 ± 4.56^f
	Estípite	1000	Reposo	M36	407.97 ± 1.22^f

Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha = 0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. M= Macerado.

La conductividad eléctrica de la segunda etapa se muestra en el cuadro 20. La mayor conductividad eléctrica la presentan los macerados a las 48 horas de maceración con clave M51 (10 g muestra cultivada en aserrín de encino +150 mL de solvente) con un valor de $2747 \pm 1.7 \mu\text{S}/\text{cm}$ y M52 (10 g muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente) con un valor de $2932 \pm 0.72 \mu\text{S}/\text{cm}$ ambos sin diferencia significativa. Mientras que el macerado con una conductividad eléctrica menor se observa en el macerado de 24 horas con clave M38 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino adicionado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente) con un valor de $568.1 \pm 0.14 \mu\text{S}/\text{cm}$.

Cuadro 20. Conductividad eléctrica de los macerados de *Ganoderma lucidum* (CP-145) en la segunda etapa.

Cultivo	Volumen de solvente (mL)	Tiempo de maceración (horas)	Filtración	Clave	Conductividad
AE + AAS 10 mM	500	24	Papel filtro	M37	587.5 ± 0.03 ^{ji}
	500	24	Sterifil	M38	568.13 ± 0.14 ^j
AE	500	24	Papel filtro	M39	720.67 ± 0.08 ^{hji}
	500	24	Sterifil	M40	847.9 ± 0.03 ^{hg}
AE + AAS 10 mM	150	24	Papel filtro	M41	1463 ± 3.35 ^f
	150	24	Sterifil	M42	1768.4 ± 1.07 ^e
AE	150	24	Papel filtro	M43	2387.83 ± 6.9 ^b
	150	24	Sterifil	M44	2021.63 ± 5.3 ^{dc}
AE + AAS 10 mM	500	48	Papel filtro	M45	763.5 ± 1.9 ^{hgi}
	500	48	Sterifil	M46	756.2 ± 2.25 ^{hji}
AE	500	48	Papel filtro	M47	808.23 ± 0.97 ^{hgi}
	500	48	Sterifil	M48	867.7 ± 1.1 ^{hg}
AE + AAS 10 mM	150	48	Papel filtro	M49	1921.1 ± 2.5 ^{dce}
	150	48	Sterifil	M50	1969.27 ± 3.7 ^{dce}
AE	150	48	Papel filtro	M51	2747.1 ± 1.7 ^a
	150	48	Sterifil	M52	2931.7 ± 0.7 ^a
AE + AAS 10 mM	500	72	Papel filtro	M53	743.7 ± 0.13 ^{hgi}
	500	72	Sterifil	M54	736 ± 1.4 ^{hgi}
AE	500	72	Papel filtro	M55	946.93 ± 3.55 ^g
	500	72	Sterifil	M56	952.4 ± 0.28 ^g
AE + AAS 10 mM	150	72	Papel filtro	M57	1825.8 ± 1.7 ^{de}
	150	72	Sterifil	M58	2051.9 ± 2.3 ^c
AE	150	72	Papel filtro	M59	2446.2 ± 9.6 ^b
	150	72	Sterifil	M60	2071.7 ± 6.3 ^c
	**500	24	Papel filtro	M61	624.2 ± 0.7 ^{ji}

*Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha=0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. **Extracto dividido en alícuotas de 3 durante la concentración en rotavapor. M= Macerado.

La resistividad de los macerados de la primera etapa a las 24 horas se muestra en cuadro 21. La mayor resistividad la presenta el macerado con clave M9= (10 g de píceo + 500 mL de solvente) en reposo al presentar un valor de 4987 ± 118.64 Ohm. Mientras que los macerados con una resistividad menor se observa en M1 (10 g de píceo + 150 mL de solvente) en reposo con un valor de 512 ± 1.15 Ohm y el macerado con clave M2 (10 g de estípite + 150 mL de solvente) en agitación con un valor de 528.67 ± 1.85 Ohm.

Cuadro 21. Resistividad de los macerados de *Ganoderma lucidum* (CP-145) a las 24 horas de maceración en la primera etapa.

Cultivo	Muestra	Volumen de solvente (mL)	Condición	Clave	Resistividad (Ohm)
AE + AAS 10 Mm	Píleo	150	Agitación	M1	512 ± 1.15 ⁱ
	Estípite	150	Agitación	M2	528.6 ± 1.85 ⁱ
	Píleo	500	Agitación	M3	1231.3 ± 5.89 ^f
	Estípite	500	Agitación	M4	840 ± 8.62 ^g
	Píleo	1000	Agitación	M5	1602.3 ± 16.2 ^d
	Estípite	1000	Agitación	M6	645 ± 3.05 ^e
	Píleo	150	Reposo	M7	573 ± 3.05 ^h
	Estípite	150	Reposo	M8	4987 ± 118 ^{ih}
	Píleo	500	Reposo	M9	4000 ± 144.43 ^a
	Estípite	500	Reposo	M10	3659.3 ± 25.2 ^b
	Píleo	1000	Reposo	M11	3661.6 ± 40.03 ^c
	Estípite	1000	Reposo	M12	470.33 ± 3.75 ^c

Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha = 0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. M= Macerado.

La resistividad de los macerados a las 48 horas en la primera etapa se muestra en el cuadro 22. Puede observarse que el extracto con una mayor resistividad la presenta el macerado con clave M23 (10 g de píleo + 1000 mL de solvente) en reposo con un valor de 283.33 ± 99.98 Ohm, mientras que el macerado con una menor resistividad se observa en M20 (10 g de estípite + 150 mL de solvente) en reposo con un valor de 380.33 ± 4.33 Ohm.

Cuadro 22. Resistividad de los macerados de *Ganoderma lucidum* (CP-145) a las 48 horas de maceración en la primera etapa.

Cultivo	Muestra	Volumen de solvente (mL)	Condición	Clave	Resistividad (Ohm)
AE + AAS 10 mM	Píleo	150	Agitación	M13	470.33 ± 3.75 ^{ji}
	Estípite	150	Agitación	M14	520 ± 3.46 ⁱ
	Píleo	500	Agitación	M15	1053 ± 1.73 ^g
	Estípite	500	Agitación	M16	769 ± 31.04 ^h
	Píleo	1000	Agitación	M17	1833.3 ± 13.6 ^c
	Estípite	1000	Agitación	M18	1648 ± 6.08 ^d
	Píleo	150	Reposo	M19	460 ± 1.15 ^{ji}
	Estípite	150	Reposo	M20	380.3 ± 4.3 ^j
	Píleo	500	Reposo	M21	1195.6 ± 10.2 ^f
	Estípite	500	Reposo	M22	1334.3 ± 17.07 ^e
	Píleo	1000	Reposo	M23	283.3 ± 99.9 ^a
	Estípite	1000	Reposo	M24	2218.3 ± 8.6 ^b

Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha = 0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. M= Macerado.

La resistividad de los macerados a las 72 horas en la primera etapa se muestra en el cuadro 23. Puede observarse que el valor mayor de resistividad fue en el macerado con clave M35 (10 g de píleo + 1000 mL de solvente) en reposo con un valor fue de 1838 ± 23.48 Ohm. Mientras que los valores de resistividad menor se observan en los macerados en reposo M31 (10 g de píleo + 150 mL de solvente) con un valor de 381.67 ± 1.2 Ohm y M32 (10 g de píleo + 150 mL de solvente) con un valor de 393 ± 1.2 Ohm.

Cuadro 23. Resistividad de los macerados de *Ganoderma lucidum* (CP-145) a las 72 horas de maceración en la primera etapa.

Cultivo	Muestras	Volumen de solvente (mL)	Condición	Clave	Resistividad (Ohm)
AE + AAS 10 mM	Píleo	150	Agitación	M25	$397.67 \pm 1.2^{\text{ih}}$
	Estípite	150	Agitación	M26	$433.25 \pm 15.13^{\text{h}}$
	Píleo	500	Agitación	M27	$921.6 \pm 7.9^{\text{f}}$
	Estípite	500	Agitación	M28	$746.3 \pm 8.8^{\text{g}}$
	Píleo	1000	Agitación	M29	$1724 \pm 18.5^{\text{b}}$
	Estípite	1000	Agitación	M30	$1489.6 \pm 9.7^{\text{d}}$
	Píleo	150	Reposo	M31	$381.6 \pm 1.2^{\text{i}}$
	Estípite	150	Reposo	M32	$393 \pm 1.2^{\text{i}}$
	Píleo	500	Reposo	M33	$1078 \pm 9.5^{\text{e}}$
	Estípite	500	Reposo	M34	$886.6 \pm 14.94^{\text{f}}$
	Píleo	1000	Reposo	M35	$1838.6 \pm 23.4^{\text{a}}$
	Estípite	1000	Reposo	M36	$1539.6 \pm 5.89^{\text{c}}$

Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha = 0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. M= Macerado.

La resistividad de los macerados en la segunda etapa se muestra en el cuadro 24. Se observa que el extracto con una mayor resistividad se presenta en el macerado de 24 horas con clave M38 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 Mm + 500 mL de solvente) con un valor de 1043 ± 0.88 Ohm. Mientras que el macerado que presentan una resistividad menor fue el macerado M52 (10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 48 horas y filtrado en Sterifil con un valor de 199 ± 0 Ohm.

Cuadro 24. Resistividad de los macerados de *Ganoderma lucidum* (CP-145) en la segunda etapa.

Cultivo	Volumen de solvente (mL)	Tiempo de maceración (horas)	Filtración	Clave	Resistividad (Ohm)
AE + AAS 10 mM	500	24	Papel filtro	M37	1008 ± 0 ^c
	500	24	Sterifil	M38	1043.3 ± 0.88 ^a
AE	500	24	Papel filtro	M39	808 ± 0 ^d
	500	24	Sterifil	M40	689 ± 0 ^j
AE + AAS 10 mM	150	24	Papel filtro	M41	310.6 ± 0.88 ^o
	150	24	Sterifil	M42	335 ± 0.57 ^m
AE	150	24	Papel filtro	M43	237.3 ± 0.88 ^t
	150	24	Sterifil	M44	278.3 ± 0.88 ^s
AE + AAS 10 mM	500	48	Papel filtro	M45	776.3 ± 2.18 ^h
	500	48	Sterifil	M46	780.6 ± 1.7 ^g
AE	500	48	Papel filtro	M47	714 ± 1 ⁱ
	500	48	Sterifil	M48	663.6 ± 0.6 ^k
AE + AAS 10 mM	150	48	Papel filtro	M49	304.3 ± 0.33 ^p
	150	48	Sterifil	M50	296.6 ± 0.88 ^q
AE	150	48	Papel filtro	M51	212.3 ± 0.33 ^u
	150	48	Sterifil	M52	199 ± 0 ^v
AE + AAS 10 mM	500	72	Papel filtro	M53	795.6 ± 0.33 ^f
	500	72	Sterifil	M54	801.6 ± 1.2 ^e
AE	500	72	Papel filtro	M55	596.33 ± 3.75 ^l
	500	72	Sterifil	M56	598.3 ± 3.71 ^l
AE + AAS 10 mM	150	72	Papel filtro	M57	320.3 ± 0.33 ⁿ
	150	72	Sterifil	M58	284 ± 0.57 ^r
AE	150	72	Papel filtro	M59	240 ± 1 ^t
	150	72	Sterifil	M60	282 ± 1 ^{sr}
	**500	24	Papel filtro	M61	1037.6 ± 2.33 ^b

*Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha=0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. **Extracto dividido en alícuotas de 3 durante la concentración en rotavapor. M= Macerado.

Los valores de grados Brix de los macerados a las 24 h en la primera etapa se muestran en el cuadro 25. Puede observarse que el extracto con un mayor valor de grados Brix se presenta en el macerado M7 (10 g de píleo + 150 mL de solvente) en reposo con un valor de 13.3 ± 0.0001 grados Brix. Mientras que el valor más bajo se observó en el macerado M6 (10 g de píleo + 1000 mL de solvente) en agitación con un valor de 12.5 ± 0.0001 grados Brix.

Cuadro 25. Grados Brix de los macerados de *Ganoderma lucidum* (CP-145) a las 24 horas de maceración en la primera etapa.

Cultivo	Muestras	Volumen de solvente (mL)	Condición	Clave	Grados Brix
AE + AAS 10 mM	Píleo	150	Agitación	M1	13 ± 0 ^d
	Estípите	150	Agitación	M2	13 ± 0.03 ^d
	Píleo	500	Agitación	M3	13.2 ± 0 ^b
	Estípите	500	Agitación	M4	12.8 ± 0 ^f
	Píleo	1000	Agitación	M5	13.2 ± 0.03 ^{cb}
	Estípите	1000	Agitación	M6	12.5 ± 0 ^h
	Píleo	150	Reposo	M7	13.3 ± 0 ^a
	Estípите	150	Reposo	M8	12.9 ± 0 ^e
	Píleo	500	Reposo	M9	13.1 ± 0.03 ^c
	Estípите	500	Reposo	M10	12.6 ± 0 ^g
	Píleo	1000	Reposo	M11	13.1 ± 0.03 ^c
	Estípите	1000	Reposo	M12	12.6 ± 0 ^g

Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha=0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. M= Macerado.

Los valores de grados Brix de los macerados a las 48 h en la primera etapa se muestran en el cuadro 26. Puede observarse que el valor mayor de grados Brix se presenta en el macerado M19 (10 g de píleo + 150 mL de solvente) en reposo con un valor de 13.66 ± 0.03 grados Brix y M24 (10 g de estípите + 1000 mL de solvente) en reposo con un valor de 13.6 ± 0 Mientras que los valores menores se observaron sin diferencia significativa en los macerados M18 (10 g de estípите + 1000 mL de solvente) en agitación con un valor de 12.8 ± 0 grados Brix y M22 (10 g de basidiocarpo con estípите + 500 mL de solvente) en reposo con un valor de 12.8 ± 0 grados Brix.

Cuadro 26. Grados Brix de los macerados de *Ganoderma lucidum* (CP-145) a las 48 horas de maceración en la primera etapa.

Cultivo	Muestras	Volumen de solvente (mL)	Condición	Clave	Grados Brix
AE + AAS 10 mM	Píleo	150	Agitación	M13	13.3 ± 0 ^c
	Estípите	150	Agitación	M14	13.2 ± 0.03 ^d
	Píleo	500	Agitación	M15	13.3 ± 0 ^c
	Estípите	500	Agitación	M16	12.9 ± 0 ^f
	Píleo	1000	Agitación	M17	13.2 ± 0 ^{ed}
	Estípите	1000	Agitación	M18	12.8 ± 0 ^g
	Píleo	150	Reposo	M19	13.6 ± 0.03 ^a
	Estípите	150	Reposo	M20	12.9 ± 0 ^f
	Píleo	500	Reposo	M21	13.3 ± 0.03 ^c
	Estípите	500	Reposo	M22	12.8 ± 0 ^g
	Píleo	1000	Reposo	M23	13.1 ± 0.03 ^e
	Estípите	1000	Reposo	M24	13.6 ± 0 ^a

Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha=0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. M= Macerado.

Los grados Brix de los macerados a las 72 h de la primera etapa se muestran en el cuadro 27. Se observa que el extracto con un mayor valor de grados Brix se presenta en el macerado M31 (10 g de píleo + 150 mL de solvente) en reposo con un valor de 13.8 ± 0.00001 grados Brix. Mientras que los macerados con un valor menor y sin diferencia significativa se observa en los macerados M28 (10 g de estípite + 500 mL de solvente) en agitación con un valor de 13 ± 0.00001 grados Brix, M30 (10 g de estípite + 1000 mL de solvente) en agitación con un valor de 13 ± 0.00001 grados Brix, M34 (10 g de estípite + 500 mL de solvente) en reposo con un valor de 12.96 ± 0.00001 grados Brix y M36 ((10 g de estípite + 1000 mL de solvente) en reposo con un valor de 13 ± 0.00001 grados Brix.

Cuadro 27. Grados Brix de los macerados de *Ganoderma lucidum* (CP-145) a las 72 horas de maceración en la primera etapa.

Cultivo	Muestras	Volumen de solvente (mL)	Condición	Clave	Grados Brix
AE + AAS 10 mM	Píleo	150	Agitación	M25	13.3 ± 0^b
	Estípite	150	Agitación	M26	13.2 ± 0^c
	Píleo	500	Agitación	M27	13.3 ± 0^b
	Estípite	500	Agitación	M28	13 ± 0^d
	Píleo	1000	Agitación	M29	13.1 ± 0.03^c
	Estípite	1000	Agitación	M30	13 ± 0^d
	Píleo	150	Reposo	M31	13.8 ± 0^a
	Estípite	150	Reposo	M32	13.15 ± 0.05^c
	Píleo	500	Reposo	M33	13.3 ± 0^b
	Estípite	500	Reposo	M34	12.9 ± 0.03^d
	Píleo	1000	Reposo	M35	13.2 ± 0^c
	Estípite	1000	Reposo	M36	13 ± 0^d

Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha = 0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. M= Macerado.

Los valores de grados Brix de los macerados en la segunda etapa se muestran en el cuadro 28. Puede observarse que el macerado con un mayor valor de grados Brix se presenta en el macerado con un tiempo de maceración de 24 horas M42 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente) con un valor de 13.17 ± 0.03 grados Brix. Mientras que el valor menor se observa en el macerado con un tiempo de maceración de 48 horas M47 (10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente) con un valor de 12.43 ± 0.06 grados Brix.

Cuadro 28. Grados Brix de los macerados de *Ganoderma lucidum* (CP-145) en la segunda etapa.

Cultivo	Volumen de solvente (mL)	Tiempo de maceración (horas)	Filtración	Clave	Grados Brix
AE + AAS 10 mM	500	24	Papel filtro	M37	12.6 ± 0.01 ^{igif}
	500	24	Sterifil	M38	12.7 ± 0.03 ^{edf}
AE	500	24	Papel filtro	M39	12.7 ± 0.03 ^{edf}
	500	24	Sterifil	M40	12.8 ± 0 ^{ed}
AE + AAS 10 mM	150	24	Papel filtro	M41	13.1 ± 0 ^{ba}
	150	24	Sterifil	M42	13.17 ± 0.03 ^a
AE	150	24	Papel filtro	M43	13 ± 0 ^{bac}
	150	24	Sterifil	M44	12.6 ± 0 ^{hgif}
AE + AAS 10 mM	500	48	Papel filtro	M45	12.6 ± 0.0 ^{hgif}
	500	48	Sterifil	M46	12.73 ± 0.08 ^{egdf}
AE	500	48	Papel filtro	M47	12.43 ± 0.06 ^j
	500	48	Sterifil	M48	12.5 ± 0.03 ^{hji}
AE + AAS 10 mM	150	48	Papel filtro	M49	13 ± 0 ^{bac}
	150	48	Sterifil	M50	12.87 ± 0.03 ^{dc}
AE	150	48	Papel filtro	M51	12.80 ± 0 ^{ed}
	150	48	Sterifil	M52	12.97 ± 0.06 ^{bc}
AE + AAS 10 mM	500	72	Papel filtro	M53	12.7 ± 0.01 ^{hegdf}
	500	72	Sterifil	M54	12.87 ± 0.03 ^{dc}
AE	500	72	Papel filtro	M55	12.5 ± 0.03 ^{hgi}
	500	72	Sterifil	M56	12.5 ± 0 ^{ji}
AE + AAS 10 mM	150	72	Papel filtro	M57	13 ± 0 ^{bac}
	150	72	Sterifil	M58	12.6 ± 0.03 ^{hegif}
AE	150	72	Papel filtro	M59	13.1 ± 0 ^{ba}
	150	72	Sterifil	M60	12.5 ± 0 ^{ji}
	**500	24	Papel filtro	M61	12.7 ± 0 ^{hegdf}

*Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha = 0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. **Extracto dividido en alícuotas de 3 durante la concentración en rotavapor. M= Macerado.

Los rendimientos de los macerados en la primera etapa a las 24 horas se muestran en el cuadro 29. Se puede observar que el extracto con un valor mayor de rendimiento se presenta en el macerado M2 (10 g de estípite + 150 mL de solvente) en agitación con un valor de 5.88 ± 0.1 mg/mL. Mientras que el macerado con un menor rendimiento se observó en el macerado M10 (10 g de estípite + 500 mL de solvente) en reposo con un valor de 0.16 ± 0.02 mg/mL.

Cuadro 29. Rendimiento de los macerados de *Ganoderma lucidum* (CP-145) a las 24 horas de maceración en la primera etapa.

Cultivo	Muestras	Volumen de solvente (mL)	Condición	Clave	Rendimiento (mg/mL)
AE + AAS 10 mM	Píleo	150	Agitación	M1	4.36 ± 0.11 ^b
	Estípite	150	Agitación	M2	5.88 ± 0.1 ^a
	Píleo	500	Agitación	M3	2.3 ± 0.07 ^d
	Estípite	500	Agitación	M4	1.8 ± 0.03 ^e
	Píleo	1000	Agitación	M5	1.2 0.2 ^f
	Estípite	1000	Agitación	M6	2.3 0.18 ^d
	Píleo	150	Reposo	M7	4.3 ± 0.05 ^b
	Estípite	150	Reposo	M8	3.2 ± 0.07 ^c
	Píleo	500	Reposo	M9	0.48 ± 0.02 ^g
	Estípite	500	Reposo	M10	0.16 ± 0.02 ^h
	Píleo	1000	Reposo	M11	0.26 ± 0.02 ^{hg}
	Estípite	1000	Reposo	M12	0.22 ± 0.02 ^{hg}

Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha=0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. M= Macerado.

Los rendimientos de los macerados en la primera etapa a las 48 horas se muestran en el cuadro 30. Se puede observar que el rendimiento con un valor mayor se presenta en los macerados M14 (10 g de estípite + 150 mL de solvente) en agitación con un valor de 6.36 ± 0.13 mg/mL y M19 (10 g de estípite + 150 mL de solvente) en reposo con un valor de 6.48 ± 0.07 mg/mL. Mientras que los macerados con un valor menor de rendimiento se observa en los macerados M23 (10 g de píleo + 1000 mL de solvente) en reposo con un valor de 1.04 ± 0.06 mg/mL, M24 (10 g de estípite + 1000 mL de solvente) en reposo con un valor de 1.24 ± 0.04 mg/mL.

Cuadro 30. Rendimiento de los macerados de *Ganoderma lucidum* (CP-145) a las 48 horas de maceración en la primera etapa.

Cultivo	Muestras	Volumen de solvente (mL)	Condición	Clave	Rendimiento (mg/mL)
AE + AAS 10 mM	Píleo	150	Agitación	M13	5.56 ± 0.11 ^b
	Estípite	150	Agitación	M14	6.36 ± 0.13 ^a
	Píleo	500	Agitación	M15	2.54 ± 0.05 ^e
	Estípite	500	Agitación	M16	1.82 ± 0.02 ^f
	Píleo	1000	Agitación	M17	3.16 ± 0.1 ^d
	Estípite	1000	Agitación	M18	4.66 ± 0.32 ^c
	Píleo	150	Reposo	M19	6.48 ± 0.07 ^a
	Estípite	150	Reposo	M20	4.3 ± 0.06 ^c
	Píleo	500	Reposo	M21	1.74 ± 0.23 ^f
	Estípite	500	Reposo	M22	2.4 ± 0.08 ^e
	Píleo	1000	Reposo	M23	1.04 ± 0.06 ^g
	Estípite	1000	Reposo	M24	1.24 ± 0.04 ^g

Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha=0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. M= Macerado.

Los rendimientos de los macerados en la primera etapa a las 72 horas se muestran en el cuadro 31. Se puede observar que el extracto con un valor mayor de rendimiento se presenta en el macerado M32 (10 g de estípite + 150 mL de solvente) en reposo con un rendimiento de 8.32 ± 0.23 mg/mL, y el macerado con un valor menor de rendimiento se observa en el macerado con M35 (10 g de píleo + 1000 mL de solvente) en reposo con un valor de 1.48 ± 0.02 mg/mL.

Cuadro 31. Rendimiento de los macerados de *Ganoderma lucidum* (CP-145) a las 72 horas de maceración en la primera etapa.

Cultivo	Muestra	Volumen de solvente (mL)	Condición	Clave	Rendimiento (mg/mL)
AE + AAS 10 mM	Píleo	150	Agitación	M25	6.68 ± 0.21^c
	Estípite	150	Agitación	M26	6 ± 0.2^d
	Píleo	500	Agitación	M27	3.92 ± 0.13^f
	Estípite	500	Agitación	M28	3.6 ± 0.08^f
	Píleo	1000	Agitación	M29	4.94 ± 0.19^e
	Estípite	1000	Agitación	M30	4.74 ± 0.05^e
	Píleo	150	Reposo	M31	7.3 ± 0.34^b
	Estípite	150	Reposo	M32	8.32 ± 0.23^a
	Píleo	500	Reposo	M33	2.6 ± 0.22^g
	Estípite	500	Reposo	M34	2.32 ± 0.09^{hg}
	Píleo	1000	Reposo	M35	1.48 ± 0.02^i
	Estípite	1000	Reposo	M36	1.86 ± 0.05^{hi}

Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha= 0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. M= Macerado.

Los rendimientos de los macerados obtenidos en la segunda etapa se muestran en el cuadro 32. Se puede observar el valor mayor en el macerado M43 (10 g muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente) macerado por 24 h con un valor de 8.4 ± 0.1 mg/mL. Mientras que el macerado de menor rendimiento se observó en el macerado M39 (10 g muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente) macerado por 24 horas con un valor de 0.96 ± 0.07 mg/mL.

Cuadro 32. Rendimiento de los macerados de *Ganoderma lucidum* (CP-145) en la segunda etapa.

Cultivo	Volumen de solvente (mL)	Tiempo de maceración (horas)	Filtración	Clave	Rendimiento (mg/mL)
AE + AAS 10 mM	500	24	Papel filtro	M37	1.56 ± 0.07 ^j
	500	24	Sterifil	M38	1.48 ± 0.04 ^j
AE	500	24	Papel filtro	M39	0.96 ± 0.07 ^k
	500	24	Sterifil	M40	1.28 ± 0.08 ^j
AE + AAS 10 mM	150	24	Papel filtro	M41	7.28 ± 0.14 ^{dc}
	150	24	Sterifil	M42	6.92 ± 0.1 ^e
AE	150	24	Papel filtro	M43	8.4 ± 0.1 ^a
	150	24	Sterifil	M44	7 ± 0.06 ^{de}
AE + AAS 10 mM	500	48	Papel filtro	M45	1.56 ± 0.04 ^j
	500	48	Sterifil	M46	1.84 ± 0.07 ⁱ
AE	500	48	Papel filtro	M47	1.48 ± 0.08 ^j
	500	48	Sterifil	M48	1.52 ± 0.1 ^j
AE + AAS 10 mM	150	48	Papel filtro	M49	7.28 ± 0.04 ^{dc}
	150	48	Sterifil	M50	7.32 ± 0.13 ^c
AE	150	48	Papel filtro	M51	7.36 ± 0.11 ^c
	150	48	Sterifil	M52	7.88 ± 0.1 ^b
AE + AAS 10 mM	500	72	Papel filtro	M53	2.32 ± 0.04 ^h
	500	72	Sterifil	M54	1.92 ± 0.04 ⁱ
AE	500	72	Papel filtro	M55	3.72 ± 0.08 ^g
	500	72	Sterifil	M56	3.64 ± 0.07 ^g
AE + AAS 10 mM	150	72	Papel filtro	M57	7 ± 0.06 ^{de}
	150	72	Sterifil	M58	6.6 ± 0.1 ^f
AE	150	72	Papel filtro	M59	7.2 ± 0.06 ^{dc}
	150	72	Sterifil	M60	7.84 ± 0.13 ^b
	**500	24	Papel filtro	M61	2.36 ± 0.11 ^h

*Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha=0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. **Extracto dividido en alícuotas de 3 durante la concentración en rotavapor. M= Macerado.

8.1.2 Extractos

Los valores de pH de los extractos en la primera etapa se muestran en la figura 17. Se puede observar que los valores mayores se obtuvieron en los extractos E30 (10 g de estípite + 1000 mL de solvente) en agitación con un valor de 5.59 ± 0.0008 , el extracto E63 (10 g de estípite + 150 mL de solvente) en reposo con un valor 5.57 ± 0.003 y el extracto E64 (10 g de píleo + 150 mL de solvente) en reposo con un valor de 5.54 ± 0.003 , siendo los dos últimos los extractos control de 24 horas de maceración. Mientras que los valores menores se observa en los extractos E25 (10 g de píleo + 150 mL de solvente) en agitación con un valor de 4.75 ± 0.003 y el extracto E26 (10 g de estípite + 150 mL de solvente) en agitación con un valor de 4.78 ± 0.005 .

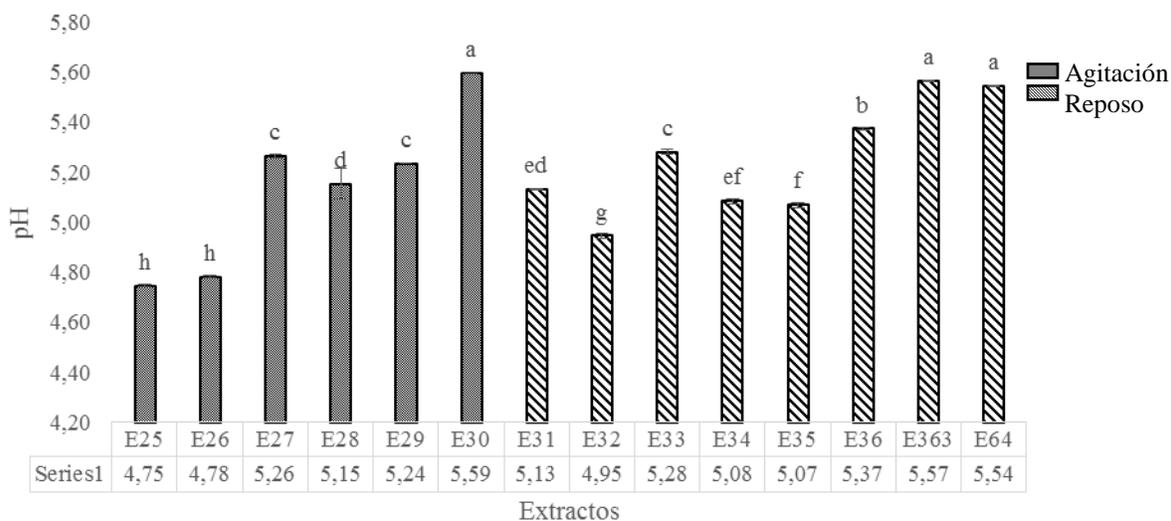


Figura 17. pH de los extractos de *Ganoderma lucidum* (CP-145) obtenidos en la primera etapa a las 72 horas de maceración, cultivado en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico 10 mM. E25= Extracto de 10 g de píleo + 150 mL de solvente. E26= Extracto de 10 g de estípite + 150 mL de solvente. E27= Extracto de 10 g de píleo + 500 mL de solvente. E28= Extracto de 10 g de estípite + 500 mL de solvente. E29= Extracto de 10 g de píleo + 1000 mL de solvente. E30= Extracto de 10 g de estípite + 1000 mL de solvente. E31= Extracto de 10 g de píleo + 150 mL de solvente. E32= Extracto de 10 g de estípite + 150 mL de solvente. E33 = Extracto de 10 g de píleo + 500 mL de solvente. E34= Extracto de 10 g de estípite + 500 mL de solvente. E35= Extracto de 10 g de píleo + 1000 mL de solvente. E36= Extracto de 10 g de estípite + 1000 mL de solvente. E63 = Extracto de 10 g de píleo + 150 mL de solvente, 24 horas de maceración (Control 1). E64 = Extracto de 10 g de estípite + 150 mL de solvente, 24 horas de maceración (Control 2). Las letras sobre las barras corresponden a la Prueba de Duncan $\alpha = 0.05$. Las medias con la misma letra son similares.

Los valores de pH de la segunda etapa se muestran en la figura 18. Observándose que los valores más altos de pH corresponde a los extractos con clave E43 (10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 24 horas, filtrado con papel filtro convencional con un valor de $\text{pH} = 5.65 \pm 0.003$ y el extracto E48 (10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 48 horas, filtrado con Sterifil con un valor de $\text{pH} = 5.68 \pm 0.01$. Mientras que el valor menor de pH se observa en el extracto E41 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 24 horas, filtrado con papel filtro convencional con un valor de $\text{pH} = 4.87 \pm 0$.

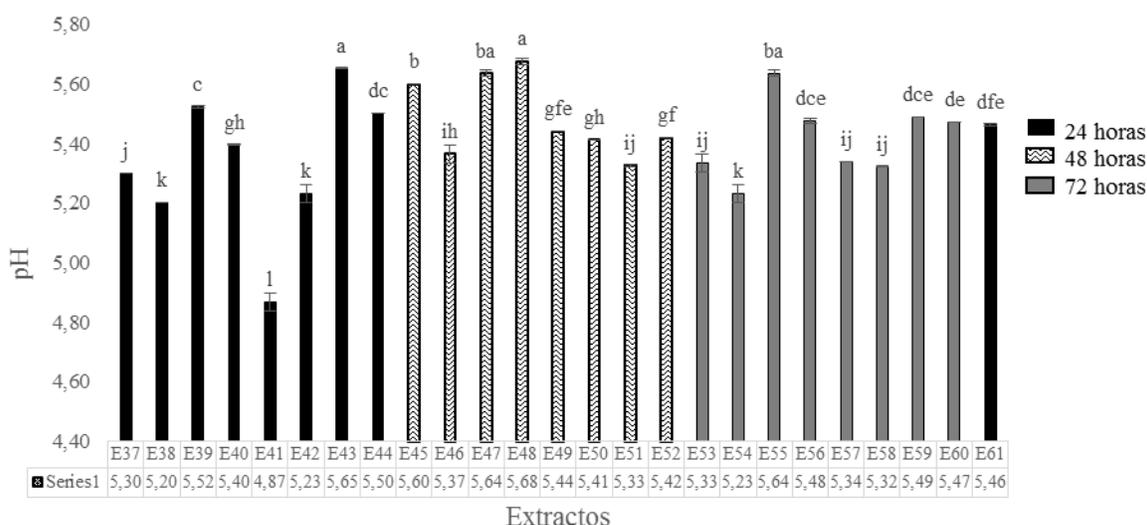


Figura 18. pH de los extractos de basidiocarpo con píleo de *Ganoderma lucidum* (CP-145) en la segunda etapa. E37= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E38= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E39= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E40= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E41= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional (control 3). E42= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E43= 10 g de muestra cultivada en AE +150 mL de solvente, filtrado convencional (control 4). E44= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E45= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementada con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E46= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E47= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E48= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E49= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E50= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E51= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E52= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E53= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E54= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E55= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E56= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente filtrado por Sterifil. E57= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E58= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM +150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E59= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E60= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E61= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional y dividido en 3 partes para su concentración (control 5). Las letras sobre las barras corresponden a la Prueba de Duncan $\alpha= 0.05$. Las medias con la misma letra son similares.

Los valores de conductividad eléctrica de los extractos obtenidos en la primera etapa se muestran en la figura 19. Se puede observar que el valor más alto fue en el extracto E28 (10 g de basidiocarpos con estípite + 500 mL de solvente) en agitación con un valor de $31325 \pm 169.97 \mu\text{S/cm}$. Mientras que el valor menor se observa en los extractos E63 (10 g de basidiocarpo con píleo + 150 mL de solvente) en reposo con un valor de $1609 \pm 0.41 \mu\text{S/cm}$ y E64 (10 g de basidiocarpo con estípite + 150 mL de solvente hidroalcohólico) en reposo con un valor de $1364 \pm 0.72 \mu\text{S/cm}$.

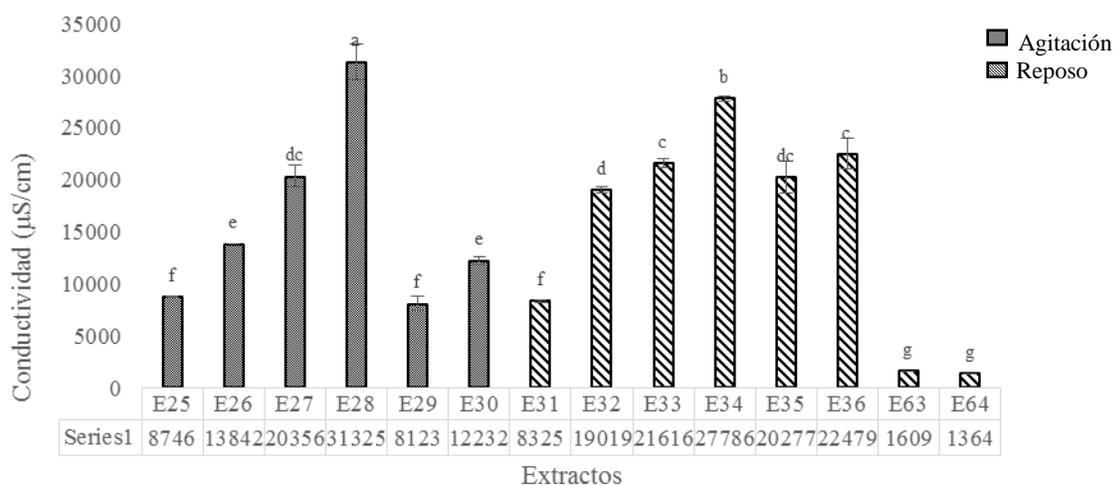
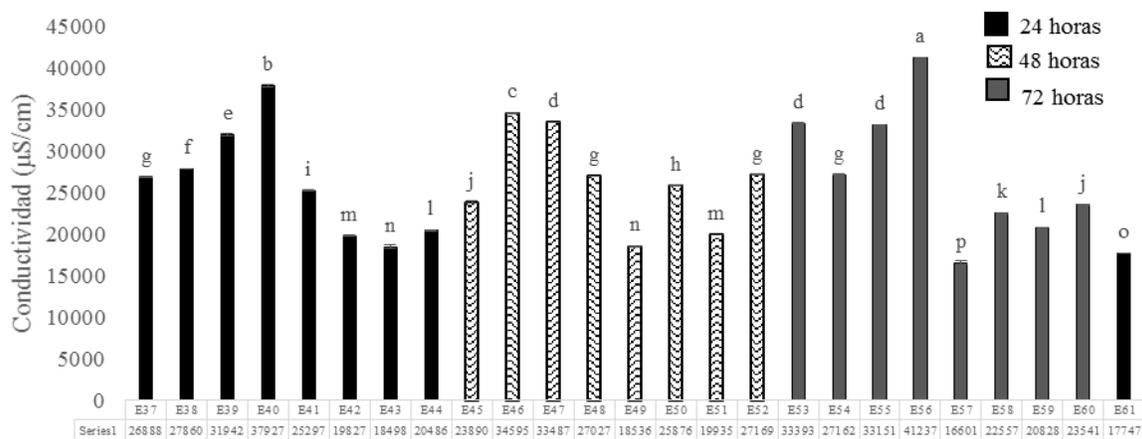


Figura 19. Conductividad de los extractos de *Ganoderma lucidum* (CP-145) obtenidos en la primera etapa a las 72 horas de maceración, cultivados en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico 10 mM. E25= Extracto de 10 g de píleo + 150 mL de solvente. E26= Extracto de 10 g de estípite + 150 mL de solvente. E27= Extracto de 10 g de píleo + 500 mL de solvente. E28= Extracto de 10 g de estípite + 500 mL de solvente. E29= Extracto de 10 g de píleo + 1000 mL de solvente. E30= Extracto de 10 g de estípite + 1000 mL de solvente. E31= Extracto de 10 g de píleo + 150 mL de solvente. E32= Extracto de 10 g de estípite + 150 mL de solvente. E33= Extracto de 10 g de píleo + 500 mL de solvente. E34= Extracto de 10 g de estípite + 500 mL de solvente. E35= Extracto de 10 g de píleo + 1000 mL de solvente. E36= Extracto de 10 g de estípite + 1000 mL de solvente. E63= Extracto de 10 g de píleo + 150 mL de solvente, 24 horas de maceración (Control 1). E64= Extracto de 10 g de estípite + 150 mL de solvente, 24 horas de maceración (Control 2). Las letras sobre las barras corresponden a la Prueba de Duncan $\alpha= 0.05$. Las medias con la misma letra son similares.

Los valores de conductividad eléctrica de los extractos de la segunda etapa se muestran en la figura 20. Se puede observar el valor mayor en el extracto de 72 horas de

maceración E56 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 500 mL de solvente hidroalcohólico al 32%) macerado por 72 h y filtrado por Sterifil con un valor de $41237 \pm 20.13 \mu\text{S/cm}$. Mientras que el valor menor se observa en el extracto de 72 horas de maceración filtrado por Sterifil E57 (10 g de basidiocarpo con píleo cultivado en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente hidroalcohólico al 32 %) macerado por 72 horas y filtrado por poro convencional con un valor de $16601 \pm 1.46 \mu\text{S/cm}$.



Extractos

Figura 20. Conductividad de los extractos de basidiocarpo con píleo de *Ganoderma lucidum* (CP-145) en la segunda etapa. E37= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E38= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E39= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E40= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E41= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional (control 3). E42= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E43= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado convencional (control 4). E44= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E45= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementada con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E46= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E47= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E48= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E49= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E50= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E51= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E52= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E53= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E54= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E55= 10 g de

muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E56= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente filtrado por Sterifil. E57= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E58= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E59= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E60= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E61= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional y dividido en 3 partes para su concentración (control 5). Las letras sobre las barras corresponden a la Prueba de Duncan $\alpha=0.05$. Las medias con la misma letra son similares.

Los valores de resistividad de los extractos de la primera etapa se muestran en la figura 21. Se puede observar el valor mayor en el extracto E29 (10 g de pñleo + 1000 mL de solvente) con un valor de 83 ± 4.58 . Mientras que los extractos con un valor menor se observa en los extractos E28 (10 g de estípite + 500 mL de solvente) con un valor de 20 ± 1 Ohm y E34 (10 g de estípite + 500 mL de solvente) con un valor de 22 ± 0 Ohm.

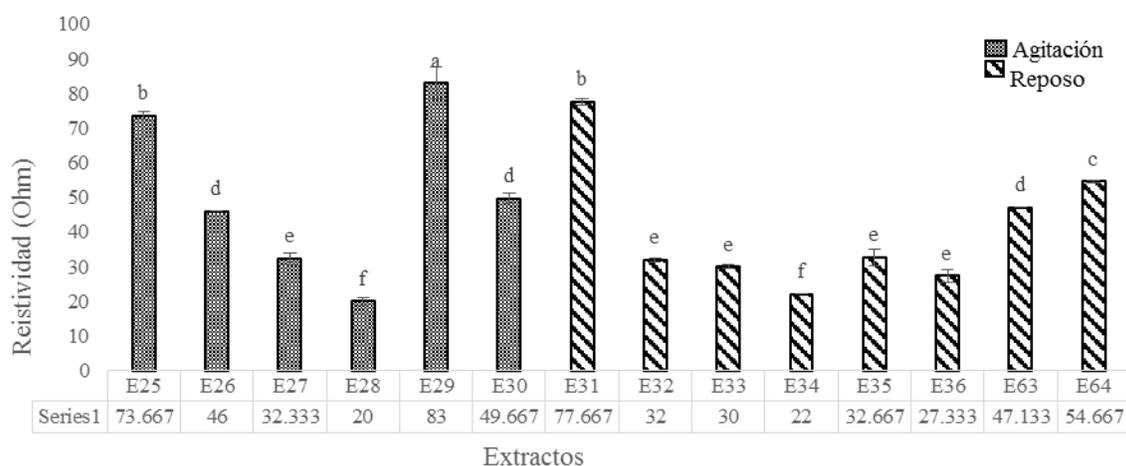


Figura 21. Resistividad de los extractos de *Ganoderma lucidum* (CP-145) obtenidos en la primera etapa a las 72 horas de maceración, cultivado en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico 10 mM. E25= 10 g de pñleo + 150 mL de solvente. E26= 10 g de estípite + 150 mL de solvente. E27= 10 g de pñleo + 500 mL de solvente. E28= 10 g de estípite + 500 mL de solvente. E29= 10 g de pñleo + 1000 mL de solvente. E30= 10 g de estípite + 1000 mL de solvente. E31= 10 g de pñleo + 150 mL de solvente. E32= 10 g de estípite + 150 mL de solvente. E33= 10 g de pñleo + 500 mL de solvente. E34= 10 g de estípite + 500 mL de solvente. E35= 10 g de pñleo + 1000 mL de solvente. E36= 10 g de estípite + 1000 mL de solvente. E63= 10 g de pñleo + 150 mL de solvente, 24 horas de maceración (Control 1). E64= 10 g de estípite + 150 mL de solvente, 24 horas de maceración (Control 2). Las letras sobre las barras corresponden a la Prueba de Duncan $\alpha=0.05$. Las medias con la misma letra son similares.

Los valores de resistividad de los extractos en la segunda etapa se muestran en la figura 22. Se puede observar el valor mayor en el extracto E57 (10 g de muestra cultivada en

aserrín de encino suplementada con AAS 10 mM +150 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 72 horas, filtrado por poro convencional con un valor de 35.3 ± 0.33 Ohm. Mientras que el valor menor se observa en el extracto E56 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 500 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 72 horas, filtrado por Sterifil con un valor de 14 ± 1 Ohm.

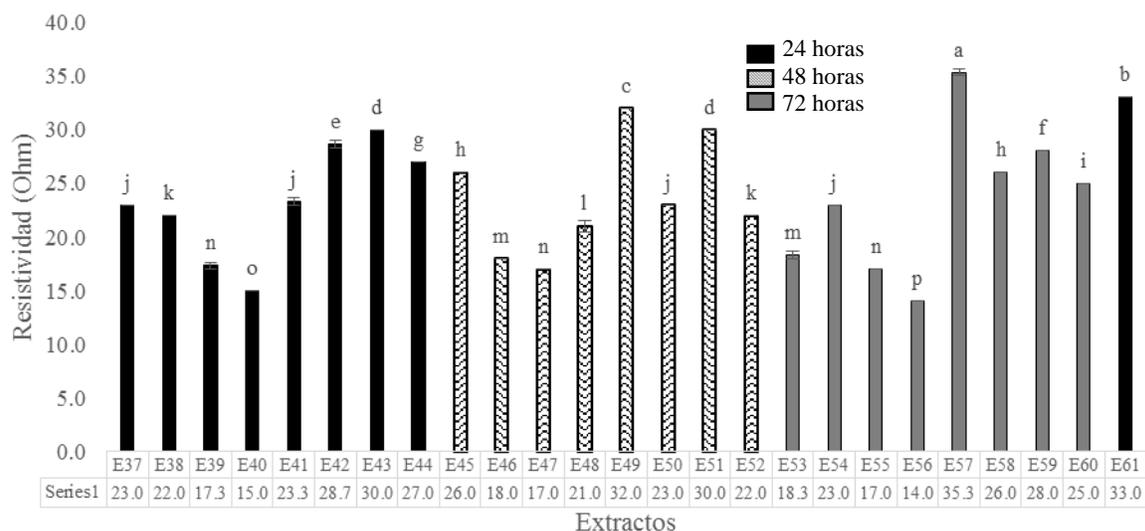


Figura 22. Resistividad de los extractos de 10 g de píleo de *Ganoderma lucidum* (CP-145) en la segunda etapa. E37= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E38= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E39= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E40= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E41= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional (control 3). E42= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E43= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado convencional (control 4). E44= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E45= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementada con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E46= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E47= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E48= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E49= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E50= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E51= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E52= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E53= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E54= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E55= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E56= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente filtrado por Sterifil. E57= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E58= 10 g de muestra

cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E59= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E60= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E61= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional y dividido en 3 partes para su concentración (control 5). Las letras sobre las barras corresponden a la Prueba de Duncan $\alpha=0.05$. Las medias con la misma letra son similares.

Los valores de grados Brix de los extractos de la primera etapa se muestran en la figura 23. Se puede observar el valor mayor en el extracto E35 (10 g de basidiocarpo con píceo + 1000 mL de solvente) en reposo con un valor de 15.87 ± 0.03 grados Brix, mientras que el extracto con un valor menor se observa en el extracto E32 (10 g de basidiocarpo con estípite + 150 mL de solvente) en agitación con un valor de 6.43 ± 0.06 grados Brix.

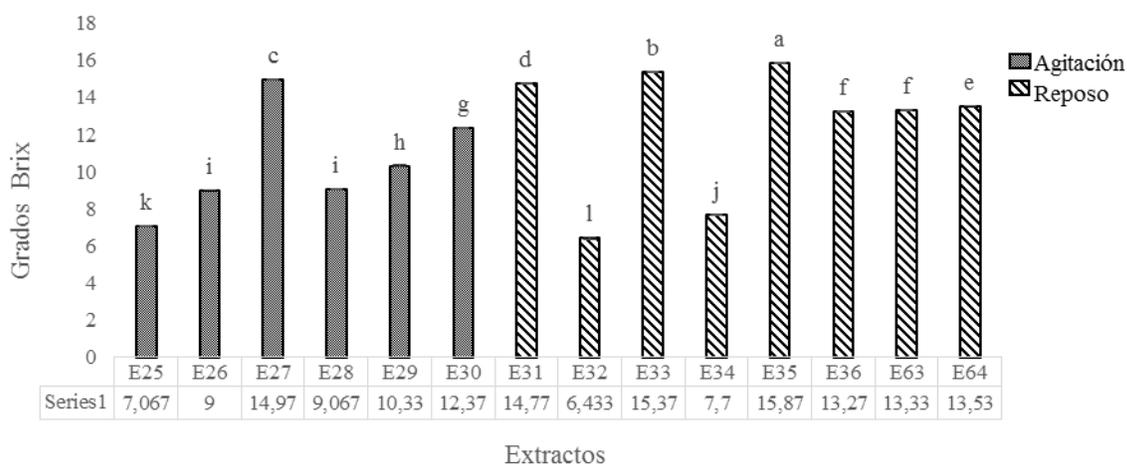


Figura 23. Grados Brix de los extractos de *Ganoderma lucidum* (CP-145) obtenidos en la primera etapa a las 72 horas de maceración, cultivado en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico 10 mM. E25= Extracto de 10 g de píceo + 150 mL de solvente. E26= Extracto de 10 g de estípite + 150 mL de solvente. E27= Extracto de 10 g de píceo + 500 mL de solvente. E28= Extracto de 10 g de estípite + 500 mL de solvente. E29= Extracto de 10 g de píceo + 1000 mL de solvente. E30= Extracto de 10 g de estípite + 1000 mL de solvente. E31= Extracto de 10 g de píceo + 150 mL de solvente. E32= Extracto de 10 g de estípite + 150 mL de solvente. E33 = Extracto de 10 g de píceo + 500 mL de solvente. E34= Extracto de 10 g de estípite + 500 mL de solvente. E35= Extracto de 10 g de píceo + 1000 mL de solvente. E36= Extracto de 10 g de estípite + 1000 mL de solvente. E63 = Extracto de 10 g de píceo + 150 mL de solvente, 24 horas de maceración (Control 1). E64 = Extracto de 10 g de estípite + 150 mL de solvente, 24 horas de maceración (Control 2). Las letras sobre las barras corresponden a la Prueba de Duncan $\alpha=0.05$ Las medias con la misma letra son similares.

Los valores de grados Brix de los extractos en la segunda etapa se muestran en la figura 24. Se puede observar el valor mayor de grados Brix en el extracto con un tiempo de maceración de 24 horas E43 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino +150 mL de

solvente) con un valor de 17.4 ± 0.11 grados Brix, y el valor menor se observa en el extracto E61 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino +150 mL de solvente) con un valor de 2.8 ± 0.00001 grados Brix.

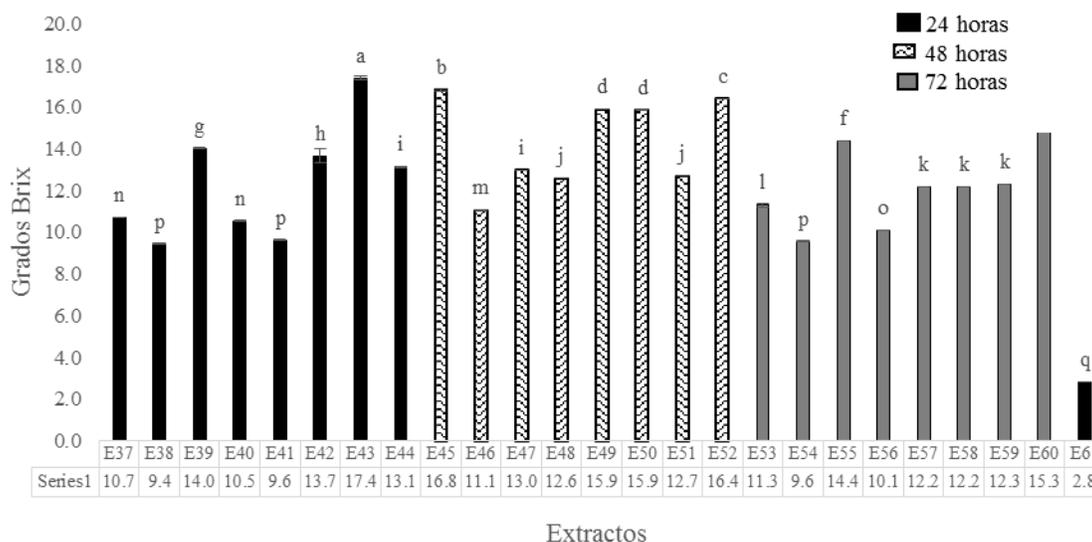


Figura 24. Grados Brix de los extractos de 10 g de píleo de *Ganoderma lucidum* (CP-145) en la segunda etapa. E37= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E38= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E39= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E40= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E41= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional (control 3). E42= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E43= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado convencional (control 4). E44= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E45= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementada con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E46= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E47= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E48= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E49= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E50= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E51= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E52= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E53= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E54= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E55= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E56= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente filtrado por Sterifil. E57= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E58= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por

Sterifil. E59= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E60= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E61= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional y dividido en 3 partes para su concentración (control 5). Las letras sobre las barras corresponden a la Prueba de Duncan $\alpha=0.05$. Las medias con la misma letra son similares.

El rendimiento de los extractos en la primera etapa se muestra en la figura 25. Se puede observar el valor mayor en el extracto E35 (10 g de basidiocarpo con píleo + 1000 mL de solvente) en reposo con un valor de 104.53 ± 0.54 mg/mL. Mientras que los valores menores se observan en los extractos E32 (10 g de estípite +150 mL de solvente) en reposo con un valor de 40.07 ± 0.46 mg/mL y el extracto control 2 E64 (10 g de estípite + 150 mL de solvente) en reposo con un valor de 40.07 ± 0.46 mg/mL.

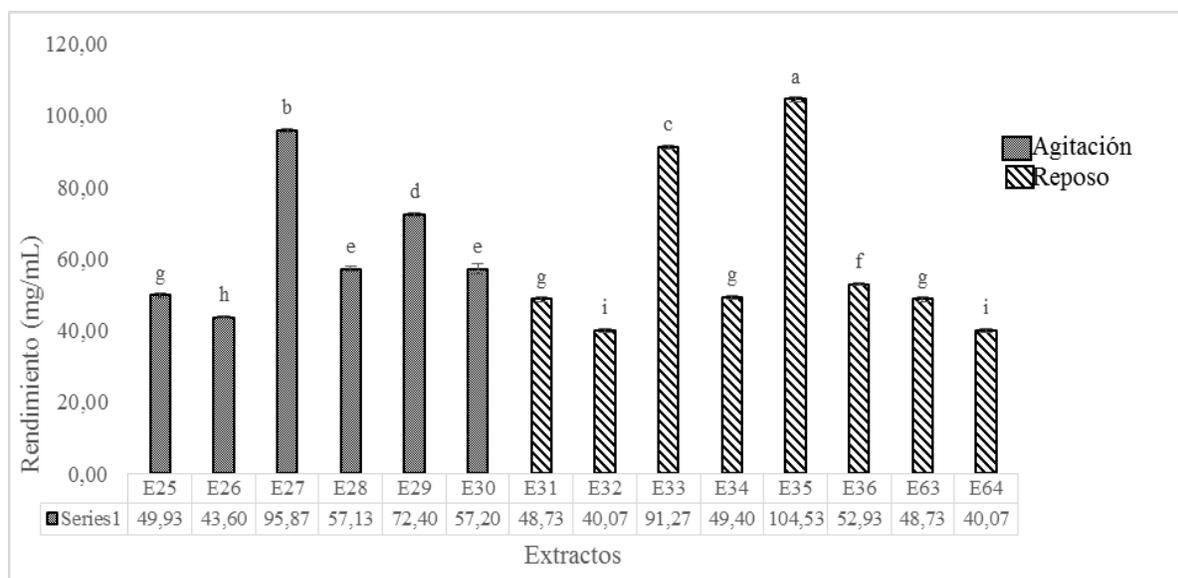


Figura 25. Rendimiento de los extractos de *Ganoderma lucidum* (CP-145) obtenidos en la primera etapa a las 72 horas de maceración, cultivado en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico 10 mM. E25= Extracto de 10 g de píleo + 150 mL de solvente. E26= Extracto de 10 g de estípite + 150 mL de solvente. E27= Extracto de 10 g de píleo + 500 mL de solvente. E28= Extracto de 10 g de estípite + 500 mL de solvente. E29= Extracto de 10 g de píleo + 1000 mL de solvente. E30= Extracto de 10 g de estípite + 1000 mL de solvente. E31= Extracto de 10 g de píleo + 150 mL de solvente. E32= Extracto de 10 g de estípite + 150 mL de solvente. E33 = Extracto de 10 g de píleo + 500 mL de solvente. E34= Extracto de 10 g de estípite + 500 mL de solvente. E35= Extracto de 10 g de píleo + 1000 mL de solvente. E36= Extracto de 10 g de estípite + 1000 mL de solvente. E63 = Extracto de 10 g de píleo + 150 mL de solvente, 24 horas de maceración (Control 1). E64= Extracto de 10 g de estípite + 150 mL de solvente, 24 horas de maceración (Control 2). Las letras sobre las barras corresponden a la Prueba de Duncan $\alpha=0.05$. Las medias con la misma letra son similares.

Los valores de rendimiento de los extractos en la segunda etapa se muestran en la figura 26. Se puede observar el valor mayor en el extracto con un tiempo de maceración de 72 horas E54 (10 g de basidiocarpo con píceo cultivado en ácido acetilsalicílico 10 mM + 500 mL de solvente hidroalcohólico al 32%) filtrado con Sterifil, con un valor de 137 ± 0.8 mg/mL. Mientras que el extracto con un valor menor se observa en el extracto E61 (basidiocarpo con píceo cultivado en aserrín de encino + 500 mL de solvente hidroalcohólico al 32%) filtrado convencionalmente y alicuotado (3 partes) antes de concentrar el cual presenta un valor de 27 ± 0.49 mg/mL.

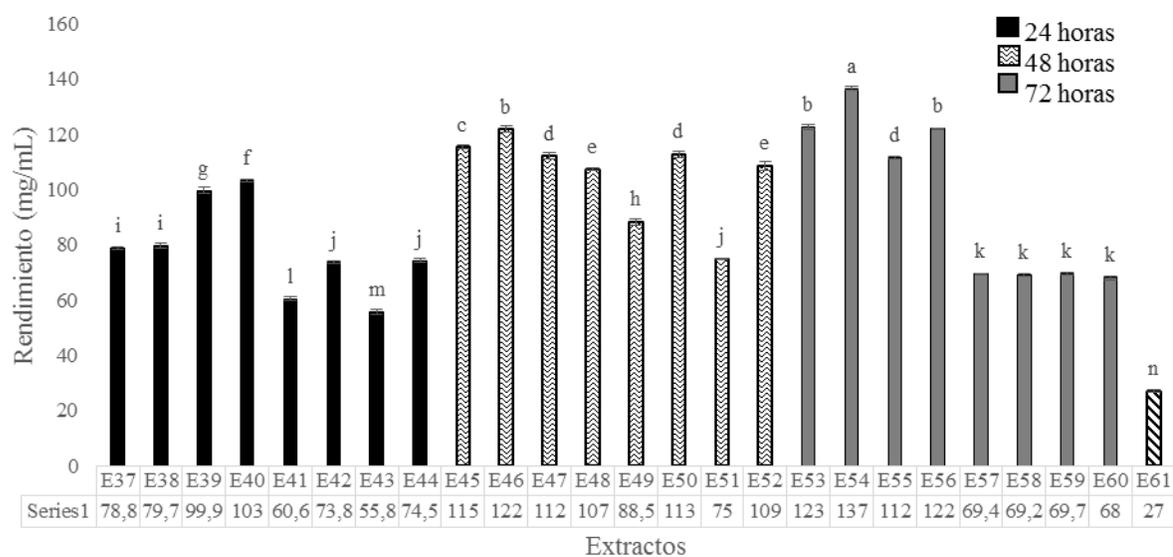


Figura 26. Rendimiento de los extractos de 10 g de píceo de *Ganoderma lucidum* (CP-145) en la segunda etapa. E37= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E38= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E39= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E40= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E41= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional (control 3). E42= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E43= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado convencional (control 4). E44= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E45= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementada con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E46= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E47= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E48= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E49= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E50= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E51= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado

convencional. E52= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E53= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E54= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E55= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E56= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente filtrado por Sterifil. E57= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E58= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E59= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E60= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E61= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional y dividido en 3 partes para su concentración (control 5). Las letras sobre las barras corresponden a la Prueba de Duncan $\alpha= 0.05$. Las medias con la misma letra son similares.

Los espectros de absorción del barrido de los extractos de la primera etapa por densidad óptica (D.O) se muestran en la figura 27. Se puede observar los picos en el espectro, el primero entre los 220-260 nm y el segundo entre los 340-380 nm. El segundo pico incrementa a medida que aumenta la concentración del extracto. Tal como puede observarse en el extracto E35 (10 g de píceo + 1000 mL de solvente en reposo). Mientras que este pico es muy tenue en el extracto E33 (10 g de píceo + 500 mL de solvente en reposo).

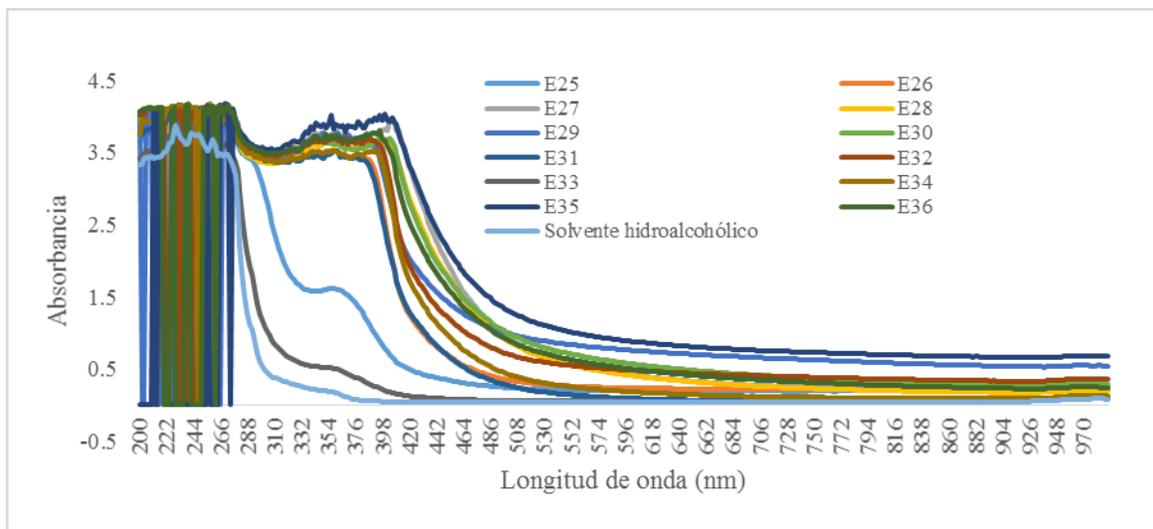


Figura 27. Espectro de absorción del barrido a una longitud de onda entre 200-1000 nm de los extractos de *Ganoderma lucidum* (CP-145) obtenidos en la primera etapa a las 72 horas de maceración, cultivado en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico 10 mM. E25= 10 g de píceo + 150 mL de solvente. E26= 10 g de estípite + 150 mL de solvente. E27= Extracto de 10 g de píceo + 500 mL de solvente. E28= 10 g de estípite + 500 mL de solvente. E29= 10 g de píceo + 1000 mL de solvente. E30= 10 g de estípite + 1000 mL de solvente. E31= 10 g de píceo + 150 mL de solvente. E32= 10 g de estípite + 150 mL de solvente. E33 = 10 g de píceo + 500 mL de solvente. E34= 10 g de estípite + 500 mL de solvente. E35= 10 g de píceo + 1000 mL de solvente. E36= 10 g

de estípite + 1000 mL de solvente. E63 = 10 g de pñleo + 150 mL de solvente, 24 horas de maceración (Control 1). E64 = 10 g de estípite + 150 mL de solvente, 24 horas de maceración (Control 2).

Los espectros de absorción del barrido de los extractos de la segunda etapa por densidad óptica (D.O) se muestran en la figura 28. Se puede observar los picos en el espectro, el primero entre los 220-266 nm y el segundo entre los 322-420 nm. El segundo pico incrementa a medida que aumenta la concentración del extracto. Tal como puede observarse en el extracto E58 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino, macerado en 150 mL de solvente), con un tiempo de maceración de 72 horas. Mientras que este pico es muy tenue en el extracto E61 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 500 mL de solvente, con un tiempo de maceración de 24 horas) alicuotado para su concentración.

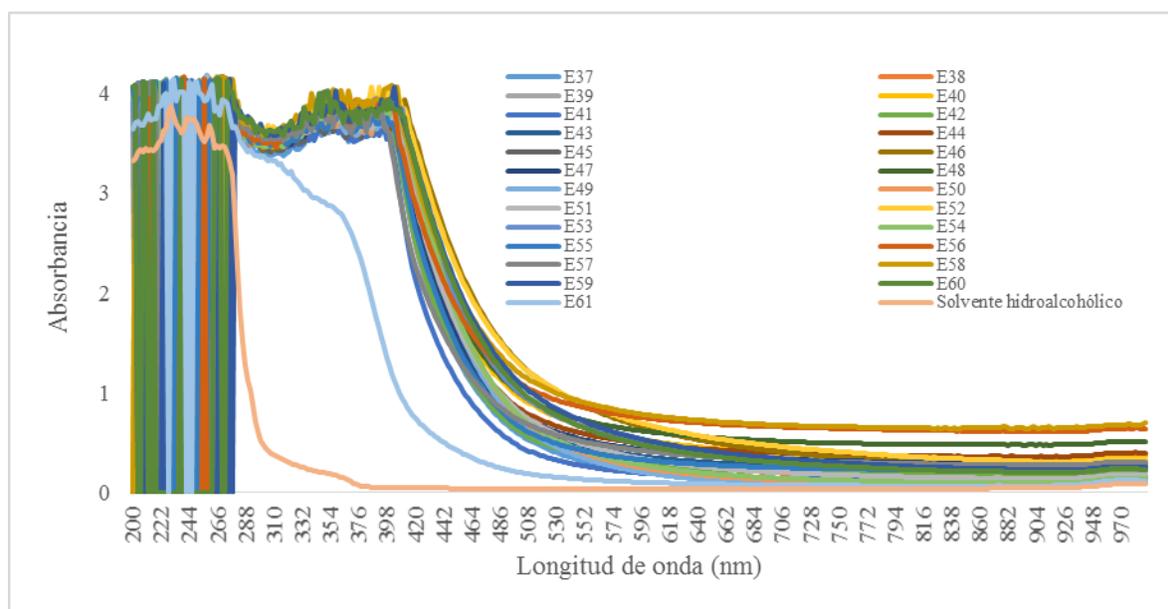


Figura 28. Espectro de absorción del barrido a una longitud de onda entre 200-1000 nm de los extractos de 10 g de pñleo de *Ganoderma lucidum* (CP-145) en la segunda etapa. E37= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E38= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E39= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E40= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E41= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional (control 3). E42= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E43= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado convencional (control 4). E44= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E45= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementada con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E46= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM +

500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E47= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E48= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E49= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E50= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM +150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E51= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E52= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E53= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E54= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E55= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E56= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente filtrado por Sterifil. E57= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E58= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E59= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E60= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E61= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional y dividido en 3 partes para su concentración (control 5).

8.1.3. Soluciones exploratorias

En el cuadro 33 se muestran los valores de pH de la solución exploratoria de 20 mg/mL de los extractos obtenidos en la segunda etapa. Se puede observar el valor mayor de pH en la solución exploratoria del extracto E59 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 72 horas con un valor de 6.08 ± 0.002 . Mientras que el valor menor corresponde a la solución exploratoria del extracto E61 ((10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 24 horas, alicuotado para su concentración con un valor de $\text{pH} = 5.46 \pm 0.03$.

Cuadro 33. pH de las soluciones exploratorias de 20 mg/mL de *Ganoderma lucidum* (CP-145) en la segunda etapa.

Cultivo	Volumen de solvente (mL)	Tiempo de maceración (horas)	Filtración	Clave	pH
AE + AAS 10 mM	500	24	Papel filtro	E37	5.89 ± 0.001^g
	500	24	Sterifil	E38	5.82 ± 0.002^h
AE	500	24	Papel filtro	E39	6 ± 0.002^d
	500	24	Sterifil	E40	6.03 ± 0.02^c
AE + AAS 10 mM	150	24	Papel filtro	E41	6.06 ± 0.002^b
	150	24	Sterifil	E42	6 ± 0.001^d
AE	150	24	Papel filtro	E43	6.07 ± 0.002^{ba}
	150	24	Sterifil	E44	6.06 ± 0.0005^b
AE + AAS 10 mM	500	48	Papel filtro	E45	5.73 ± 0.002^l
	500	48	Sterifil	E46	5.72 ± 0.0008^l
AE	500	48	Papel filtro	E47	5.81 ± 0.001^h
	500	48	Sterifil	E48	5.80 ± 0.0003^{ih}
AE + AAS 10 mM	150	48	Papel filtro	E49	5.62 ± 0.001^m
	150	48	Sterifil	E50	5.79 ± 0.002^{ij}
AE	150	48	Papel filtro	E51	5.99 ± 0.0005^d
	150	48	Sterifil	E52	5.93 ± 0.001^f
AE + AAS 10 mM	500	72	Papel filtro	E53	5.78 ± 0.004^j
	500	72	Sterifil	E54	5.79 ± 0.0003^j
AE	500	72	Papel filtro	E55	5.75 ± 0.0006^k
	500	72	Sterifil	E56	5.77 ± 0.0003^j
AE + AAS 10 mM	150	72	Papel filtro	E57	5.96 ± 0.003^e
	150	72	Sterifil	E58	5.89 ± 0.003^g
AE	150	72	Papel filtro	E59	6.08 ± 0.002^a
	150	72	Sterifil	E60	6.02 ± 0.001^c
	**500	24	Papel filtro	E61	5.46 ± 0.03^n

*Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha = 0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. **Extracto dividido en alícuotas de 3 durante la concentración en rotavapor. E= Extracto.

En el cuadro 34 se muestran los valores de pH de la solución exploratoria de 10 mg/mL de los extractos obtenidos en la segunda etapa. Se puede observar el valor mayor en la solución exploratoria del extracto E62 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 24 horas con un valor de pH= 6.19 ± 0.02 . Mientras que el valor menor corresponde a la solución exploratoria del extracto E61 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 500 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 24 horas, alicuotado para su concentración con un valor de pH = 5.46 ± 0.003 .

Cuadro 34. pH de las soluciones exploratorias de 10 mg/mL de *Ganoderma lucidum* (CP-145) en la segunda etapa.

Cultivo	Volumen de solvente (mL)	Tiempo de maceración (horas)	Filtración	Clave	pH
AE + AAS 10 mM	500	24	Papel filtro	E37	5.96 ± 0.001^h
	500	24	Sterifil	E38	5.91 ± 0.003^i
AE	500	24	Papel filtro	E39	6.101 ± 0.0006^{dc}
	500	24	Sterifil	E40	6.07 ± 0.003^e
AE + AAS 10 mM	150	24	Papel filtro	E41	6.08 ± 0.002^{de}
	150	24	Sterifil	E42	6.05 ± 0.0003^f
AE	150	24	Papel filtro	E43	6.104 ± 0.002^c
	150	24	Sterifil	E44	6.09 ± 0.0003^{dce}
AE + AAS 10 mM	500	48	Papel filtro	E45	6.04 ± 0.0006^f
	500	48	Sterifil	E46	5.95 ± 0.001^h
AE	500	48	Papel filtro	E47	6.13 ± 0.002^b
	500	48	Sterifil	E48	6.09 ± 0.0008^{dce}
AE + AAS 10 mM	150	48	Papel filtro	E49	5.77 ± 0.002^m
	150	48	Sterifil	E50	5.86 ± 0.002^j
AE	150	48	Papel filtro	E51	5.99 ± 0.007^g
	150	48	Sterifil	E52	5.97 ± 0.001^h
AE + AAS 10 mM	500	72	Papel filtro	E53	5.84 ± 0.008^k
	500	72	Sterifil	E54	5.83 ± 0.0008^{lk}
AE	500	72	Papel filtro	E55	5.81 ± 0.0003^l
	500	72	Sterifil	E56	5.82 ± 0.0006^{lk}
AE + AAS 10 mM	150	72	Papel filtro	E57	5.86 ± 0.0008^j
	150	72	Sterifil	E58	5.86 ± 0.0003^j
AE	150	72	Papel filtro	E59	5.81 ± 0.004^l
	150	72	Sterifil	E60	5.77 ± 0.0006^m
	**500	24	Papel filtro	E61	5.46 ± 0.003^n
	***150	24	Papel filtro	E62	6.19 ± 0.002^a

Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha = 0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. **Extracto dividido en alícuotas de 3 durante la concentración en rotavapor. E= Extracto. ***Solución exploratoria control.

En el cuadro 35 se muestran los valores de conductividad eléctrica de la solución exploratoria de 20 mg/mL de los extractos obtenidos en la segunda etapa. Se puede observar el valor mayor en la solución exploratoria del extracto E61(10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 500 mL de solvente) macerado por 24 horas y alicuotado para su concentración con un valor de $17746.77 \pm 1.6 \mu\text{S/cm}$.

Cuadro 35. Conductividad de las soluciones exploratorias de 20 mg/mL de *Ganoderma lucidum* (CP-145) en la segunda etapa.

Cultivo	Volumen de solvente (mL)	Tiempo de maceración (horas)	Filtración	Clave	Conductividad ($\mu\text{S/cm}$)
AE + AAS 10 mM	500	24	Papel filtro	E37	7222.2 ± 3.2^b
	500	24	Sterifil	E38	5971.2 ± 4.5^b
AE	500	24	Papel filtro	E39	3526.4 ± 5.5^b
	500	24	Sterifil	E40	5982.3 ± 6.5^b
AE + AAS 10 mM	150	24	Papel filtro	E41	5160 ± 2^b
	150	24	Sterifil	E42	5224.8 ± 17.9^b
AE	150	24	Papel filtro	E43	5873.6 ± 11.8^b
	150	24	Sterifil	E44	5985.9 ± 10.1^b
AE + AAS 10 mM	500	48	Papel filtro	E45	5016.1 ± 4.4^b
	500	48	Sterifil	E46	4931.3 ± 14^b
AE	500	48	Papel filtro	E47	4963.4 ± 17.7^b
	500	48	Sterifil	E48	4945.9 ± 59.4^b
AE + AAS 10 mM	150	48	Papel filtro	E49	7317.6 ± 10^b
	150	48	Sterifil	E50	7921.60 ± 9.3^b
AE	150	48	Papel filtro	E51	6051.87 ± 1.3^b
	150	48	Sterifil	E52	7607.5 ± 6.2^b
AE + AAS 10 mM	500	72	Papel filtro	E53	6192.7 ± 3.1^b
	500	72	Sterifil	E54	5301.3 ± 4.44^b
AE	500	72	Papel filtro	E55	5587.2 ± 6.4^b
	500	72	Sterifil	E56	5670.6 ± 17.4^b
AE + AAS 10 mM	150	72	Papel filtro	E57	6420.3 ± 13^b
	150	72	Sterifil	E58	6630.4 ± 5.5^b
AE	150	72	Papel filtro	E59	5920.8 ± 6.12^b
	150	72	Sterifil	E60	7536.4 ± 9.5^b
	**500	24	Papel filtro	E61	17746.77 ± 1.6^a

*Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha= 0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. **Extracto dividido en alícuotas de 3 durante la concentración en rotavapor. E= Extracto.

En el cuadro 36 se muestran los valores de conductividad eléctrica de la solución exploratoria de 10 mg/mL de los extractos obtenidos en la segunda etapa. Se puede observar el valor mayor en la solución exploratoria del extracto E61 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino 500 mL de solvente, alicuotado para su concentración el cual tiene un

valor de $10746.7 \pm 1 \mu\text{S/cm}$. Mientras que el valor menor se observa en la solución exploratoria del extracto E45 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente) macerado por 48 horas y filtrado convencionalmente con un valor de $2420.1 \pm 5.2 \mu\text{S/cm}$.

Cuadro 36. Conductividad de las soluciones exploratorias de 10 mg/mL de *Ganoderma lucidum* (CP-145) en la segunda etapa.

Cultivo	Volumen de solvente (mL)	Tiempo de maceración (horas)	Filtración	Clave	Conductividad ($\mu\text{S/cm}$)
AE + AAS 10 mM	500	24	Papel filtro	E37	3583.5 ± 14.2^f
	500	24	Sterifil	E38	3145.4 ± 3.2^i
AE	500	24	Papel filtro	E39	4850.7 ± 4.9^b
	500	24	Sterifil	E40	2721.6 ± 4.9^o
AE + AAS 10 mM	150	24	Papel filtro	E41	2814.6 ± 8.2^n
	150	24	Sterifil	E42	2724.9 ± 9.6^o
AE	150	24	Papel filtro	E43	3203.7 ± 10.4^h
	150	24	Sterifil	E44	3063.5 ± 41^k
AE + AAS 10 mM	500	48	Papel filtro	E45	2420.1 ± 5.2^r
	500	48	Sterifil	E46	2662 ± 27.4^p
AE	500	48	Papel filtro	E47	2480.5 ± 16.1^q
	500	48	Sterifil	E48	2756.9 ± 8.9^o
AE + AAS 10 mM	150	48	Papel filtro	E49	3617.5 ± 6.72^f
	150	48	Sterifil	E50	2974 ± 2.09^m
AE	150	48	Papel filtro	E51	3887.9 ± 3.4^d
	150	48	Sterifil	E52	3717.5 ± 0.8^e
AE + AAS 10 mM	500	72	Papel filtro	E53	3050.1 ± 40^l
	500	72	Sterifil	E54	2850.3 ± 0.5^n
AE	500	72	Papel filtro	E55	2980.3 ± 5.5^m
	500	72	Sterifil	E56	3746.3 ± 11.8^e
AE + AAS 10 mM	150	72	Papel filtro	E57	3318.1 ± 5.67^g
	150	72	Sterifil	E58	3131.27 ± 0.6^{ji}
AE	150	72	Papel filtro	E59	3906.27 ± 2.13^d
	150	72	Sterifil	E60	4504.47 ± 7.2^e
	**500	24	Papel filtro	E61	10746.7 ± 1^a

*Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha=0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. **Extracto dividido en alícuotas de 3 durante la concentración en rotavapor. E= Extracto.

En el cuadro 37 se muestran los valores de resistividad eléctrica de la solución exploratoria de 20 mg/mL de los extractos obtenidos en la segunda etapa. Se puede observar el valor mayor en la solución exploratoria del extracto E42 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente) macerado por 24 horas y filtrado por Sterifil con un valor de $446.3 \pm 334.3 \text{ Ohm}$.

Cuadro 37. Resistividad de las soluciones exploratorias de 20 mg/mL de *Ganoderma lucidum* (CP-145) en la segunda etapa.

Cultivo	Volumen de solvente (mL)	Tiempo de maceración (horas)	Filtración	Clave	Resistividad (Ohm)
AE + AAS 10 mM	500	24	Papel filtro	E37	83 ± 0 ^b
	500	24	Sterifil	E38	100.3 ± 0.3 ^b
AE	500	24	Papel filtro	E39	168.6 ± 0.3 ^b
	500	24	Sterifil	E40	99.3 ± 0.3 ^b
AE + AAS 10 mM	150	24	Papel filtro	E41	115 ± 0 ^b
	150	24	Sterifil	E42	446.3 ± 334.3 ^a
AE	150	24	Papel filtro	E43	100 ± 0.5 ^b
	150	24	Sterifil	E44	98.3 ± 0.33 ^b
AE + AAS 10 mM	500	48	Papel filtro	E45	118.3 ± 0.3 ^b
	500	48	Sterifil	E46	120.3 ± 0.88 ^b
AE	500	48	Papel filtro	E47	118 ± 1.1 ^b
	500	48	Sterifil	E48	118.3 ± 1.7 ^b
AE + AAS 10 mM	150	48	Papel filtro	E49	80.3 ± 0.3 ^b
	150	48	Sterifil	E50	74.33 ± 0.33 ^b
AE	150	48	Papel filtro	E51	98 ± 0 ^b
	150	48	Sterifil	E52	78 ± 0 ^b
AE + AAS 10 mM	500	72	Papel filtro	E53	95.6 ± 0.33 ^b
	500	72	Sterifil	E54	111 ± 0.57 ^b
AE	500	72	Papel filtro	E55	105.6 ± 0.33 ^b
	500	72	Sterifil	E56	103.6 ± 0.33 ^b
AE + AAS 10 mM	150	72	Papel filtro	E57	91.3 ± 0.33 ^b
	150	72	Sterifil	E58	88.6 ± 0.33 ^b
AE	150	72	Papel filtro	E59	100 ± 0 ^b
	150	72	Sterifil	E60	78.3 ± 0.33 ^b
	**500	24	Papel filtro	**E61	**33 ± 0 ^b

*Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha=0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. **Extracto dividido en alícuotas de 3 durante la concentración en rotavapor. E= Extracto.

En el cuadro 38 se muestran los valores de resistividad eléctrica de la solución exploratoria de 10 mg/mL de los extractos obtenidos en la segunda etapa. Se puede observar el valor mayor en la solución exploratoria del extracto E62 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente) con un valor de 256 ± 1.52 Ohm. Mientras que el valor menor se observa en la solución exploratoria del extracto E61 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 500 mL de solvente) macerado por 24 horas y alicuotado para su concentración con un valor de 23 ± 0.01 Ohm.

Cuadro 38. Resistividad de las soluciones exploratorias de 10 mg/mL de *Ganoderma lucidum* (CP-145) en la segunda etapa.

Cultivo	Volumen de solvente (mL)	Tiempo de maceración (horas)	Filtración	Clave	Resistividad (Ohm)
AE + AAS 10 mM	500	24	Papel filtro	E37	162.33± 0.88 ^k
	500	24	Sterifil	E38	184 ± 0.57 ⁱ
AE	500	24	Papel filtro	E39	119.33 ± 0.33 ^p
	500	24	Sterifil	E40	209.66 ± 1.45 ^c
AE + AAS 10 mM	150	24	Papel filtro	E41	201.3 ± 1.85 ^{ed}
	150	24	Sterifil	E42	210.3 ± 2.02 ^c
AE	150	24	Papel filtro	E43	178.6 ± 1.45 ^j
	150	24	Sterifil	E44	186.6 ± 3.3 ^h
AE + AAS 10 mM	500	48	Papel filtro	E45	235 ± 0.57 ^b
	500	48	Sterifil	E46	210 ± 5.1 ^c
AE	500	48	Papel filtro	E47	230.66 ± 3.7 ^b
	500	48	Sterifil	E48	213.3 ± 1.4 ^c
AE + AAS 10 mM	150	48	Papel filtro	E49	163 ± 0.57 ^k
	150	48	Sterifil	E50	197.33 ± 0.88 ^{ef}
AE	150	48	Papel filtro	E51	151 ± 0 ⁿ
	150	48	Sterifil	E52	157 ± 0 ^{lm}
AE + AAS 10 mM	500	72	Papel filtro	E53	193 ± 0.57 ^{gf}
	500	72	Sterifil	E54	204 ± 0.57 ^d
AE	500	72	Papel filtro	E55	198.33 ± 0.66 ^c
	500	72	Sterifil	E56	158.33 ± 0.66 ^{lk}
AE + AAS 10 mM	150	72	Papel filtro	E57	178.66 ± 0.33 ^j
	150	72	Sterifil	E58	190 ± 0 ^{gh}
AE	150	72	Papel filtro	E59	152.6 ± 0.33 ^{nm}
	150	72	Sterifil	E60	133.33 ± 0.33 ^o
	**500	24	Papel filtro	E61	23 ± 0 ^q
	***150	24	Papel filtro	E62	256 ± 1.52 ^a

*Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha= 0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico.

Extracto dividido en alícuotas de 3 durante la concentración en rotavapor. * Solución exploratoria control. E= Extracto.

En el cuadro 39 se muestran los valores de grados Brix de la solución exploratoria de 20 mg/mL de los extractos obtenidos en la segunda etapa. El valor mayor se observa en la solución exploratoria del extracto E51 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente) macerado por 48 horas y filtrado convencionalmente con un valor de 14.2 ± 0.03 grados Brix. Mientras que el valor menor lo presenta el extracto E61 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 500 mL de solvente) macerado por 24 horas filtrado por Sterifil con un valor de 2.8 ± 0 grados Brix.

Cuadro 39. Grados Brix de las soluciones exploratorias de 20 mg/mL de *Ganoderma lucidum* (CP-145) en la segunda etapa.

Cultivo	Volumen de solvente (mL)	Tiempo de maceración (horas)	Filtración	Clave	Grados Brix
AE + AAS 10 mM	500	24	Papel filtro	E37	12.2 ± 0.03 ^{mn}
	500	24	Sterifil	E38	12 ± 0 ^o
AE	500	24	Papel filtro	E39	12.9 ± 0.03 ^{geg}
	500	24	Sterifil	E40	12.3 ± 0 ^{ml}
AE + AAS 10 mM	150	24	Papel filtro	E41	13.6 ± 0.03 ^b
	150	24	Sterifil	E42	12.6 ± 0.03 ^j
AE	150	24	Papel filtro	E43	12.9 ± 0.05 ^{fhg}
	150	24	Sterifil	E44	13.2 ± 0 ^d
AE + AAS 10 mM	500	48	Papel filtro	E45	12.13 ± 0.06 ⁿ
	500	48	Sterifil	E46	12.3 ± 0 ^m
AE	500	48	Papel filtro	E47	13.3 ± 0.03 ^c
	500	48	Sterifil	E48	12.5 ± 0 ^k
AE + AAS 10 mM	150	48	Papel filtro	E49	10.9 ± 0.03 ^p
	150	48	Sterifil	E50	13 ± 0.03 ^e
AE	150	48	Papel filtro	E51	14.2 ± 0.03 ^a
	150	48	Sterifil	E52	12.8 ± 0 ^{ih}
AE + AAS 10 mM	500	72	Papel filtro	E53	12.9 ± 0 ^{fhg}
	500	72	Sterifil	E54	12.9 ± 0.03 ^{geg}
AE	500	72	Papel filtro	E55	12.7 ± 0.03 ^{ij}
	500	72	Sterifil	E56	12.8 ± 0.8 ^{ihg}
AE + AAS 10 mM	150	72	Papel filtro	E57	12.3 ± 0.08 ^l
	150	72	Sterifil	E58	12.3 ± 0 ^{ml}
AE	150	72	Papel filtro	E59	13 ± 0 ^{fe}
	150	72	Sterifil	E60	12.3 ± 0 ^{ml}
	**500	24	Papel filtro	**E61	**2.8 ± 0 ^q

*Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha=0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. **Extracto dividido en alícuotas de 3 durante la concentración en rotavapor. E= Extracto.

En el cuadro 40 se muestran los valores de grados Brix de la solución exploratoria de 10 mg/mL de los extractos obtenidos en la segunda etapa. El valor mayor se observa en la solución exploratoria del extracto E62 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente) con un valor de 13.8 ± 0.05 grados Brix. Mientras que el valor menor se observa en el extracto E61 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 500 mL de solvente) macerado por 24 horas alicuotada para su concentración con un valor de 2.8 ± 0 grados Brix.

Cuadro 40. Grados Brix de las soluciones exploratorias de 10 mg/mL de *Ganoderma lucidum* (CP-145) en la segunda etapa.

Cultivo	Volumen de solvente (mL)	Tiempo de maceración (horas)	Filtración	Clave	Brix
AE + AAS 10 mM	500	24	Papel filtro	E37	12.46 ± 0.03 ^{ikhj}
	500	24	Sterifil	E38	12.53 ± 0.08 ^{ighf}
AE	500	24	Papel filtro	E39	12.73 ± 0.03 ^{def}
	500	24	Sterifil	E40	12.56 ± 0.03 ^{ighef}
AE + AAS 10 mM	150	24	Papel filtro	E41	13 ± 0.03 ^c
	150	24	Sterifil	E42	12.6 ± 0.03 ^{ghf}
AE	150	24	Papel filtro	E43	11.46 ± 0.03 ^m
	150	24	Sterifil	E44	12.93 ± 0.03 ^{dc}
AE + AAS 10 mM	500	48	Papel filtro	E45	12.46 ± 0.06 ^{ikhj}
	500	48	Sterifil	E46	12.43 ± 0.06 ^{ikj}
AE	500	48	Papel filtro	E47	12.76 ± 0.13 ^{de}
	500	48	Sterifil	E48	12.5 ± 0 ^{ighj}
AE + AAS 10 mM	150	48	Papel filtro	E49	11.83 ± 0.06 ^l
	150	48	Sterifil	E50	12.76 ± 0.06 ^{de}
AE	150	48	Papel filtro	E51	13.46 ± 0.12 ^b
	150	48	Sterifil	E52	12.66 ± 0.03 ^{ghrf}
AE + AAS 10 mM	500	72	Papel filtro	E53	12.7 ± 0.05 ^{gef}
	500	72	Sterifil	E54	12.3 ± 0.15 ^{kj}
AE	500	72	Papel filtro	E55	12.66 ± 0.03 ^{ghef}
	500	72	Sterifil	E56	12.70 ± 0.05 ^{gef}
AE + AAS 10 mM	150	72	Papel filtro	E57	12.43 ± 0.06 ^{ikj}
	150	72	Sterifil	E58	12.26 ± 0.03 ^k
AE	150	72	Papel filtro	E59	12.6 ± 0.11 ^{ighef}
	150	72	Sterifil	E60	12.56 ± 0.03 ^{ighef}
	*500	24	Papel filtro	E61	2.8 ± 0 ⁿ
	***150	24	Papel filtro	E62	13.8 ± 0.05 ^a

Medias con la misma letra son similares de acuerdo a la prueba de Duncan $\alpha = 0.005$. AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. **Extracto dividido en alícuotas de 3 durante la concentración en rotavapor. * Solución exploratoria control de laboratorio. E= Extracto.

Los espectros de absorción del barrido de las soluciones exploratorias de 20 mg/mL por densidad óptica (D.O) se muestran en la figura 29. Se puede observar los picos en el espectro, el primero entre los 220-260 nm y el segundo entre los 340-380 nm. El segundo pico incrementa a medida que aumenta la concentración del extracto. Tal como puede observarse en el extracto E43= (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino, macerado en 150 mL de solvente), con un tiempo de maceración de 24 horas. Mientras que este pico es muy tenue en el extracto E56= (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino, macerado con 150 mL de solvente), con un tiempo de maceración de 72 horas.

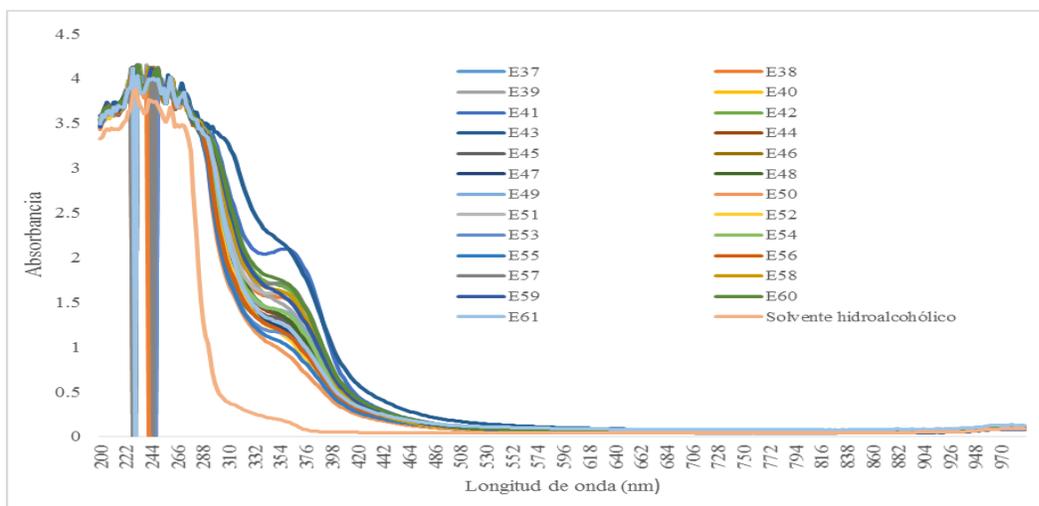


Figura 29. Espectro de absorción del barrido a una longitud de onda entre 200-1000 nm de las soluciones exploratorias de 20 mg/mL de extractos obtenidos en la segunda etapa. E37= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E38= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E39= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E40= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E41= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional (control 3). E42= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E43= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado convencional (control 4). E44= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E45= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementada con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E46= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E47= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E48= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E49= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E50= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM +150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E51= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E52= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E53= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E54= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E55= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E56= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente filtrado por Sterifil. E57= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E58= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E59= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E60= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E61= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional y dividido en 3 partes para su concentración (control 5).

Los espectros de absorción del barrido de las soluciones exploratorias de 10 mg/mL de los extractos de la segunda etapa por densidad óptica (D.O) se muestran en la figura 30. Se puede observar los picos en el espectro, el primero entre los 200-266 nm y el segundo entre los 322-376 nm. El segundo pico incrementa a medida que aumenta la concentración del extracto. Tal como puede observarse en el extracto E43 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino, macerado en 150 mL de solvente, con un tiempo de maceración de 24 horas). Mientras que este pico es muy tenue en el extracto E62 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino, macerado con 150 mL de solvente, con un tiempo de maceración de 24 horas).

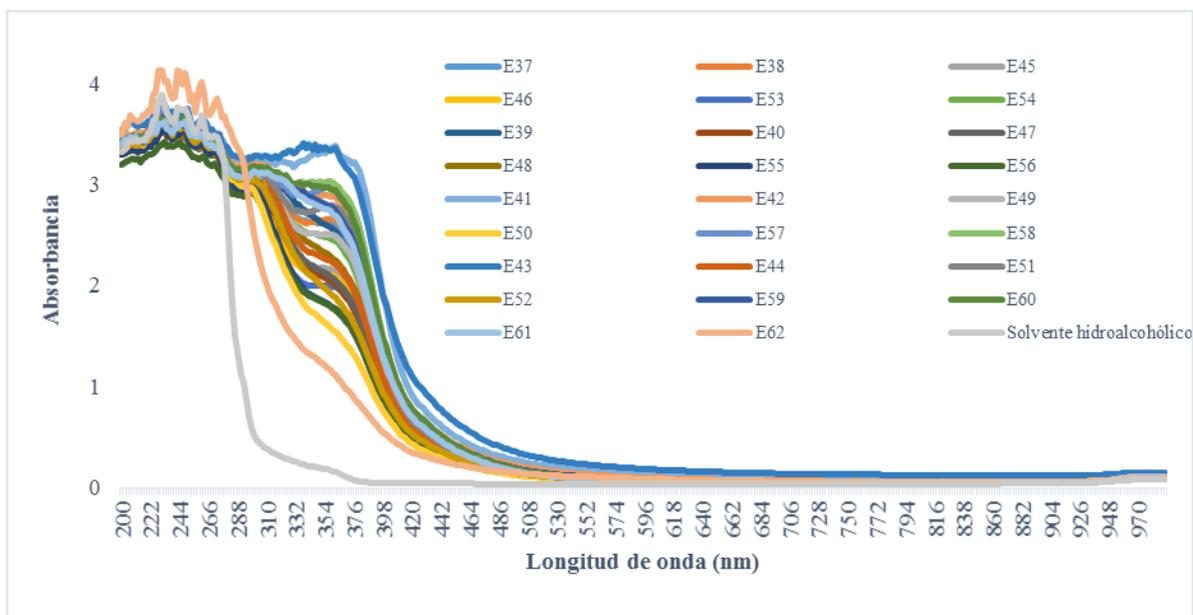


Figura 30. Espectro de absorción del barrido a una longitud de onda entre 200-1000 nm de las soluciones exploratorias de 10 mg/mL de extractos obtenidos en la segunda etapa. E37= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E38= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E39= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E40= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E41= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional (control 3). E42= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E43= 10 g de muestra cultivada en AE +150 mL de solvente, filtrado convencional (control 4). E44= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E45= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementada con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E46= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E47= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E48= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E49= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E50= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM +150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E51= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E52= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E53= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM +500 mL de solvente, filtrado convencional. E54= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E55= 10 g de muestra cultivada en AE +500 mL de solvente, filtrado convencional. E56= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente filtrado por Sterifil. E57= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E58= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E59= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E60= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E61= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional y dividido en 3 partes para su concentración (control 5).

8.2 Propiedades funcionales de las muestras líquidas

8.2.1 Polifenoles totales

En la figura 31 se muestran los valores de polifenoles totales de los extractos de la primera etapa. Se puede observar el valor mayor de polifenoles totales en el extracto E27 (10 g de basidiocarpo con píleo + 500 mL de solvente) en agitación con un valor de 1561.9 ± 6.5 mg EAG/10 g de hongo seco. Y los valores menores se observan en los extractos E29 (10 g píleo + 1000 mL de solvente) en agitación con un valor de 854.8 ± 1.9 mg EAG/10 g de hongo seco, E31 (10 g píleo + 150 mL de solvente) en reposo con un valor de 854.8 ± 2.6 mg EAG/10 g de hongo seco, E64 (10 g de estípite +150 mL de solvente) con un valor de 813.8 ± 5.1 mg EAG/10 g de hongo seco.

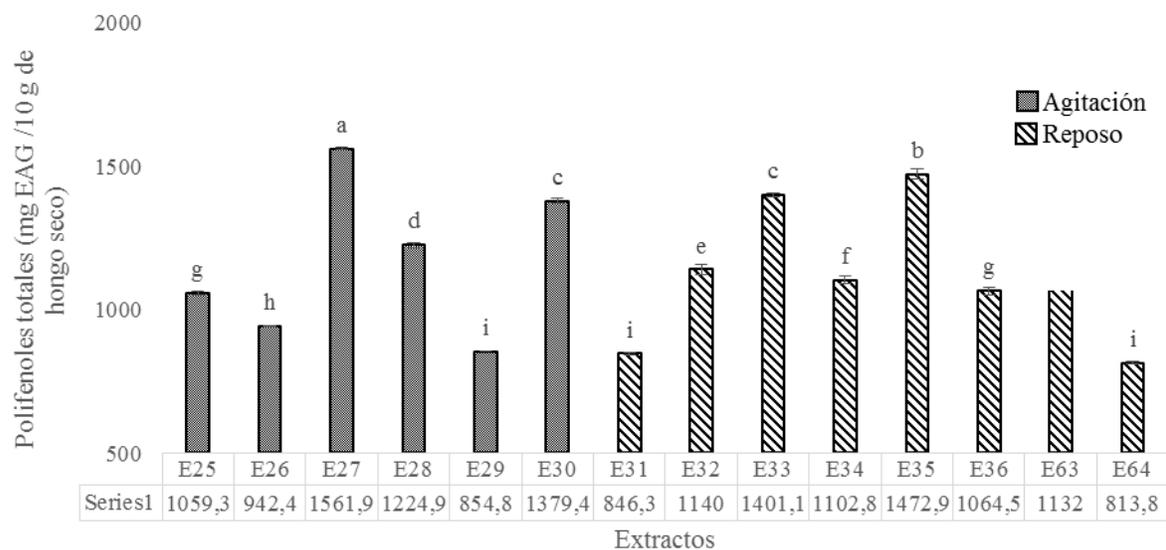


Figura 31. Polifenoles totales de los extractos de *Ganoderma lucidum* (CP-145) de la primera etapa obtenidos a las 72 horas de maceración, cultivado en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico 10 mM. E25= Extracto de 10 g de píleo + 150 mL de solvente. E26= Extracto de 10 g de estípite + 150 mL de solvente. E27= Extracto de 10 g de píleo + 500 mL de solvente. E28= Extracto de 10 g de estípite + 500 mL de solvente. E29= Extracto de 10 g de píleo + 1000 mL de solvente. E30= Extracto de 10 g de estípite + 1000 mL de solvente. E31= Extracto de 10 g de píleo + 150 mL de solvente. E32= Extracto de 10 g de estípite + 150 mL de solvente. E33 = Extracto de 10 g de píleo + 500 mL de solvente. E34= Extracto de 10 g de estípite + 500 mL de solvente. E35= Extracto de 10 g de píleo + 1000 mL de solvente. E36= Extracto de 10 g de estípite + 1000 mL de solvente. Las letras sobre las barras corresponden a la Prueba de Duncan $\alpha= 0.05$. Las medias con la misma letra son similares.

Los polifenoles totales obtenidos del extracto de *G. lucidum* durante la segunda etapa se muestran en la figura 32. Se puede observar el valor mayor en el extracto E54 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente) con un valor de 2400 ± 33.91 mg EAG/10 g de hongo seco. Mientras que el valor menor se presenta en el extracto E61 (10 g de píceo cultivado en aserrín de encino + 500 mL de solvente) con un valor de 528 ± 4.4 mg EAG/10 g de hongo seco.

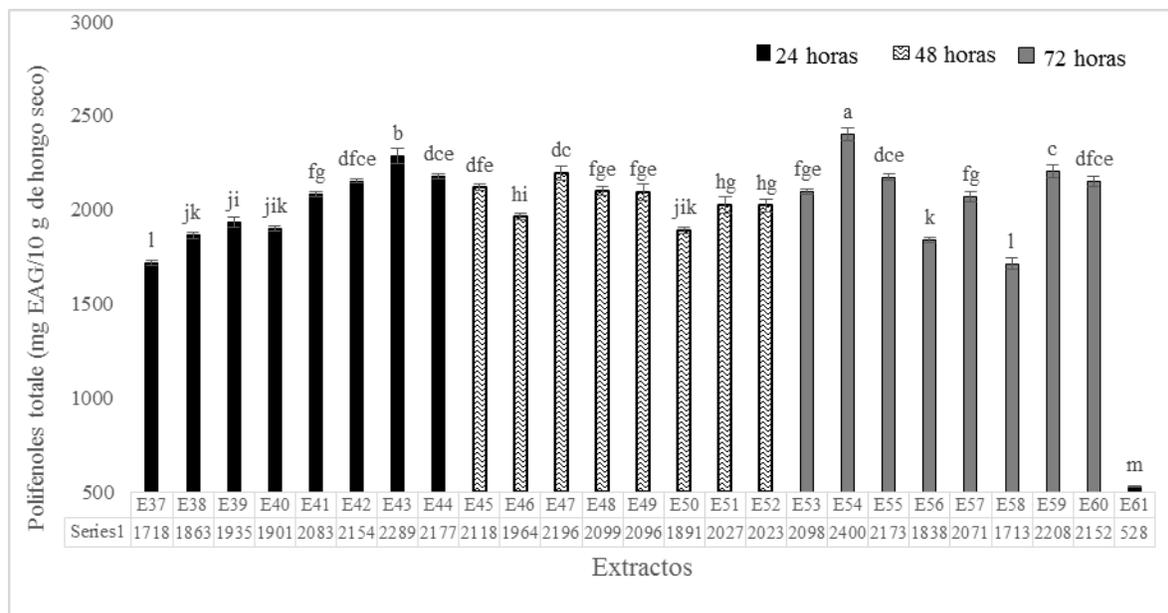


Figura 32. Polifenoles totales de los extractos de 10 g de píceo de *Ganoderma lucidum* (CP-145) en la segunda etapa. E37= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E38= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E39= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E40= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E41= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional (control 3). E42= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E43= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado convencional (control 4). E44= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E45= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementada con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E46= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E47= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E48= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E49= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E50= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E51= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E52= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E53= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con

AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E54= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E55= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E56= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente filtrado por Sterifil. E57= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E58= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM +150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E59= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E60= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E61= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional y dividido en 3 partes para su concentración (control 5). Las letras sobre las barras corresponden a la Prueba de Duncan $\alpha=0.05$. Las medias con la misma letra son similares.

En la figura 33 se muestran los valores de la solución exploratoria de 20 mg/mL. Se puede observar que el valor mayor en la solución exploratoria del extracto E43 (10 g de basidiocarpo con pñeo + 150 mL de solvente hidroalcohólico al 32%) con 24 horas de maceración, filtrado con papel filtro convencional con un valor de 645.07 ± 14.21 mg EAG/10 g de hongo seco. Mientras que el valor menor lo presenta la solución del extracto E50 (10 g de basidiocarpo con pñeo + 150 mL de solvente hidroalcohólico al 32%) con 48 horas de maceración filtrado por Sterifil con un valor de 295.03 ± 1.91 mg EAG/10 g de hongo seco

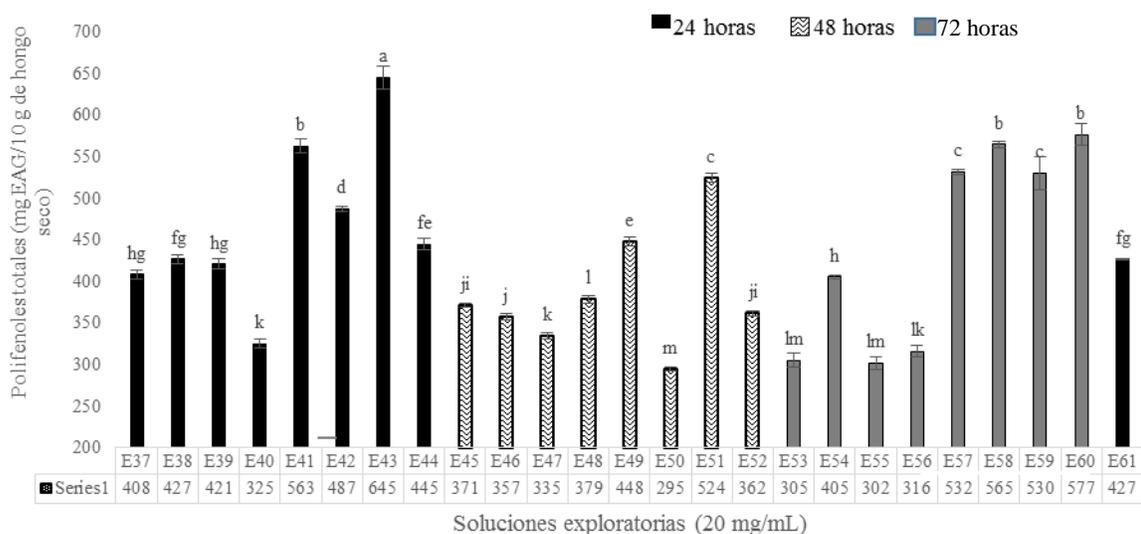


Figura 33. Polifenoles totales de la solución exploratoria de 20 mg/mL de los extractos de 10 g de píleo de *Ganoderma lucidum* (CP-145) obtenidos en la segunda etapa. E37= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E38= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E39= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E40= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E41= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional (control 3). E42= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E43= 10 g de muestra cultivada en AE +150 mL de solvente, filtrado convencional (control 4). E44= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E45= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementada con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E46= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E47= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E48= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E49= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E50= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E51= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E52= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E53= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E54= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E55= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E56= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente filtrado por Sterifil. E57= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E58= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E59= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E60= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E61= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional y dividido en 3 partes para su concentración (control 5). Las letras sobre las barras corresponden a la Prueba de Duncan $\alpha= 0.05$. Las medias con la misma letra son similares.

La figura 34 muestra los valores de polifenoles totales de la solución exploratoria de 10 mg/mL. Se puede observar el valor mayor en la solución exploratoria del extracto E43 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente) con 24 horas de maceración, filtrado con papel filtro convencional con un valor de 346.34 ± 7.81 mg EAG/10 g de hongo seco. Mientras que los valores menores se observan en las soluciones exploratorias de los extractos E50 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM) con un tiempo de maceración de 48 horas, filtrado con papel filtro convencional con un valor de 164.59 ± 2.26 mg EAG/10 g de hongo seco, la solución exploratoria del extracto E53 (10 g muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM +500 mL de solvente) con 72 horas de maceración, filtrado con papel filtro convencional con un valor de 171.46 ± 1.44 mg EAG/10 g de hongo seco, la solución exploratoria del extracto E55 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino +500 mL de solvente) con 72 horas de maceración, filtrado con papel filtro convencional la cual presenta un valor de 166.65 ± 6.31 mg EAG/10 g de hongo seco y la solución exploratoria del extracto E56 (10 g muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente) con 72 horas de maceración, filtrado con Sterifil la cual tiene un valor de 166.15 ± 3.59 mg EAG/10 g de hongo seco.

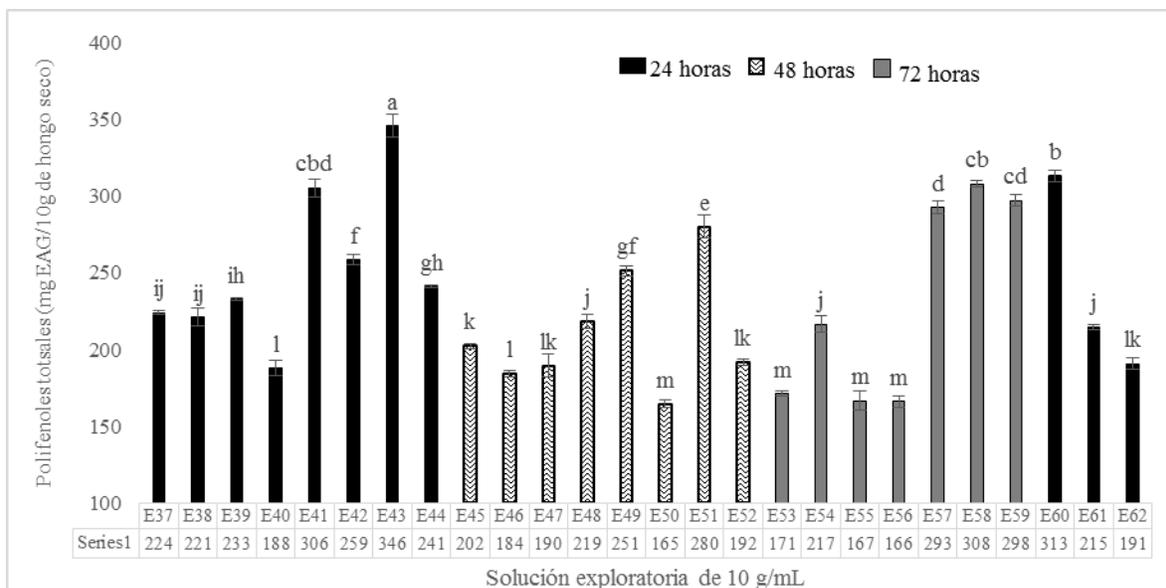


Figura 34. Polifenoles totales de la solución exploratoria de 10 mg/mL de los extractos de 10 g de púleo de *Ganoderma lucidum* (CP-145) obtenidos en la segunda etapa. E37= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E38= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E39= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E40= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E41= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional (control 3). E42= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E43= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado convencional (control 4). E44= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E45= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementada con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E46= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E47= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E48= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E49= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E50= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E51= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E52= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E53= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E54= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E55= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E56= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente filtrado por Sterifil. E57= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E58= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E59= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E60= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E61= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional y dividido en 3 partes para su concentración (control 5). Las letras sobre las barras corresponden a la Prueba de Duncan $\alpha = 0.05$. Las medias con la misma letra son similares.

8.2.2 Actividad antioxidante

La figura 35 muestra los valores de actividad antioxidante de los extractos de la segunda etapa. Se puede observar que los valores más altos se obtuvieron en los extractos E47 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 500 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 48 horas filtrado convencionalmente con un valor de $85.2 \pm 0.17\%$ y el extracto E48 (10 g de muestra cultivada aserrín de encino + 500 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 48 horas filtrado por Sterifil el cual presenta un valor de $85.2\% \pm 0.13\%$. Mientras que los valores de menor actividad antioxidante se observa en los extractos E45 (10 g de muestra cultivada aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 48 horas, filtrado convencionalmente, el cual presenta un valor de $77.6 \pm 0.64\%$ y el extracto E58 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 72 horas, filtrado por Sterifil, el cual presenta un valor de $78.8 \pm 1.36\%$.

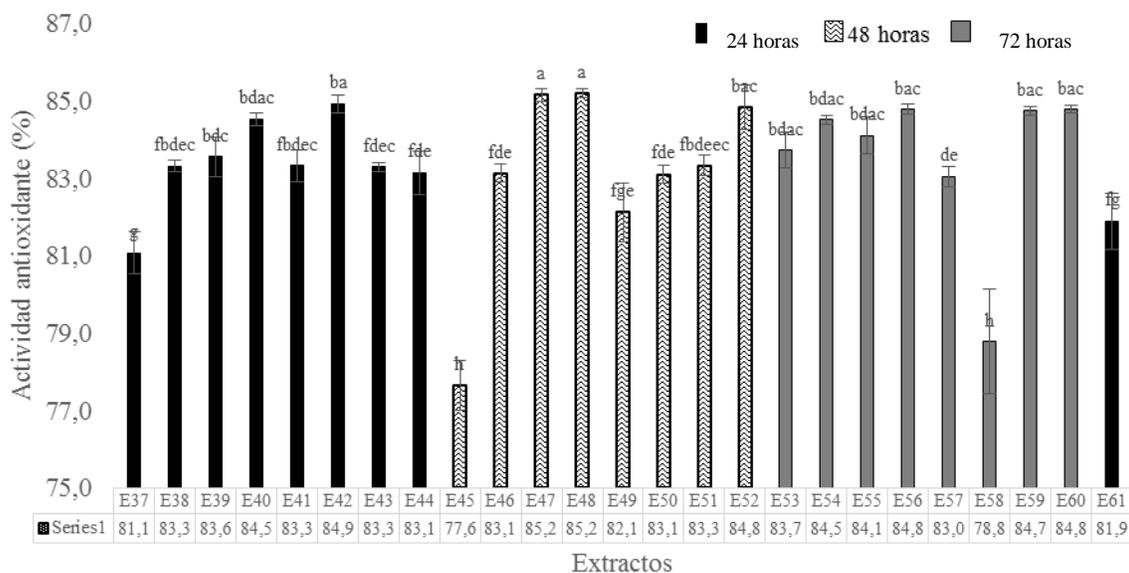


Figura 35. Actividad antioxidante de los extractos de 10 g de píleo de *Ganoderma lucidum* (CP-145) obtenidos en la segunda etapa. E37= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E38= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E39= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E40= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E41= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional (control 3). E42= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E43= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado convencional (control 4). E44= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E45= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementada con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E46= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E47= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E48= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E49= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E50= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E51= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E52= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E53= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E54= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E55= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E56= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente filtrado por Sterifil. E57= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E58= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E59= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E60= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E61= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional y dividido en 3 partes para su concentración (control 5). Las letras sobre las barras corresponden a la Prueba de Duncan $\alpha=0.05$. Las medias con la misma letra son similares.

La figura 36 muestra los valores de actividad antioxidante de las soluciones exploratorias de 20 mg/mL. Se puede observar los valores mayores en las soluciones exploratorias de los extractos E57 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 72 horas, filtrado convencionalmente con un valor de $86.5 \pm 0.2\%$, la solución exploratoria del extracto E59 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 72 horas, filtrado convencionalmente con un valor de $86.1 \pm 0.29\%$, la solución exploratoria de extracto E60 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 72 horas, filtrado por Sterifil con un valor de $86.1 \pm 0.11\%$ y la solución exploratoria del extracto E61 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 500 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 24 horas, filtrado convencionalmente alicuotado (3 partes) para su concentración. Mientras que el valor más bajo lo presenta la solución exploratoria del extracto E50 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico 10 mM + 150 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 48 horas, filtrado por Sterifil con un valor de $80.3 \pm 0.83\%$.

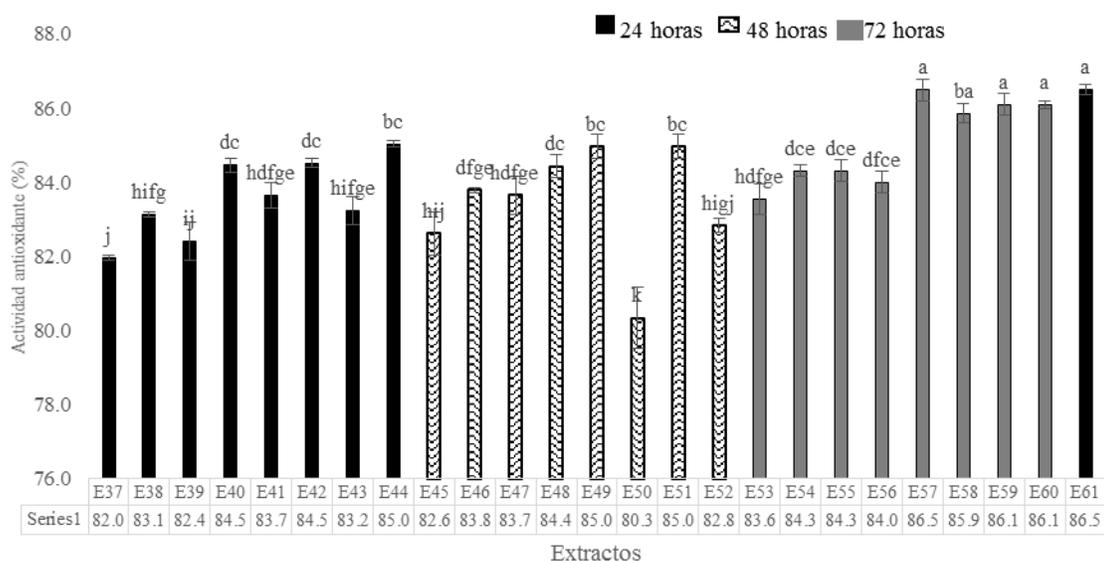


Figura 36. Actividad antioxidante de la solución exploratoria de 20 mg/mL de los extractos de 10 g de píleo de *Ganoderma lucidum* (CP-145) obtenidos en la segunda etapa. E37= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E38= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E39= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E40= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E41= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional (control 3). E42= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E43= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado convencional (control 4). E44= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E45= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementada con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E46= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E47= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E48= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E49= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E50= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E51= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E52= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E53= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E54= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E55= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E56= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente filtrado por Sterifil. E57= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E58= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E59= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E60= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E61= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional y dividido en 3 partes para su concentración (control 5). Las letras sobre las barras corresponden a la Prueba de Duncan $\alpha= 0.05$. Las medias con la misma letra son similares.

La figura 37 muestra los valores de actividad antioxidante de las soluciones exploratorias de 10 mg/mL. Se puede observar que el valor mayor en la solución exploratoria del extracto E61 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 500 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 24 horas, filtrado convencionalmente, alicuotado (tres partes) para su concentración con un valor de $86.6 \pm 0.14\%$. Mientras que el valor menor se presenta en la solución exploratoria del extracto E50 (10 g muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 48 horas, filtrado convencionalmente la cual presenta un valor de $77.7 \pm 0.17\%$.

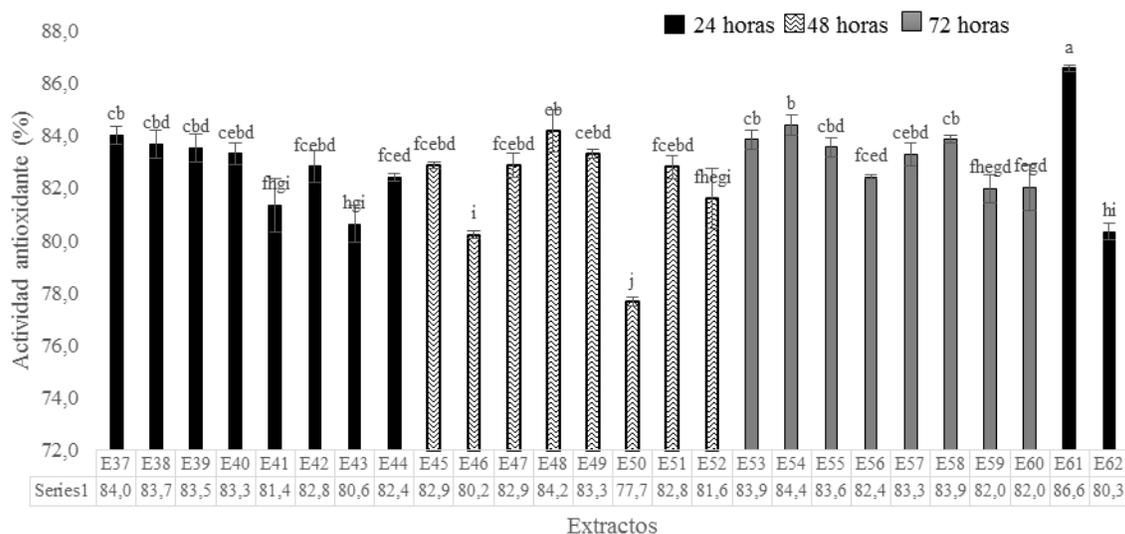


Figura 37. Actividad antioxidante de la solución exploratoria de 10 mg/mL de los extractos de 10 g de píleo de *Ganoderma lucidum* (CP-145) obtenidos en la segunda etapa. E37= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E38= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E39= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E40= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E41= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E42= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E43= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E44= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E45= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementada con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E46= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E47= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E48= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil.

E49= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E50= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E51= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E52= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E53= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E54= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 500 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E55= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional. E56= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente filtrado por Sterifil. E57= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E58= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E59= 10 g de muestra cultivada en aserrín de encino + 150 mL de solvente, filtrado convencional. E60= 10 g de muestra cultivada en AE + 150 mL de solvente, filtrado por Sterifil. E61= 10 g de muestra cultivada en AE + 500 mL de solvente, filtrado convencional y dividido en 3 partes para su concentración (control 5). Las letras sobre las barras corresponden a la Prueba de Duncan $\alpha= 0.05$. Las medias con la misma letra son similares.

8.3 Análisis estadístico SAS

El análisis de varianza (ANOVA) es la técnica estadística más usada en investigaciones. Aplicándose en situaciones donde existen varios grupos o tratamientos y se prueba la diferencia entre ellos. Se usó un diseño completamente al azar. La aplicación de la prueba de Duncan es más laboriosa que la prueba de Tukey, pero se llega a resultados más adecuados y se discrimina con mayor facilidad entre los tratamientos, dando resultados significativos en casos en que la prueba de Tukey no permite obtener significancia estadística. Es menos exigente que Tukey (Benítez *et al.*, 2002). En todos los experimentos las pruebas se realizaron por triplicado y los resultados se analizaron mediante un diseño experimental completamente al azar, los resultados se evaluaron mediante un análisis de varianza (ANOVA), y se aplicó la prueba de Duncan ($\alpha= 0.05$) ya que en la prueba de Tukey no se observó diferencia significativa entre los grupos, todos los análisis se realizaron con el programa SAS 9.4.

8.3.1 Prueba de Duncan

El cuadro 41 muestra los resultados de la diferencia de medias por la Prueba de Duncan $\alpha= 0.05$ de los macerados de las dos etapas con un valor de $F= 395.75$ y $Pr < 0.001$ para rendimiento, valor de $F= 620.66$ y $Pr < 0.001$ para polifenoles totales lo que lo hace

altamente significativo. De acuerdo a los resultados el macerado donde se obtiene un mayor rendimiento fue el M32 (10 g de píceo cultivado en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente) macerado por 72 horas en reposo y filtrado con filtro convencional con un valor de 8.32 ± 0.23 mg/mL. Para el contenido de polifenoles totales el mejor macerado fue el M57 (10 g de píceo cultivado en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente) macerado por 72 horas en reposo y filtrado convencionalmente con un valor de 301.21 ± 5.97 mg EAG/10 g de hongo seco. En contenido de sólidos solubles con un valor mayor es para el macerado M31 (10 g de píceo cultivado en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente) macerado por 72 horas en reposo y filtrado convencionalmente con un valor de 13.8 ± 0 grados Brix.

Cuadro 41. Prueba de Duncan para rendimiento, polifenoles totales y grados Brix de los macerados de *Ganoderma lucidum* (CP-145) en las dos etapas.

Clave	Rendimiento (mg/mL)	Polifenoles totales (mg EAG/10 g de hongo seco)	Sólidos solubles (Grados Brix)
M1	4.36 ± 0.11^k	S/M	13 ± 0^{jh}
M2	5.88 ± 0.1^{ih}	S/M	13 ± 0.03^{gih}
M3	2.3 ± 0.07^n	SM	13.2 ± 0^{mln}
M4	1.8 ± 0.03^{po}	S/M	12.8 ± 0^{mln}
M5	1.2 ± 0.2^{rq}	S/M	13.2 ± 0.03
M6	2.3 ± 0.18^n	S/M	12.5 ± 0^{sr}
M7	4.3 ± 0.05^k	S/M	13.3 ± 0^{dc}
M8	3.2 ± 0.07^m	S/M	12.9 ± 0^{jlk}
M9	0.48 ± 0.02^s	S/M	13.1 ± 0.03^{gfe}
M10	0.16 ± 0.02^s	S/M	12.6 ± 0^{prq}
M11	0.26 ± 0.02^s	20.7 ± 0.72^{gfe}	13.1 ± 0.03^c
M12	0.22 ± 0.02^s	34.06 ± 1.31^{prq}	12.6 ± 0^{prq}
M13	5.56 ± 0.1^i	113 ± 3.2^l	13.3 ± 0^{dc}
M14	6.36 ± 0.13^g	175.83 ± 8.19^{ih}	13.2 ± 0.03^{dce}
M15	2.54 ± 0.05^n	103.03 ± 3.68^m	13.3 ± 0^{dc}
M16	1.82 ± 0.02^{po}	88.1 ± 2.63^{nqpo}	12.9 ± 0^{jlk}
M17	3.16 ± 0.1^m	64.43 ± 0.75^v	13.2 ± 0^{dfe}
M18	4.66 ± 0.32^{kj}	63.26 ± 1.53^v	12.8 ± 0^{mln}
M19	6.48 ± 0.07^g	142 ± 0.73^k	13.6 ± 0.03^b
M20	4.3 ± 0.06^k	213.96 ± 3.99^{fg}	12.9 ± 0^{jlk}
M21	1.74 ± 0.23^{po}	76 ± 2.2^{rstu}	13.3 ± 0.03^c
M22	2.4 ± 0.08^n	44 ± 0.97^{xw}	12.8 ± 0^{mlk}
M23	1.04 ± 0.06^r	38.26 ± 0.87^{xy}	13.1 ± 0.03^{fe}

M24	1.24 ± 0.04 ^{rq}	32.73 ± 1.03 ^y	13.6 ± 0 ^b
M25	6.68 ± 0.21 ^{gfe}	167.26 ± 5.67 ^{ij}	13.3 ± 0 ^{dc}
M26	6 ± 0.2 ^h	234.76 ± 1.78 ^d	13.2 ± 0 ^{dfe}
M27	3.92 ± 0.13 ^l	117.23 ± 3.97 ^l	13.3 ± 0 ^{dc}
M28	3.6 ± 0.08 ^l	90.43 ± 1.55 ^{npo}	13 ± 0 ^{jih}
M29	4.94 ± 0.19 ^j	67.93 ± 2.14 ^{vtu}	13.1 ± 0.03 ^{fe}
M30	4.74 ± 0.05 ^j	69.93 ± 1.79	13 ± 0 ^{jih}
M31	7.3 ± 0.34 ^{dc}	239 ± 7.02 ^d	13.8 ± 0 ^a
M32	8.32 ± 0.23 ^a	256.33 ± 6.07 ^c	13.15 ± 0.05 ^{fe}
M33	2.6 ± 0.22 ^m	77.16 ± 0.92 ^{rst}	13.3 ± 0 ^{dc}
M34	2.32 ± 0.09 ⁿ	72.03 ± 1.86 ^{svtu}	12.9 ± 0.03 ^{jik}
M35	1.48 ± 0.02 ^{pq}	53.63 ± 0.52 ^w	13.2 ± 0 ^{fe}
M36	1.86 ± 0.05 ^{po}	49.96 ± 1.82 ^{xw}	13 ± 0 ^{jih}
M37	1.56 ± 0.07	85.114 ± 1.88 ^{rqpo}	12.6 ± 0.01 ^{prq}
M38	1.48 ± 0.04 ^{pq}	78.009 ± 2.94 ^{rsqt}	12.7 ± 0.03 ^{mon}
M39	0.96 ± 0.07 ^r	80.91 ± 2.38 ^{rsqp}	12.7 ± 0.03 ^{mon}
M40	1.28 ± 0.08 ^{rq}	89.412 ± 2.94 ^{npo}	12.8 ± 0 ^{mlk}
M41	7.28 ± 0.14 ^{dc}	221.316 ± 2.61 ^{efg}	13.1 ± 0 ^{fe}
M42	6.92 ± 0.1 ^{dfe}	273.246 ± 4.43 ^b	13.17 ± 0.03 ^{fe}
M43	8.4 ± 0.1 ^a	215.90 ± 1.39 ^{efg}	13 ± 0 ^{jih}
M44	7 ± 0.06 ^{dce}	183.19 ± 2.43 ^h	12.6 ± 0 ^{prq}
M45	1.56 ± 0.04	86.70 ± 1.62 ^{mnpqo}	12.6 ± 0.0 ^{rq}
M46	1.84 ± 0.07 ^{po}	89.22 ± 1.82 ^{npo}	12.73 ± 0.08 ^{on}
M47	1.48 ± 0.08 ^{pq}	92.19 ± 1.29 ^{no}	12.43 ± 0.06 ^s
M48	1.52 ± 0.1	97 ± 2.64 ^{nm}	12.5 ± 0.03 ^s
M49	7.28 ± 0.04 ^{dc}	257.7 ± 3.29 ^c	13 ± 0 ^{jih}
M50	7.32 ± 0.13 ^{dc}	271.79 ± 5.65 ^b	12.87 ± 0.03 ^{mlk}
M51	7.36 ± 0.11 ^c	211.07 ± 3.27 ^g	12.80 ± 0 ^{mlk}
M52	7.88 ± 0.1 ^b	274.01 ± 5.57 ^b	12.97 ± 0.06 ^{jik}
M53	2.32 ± 0.04	95.33 ± 3.02 ^{nmo}	12.7 ± 0.01 ^{pon}
M54	1.92 ± 0.04 ^o	93.55 ± 3.84 ^{nmo}	12.87 ± 0.03 ^{mlk}
M55	3.72 ± 0.08 ^l	224.22 ± 1.90 ^{ef}	12.5 ± 0.03 ^{rq}
M56	3.64 ± 0.07 ^l	222.65 ± 2.78 ^{ef}	12.5 ± 0 ^{sr}
M57	7 ± 0.06 ^{dce}	301.21 ± 5.97 ^a	13 ± 0 ^{jih}
M58	6.6 ± 0.1 ^{gf}	230.39 ± 3.63 ^{ed}	12.6 ± 0.03 ^{poq}
M59	7.2 ± 0.06 ^{dc}	268.22 ± 1.26 ^b	13.1 ± 0 ^{jih}
M60	7.84 ± 0.13 ^b	274.01 ± 5.57 ^b	12.5 ± 0 ^{sr}
**M61	2.36 ± 0.11 ⁿ	91.15 ± 2.40 ^{npo}	12.7 ± 0 ^{pon}

M= Macerado. S/M= Sin muestra. EAG= Equivalentes de ácido gálico.

El cuadro 42 muestra los resultados de la diferencia de medias de la Prueba de Duncan de los extractos obtenidos en las dos etapas con un valor de $F= 1193.68$ y $Pr= < 0.0001$ para rendimiento, para polifenoles totales un valor de $F= 81.29$ y $Pr < 0.0001$ y actividad antioxidante un valor de $F= 2.47$ y $Pr < 0.001$. Los resultados muestran que el extracto donde se obtiene un mayor contenido de compuestos bioactivos es el E54 (10 g de píleo cultivado en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM) macerado por 72 horas en reposo y filtrado por Sterifil. El cual tuvo un rendimiento de 136.76 ± 0.80 mg/mL, un contenido de polifenoles totales 2399.81 ± 33.91 mg EAG/10 g de hongo seco y una actividad antioxidante de $84.51 \pm 0.11\%$.

Cuadro 42. Diferencia de medias por la Prueba de Duncan $\alpha= 0.05$ para los extractos de *Ganoderma lucidum* (CP-145) obtenidos en la primera y segunda etapa.

Clave	Rendimiento (mg/mL)	Polifenoles totales (mg EAG/10 g de hongo seco)	Actividad antioxidante (%)
E25	49.93 ± 0.70^r	948.25 ± 104.5^{lk}	76.01 ± 0.81^{ba}
E26	43.6 ± 0.4^s	1037.2 ± 92.2^{lk}	86.41 ± 0.07^a
E27	95.86 ± 0.58^h	1481.4 ± 74^j	65.94 ± 3.34^{dc}
E28	57.13 ± 0.67^p	1152.8 ± 63.6^k	83.81 ± 0.14^{ba}
E29	72.2 ± 1^m	589.83 ± 264.91^{nm}	63.25 ± 19.40^d
E30	55.8 ± 1^p	1389.2 ± 12^j	81.12 ± 0.79^{ba}
E31	48.73 ± 0.74^r	894.4 ± 45.5^l	83.59 ± 0.26^{ba}
E32	40.06 ± 0.46^t	1145.65 ± 16.25^{lk}	76.4 ± 1.22^{ba}
E33	91.26 ± 0.56^i	686.35 ± 54^m	73.03 ± 1.01^{ba}
E34	49.4 ± 0.52^r	1091.1 ± 25.3^{lk}	82.53 ± 0.31^{ba}
E35	104.53 ± 0.54^f	125.47 ± 21.08^o	78.58 ± 1.24^{ba}
E36	52.93 ± 0.46^q	1064.5 ± 13^{lk}	76.16 ± 0.71^{ba}
E37	78.84 ± 0.54^k	1717.7 ± 15.93^i	81.06 ± 0.54^{ba}
E38	79.68 ± 0.86^k	1863.49 ± 16.78^{hig}	83.32 ± 0.14^{ba}
E39	99.85 ± 1.29^s	$1935.25 \pm 28.54^{fheig}$	83.55 ± 0.51^{ba}
E40	103.32 ± 0.63^f	1900.51 ± 13^{fhig}	84.52 ± 0.17^a
E41	60.6 ± 0.57^o	$2082.61 \pm 15.78^{fbdecg}$	83.33 ± 0.41^{ba}
E42	73.8 ± 0.33^{ml}	2154.19 ± 9.58^{bdec}	84.92 ± 0.23^a
E43	55.8 ± 1.09^p	2288.58 ± 40.46^{ba}	83.29 ± 0.13^{ba}
E44	74.46 ± 0.8^l	2176.65 ± 13.82^{bdc}	83.13 ± 0.56^{ba}
E45	115.48 ± 0.70^c	2118.4 ± 16.76^{fbdec}	77.64 ± 0.64^{ba}
E46	122 ± 1.21^b	$1964.02 \pm 14.68^{gfdeg}$	83.13 ± 0.23^{ba}

E47	112.16 ± 1.19 ^d	2196.3 ± 35.4 ^{bdac}	85.16 ± 0.17 ^a
E48	107.32 ± 0.51 ^e	2099.46 ± 23.48 ^{fbdec}	85.20 ± 0.13 ^a
E49	88.52 ± 1.18 ⁱ	2095.59 ± 45 ^{fbdec}	82.12 ± 0.76 ^{ba}
E50	112.88 ± 1 ^d	1890.68 ± 14.14 ^{fhig}	83.10 ± 0.24 ^{ba}
E51	74.96 ± 0.44 ^l	2026.83 ± 46 ^{fhdecg}	83.33 ± 0.27 ^{ba}
E52	108.68 ± 1.68 ^e	2013.31 ± 35.6 ^{fhdeg}	84.83 ± 0.58 ^a
E53	122.6 ± 0.87 ^b	2098.14 ± 14.16 ^{fbdec}	83.72 ± 0.46 ^{ba}
E54	136.76 ± 0.80 ^a	2399.81 ± 33.91 ^a	84.51 ± 0.11 ^a
E55	111.72 ± 0.44 ^d	2173.14 ± 15.69 ^{bdc}	84.11 ± 0.47 ^a
E56	122.12 ± 0.23 ^b	1837.7 ± 14.55 ⁱ	84.78 ± 0.14 ^a
E57	69.44 ± 0.33 ⁿ	2071.38 ± 25.40 ⁱ	83.04 ± 0.27 ^{ba}
E58	69.2 ± 0.53 ⁿ	1712.79 ± 29.67 ⁱ	78.78 ± 1.36 ^{ba}
E59	69.68 ± 0.37 ⁿ	2207.88 ± 32.87 ^{bac}	84.74 ± 0.12 ^a
E60	68.04 ± 0.54 ⁿ	2152.44 ± 25.57 ^{bdec}	84.78 ± 0.10 ^a
E61	27.04 ± 0.49 ^u	528.27 ± 4.40 ^{nm}	81.9 ± 0.73 ^{ba}
E63	48.73 ± 0.74 ^r	976.8 ± 157 ^{lk}	76.87 ± 0.62 ^{ba}
E64	40.06 ± 0.46 ^t	442.04 ± 36 ⁿ	776.83 ± 0.115 ^{ba}

E= Extracto. EAG= Equivalentes de ácido gálico.

El cuadro 43 muestra los resultados de la diferencia de medias por la prueba de Duncan $\alpha=0.05$ de las soluciones exploratorias con un valor de $Pr < 0.0001$ para polifenoles totales con diferencia significativa alta entre las soluciones. Para actividad antioxidante el valor de $Pr=0.7178$ y para solidos solubles un valor de $Pr < 0.9018$ lo que indica que no hay diferencia significativa entre las soluciones exploratorias. El análisis muestra que la solución exploratoria con mayor contenido de polifenoles totales es la solución exploratoria de 20 mg/ml del extracto E43 (10 g de píleo cultivado en aserrín de encino + 150 mL de solvente) macerado por 24 horas en reposo filtrado convencionalmente con un valor de 645.07 ± 14.21 mg EAG/10 g de hongo seco.

Cuadro 43. Prueba de Duncan para polifenoles totales y actividad antioxidante de las soluciones exploratorias de 20 mg/mL y 10 mg/mL de *Ganoderma lucidum* (CP-145).

Clave	Polifenoles totales (mg EAG/g de hongo seco)	Actividad antioxidante (%9)	Solidos solubles (Grados Brix)
E37-20mg/mL	408.156 ± 5.34 ^{gh}	81.97 ± 0.06 ^a	12.2 ± 0.03 ^b
E38-20mg/mL	426.563 ± 4.88 ^{gf}	83.14 ± 0.06 ^a	12 ± 0 ^b
E39-20mg/mL	420.656 ± 6.11 ^{gf}	82.42 ± 0.51 ^a	12.9 ± 0.03 ^b

E40-20mg/mL	324.68 ± 5.37 ^{lmk}	84.472 ± 0.19 ^a	12.3 ± 0 ^b
E41-20mg/mL	562.781 ± 8.22 ^{cbd}	83.66 ± 0.34 ^a	13.6 ± 0.03 ^b
E42-20mg/mL	487.125 ± 3.5 ^e	84.52 ± 0.11 ^a	12.6 ± 0.03 ^b
E43-20mg/mL	645.07 ± 14.21 ^a	83.234 ± 0.37 ^a	12.9 ± 0.05 ^b
E44-20mg/mL	444.563 ± 6.84 ^{jih}	85.04 ± 0.08 ^a	13.2 ± 0 ^b
E45-20mg/mL	371.063 ± 2.16 ^{jih}	82.62 ± 0.59 ^a	12.13 ± 0.06 ^b
E46-20mg/mL	357.375 ± 3.58 ^{jik}	83.80 ± 0.07 ^a	12.3 ± 0 ^b
E47-20mg/mL	334.875 ± 4.04 ^{ilmk}	83.65 ± 0.52 ^a	13.3 ± 0.03 ^b
E48-20mg/mL	378.938 ± 4.64 ^{ih}	84.4 ± 0.32 ^a	12.5 ± 0 ^b
E49-20mg/mL	447.75 ± 5.84 ^f	84.97 ± 0.33 ^a	10.9 ± 0.03 ^b
E50-20mg/mL	295.031 ± 1.91 ^{nm}	80.346 ± 0.83 ^a	13 ± 0.03 ^b
E51-20mg/mL	524.063 ± 5.43 ^d	84.97 ± 0.32 ^a	14.2 ± 0.03 ^b
E52-20mg/mL	361.875 ± 3.24 ^{jih}	82.83 ± 0.19 ^a	12.8 ± 0 ^b
E53-20mg/mL	305.031 ± 8.63 ^{nlm}	83.55 ± 0.4 ^a	12.9 ± 0 ^b
E54-20mg/mL	405.094 ± 2.38 ^{gh}	84.31 ± 0.16 ^a	12.9 ± 0.03 ^b
E55-20mg/mL	302.063 ± 7.87 ^{nm}	84.31 ± 0.29 ^a	12.7 ± 0.03 ^b
E56-20mg/mL	316.008 ± 7.41 ^{nlm}	84.01 ± 0.29 ^a	12.8 ± 0.8 ^b
E57-20mg/mL	531.563 ± 3.8 ^{cd}	86.49 ± 0.2 ^a	12.3 ± 0.08 ^b
E58-20mg/mL	565.031 ± 4.01 ^{cb}	85.86 ± 0.26 ^a	12.3 ± 0 ^b
E59-20mg/mL	530.031 ± 19.52 ^{cd}	86.10 ± 0.29 ^a	13 ± 0 ^b
E60-20mg/mL	576.75 ± 13.6 ^b	86.09 ± 0.11 ^a	12.3 ± 0 ^b
E61-20mg/mL	427.061 ± 0.8 ^{gf}	86.50 ± 0.15 ^a	2.8 ± 0 ^b
E37-10mg/mL	224.28 ± 0.87 ^{uv}	84.01 ± 0.33 ^a	12.46 ± 0.03 ^b
E38-10mg/mL	221.03 ± 5.76 ^{qstr}	83.68 ± 0.53 ^a	12.53 ± 0.08 ^b
E39-10mg/mL	232.844 ± 0.97 ^{qstr}	83.54 ± 0.54 ^a	12.73 ± 0.03 ^b
E40-10mg/mL	187.969 ± 4.96 ^{uv}	83.32 ± 0.42 ^a	12.56 ± 0.03 ^b
E41-10mg/mL	305.781 ± 5.75 ^{nlm}	81.36 ± 1.03 ^a	13 ± 0.03 ^b
E42-10mg/mL	258.906 ± 3.11 ^{qpo}	82.84 ± 0.6 ^a	12.6 ± 0.03 ^b
E43-10mg/mL	346.344 ± 7.81 ^{jhk}	80.63 ± 0.71 ^a	11.46 ± 0.03 ^b
E44-10mg/mL	241.219 ± 0.74 ^{qspr}	82.42 ± 0.14 ^a	12.93 ± 0.03 ^b
E45-10mg/mL	202.344 ± 1.85 ^{uvst}	82.89 ± 0.12 ^a	12.46 ± 0.06 ^b
E46-10mg/mL	184.219 ± 1.8 ^{uv}	80.22 ± 0.13 ^a	12.43 ± 0.06 ^b
E47-10mg/mL	189.594 ± 7.29 ^{uv}	82.87 ± 0.45 ^a	12.76 ± 0.13 ^b

E48-10mg/mL	218.719 ± 4.65 ^{uqstr}	84.18 ± 0.79 ^a	12.5 ± 0 ^b
E49-10mg/mL	251.469 ± 3.52 ^{qpr}	83.32 ± 0.18 ^a	11.83 ± 0.06 ^b
E50-10mg/mL	164.594 ± 2.26 ^v	77.69 ± 0.17 ^a	12.76 ± 0.06 ^b
E51-10mg/mL	280.469 ± 7.75 ^{npo}	82.81 ± 0.44 ^a	13.46 ± 0.12 ^b
E52-10mg/mL	191.594 ± 1.96 ^{uvt}	81.62 ± 1.16 ^a	12.66 ± 0.03 ^b
E53-10mg/mL	171.469 ± 1.44 ^v	83.85 ± 0.38 ^a	12.7 ± 0.05 ^b
E54-10mg/mL	216.781 ± 5.22 ^{ustr}	84.41 ± 0.41 ^a	12.3 ± 0.15 ^b
E55-10mg/mL	166.656 ± 6.31 ^v	83.56 ± 0.36 ^a	12.66 ± 0.03 ^b
E56-10mg/mL	166.156 ± 3.59 ^v	82.43 ± 0.06 ^a	12.70 ± 0.05 ^b
E57-10mg/mL	292.969 ± 3.97 ^{nmo}	83.29 ± 0.45 ^a	12.43 ± 0.06 ^b
E58-10mg/mL	308.344 ± 2.23 ^{nlm}	83.86 ± 0.16 ^a	12.26 ± 0.03 ^b
E59-10mg/mL	297.531 ± 3.83 ^{nmo}	81.99 ± 0.53 ^a	12.6 ± 0.11 ^b
E60-10mg/mL	313.156 ± 3.7 ^{nlm}	82.04 ± 0.88 ^a	12.56 ± 0.03 ^b
E61-10mg/mL	214.939 ± 1.6 ^{ustr}	86.57 ± 0.14 ^a	2.8 ± 0 ^b
E62-10mg/mL	190.844 ± 3.47 ^{uvt}	80.34 ± 0.32 ^a	13.8 ± 0.05 ^b

E= Extracto.

8.3.2 Análisis de componentes principales

El Análisis de Componentes Principales (ACP) es una técnica estadística de síntesis de la información, o reducción de la dimensión (número de variables). Es decir, ante un banco de datos con muchas variables, el objetivo será reducirlas a un menor número perdiendo la menor cantidad de información posible (Ciarleglio *et al.*, 2015). La figura 38 muestra los resultados de los componentes principales de todas las muestras.

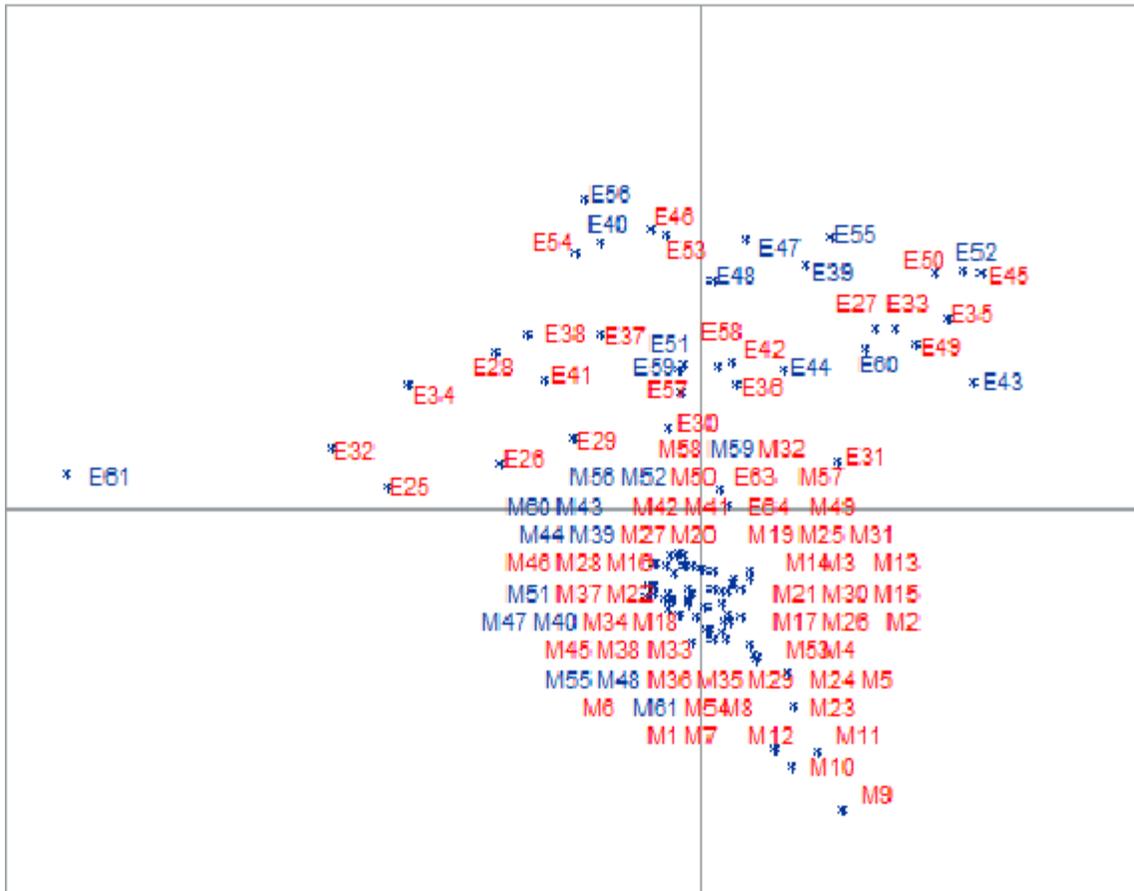


Figura 38. Análisis de componentes principales (pH, conductividad, resistividad, grados Brix, actividad antioxidante y polifenoles totales) de las muestras de *Ganoderma lucidum* (CP-145).

8.4 Efecto bacteriostático del extracto sobre *Escherichia coli*

La solución exploratoria de 20 mg/mL del extracto E41 (10 g de píleo cultivado en aserrín de encino + 150 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 24 horas no presenta efecto bacteriostático sobre *E. coli*. Sin embargo, puede observarse que hubo una disminución del 11% con respecto al control de crecimiento bacteriano. En la figura 39 se muestran las diferentes diluciones de la solución y el crecimiento de la bacteria.

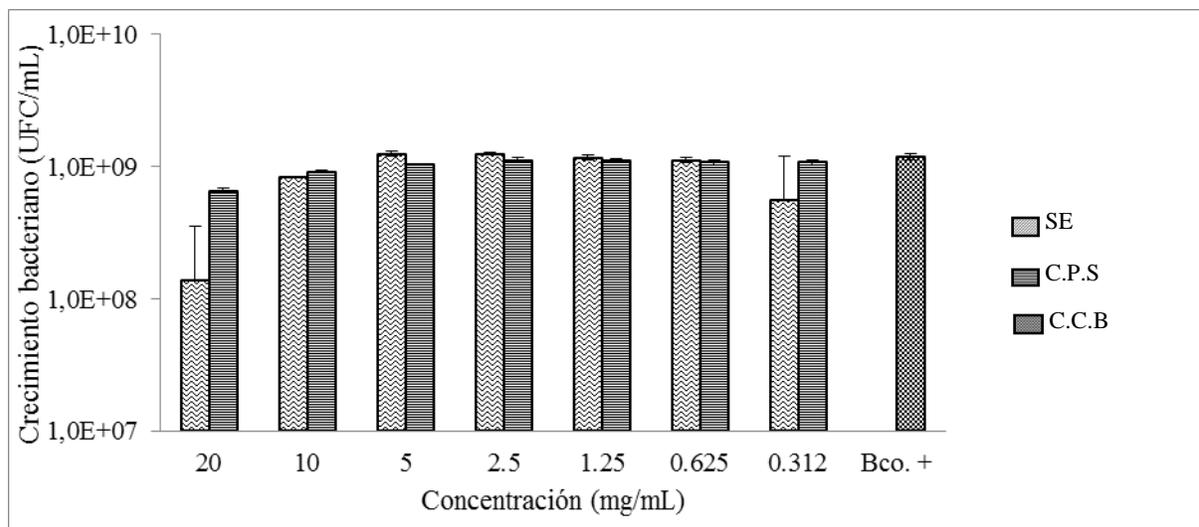


Figura 39. Efecto bacteriostático de la solución exploratoria de *Ganoderma lucidum* del extracto E41 (10 g de píleo + 150 mL de solvente, macerado por 24 horas) sobre *Escherichia coli* a las 24 horas de incubación. SE= Solución exploratoria. CPS= Control positivo del solvente. CCB= Control de crecimiento bacteriano.

La solución exploratoria de 20 mg/mL del extracto E37 (10 g de píleo cultivado en aserrín de encino + 500 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 24 horas solo presenta efecto bacteriostático sobre *E. coli* en la Dilución 1 que equivale a una concentración de 20 mg/mL. En la segunda dilución (10 mg/mL) se puede observar una disminución del crecimiento del 12.72% con respecto al control de crecimiento bacteriano (C.C.B.). En la figura 40 se muestran las diferentes diluciones de la solución y el crecimiento de la bacteria.

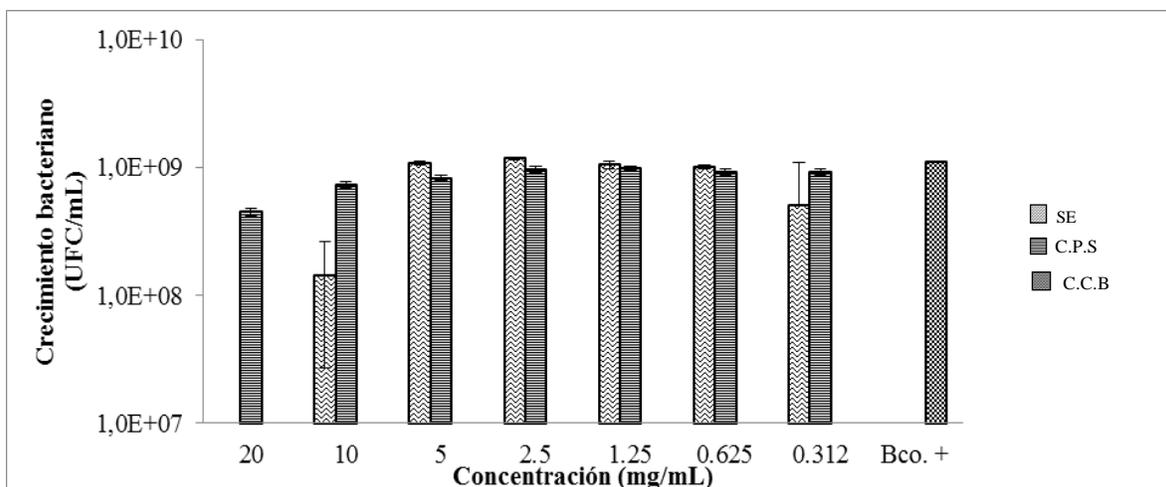


Figura 40. Efecto bacteriostático de la solución exploratoria de *Ganoderma lucidum* del extracto E37 (10 g de píleo + 500 mL de solvente, macerado por 24 horas) sobre *Escherichia coli* a las 24 horas de incubación. SE= Solución exploratoria. CPS= Control positivo del solvente. CCB= Control de crecimiento bacteriano.

La solución exploratoria de 20 mg/mL del extracto E61 (10 g de píleo cultivado en aserrín de encino + 500 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 24 el cual fue alicuotado para su concentración no presentó efecto bacteriostático sobre *E. coli*. En la figura 41 se muestran las diferentes diluciones de la solución y el crecimiento de la bacteria.

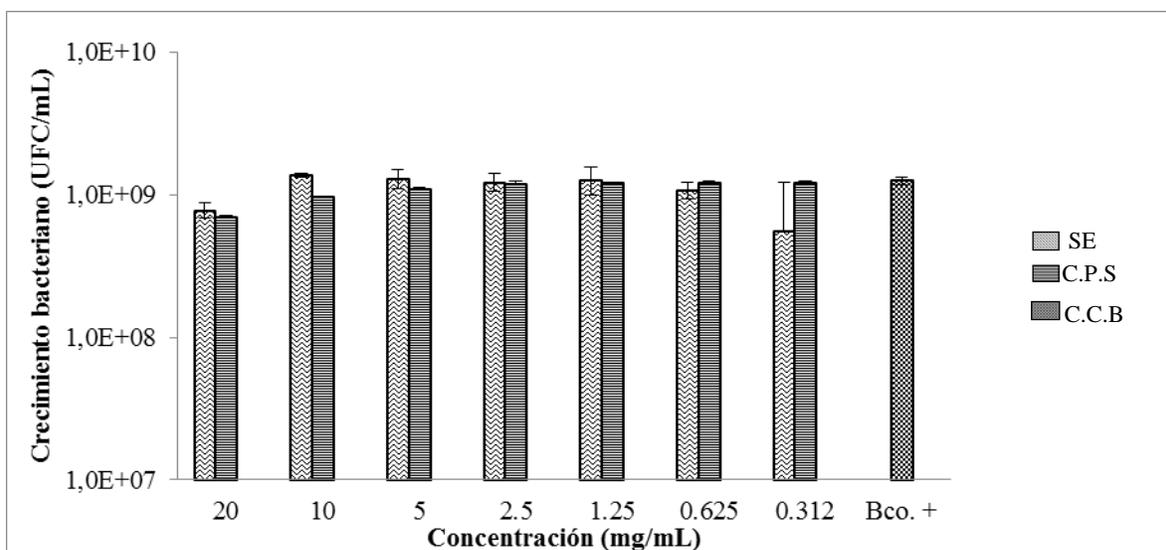


Figura 41. Efecto bacteriostático de la solución exploratoria de *Ganoderma lucidum* del extracto E61 (10 g de píleo + 500 mL de solvente, macerado por 24 horas) alicuotado para su concentración sobre *Escherichia coli* a las 24 horas de incubación bacteriana. SE= Solución exploratoria. CPS= Control positivo del solvente. CCB= Control de crecimiento bacteriano.

8.5 Efecto bactericida del extracto sobre *E. coli*

La solución exploratoria de 20 mg/mL del extracto E41 (10 g de píleo cultivado en aserrín de encino + 150 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 24 horas no presento efecto bactericida sobre *E. coli*. La Figura 42 muestra el crecimiento de la bacteria en todas las diluciones a las 24 horas de incubación.



Figura 42. Efecto bactericida de la solución exploratoria (20 mg/mL) de *Ganoderma lucidum* del extracto E41 (10 g de píleo + 150 mL de solvente, macerado por 24 horas) sobre *Escherichia coli* a las 24 horas de incubación.

La solución exploratoria de 20 mg/mL del extracto E37 (10 g de píleo cultivado en aserrín de encino + 500 mL de solvente) no presento efecto bactericida sobre *E. coli* la figura 43 muestra el crecimiento de la bacteria en todas las diluciones a las 24 horas de incubación.



Figura 43. Efecto bacteriostático de la solución exploratoria de *Ganoderma lucidum* del extracto E37 (10 g de píleo + 500 mL de solvente, macerado por 24 horas) sobre *Escherichia coli* a las 24 horas de incubación.

La solución exploratoria de 20 mg/mL del extracto E61 (10 g de píleo cultivado en aserrín de encino + 500 mL de solvente) con un tiempo de maceración de 24 el cual fue alicuotado para su concentración no presento efecto bactericida sobre *E. coli* en la figura 44 se muestra el crecimiento de la bacteria en todas las diluciones a las 24 horas de incubación.



Figura 44. Efecto bactericida de la solución exploratoria de *Ganoderma lucidum* del extracto E61 (10 g de pileo + 500 mL de solvente, macerado por 24 horas) alicuotado para su concentración sobre *Escherichia coli* a las 24 horas de incubación.

8.6 Análisis financiero del proyecto de obtención de extractos de *G. lucidum*

La rentabilidad financiera, se estimó mediante el cálculo de indicadores que consideran el valor del dinero en el tiempo, como el Valor actual neto (VAN), la Relación beneficio costo (B/C) y la Tasa interna de retorno (TIR). El periodo que se consideró para tal efecto fue de 5 años ya que son los años de vida económica que en promedio se le da a un proyecto con una tasa de actualización de 10%. El cuadro 44 muestra los costos de cada extracto por mL donde se puede observar que el costo de producción de cada extracto en las mismas condiciones de cultivo, volumen de solvente y tipo de filtrado en los diferentes tiempos de maceración es el mismo. Sin embargo, como cada extracto tiene un rendimiento diferente y a partir del cual se calculó el costo por mL de las soluciones exploratoria de 20 mg/mL y 10 mg/mL. Se puede observar que el extracto E49 (10 g de muestra cultivado en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente) con 48 horas de maceración filtrado con poro medio (20 μ m) es la solución exploratoria en las dos concentraciones 20 mg/mL y 10 mg/mL de menor costo en comparación con el resto de las soluciones exploratorias con un costo de producción de M.N. \$4.68 pesos/mL (\$0.25 USD/mL) y M.N. \$2.40 pesos/mL (\$ 0.12 USD/mL), respectivamente.

Cuadro 44. Costo de producción por mL de los extractos y soluciones exploratorias de *Ganoderma lucidum* (CP-145).

Cultivo	Volumen de solvente (mL)	Tiempo de maceración (horas)	Filtración	Rendimiento mg/mL	Costo por mL (\$)	Costo por mL(20 mg/mL) (\$)	Costo por mL(10mg/ mL) (\$)	Clave
AE + AAS	500	24	Papel filtro	78.84	40.39	9.73	4.93	E37
10 mM	500	24	Sterifil	79.68	47.87	11.40	6.11	E38
AE	500	24	Papel filtro	99.85	39.77	7.59	4.10	E39
	500	24	Sterifil	103.32	47.24	8.70	4.69	E40
AE + AAS	150	24	Papel filtro	60.6	21.56	6.78	3.45	E41
10 mM	150	24	Sterifil	73.8	29.03	7.49	3.81	E42
AE	150	24	Papel filtro	55.8	20.93	7.14	3.63	E43
	150	24	Sterifil	74.96	28.41	7.27	3.69	E44
AE + AAS	500	48	Papel filtro	115.48	40.39	6.68	3.61	E45
10 mM	500	48	Sterifil	122.12	47.87	7.49	3.80	E46
AE	500	48	Papel filtro	112.6	39.77	6.75	3.65	E47
	500	48	Sterifil	107.32	47.24	8.38	4.52	E48
AE + AAS	150	48	Papel filtro	88.52	21.56	4.68	2.40	E49
10 mM	150	48	Sterifil	112.88	29.03	4.94	2.53	E50
AE	150	48	Papel filtro	74.96	20.93	5.35	2.73	E51
	150	48	Sterifil	73.8	28.41	5.02	2.57	E52
AE + AAS	500	72	Papel filtro	122.6	40.49	6.32	3.42	E53
10 mM	500	72	Sterifil	136.76	47.87	6.69	3.62	E54
AE	500	72	Papel filtro	111.72	39.77	6.80	3.68	E55
	500	72	Sterifil	122.12	47.21	7.38	3.98	E56
AE + AAS	150	72	Papel filtro	69.44	21.53	5.92	3.02	E57
10 mM	150	72	Sterifil	69.2	29.16	8.02	4.07	E58
AE	150	72	Papel filtro	69.68	20.93	5.74	2.93	E59
	150	72	Sterifil	68.04	28.41	7.94	4.03	E60
AE	500	24	Papel filtro	27.04	39.87	9.11	4.61	E61

AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. SE= Solución exploratoria.

8.6.1 Valor actual neto (VAN)

Podemos observar en el cuadro 45 que las soluciones exploratorias de 20 mg/mL de los extractos con 500 mL de solvente en las dos condiciones de cultivo y filtrado a las 24 horas de maceración dan valores negativos de VAN, por lo cual no son considerados como rentables pues representan pérdidas económicas. Mientras que el extracto E50 (10 g de muestra cultivado en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente) con 48 horas de maceración filtrado por Sterifil fue la solución exploratoria en las dos concentraciones (20 y 10 mg/mL) presentó el VAN más alto.

Cuadro 45. Valor actual neto de las soluciones exploratorias de *Ganoderma lucidum* (CP-145).

Cultivo	Volumen de solvente (mL)	Tiempo de maceración (horas)	Filtración	Rendimiento (mg/mL)	VAN solución exploratoria de 20mg/mL	VAN solución exploratoria de 10 mg/mL	Clave
AE + AAS	500	24	Papel filtro	78.84	- 303,495.64	807,532.04	E37
10 mM	500	24	Sterifil	79.68	- 509,281.61	479,581.40	E38
AE	500	24	Papel filtro	99.85	10,728.92	1,249,910	E39
	500	24	Sterifil	103.32	- 164,306.71	907,910.25	E40
AE + AAS	150	24	Papel filtro	60.6	403,970.63	2,564,365.18	E41
10 mM	150	24	Sterifil	73.8	253,619.39	2,853,205.85	E42
AE	150	24	Papel filtro	55.8	209,117.07	2,174,685.05	E43
	150	24	Sterifil	74.96	322,357.16	2,945,191.96	E44
AE + AAS	500	48	Papel filtro	115.48	212,758.28	1,645,914.66	E45
10 mM	500	48	Sterifil	122.12	87,002.93	1,805,970.68	E46
AE	500	48	Papel filtro	112.6	190,375.14	1,587,789.49	E47
	500	48	Sterifil	107.32	- 101,641.01	1,230,246.26	E48
AE + AAS	150	48	Papel filtro	88.52	1,316,181.41	4,434,276.17	E49
10 mM	150	48	Sterifil	112.88	1,630,202.57	5,606,372.22	E50
AE	150	48	Papel filtro	74.96	884,023.25	3,524,470.42	E51
	150	48	Sterifil	73.8	1,527,748.07	3,355,973.77	E52
AE + AAS	500	72	Papel filtro	122.6	- 303,495.64	1,831,685.68	E53
10 mM	500	72	Sterifil	136.76	- 509,281.61	1,992,220.17	E54
AE	500	72	Papel filtro	111.72	223,465.47	1,609,958.64	E55
	500	72	Sterifil	122.12	107,799.29	1,623,360.92	E56
AE + AAS	150	72	Papel filtro	69.44	645,912.78	3,091,919.33	E57
10 mM	150	72	Sterifil	69.2	82,487.65	2,520,040.27	E58
AE	150	72	Papel filtro	69.68	698,036.58	3,152,497.08	E59
	150	72	Sterifil	68.04	96,214.27	2,492,906.18	E60
AE	500	24	Papel filtro	27.04	- 226,032.76	939,351.11	E61

AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. VAN=Valor actual neto.

8.6.2 Tasa interna de retorno (TIR)

El criterio de selección es aceptar todos los proyectos cuya TIR sea igual o mayor a la tasa de actualización en este caso 10%. La TIR expresa la tasa de interés real máxima que podría pagar un proyecto por los recursos monetarios utilizado, una vez recuperados los costos de inversión y operación. En el cuadro 46 se muestran los valores de la Tasa interna de retorno de las soluciones exploratorias, se puede observar que el extracto E50 (10 g de muestra cultivado en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente) con 48 horas de maceración filtrado por Sterifil es la solución exploratoria en las dos

concentraciones 20 mg/mL y 10 mg/mL presentan el valor de TIR más alto lo que las hace más rentables.

Cuadro 46. Tasa interna de retorno de las soluciones exploratorias de *Ganoderma lucidum* (CP-145).

Cultivo	Volumen de solvente (mL)	Tiempo de maceración (horas)	Filtración	Rendimiento (mg/mL)	Solución exploratoria de 20 mg/ mL TIR (%)	Solución exploratoria de 10 mg/mL TIR (%)	Clave
AE + AAS	500	24	Papel filtro	78.84	0	133	E37
10 mM	500	24	Sterifil	79.68	0	87	E38
AE	500	24	Papel filtro	99.85	12	193	E39
	500	24	Sterifil	103.32	-43	174	E40
AE + AAS	150	24	Papel filtro	60.6	76	370	E41
10 mM	150	24	Sterifil	73.8	53	409	E42
AE	150	24	Papel filtro	55.8	46	318	E43
	150	24	Sterifil	74.96	64	422	E44
AE + AAS	500	48	Papel filtro	115.48	47	247	E45
10 mM	500	48	Sterifil	122.12	26	268	E46
AE	500	48	Papel filtro	112.6	43	239	E47
	500	48	Sterifil	107.32	-13	191	E48
AE + AAS	150	48	Papel filtro	88.52	202	622	E49
10 mM	150	48	Sterifil	112.88	245	779	E50
AE	150	48	Papel filtro	74.96	143	499	E51
	150	48	Sterifil	73.8	231	745	E52
AE + AAS	500	72	Papel filtro	122.6	0	272	E53
10 mM	500	72	Sterifil	136.76	0	294	E54
AE	500	72	Papel filtro	111.72	49	242	E55
	500	72	Sterifil	122.12	30	244	E56
AE + AAS	150	72	Papel filtro	69.44	110	441	E57
10 mM	150	72	Sterifil	69.2	25	365	E58
AE	150	72	Papel filtro	69.68	118	450	E59
	150	72	Sterifil	68.04	28	361	E60
AE	500	24	Papel filtro	27.04	0		E61

AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. TIR= Tasa Interna de Retorno.

8.6.3 Relación beneficio costo (B/C)

El criterio de selección a través de este indicador, es aceptar los proyectos cuyo B/C sea igual o mayor a uno. El cuadro 47 muestra la relación beneficio costo (B/C) de las soluciones exploratorias donde se observa que las soluciones exploratorias de 20 mg/mL con un volumen de 500 mL de solvente y 24 horas de maceración en ambas condiciones de cultivo y filtrado son menores a uno, lo que indica que no hay beneficios con su producción. El resto de las soluciones exploratorias tienen valores mayores a uno lo que indica que hay beneficios en su producción, sin embargo, el extracto E49 (10 g de muestra cultivado en aserrín

de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente) con 48 horas de maceración filtrado por Sterifil es la solución exploratoria en las dos concentraciones (20 y 10 mg/mL) que presenta el valor B/C más alto.

Cuadro 47. Relación beneficio costo (B/C) de las soluciones exploratorias de *Ganoderma lucidum* (CP-145).

Cultivo	Volumen de solvente (mL)	Tiempo de maceración (horas)	Filtración	Rendimiento mg/mL	B/C solución exploratoria de 20 mg/mL	B/C solución exploratoria de 10 mg/mL	Clave
AE + AAS	500	24	Papel filtro	78.84	0.79	1.21	E37
10 mM	500	24	Sterifil	79.68	0.69	1.28	E38
AE	500	24	Papel filtro	99.85	1	1.85	E39
	500	24	Sterifil	103.32	0.90	1.66	E40
AE + AAS	150	24	Papel filtro	60.6	1.22	2.41	E41
10 mM	150	24	Sterifil	73.8	1.10	2.15	E42
AE	150	24	Papel filtro	55.8	1.11	2.17	E43
	150	24	Sterifil	74.96	1.13	2.21	E44
AE + AAS	500	48	Papel filtro	115.48	1.14	2.10	E45
10 mM	500	48	Sterifil	122.12	1.05	2.05	E46
	500	48	Papel filtro	112.6	1.13	2.07	E47
AE	500	48	Sterifil	107.32	0.93	1.72	E48
AE + AAS	150	48	Papel filtro	88.52	1.69	3.26	E49
10 mM	150	48	Sterifil	112.88	1.66	3.20	E50
AE	150	48	Papel filtro	74.96	1.48	2.86	E51
	150	48	Sterifil	73.8	1.63	3.14	E52
AE + AAS	500	72	Papel filtro	122.6	0.78	2.21	E53
10 mM	500	72	Sterifil	136.76	0.69	2.15	E54
AE	500	72	Papel filtro	111.72	1.16	2.12	E55
	500	72	Sterifil	122.12	1.06	1.95	E56
AE + AAS	150	72	Papel filtro	69.44	1.34	2.60	E57
10 mM	150	72	Sterifil	69.2	1.03	2.01	E58
AE	150	72	Papel filtro	69.08	1.38	2.67	E59
	150	72	Sterifil	68.04	1.04	2.02	E60
AE	500	24	Papel filtro	27.04	0.84	1.64	E61

AE= Aserrín de encino. AAS= Ácido acetilsalicílico. E= Extracto.

8.7 Acondicionamiento del extracto

Todos los productos, una vez que han sido elaborados, deben ser sometidos a una serie de operaciones, conocidas genéricamente como operaciones de acondicionamiento, para que puedan llegar al usuario en condiciones óptimas de estabilidad, seguridad y eficacia. Este envasado se hace totalmente imprescindible ya que se posibilita su identificación, manipulación, transporte, distribución, almacenamiento, dispensación y utilización. La calidad de un envase y embalaje no debe ser tomada con un criterio de abaratamiento de costes sino adoptando cualquier medida que aumente la seguridad de conservación del producto. El acondicionamiento es el conjunto de operaciones (incluidos el envase y el

etiquetado) a que debe someterse un producto a granel para convertirse en un producto terminado.

Acondicionamiento primario: Se define como el envase o cualquier otra forma de acondicionamiento que se encuentre en contacto directo con el medicamento.

Acondicionamiento secundario: se define como el embalaje en que se encuentra el acondicionamiento primario. Básicamente, consiste en colocar el producto envasado en una caja o estuche junto con el prospecto. El acondicionamiento protege el producto de factores como:

Temperatura. Los valores extremos de temperatura pueden ocasionar el deterioro de los productos y de ciertos envases. Las altas temperaturas aceleran las reacciones degradativas, la evaporación de disolventes, etc., mientras que las bajas temperaturas pueden facilitar el deterioro de algunos materiales plásticos.

Luz. Este factor es una gran amenaza para aquellos compuestos que sufran fotodegradación. Además, algunos materiales pueden experimentar cambios en su coloración, pérdida de brillo o intensidad de color, etc. Para evitar esto, se utilizan materiales opacos o resistentes a las radiaciones, tanto en el acondicionamiento primario como en el secundario (Soriano *et al.*, 2000).

Por ello se recomienda que el extracto se acondicione en un envase primario de vidrio color ámbar (Fig. 45) para protegerlo de la luz y mantenerlo en un lugar fresco para evitar su evaporación.



Figura 45. Envase primario para extracto de *Ganoderma lucidum*.

IX. DISCUSIÓN

Esta investigación tuvo como propósito identificar los factores físicos, químicos y biológicos que intervienen en el método estandarizado de extracción hidroalcohólica de compuestos bioactivos de *Ganoderma lucidum*, que permiten obtener mayores propiedades funcionales (antioxidantes, antimicrobianas) al menor costo de producción, que se relaciona con la teoría de la difusión la cual se menciona en la Introducción de esta investigación. De acuerdo con los resultados de esta investigación se puede decir que la agitación favorece la obtención de compuestos bioactivos en un menor tiempo, esto puede deberse a que la agitación favorece el contacto del disolvente con la muestra permitiendo que los constituyentes solubles sean transferidos por difusión de la parte interna de la muestra al disolvente, mientras que el estado de reposo requiere de mayor tiempo.

El tiempo de maceración también es un factor importante en la obtención de compuestos bioactivos este varía dependiendo del volumen de solvente, en el presente trabajo se muestra que los extractos provenientes de los macerados de 150 mL de solvente a las 48 horas de maceración es cuando se obtienen los valores más altos de rendimientos y propiedades funcionales, se puede observar que a las 72 horas los valores de rendimiento y propiedades funcionales disminuyen (Fig. 46). Este hecho puede ser explicado debido a que el proceso de extracción a tiempos prolongados puede dar lugar a la oxidación de compuestos fenólicos, por la luz, exposición al oxígeno y a la degradación (Spigno *et al.*, 2007).

Los resultados muestran diferencias en la parte del basidiocarpo (píleo y estípite), se obtuvieron rendimientos de 14% más en extractos de macerados de 150 mL de solvente con píleo que con estípite (Fig. 45). Esto es debido a que el píleo es la parte madura del hongo, mientras el estípite es la parte que sostiene al píleo del hongo, por lo que se pudo observar que la mayor cantidad de propiedades se encuentran en el píleo.

El cultivo de los basidiocarpos en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM muestra un mayor rendimiento (12.29%) y mejores propiedades funcionales (30.57%) lo que indica que el ácido acetilsalicílico tiene un efecto sobre el metabolismo del hongo que promueve la producción de compuestos bioactivos. Estos resultados son similares a los obtenidos por Martínez-Carrera *et al.* (2016), de extractos obtenidos a partir de basidiocarpos de *G. lucidum* cultivados sobre aserrín de encino suplementado con AAS

obteniendo un mayor rendimiento (8.7%) que los basidiocarpos cultivados en aserrín de encino.

El volumen de solvente influye directamente en el rendimiento y propiedades funcionales, debido a que a menor volumen de solvente se llega a una saturación más rápida, ocasionando una menor obtención de compuestos bioactivos, mientras que con un volumen más alto se observa que los rendimientos de los macerados son menores debido a que estaban más diluidos, sin embargo cuando los macerados se concentran en rotavapor para obtener el mismo volumen de extracto, se obtienen los rendimientos más altos y propiedades funcionales en los extractos provenientes de los macerados de mayor volumen de solvente debido a que la muestra no saturó el solvente por lo que se pudieron obtener más compuestos bioactivos.

El filtrado antes de concentrar con filtro de poro de 0.45 μm favorece la recuperación del extracto al obtener un rendimiento de 14.39% y 11.38% de polifenoles totales más que los extractos que se filtraron con papel filtro de poro de 20 μm . Lo que se debe a que el filtrado por 0.45 μm elimina moléculas más grandes que ocasionan que al esterilizar el extracto sature la membrana de filtración ocasionando pérdidas de compuestos bioactivos.

Los estudios de susceptibilidad bacteriana muestran que el tiempo de concentración no afecta la obtención de compuestos bioactivos el extracto E61 sirvió como testigo ya que al concentrarse en alícuotas tuvo menor tiempo en el rotavapor y por lo tanto hay menos pérdida de compuestos volátiles que se pudieran perder por la temperatura. Sin embargo la solución exploratoria de este extracto no tuvo efecto bactericida (CMB), ni inhibitorio (CMI). Mientras que la solución exploratoria del extracto de mayor volumen (500 mL) E37 mostro efecto bactericida pero sin diluir es decir a los 20 mg/mL. No se observó ningún efecto inhibitorio en esta misma concentración. Mientras que la solución exploratoria control no mostro ningún efecto. Lo que indica que en los extractos provenientes de los macerados de 500 mL se recuperan compuestos bioactivos con actividad antimicrobiana. Al comparar estos resultados con otros estudios como los realizados por Mitzi (2015), quien obtuvo un efecto bacteriostático sobre *Escherichia coli* en los suplementos alimenticios adicionados con *G. lucidum* a una concentración de 67.415 mg/mL y un efecto inhibitorio sobre *E. coli* con una concentración del extracto de 134.84 mg/mL. Čilerdžića *et al.* (2014), al estudiar la actividad antimicrobiana del hongo *G. lucidum* de tres diferentes procedencias de cuerpos

fructíferos utilizando como solventes agua caliente y etanol para los extractos, obtuvieron efectos contra *Staphylococcus aureus* CMI con una concentración de sus extractos (BEOFB 431) de 1.0 ± 0.0 mg/mL, en BEOFB 432 y BEOFB 434 de 1.7 ± 0.3 mg/mL y su efecto de CMB de 2.7 ± 0.7 , 2.7 ± 0.3 , 3.3 ± 0.7 mg/mL respectivamente. Escudero (2015), obtuvo un efecto inhibitorio débil del extracto de *L. edodes* el cual sólo se observó para las cepa CPB-8 de *E. coli* usando una concentración del extracto de 11.07 mg/mL.

Al comparar todos los extractos obtenidos en este estudio se obtuvo que el extracto con las mejores propiedades es el E54 el cual tiene un rendimiento de 136.76 ± 0.80 mg/mL, contenido de polifenoles totales 2399.81 ± 33.91 mg EAG/10 g de hongo seco y una actividad antioxidante de $84.51 \pm 0.11\%$. En comparación con otros estudios. Quiriz (2012), obtuvo 92.95 ± 3.73 mg EAG/g de hongo seco en extractos de *G. lucidum*. Zuluaga *et al.* (2007), obtuvo extractos de *Pleurotus* con etanol los cuales presentaron 86.37 mg EAG/100g de base seca. El contenido de polifenoles totales en *L. boryana* del solvente hidroalcohólico al 35% obtenido por Escudero (2015), fue de 1.39 ± 0.12 mg EAG/g de hongo seco. Mau *et al.* (2004), obtuvo 40.86 ± 0.04 mg EAG/g de hongo seco del cuerpo fructífero maduro de *G. tsuaga* y 42.34 ± 0.03 mg EAG/g de hongo seco del cuerpo fructífero inmaduro de *G. tsuaga* en extractos con agua caliente. Mau *et al.* (2002), en extractos metanólicos de cuerpos fructíferos de *G. lucidum* obtuvo una actividad antioxidante de 96.8% y 93.6% en cuerpos fructíferos inmaduros. Aunque el valor de los extractos es menor que el obtenido por Mau *et al.* (2002), el extracto elaborado puede ser ingerido sin los efectos adversos que ocasionaría la ingestión de un extracto con metanol. La actividad antioxidante de los extractos no es tan baja al compararlos con frutas. Velioglu *et al.* (1998), obtuvo de las cerezas una actividad antioxidante de 88.5%, manzanas 92.3% y arándanos 92.1%,

Entre los factores que afectan el costo de producción, está el número de extractos producidos por día ya que se producen 10 extractos de 150 mL de solvente contra 4 extractos de 500 mL, debido al y tiempo de concentración en el rotavapor. El volumen de tequila y el filtrado por poro de 0.45 μ m aumentaron los costos. Por ello en términos de viabilidad financiera el extracto de menor costo es el E49 (10 g de muestra cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente) con 48 h de maceración filtrado convencionalmente con un costo de MN \$4.68 pesos/mL

(USD\$0.24/mL) y MN \$2.4 pesos/mL (USD\$0.12/mL) para las concentraciones de 20 mg/mL y 10 mg/mL respectivamente mismas soluciones que tienen una relación B/C de 1.69 y 3.26. Así como un valor de TIR de 202% y 622% y VAN de MN \$1, 316,181.41 y MN \$4, 434,276.17 estos valores indican que la producción de estos extractos deja ganancias muy altas. Martínez *et al.* (2012), realizaron un estudio de viabilidad del proyecto de producción y comercialización del Hongo de la variedad *G. lucidum*, en el que concluye que es un proyecto que a largo plazo (5 años), genera utilidades importantes para los inversionistas, el margen de Ebitda a partir del segundo año es en promedio un 54%, y genera unos flujos de caja libre operacional de 203 Millones de pesos en promedio año a partir del segundo año.

X. CONCLUSIONES

1. A mayor volumen de solvente se extraen más compuestos, sin embargo, su proceso en la concentración lo hace más caro en términos de rentabilidad.
2. La condición del macerado en agitación permitió obtener la mejor extracción en menor tiempo como se observó en los macerados de 24 horas al obtener un rendimiento (83%) más que el macerado en reposo (Cuadro 29). Sin embargo, la recuperación del extracto durante la concentración y la esterilización presentó pérdidas.
3. Hubo diferencias en los basidiocarpos utilizados, se obtuvieron rendimientos de 21% más en extractos de macerados de 150 mL de solvente con píceo que con estípite y un 97% más en los extractos de macerados de 1000 mL de solvente con píceo que los extractos con estípite.
4. El cultivo de los basidiocarpos en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM obtuvo un mayor rendimiento (11.38%) y mejores propiedades funcionales (14.39%) lo que indica que el ácido acetilsalicílico promueve la producción de compuestos bioactivos. En comparación con los extractos naturales obtenidos a partir de basidiocarpos de *G. lucidum* cultivados sobre aserrín de encino, se obtuvo un mayor rendimiento (8.7%).
5. Las condiciones más favorables para la extracción de compuestos bioactivos en términos de rentabilidad es utilizar un volumen de 150 mL de solvente + 10 g de píceo, manteniendo el macerado en reposo y con un tiempo de 48 h, filtrado con poro de 20 μm , el cual tiene un costo de producción de M.N. \$4.68 pesos/mL (\$0.25 USD/mL) y M.N. \$2.40 pesos/mL (\$0.12 USD/mL) para las concentraciones de 20 mg/mL y 10 mg/mL, respectivamente. Así mismo, la relación Beneficio/Costo (B/C) para estas condiciones fue de 1.69 y 3.26, por cada peso invertido se obtiene un beneficio de M.N. \$0.69 en la solución exploratoria de 20 mg/mL y M.N. \$2.26 en la solución exploratoria de 10 mg/mL. Un valor TIR de 202% y 622% y un VAN de 1, 316,181.41 y 4, 434,276.17, respectivamente para las soluciones de 20 mg/mL y 10 mg/mL. El resultado indicó que este proyecto es rentable en términos financieros; sin embargo, también es importante realizar un estudio económico de mayor profundidad.

XI. ESTRATEGIA PARA LA OBTENCIÓN DE EXTRACTOS DEL HONGO MEDICINAL *Ganoderma lucidum* CON BASE EN SU ANÁLISIS FINANCIERO

Se propone un paquete tecnológico como estrategia para hacer llegar a los productores de hongos comestibles interesados en generar a partir del cultivo de hongo, un producto con valor agregado. Este paquete tecnológico ayudará a los productores que quieran incursionar en el mercado de productos funcionales para explotar las propiedades intrínsecas del hongo. En la presente investigación se mencionaron los insumos necesarios para la elaboración de un extracto que le da un valor agregado al cultivo de *G. lucidum* así mismo se evaluaron sus propiedades funcionales lo que da evidencia científica acerca de sus propiedades diferenciándolo de un producto milagro el cual promete curar sin evidencia científica, y sin regulación sanitaria lo que puede llegar a provocar problemas de salud bastante serios.

La Comisión Federal para la protección contra riesgos sanitarios (COFEPRIS) órgano de la Secretaría de Salud es la encargada de las funciones de regulación, verificación y fomento sanitario para proteger la salud de la población. Sin embargo aún faltan más regulaciones acerca de extractos de hongos medicinales ya que en la COFEPRIS hay disposiciones para Remedios Herbolarios y Medicamentos homeopáticos.

Otro grupo beneficiado son los productores de agaves que ya que los extractos obtenidos en este trabajo son extraídos con tequila. Los agaves constituyen un grupo de plantas cuya utilización se remonta a los tiempos prehispánicos. En los últimos años ha resurgido el interés por su aprovechamiento ya que en muchas de las comunidades rurales de mayores índices de marginación los agaves crecen en forma natural, son resistentes a la sequía y adaptables a una gran variedad de condiciones edafológicas y climatológicas. En México, los productos más importantes elaborados a partir de los agaves son: el tequila, el henequén y una amplia variedad de mezcales. Como alimento, la importancia de los agaves está dada por su elevado contenido de almidón y otros sustratos fermentables. Un aspecto adicional que ha cobrado alta relevancia es el relacionado con la extracción de compuestos bioactivos o con aplicaciones en la industria alimentaria (Cuevas *et al.*, 2004). A continuación se enlistan los elementos y actores clave para la esta estrategia planteada (Fig.46).

1.- Cultivadores de hongos comestibles

3. Empresas tequileras o microempresas que cuentan con los equipos de elaboración del producto.
4. Instituciones de investigación como el Colegio de Postgraduados *Campus* Puebla, universidades, institutos, centros de investigación y asociaciones privadas, para garantizar los elementos clave para la producción de productos de *G. lucidum* con gran calidad, generando los paquetes tecnológicos necesarios para la producción de dichas especies e impactando con el desarrollo de productos y procesos innovadores para la obtención de compuestos bioactivos.
5. Instituciones gubernamentales como SAGARPA y SEDESOL, brindando apoyos financieros, información técnica, capacitación a los productores de hongos y la COFERPIS estableciendo Normas para la regulación y control de calidad de extractos a base de hongos comestibles y medicinales
6. Consumidor el cual podrá adquirir un producto que lo ayude a controlar y prevenir enfermedades sin efectos secundarios con todas las regulaciones de calidad del producto.

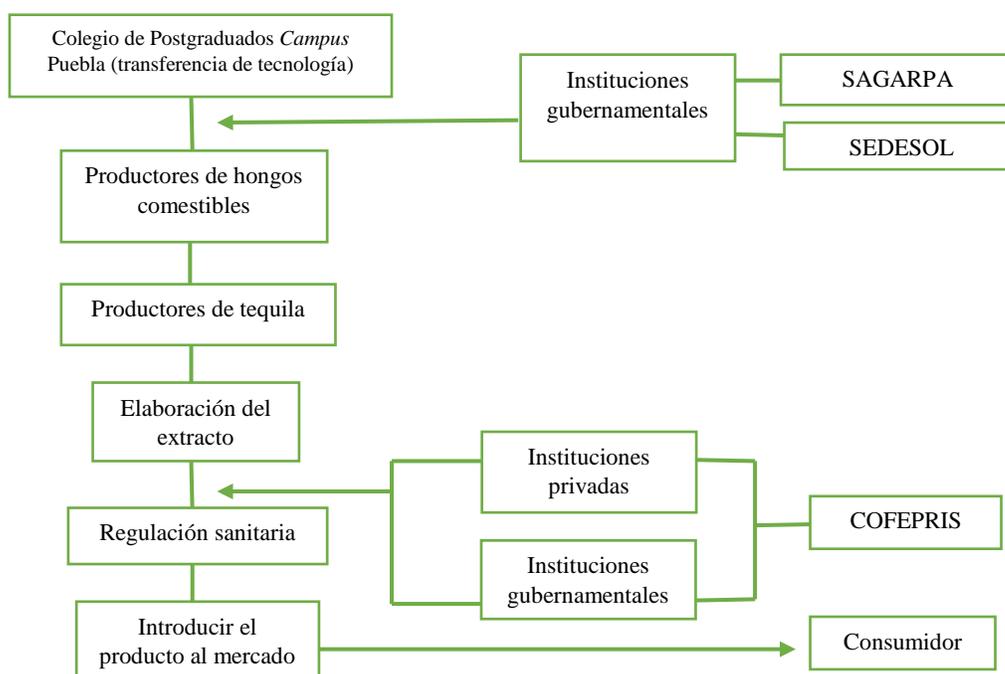


Figura 46. Actores de la estrategia para la producción de compuestos bioactivos.

La transferencia de tecnología del cultivo de hongos comestibles es un modelo que puede aplicarse a comunidades campesinas. *G. lucidum* representa un recurso de alta importancia para el crecimiento farmacéutico debido a sus propiedades medicinales y actualmente el paquete tecnológico para la producción de este hongo la tiene el Colegio de Postgraduados del *Campus* Puebla.

Lo reportado en este trabajo para darle un valor agregado al cultivo de *G. lucidum* con la producción de un extracto que tiene como finalidad incrementar la rentabilidad del cultivo de *G. lucidum* y ofrecer al consumidor un producto de calidad que aporte beneficios a su salud, siguiendo los lineamientos de calidad de la Norma Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009 y los reglamentos de insumos para la salud (<http://www.salud.gob.mx>).

Equipos requeridos para el procesamiento a partir de la cosecha de *G. lucidum*.

1 Báscula granataria

1 Matraz Erlenmeyer o frasco de 150 ml (por muestra)

1 Matraz balón 250 ml boca 24/40 (por muestra)

1 Matraz aforado 100 ml, dependiendo de la cantidad de muestra o concentración

1 Embudo filtración rápida

1 Papel filtro poro medio para el embudo de filtración (por muestra o solvente)

1 Rotavapor o destilador

1 bomba de vacío

1 trampa de vacío (para proteger la bomba de vacío)

1 sistema de enfriamiento de agua para el serpentín del rotavapor o destilador

1 Campana de flujo

1 Filtro Sterifil

Obtención de la muestra

A partir del cultivo de *G. lucidum* en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico 10 mM se obtienen los basidiocarpos secos los cuales son molidos, y acondicionado en un sobre de papel filtro con 10 g, se usan frascos de vidrio con tapón de rosca de 200 mL a los cuales se les adiciona 150 mL de solvente hidroalcohólico de acuerdo a la patente de Martínez-Carrera *et al.*, (2014).

Obtención de extracto

El tiempo de maceración es de 48 horas en oscuridad y a temperatura ambiente. Al término de la maceración los macerados se decantan y filtran por papel poro convencional, el sobre de papel filtro se exprime con ayuda de una prensa hidráulica a 2.6 toneladas de presión, (nanómetro 300 Kg/cm²) hasta obtener un peso de 20 g posteriormente concentra el macerado en un rotavapor a 38 °C y 90 rpm, hasta la obtención del extracto con un volumen final de 7 mL la figura 47 describe la metodología para la obtención de compuestos bioactivos. Posteriormente se afora a 10 mL cada extracto y se esteriliza por sistema Sterifil, el extracto es conservado a 4 °C para su caracterización, control de esterilidad y cálculo del rendimiento a partir del cual se obtiene la solución exploratoria y la evaluación de propiedades funcionales. El envasado debe ser en frasco de vidrio color ámbar y tapa con sello que evite la evaporación del solvente. Es necesario cumplir con todas las reglamentaciones establecidas por COFEPRIS para poder iniciar la comercialización y promoción de un producto alimenticio. Dependiendo el caso, es necesario solicitar una clasificación de un producto ante COFEPRIS para poder determinar si se encuentra bajo el espectro de suplemento alimenticio, remedio herbolario, medicamento herbolario, alimento o medicamento. Así mismo y una vez realizado esta clasificación, es necesario proceder con el aviso o registró según sea el caso ante COFEPRIS para cumplir con el reglamento de norma que corresponda.

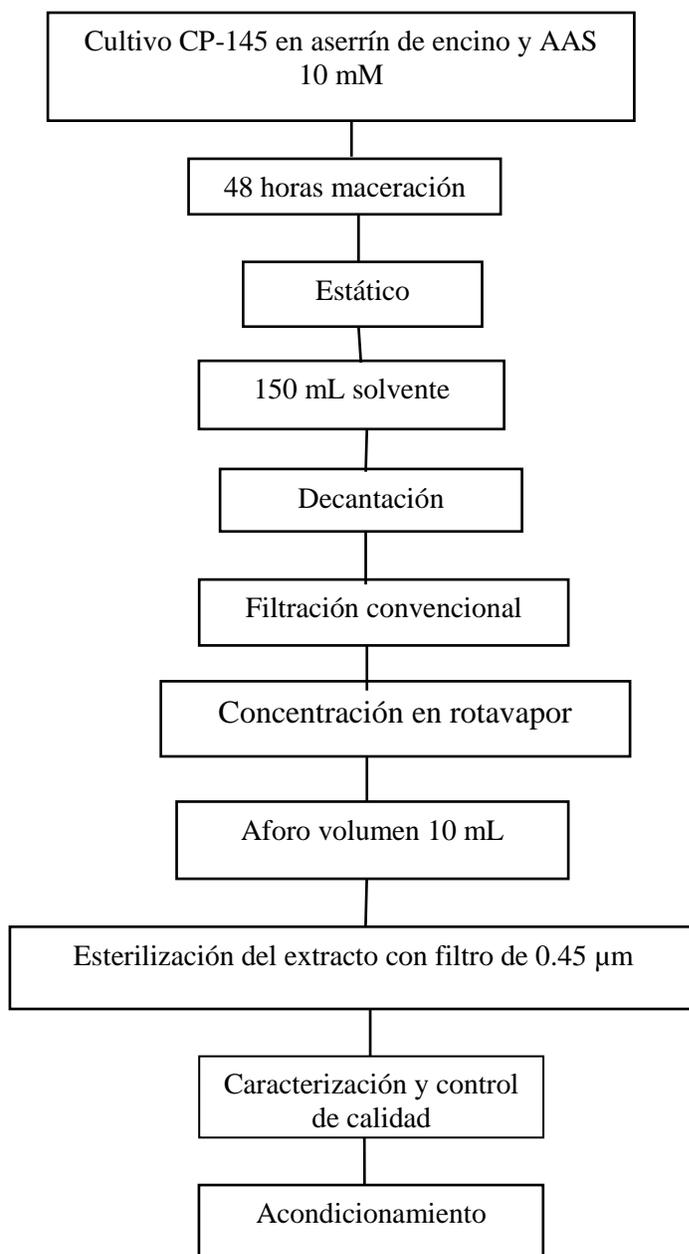


Figura 47. Metodología para la obtención de compuestos bioactivos.

XII. LITERATURA CITADA

- Aljanti, D., E. Wolovelsky y C. Tambussi. 2009. *Biología 3. Los códigos de la vida. Colihue. Buenos Aires. Pp 78-79.*
- Álvarez, C. 2001. *Evaluación económica de alternativas de inversión, con aplicación en el sector agropecuario. Universidad Nacional de Colombia. Palmira. Pp. 113.*
- Aguilar, A. 1993. *Análisis económico y financiero de una planta rural de producción de hongos comestibles (Pleurotus ostreatus). Estudio de caso: Cuetzalan, Pué, México. Tesis de Maestría en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional. Colegio de Postgraduados, Campus Puebla. Pp. 82-85.*
- Aguirre-Acosta, E., M. Ulloa, S. Aguilar, J. Cifuentes y R. Valenzuela. 2004. *Biodiversidad de hongos en México. Revista Mexicana de Biodiversidad 85: 76-81.*
- Anzil, F. 2005. "Criterios de Decisión". *Textos de Análisis Económico. Disponible en: <http://www.econlink.com.ar/economia/criterios/tir.shtml>.*
- Aydemir, G. 2002. *Research on Nutrition and Cancer: The Importance of the Standardized Dietary Assessments. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention 3: 177-180.*
- Barragán-Valbuena, A. 2011. *Potencial saludable de sustancias bioactivas de algunas verduras. Tesis de Licenciatura en Nutrición y Dieta. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá D.C. Pp. 3-7.*
- Bastami, M. S., S. P. Bohari, W. M. Har, M. N. Wahab, A. S. Rahmani y M. Hamid. 2007. *Hypoglycemic, Insulinotrophic and Cytotoxic Activity of three species of Ganoderma. Journal of Science 26: 41-46.*
- Bellon, M., A. Barrientos-Priego, P. Colunga-García, H. Perales, J. Reyes, R. Rosales y D. Zizumbo-Villareal. 2009. *Diversidad y conservación de recursos genéticos en plantas cultivadas. Capital Natural de México 2: 355-382.*
- Benítez, C., M. Pece y M. De Galindez. 2002. *Conceptos básicos sobre análisis de la variancia y diseño experimental. Serie didáctica Nro. 5. Facultad de Ciencias Forestales. Universidad Nacional de Santiago del Estero. Pp. 1-38.*
- Bidegain, M., M. A. Cubitto y N. R. Curvetto. 2013. "Obtención de triterpenoides de *Ganoderma lucidum* cultivado en un sustrato a base de cáscara de girasol". *En: VIII Encuentro Latinoamericano y del Caribe Biotecnología.*
- Bidegain, M., P. Postemsky, R. González, D. Figlas, R. Devalis, S. Delmastro, C. Pereyra, N. Curvetto y M. Cubitti. 2014. *Optimización de la producción del hongo medicinal Reishi (Ganoderma lucidum) para el desarrollo de nutracéuticos y fitoterapéuticos. V Jornadas Académicas de la RedVITEC.*
- Bonatti, M., P. Karnopp, H. Soares y S. Furlan. 2004. *Evaluation of Pleurotus ostreatus and Pleurotus sajor-caju nutritional characteristic when cultivated in different lignocelulosic wastes. Food Chemistry 88: 425-428.*
- Brizuela, A., L. García, L. Pérez y M. Mansur. 1998. *Basidiomicetos: nueva fuente de metabolitos secundarios. Revista Iberoamericana de Micología 15: 69-74.*
- Burriel, M. F., L. F. Conde, J. Arribas, S. Hernández y J. Méndez. 2008. *Química Analítica Cualitativa. PARANINFO. España. Pp.147.*

- Campbell, N. A y J. B. Reece. 2007. Biología. Médica Panamericana, Buenos Aires; Madrid. Pp.78.
- Castillo, O. 2016. El ácido acetilsalicílico como inductor de enzimas lacasas para desarrollar las aplicaciones de *Ganoderma* en México. Tesis de Maestría en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional. Colegio de Postgraduados, *Campus* Puebla. Pp.16.
- Cerda, I. 1998. Trayectoria del sector forestal chileno: Sus logros y desafíos. Informe Técnico 140, INFOR, Santiago. Pp.133.
- Chang, S. T. 2006. The World Mushroom Industry: Trends and Technological Development. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 8: 297-314.
- Chen, R. Y. y D. Q. Yu. 1999. Studies on the triterpenoid constituents of the spores of *Ganoderma lucidum* (Curt. Fr.) P. Karst. (Aphyllorphomycetidae). *International Journal Medical Mushrooms* 1: 147–152.
- Chen, X., Z. Hu, X. Yang, M. Huang, Y. Gao, W. Tang, S. Chan, J. Ye, P. Ho, W. Duan, H.Y. Yang, Y. Z. Zhu y S. F. Zhou. 2006. Monitoring of immune responses to an herbal immuno-modulator in patients with advanced colorectal cancer. *International Immunopharmacology* 6: 499–508.
- Ciarleglio, M., A. S. Khakhalin, A. F. Wang, A. C. Constantino, S. P. Yip y C. D. Aizenman. 2015. Multivariate analysis of electrophysiological diversity of *Xenopus* visual neurons during development and plasticity. *eLife* 4: e11351.
- Ćilerdžića, J., J. Vukojevića, M. Stajića, T. Stanojkovićb y J. Glamočlij. 2014. Biological activity of *Ganoderma lucidum* basidiocarps cultivated on alternative and commercial substrate. *Journal of Ethnopharmacology* 155: 312–319.
- COFEPRIS. 2016, Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. <http://www.cofepris.gob.mx/>.
- Cuevas, R., O. Masera y R. Díaz. 2004. Calidad y competitividad de la agroindustria rural de América Latina y el Caribe: uso eficiente y sostenible dela energía. Informe de la Reunión de Expertos, Pátzcuaro, Michoacán (México). *Food & Agriculture Organization of the United Nations*. Pp. 83.
- Dorta, E., M. Lobo y G. González. 2013. Optimization of factors affecting extraction of antioxidants from mango seed. *Food and Bioprocess Technology* 6: 1067-1081.
- Escudero, H. 2015. Análisis de las propiedades antioxidantes y antibacterianas del “hongo de encino” (*Lentinula boryana*) y desarrollo de una estrategia para su aprovechamiento. Tesis de Doctorado en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional. Colegio de Postgraduados, *Campus* Puebla. Pp. 160.
- EUFIC, 2006. European Food Information Council. <http://www.eufic.org/article/es/expid/basics-alimentos-funcionales/>.
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/PGR/SoW1/americas/MÉXICO.PDF>.
- Gao, X., X. F. Fei, B. X. Wang, J. Zhang, Y. J. Gong, M. Minami, T. Nagata y T. Ikejima. 2000a. Effects of polysaccharides (FI0-b) from mycelium of *Ganoderma tsugae* on

- proinflammatory cytokine production by THP-1 cells and human PBMC (I). *Acta Pharmacologica Sinica* 21: 1179–1185.
- Gao, X., B. X. Wang, X. F. Fei, J. Zhang, Y. J. Gong, M. Minami, T. Nagata y T. Ikejima. 2000b. Effects of polysaccharides (F10-c) from mycelium of *Ganoderma tsugae* on proinflammatory cytokine production by THP-1 cells and human PBMC (II). *Acta Pharmacologica Sinica* 21: 1186–1192.
- Gao, J. J., B. S. Min, E. M. Ahn, N. Nakamura, H. K. Lee y M. Hattori. 2002. New triterpene aldehydes, lucialdehydes A-C, from *Ganoderma lucidum* and their cytotoxicity against murine and human tumor cells. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 50: 837–840.
- Gao, Y., S. Zhou, M. Huang y A. Xu. 2003. Antibacterial and antiviral value of the genus *Ganoderma* P. Karst. species (Aphyllphoromycetideae): *International Journal of Medical Mushrooms* 5: 235–246.
- Gao, Y., G. Chen, X. Dai, J. Ye y S. Zhou. 2004. A Phase I/II Study of Ling Zhi Mushroom *Ganoderma lucidum* (W. Curt.: Fr.) Lloyd (aphyllphoromycetideae) extract in patients with coronary heart disease. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 6: 30-38.
- García, G. 2008. Rentabilidad de la producción de durazno en los municipios de Chiautzingo, Calpan, Domingo Arenas y Huejotzingo, Puebla. Tesis de Maestría en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional. Colegio de Postgraduados, *Campus Puebla*. Pp. 13-17.
- García-Oduardo, N., R. Savon y M. Serrano-Alberni. 2011. Formulaciones de Sustratos en la Producción de Setas Comestibles *Pleurotus*. *Tecnología Química* 3: 15-22.
- Garibay-Orijel, R., F. Ruan-Soto y E. Estrada-Martínez. 2010. El conocimiento micológico tradicional, motor para el desarrollo del aprovechamiento de los hongos comestibles y medicinales. Capítulo 16. Pp. 243-270. *En: Hacia un desarrollo sostenible del sistema de producción- consumo de los hongos comestibles y medicinales en Latinoamérica: avances y perspectivas en el siglo XXI*. Eds. Martínez-Carrera, D., N. Curvetto, M. Sobal, P. Morales y V. M. Mora. RLHCM, COLPOS, UNS, CONACYT, AMC, UEM, UPAEP, IMINAP, Puebla.
- Garybay-Orijel, R. y F. Ruan-Soto. 2014. Listado de los hongos silvestres consumidos como alimento tradicional en México. Pp. 91-109. *En: Estado del Arte de la Etnomicología Mexicana: hacia un Proyecto Etnomicológico Nacional*. Eds. Moreno-Fuentes, A. y R. Garibay- Orijel. (CONACyT)-Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo-Instituto de Biología (UNAM)-Sociedad Mexicana de Micología-Asociación Etnobiológica Mexicana, A.C.-Grupo Interdisciplinario para el Desarrollo de la Etnomicología en México-Sociedad Latinoamericana de Etnobiología. México, D.F.
- González, A. G., F. León, A. Rivera, J. I Padron, J. González-Plata, J. C. Zuluaga, J. Quintana, F. Estevez y J. Bermejo. 2002. New lanostanoids from the fungus *Ganoderma concinna*. *Journal of Natural Products* 65: 417–421.
- González-Montelongo, R., M. G. Lobo y M. González. 2010. Antioxidant activity in banan peel extracts: Testing extraction conditions and related bioactive compounds. *Food Chemistry* 119: 1030-1039.

- Hajjaj, H., C. Mace, M. Roberts, P. Niederberger y L. B. Fay. 2005. "Effect of 26-oxygenosterols from *Ganoderma lucidum* and their activity as cholesterol synthesis inhibitors". *Applied and Environmental Microbiology* 71: 3653–3658.
- Halliwell, B., y J. M. Gutteridge. 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal* 219: 1–14.
- Herrera, J. y M. Ancona. 2006. "Proyecto de inversión de una unidad productora de setas en el municipio de las vigas, Veracruz" Tesis de Maestría Instituto de Investigaciones y Estudios Superiores de las Ciencias Administrativas.
- Huie, C. W. y X. Di. 2004. Chromatographic and electrophoretic methods for Lingzhi pharmacologically active components. *Journal of Chromatography* 812: 241-257.
- INEGI, 2016. Censo de Población y Vivienda.
<http://www.inegi.org.mx>
- Izquierdo, T. A. y G. Pérez. 2014. Biotecnología en México. Capítulo II. Pp. 10-21. *En: Biotecnología*. Pro México. México D.F.
- Jia, J., X. Zhang, Y. Hu, Y. Wu, Q. Wang y N. Li. 2009. Evaluation of in vivo antioxidant activities of *Ganoderma lucidum* polysaccharides in STZ-diabetic rats. *Food Chemistry* 115: 32–36.
- Johnston, N. 2005. Medicinal mushroom cuts off prostate cancer cells' blood supply. *Drug Discovery Today* 10: 15-84.
- Kawagishi, H., F. Fukuhar, M. Sazuka, A. Kawashima, T. Mitsubori y T. Tomita. 1993. 50-Deoxy-50-methylsulphinyl adenosine, a platelet aggregation inhibitor from *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry* 32: 239–241.
- Kim, Y. S., S. K. Eo, K. W. Oh, C. K. Lee y S. S. Han. 2000. Antiherpetic activities of acidic protein bound polysaccharide isolated from *Ganoderma lucidum* alone and in combinations with interferons. *Journal of Ethnopharmacology* 72: 451–458.
- Kimura, Y., M. Taniguchi y K. Baba. 2002. Antitumor and antimetastatic effects on liver of triterpenoid fractions of *Ganoderma lucidum*: mechanism of action and isolation of an active substance. *Anticancer Research* 22: 3309–3318.
- La Fuente, L. y V. Santiago. 1997. Introducción a la Química Orgánica. Universitat Jaume, España. Pp. 176-189.
- Lamarque, A., J. Zygadlo, D. Labuckas, L. López y M. Torres. 2008. Fundamentos Teórico-Prácticos de Química Orgánica. Brujas. Argentina. Pp. 41-48.
- Lee, J. M., H. Kwon y H. Jeong. 2001. Inhibition of lipid peroxidation and oxidative damage by *Ganoderma lucidum*. *Phytotherapy Research* 15: 245-249.
- Li, P. y K. Zhang. 2000. Isolation, purification and bioactivities of exopolysaccharides from fermented broth of *Ganoderma lucidum*. *Acta Microbiologica Sinica* 40: 217–220.
- Li, M. C., D. S. Liang, Z. M. Xu, L. S. Lei y S. Q. Yang. 2000. Effect of *Ganoderma* polysaccharides on cAMP in murine peritoneal macrophages. *China journal of Chinese materia medica* 25: 41–43.

- Li, Q., L. Fang y C. Zhang. 2007. Structure and bioactivities of a galactose rich extracellular polysaccharide from submergedly cultured *Ganoderma lucidum*. *Carbohydrate Polymers* 68: 323–328.
- Lin, B., H. Li, S. Lee y S. Kan. 2003. Triterpene-enriched extracts from *Ganoderma lucidum* inhibit growth of hepatoma cells via suppressing protein kinase C, activating mitogen-activated protein kinases and G2-phase cell cycle arrest. *Life Sciences* 72: 2381-2390.
- Liu, X., J. P. Yuan, C. K. Chun y X. J. Chen. 2002. Antitumor activity of the sporoderm-broken germinating spores of *Ganoderma lucidum*. *Cancer Letters* 182: 155-161.
- Mata, G. y D. Martínez-Carrera. 1998. Estimación de la producción anual de residuos agroindustriales potencialmente utilizables para el cultivo de hongos comestibles en México. *Revista Mexicana de Micología* 4: 287-296.
- Martínez, F., E. Villanueva, F. Urrea. 2012. Informe final de Investigación. Creación de empresa: “Reishi S.A.S”. Universidad EAN. Facultad de Posgrados. Especialización en Administración Financiera. Bogotá. Pp. 76-77.
- Martínez-Carrera, D., R. Leben, P. Morales, M. Sobal y A. Larque- Saavedra. 1991. Historia del cultivo comercial de los hongos comestibles en México. *Ciencia y Desarrollo* 96: 33-43.
- Martínez-Carrera, D., B. Pérez-Armendáriz, Y. Mayett, F. R. Jiménez, M. Sobal, P. Morales, M. Bonilla, P. Ramírez-Carrasco, I. Tello, A. Trigos, G. Mendoza, J. Soriano- Santos y N. González. 2010. Desarrollo de bebidas y alimentos funcionales a partir de los recursos genéticos de hongos comestibles en México. Capítulo 15. Pp. 225. *En Hacia un Desarrollo Sostenible de Producción- Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica. Avances y Perspectivas en el Siglo XXI*. Eds. Martínez-Carrera, D., N. Curvetto, M. Sobal, P. Morales y V. M. Mora. RLHCM, COLPOS, UNS, CONACYT, AMC, UEM, UPAEP, IMINAP, Puebla.
- Martínez-Carrera, D., P. Morales, M. Sobal, M. Bonilla, W. Martínez e Y. Mayett. 2012. Los hongos comestibles, funcionales y medicinales: su contribución al desarrollo de las cadenas agroalimentarias y la seguridad alimentaria en México. *In: Ciencia y Humanismo. Memorias. Academia Mexicana de Ciencias*. Pp. 449-474.
- Martínez-Carrera, D., B. Pérez-Armendáriz, Y. Mayett, M. Sobal, P. Morales, P. Ramírez e I. Tello. 2014. Propiedades funcionales agregadas al tequila, otros mezcales y destilados de Agave convencionales, derivadas del extracto de un hongo comestible de uso tradicional en México (*Lentinula boryana*). (COLPOS) IMPI-MX/2009/042387.
- Martínez-Carrera, D., A. Larqué-Saavedra, A. Tovar, N. Torres, M. E. Meneses, M. Sobal, P. Morales, M. Bonilla, H. Escudero, I. Tello-Salgado, T. Bernabé-González, W. Martínez y Y. Mayett. 2016. Contribución de los hongos comestibles, funcionales y medicinales a la construcción de un paradigma sobre la producción, la dieta, la salud y la cultura en el sistema agroalimentario de México. Capítulo 30. Pp 581-640. *En: Ciencia, Tecnología e Innovación en el Sistema Agroalimentario de México Hacia un enfoque integral de la producción, la dieta, la salud y la cultura en beneficio de la sociedad*. Eds. Daniel Martínez-Carrera y Javier Ramírez Juárez. Colegio de Postgraduados-AMC-CONACYT-UPAEP-IMINAP. México.

- Mau, J. L., S. Y. Tsai, Y. H. Tseng y S. J. Huang. 2002. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Ganoderma tsugae*. *Food Chemistry* 934: 641-649.
- Mau, J. L., S. Y. Tsai, Y. H. Tseng y S. J. Huang. 2004. Antioxidant properties of hot water extracts from *Ganoderma tsugae* Murrill. *Food Science and Technology* 38: 589-597.
- Mayett, Y. y D. Martínez-Carrera. 2010. El consumo de los hongos comestibles y su relevancia en la seguridad alimentaria de México. Capítulo 18. Pp. 293-329. *En: Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI*. Eds. Martínez-Carrera, D., N. Curvetto, M. Sobal, P. Morales y V. M. Mora. RLHCM, COLPOS, UNS, CONACYT, AMC, UEM, UPAEP, IMINAP, Puebla.
- Meneses, M. E., D. Martínez-Carrera, A. R. Tovar, P. Morales, M. Sobal, T. Bernabé, H. Escudero, M. Bonilla y W. Martínez. 2014. Nutrigenómica de la interacción hongos comestibles, funcionales y medicinales- metabolismo de lípidos: su impacto potencial en obesidad, síndrome metabólico y enfermedades cardiovasculares. *Simposio general Ciencia, Tecnología e Innovación en el Sistema Agroalimentario de México* (noviembre 26-28). CP-AMP-CONACYT-UPAEP, Puebla, Puebla.
- Meneses, M. E., D. Martínez-Carrera, P. Morales, M. Sobal, H. Escudero, M. Sánchez, A. R. Tovar y N. Torres. 2015a. Beneficial effects of extract from Mexican genetic resources of *Ganoderma lucidum* on cholesterol metabolism and gut microbiota in C57BL6 mice. *17th International Symposium on Atherosclerosis, International Atherosclerosis Society* (mayo 23-26), Amsterdam, Holanda.
- Meneses, M. E., D. Martínez-Carrera, P. Morales, M. Sobal, T. Bernabé, O. Granados-Portillo, N. Torres y A. R. Tovar. 2015b. A *Ganoderma lucidum* extract derived from Mexican genetic resources and its effect on lipid metabolism gene expression and liver fatty acid composition. *The FASEB Journal* 29 (one supplement): 271.4
- Meneses, M. E., D. Martínez-Carrera, N. Torres, M. Sánchez-Tapia, P. Morales, M. Sobal, T. Bernabé, H. Escudero, O. Granados-Portillo y A. R. Tovar. 2016. Hypocholesterolemic Properties and Prebiotic Effects of Mexican *Ganoderma lucidum* in C57BL/6 Mice. Published online 2016 Jul 20. doi: [10.1371/journal.pone.0159631](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159631).
- Min, B. S., J. J. Gao, M. Hattori, H. K. Lee y Y. H. Kim. 2001. Anticomplement activity of terpenoids from the spores of *Ganoderma lucidum*. *Planta Medical* 67: 811-814.
- Mitzi, V. 2015. Desarrollo de un suplemento alimenticio a base del hongo medicinal *Ganoderma lucidum* y semillas de amaranto: su impacto potencial en la región central de México. Tesis de Maestría en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional. Colegio de Postgraduados *Campus* Puebla. Pp. 86.
- Money, N. P. 2015. Fungal diversity. Capítulo 1. Pp. 1-36. *In: The Fungi*. Eds. Watkinson S.C., L. Boddy y N. P. Money. Academic Press. U.K.
- Mothana, R. A., N. A. Ali, R. Jansen, U. Wegner, R. Mentel y U. Lindequist. 2003. Antiviral lanostanoid triterpenes from the fungus *Ganoderma pfeifferi*. *Fitoterapia* 74: 177-180.

- Morigiwa, A., K. Kitabatake, Y. Fujimoto y I. N. kekawa. 1986. Angiotensin converting enzyme-inhibitory triterpenes from *Ganoderma lucidum*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 34: 3025–3028.
- Morales, P., M. Sobal, M. Bonilla, W. Martínez, P. Ramírez-Carrasco, I. Tello, T. Spezzia, N. Lira, R. de Lima, S. Villa, E. Montiel y D. Martínez-Carrera. 2010. Los hongos Comestibles y medicinales en México: recursos genéticos, biotecnología, y desarrollo del sistema de producción- consumo. Capítulo 7. Pp. 91-108. *En: Hacia un desarrollo sostenible del sistema de producción-consumo de los hongos comestibles y medicinales en Latinoamérica: Avances y perspectivas en el siglo XXI*. Eds. Martínez-Carrera, D., N. Curvetto, M. Sobal, P. Morales y V. M. Mora. RLHCM, COLPOS, UNS, CONACYT, AMC, UEM, UPAEP, IMINAP, Puebla.
- Moreno-Fuentes, A., E. Aguirre-Acosta, M. Villegas y J. Cifuentes. 1994. Estudio fungístico de los macromicetos en el municipio de Bocoyna, Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Micología* 10: 63-76.
- Mukhin, V. A. y A. A. Votintseva. 2002. Basidiospore germination and conidial stages in the life cycles of *Fomes fomentarius* and *Fomitopsis pinicola* (Fungi, Polyporales). *Polish Botanical Journal* 47: 265-272.
- Müller, C. I., T. Kumagai, J. O’Kelly, N. P. Seeram, D. Heber y H. P. Koeffler. 2006. *Ganoderma lucidum* causes apoptosis in leukemia, lymphoma and multiple myeloma cells. *Leukemia Research* 30: 841–848
- Müller, L., S. Gnoyke, M. A. Popken y V. Böhn. 2010. Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT-Food Science and Technology* 43: 992-999.
- Murillo, E., O. Lombo, M. Tique y J. J. Méndez. 2007. Potencial Antioxidante de Bauhinia Kalbreyeri Harms (FABACEAE). *Información Tecnológica* 18: 65-74.
- Ngai, P. H. y T. B. Ng. 2004. A mushroom (*Ganoderma capense*) lectin with spectacular thermostability, potent mitogenic activity on splenocytes, and antiproliferative activity toward tumor cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 314: 988–993
- Noguchi, M., T. Kakuma, K. Tomiyasu, F. Konishi, S. Kumamoto, R. Kondo y K. Matsuoka. 2005. Phase I study of a methanol extract of *Ganoderma lucidum*, edible and medicinal mushroom, in men with mild symptoms of bladder outlet obstruction. *Urology* 66: 21.
- Oh, W., C. K. Lee, Y. S. Kim, S. K. Eo y S. S. Han. 2000. Antiherpetic activities of acidic protein bound polysaccharide isolated from *Ganoderma lucidum* alone and in combinations with acyclovir and vidarabine. *Journal of Ethnopharmacology* 72: 221–227.
- Ooi, S., V. C Ooi y M. C. Fung. 2002. Induction of gene expression of immunomodulatory cytokines in the mouse by a polysaccharide from *Ganoderma lucidum* (Curt. Fr.) P. Karst. (Aphyllorphoromycetideae). *International Journal of Medical Mushrooms* 4: 27–35.

- Park, E. J., G. Ko, J. Kim y D. H. Sohn. 1997. Antifibrotic effects of a polysaccharide extracted from *Ganoderma lucidum*, glycyrrhizin, and pentoxifylline in rats with cirrhosis induced by biliary obstruction. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 20: 417–420.
- Paterson, M. 2006. *Ganoderma*-A therapeutic fungal biofactory. *Phytochemistry* 6: 1985–2001.
- Paulino, C., A. Kessler, M. Ochoa y A. De Michelis. 2013. Compuestos bioactivos en frutas pequeñas de la Patagonia Argentina: Efecto del solvente de extracción en su determinación cuantitativa. *Revista ReCiTeIA* 12: 17-21.
- Peña-Luna, M., A. Hidalgo-Miranda, S. Romero-Córdoba, M. Sobal, P. Morales, G. Jiménez-Sánchez y D. Martínez-Carrera. 2015a. Genómica de las propiedades anticancerígenas de los hongos comestibles, funcionales y medicinales: investigaciones INMEGEN-CP. En: *Ciencia, Tecnología e Innovación en el Sistema Agroalimentario de México*. IICA, Academia Mexicana de Ciencias, México, D.F.
- Peña-Luna, M., S. Romero-Córdoba, P. Morales, M. Sobal, H. Escudero, A. Hidalgo-Miranda y D. Martínez-Carrera. 2015b. Gene expression profiles of triple negative breast cancer cells treated with a standardized extract of a Mexican strain of *Ganoderma lucidum*. *International Symposium on Frontiers in Cancer Biology y Drug Development Abstracts* (Pp.38). Marzo 12-13, Hong Kong.
- Peña-Luna, M., A. Hidalgo-Miranda, S. Romero-Córdoba, M. Sobal, P. Morales, G. Jiménez-Sánchez y D. Martínez-Carrera. 2016. Genómica de las propiedades anticancerígenas de los hongos comestibles, funcionales y medicinales: investigaciones INMEGEN-CP. Capítulo 38, pp. 827-852. En: *Ciencia, Tecnología e Innovación en el Sistema Agroalimentario de México*. Eds. D. Martínez-Carrera y J. Ramírez. Editorial del Colegio de Postgraduados-AMC-CONACYT-UPAEP-IMINAP, San Luis Huexotla, Texcoco, México. 856 pp. ISBN: 978-607-715-314-6.
- Pérez-Armendáriz, B., Y. Mayett, F. R. Jiménez, M. Sobal, P. Morales, M. Bonilla, P. Ramírez-Carrasco, I. Tello, A. Trigos, G. Mendoza, J. Soriano-Santos, N. González y D. Martínez-Carrera. 2010. Desarrollo de bebidas y alimentos funcionales a partir de los recursos genéticos de hongos comestibles y medicinales en México. Capítulo 15. Pp. 221-242. En: *Hacia un desarrollo sostenible del sistema de producción-consumo de los hongos comestibles y medicinales en Latinoamérica: Avances y perspectivas en el siglo XXI*. Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales- COLPOS-UNS. CONACYT-AMC-UAEM-UPAEP-IMINAP, Puebla
- Pérez, C. S., D. Cruz y G. Quiroz. 2011. Análisis de sensibilidad de indicadores financieros en la evaluación de inversiones en Mipymes. Proyecto de investigación “Evaluación financiera de inversiones en las mipymes hidalguenses”. Escuela Superior de Cd. Sahagún, UAEM, Centro Universitario Texcoco y la Universidad Tecnológica Tula Tepeji.
- Pérez-Moreno, J., A. Lorenza-Fernández, V. Carrasco-Hernández y A. Yescas-Pérez. 2010. Los hongos comestibles silvestres del Parque Nacional Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos. Colegio de Postgraduados, SEMARNAT, CONACyT, Montecillo, Texcoco, Estado de México.

- Pincemail, J. 1995. Free radicals and antioxidants in human diseases. Pp.83-98. In: *Analysis of free radicals in biology systems*. Eds. Favier, A.E., J. Cadet, B. Kalyanaraman, M. Fontecave y J. L. Pierre. Berlín, Germany: Birkhauser Verlag.
- Pisqueras, J. 2004. Los hongos como alimentos funcionales. *Laboratoris Clinics, Hospital Universitari del Vall d'Hebron, AM Font i Quer* 2: 46-48.
- Quiriz, F. 2012. Evaluación de las propiedades antioxidantes y antimicrobianas de dos especies del hongo medicinal *Ganoderma* nativo de México y su contribución al desarrollo regional. Tesis de Maestría en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional. Colegio de Postgraduados *Campus Puebla*. Pp. 98.
- Ramírez, J. 2000. Indicadores que miden la conveniencia financiera de un proyecto de inversión. Capítulo 10: Pp. 271-296 *En: Sector Agrario Colombiano: Inversiones de corto y mediano plazo*. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, D.C., 299.
- Reyes-García, M. G., M. González-Peralta y V. Zamora-Equihua. 2009. Guía de hongos de los alrededores de Morelia. Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Museo de Historia Natural. Morelia, Michoacán.
- Riaño, N. 2007. Fundamentos de química analítica básica. Análisis cuantitativo. Universidad de Caldas, Colombia. Pp. 27.
- Ruan-Soto, F., R. Gribay-Orijel y J. Cifuentes. 2006. Process and dynamics of traditional selling wild edible mushrooms in tropical México. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 2: 1-13.
- Secretaría de Salud. <http://www.salud.gob.mx>
- Shao, B. M., H. Dai, W. Xu, Z. B. Lin y X. M. Gao. 2004. Immune receptors for polysaccharides from *Ganoderma lucidum*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 323: 133-141.
- Shiao, S. 1992. Triterpenoid natural products in the fungus *Ganoderma lucidum*. *Journal of the Chinese Chemical Society* 39: 669-674.
- Shi, L., A. Ren, D. Muand y M. Zhao. 2010. Current progress in the study on biosynthesis and regulation of ganoderic acids. *Applied Microbiology and Biotechnology* 88: 1243-1251.
- Silva, D. 2006. *Ganoderma lucidum* in cancer research. *Leukemia Research* 30: 767-768.
- Smania, A., F. Monache, E. Smania y R. Cuneo. 1999. Antibacterial activity of steroidal compounds isolated from *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. (Aphyllorphomycetideae) fruit body. International. *Journal Medical Mushrooms* 1: 325-330.
- Smith, E. y R. Sullivan. 2004. The western approach to medicinal mushrooms. *KMITL. Science and Technology Journal* 4: 145-155.
- Spigno, G., L. Tramelli y D. M. De Faveri. 2007. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of food engineering* 81: 200-208.

- Sobal, M., D. Martínez-Carrera, P. Morales y S. Roussos. 2007. Classical characterization of mushroom genetic resources from temperate and tropical regions of México. *Micología Aplicada Internacional* 19: 15-23.
- Soriano, C., C. Sánchez, J. Álvarez-Fuentes y A. Holgado. 2000. Acondicionamiento de medicamentos: funciones y tipos de envasado.
- Stanley, G., K. Harvey, V. Slivova, J. Jiang y D. Sliva, 2005. *Ganoderma lucidum* suppresses angiogenesis through the inhibition of secretion of VEGF and TGF- β 1 from prostate cancer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 330: 46–52.
- Su, J., F. Fann, I. Chung, J. Won y N. Lin. 2000. New lanostanoids of *Ganoderma tsugae*. *Journal of Natural Products* 63: 514–516.
- Tello, I. 2010. Diversidad de los Recursos Genéticos Mexicanos del Hongo Funcional *Ganoderma* (Fungí, Ganodermataceae), conocido como Reishi en los Mercados Internacionales, y su Relevancia para el Desarrollo Regional. Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados *Campus Puebla*. Pp. 16.
- Ukai, S., T. Kiho, C. Hara, I. Kuruma e Y. Tanak. 1983. Polysaccharides in fungi. XIV. Anti-inflammatory effect of the polysaccharides from the fruit bodies of several fungi. *Journal Pharmacobiology-dynamics* 6: 983–990.
- Valdés, M. y F. Quezada. 2013. Commercial Biotechnology in México”. *Journal of Commercial Biotechnology* 19: 6-8.
- Van der Hem, G., A. Van der Vlie, F. Bocken, K. Kino, J. Hoitsma y J. Tax. 1995. Ling Zhi-8: studies of a new immunomodulating agent. *Transplantation* 60: 438–443.
- Velioglu, S., G. Mazza, L. Gao y B. Oomah. 1998. Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 4113-4117.
- Wang, Y. y R. Hall. 2004. Edible ectomycorrhizal mushrooms: challenges and achievements. *Canadian Journal of Botany* 82: 1063-1073.
- Wasser, S. 2002. Medicinal mushrooms as a source at antitumor and immunomodulation polysaccharides. *Applied Microbiology Biotechnology* 60: 258-274.
- Wu, S., S. Shi y C. Kuo, 2001. Cytotoxicity of *Ganoderma lucidum* triterpenes. *Journal of Natural Products* 64: 1121–1122.
- Xiao-Ping, C., C. Yan, L. Shui-Bing, C. You-Guo, L. Jian-Yun y L. Lan-Ping. 2009. Free radical scavenging of *Ganoderma lucidum* polysaccharides and its effect on antioxidant enzymes and immunity activities in cervical carcinoma rats. *Carbohydrate Polymers* 77: 389–393.
- Xu, J., W. Liu, W. Yao, X. Pang, D. Yin y X. Gao. 2009. Carboxymethylation of a polysaccharide extracted from *Ganoderma lucidum* enhances its antioxidant activities in vitro. *Carbohydrate Polymers* 78: 227–234.
- Yuen, M. e I. Gohel. 2008. The dual roles of *Ganoderma* antioxidants on urothelial cell DNA under carcinogenic attack. *Journal of Ethnopharmacology* 118: 324–330.

- Zhang, G. L., H. Wang, L. Teng y B. Lin. 2002. Hepatoprotective role of *Ganoderma lucidum* polysaccharide against BCG-induced immune liver injury in mice. *World Journal of Gastroenterology* 8: 728–733.
- Zhang, H. N., H. He, L. Yuan y B. Lin. 2003. In vitro and in vivo protective effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on alloxan-induced pancreatic islets damage. *Life Sciences* 73: 2307-2319.
- Zhang, H. N., y B. Lin. 2004. Hypoglycemic effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides. *Acta Pharmacologica Sinica* 25: 191–195.
- Zhang, M., W. Cui, K. Cheung y Q. Wang. 2007. Antitumor polysaccharides from mushrooms : a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity. *Trends in Food Science and Technology* 18: 4-19.
- Zhanga, J., X. Gao, Y. Pan, N. Xu y L. Jia. 2016. Toxicology and immunology of *Ganoderma lucidum* polysaccharides in Kunming mice and Wistar rats. *International Journal of Biological Macromolecules* 85: 302–310.
- Zhou, X. W., Q. Su y M. Zhang. 2012. Applied modern biotechnology for cultivation o *Ganoderma* and development of their products. *Applied Microbiology Biotechnology* 93: 941-963.
- Zhu, M., Q. Chang, L. K. Wong, F. S. Chong y R. C. Li. 1999. Triterpene antioxidants from *Ganoderma lucidum*. *Phytotherapy Research* 13: 529–531.
- Zuluaga, J., C. Pérez, A. Angulo, O. Torres, G. Santafé. 2007. Química y actividad antioxidante y bactericida del extracto etanólico del hongo *Ganoderma lucidum*. *Scientia et Technica* 33: 329-332.