

## Actividad antioxidante de extractos de diez basidiomicetos comestibles en Guatemala

Karen Belloso, Ivonne González, Rebeca Suárez, Armando Cáceres\*

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

\*Autor al que se dirige la correspondencia: [acaceres46@gmail.com](mailto:acaceres46@gmail.com)

Recibido: 01 de julio 2015 / Revisión: 20 de agosto 2015 / Aceptado: 30 de septiembre 2015 / Disponible en línea: 16 de noviembre 2015

### Resumen

Los antioxidantes son esenciales en el cuerpo humano para prevenir el daño oxidativo. Estas sustancias pueden obtenerse de diferentes fuentes como frutas, plantas y hongos. En Guatemala, diversas especies de hongos comestibles son comercializadas y consumidas, sin embargo su actividad antioxidante no ha sido documentada en el país. El objetivo de este estudio fue determinar la actividad antioxidante de extractos acuosos y etanólicos obtenidos de diez especies de basidiomicetos comestibles (*Agaricus* aff. *bisporus*, *A. brunnescens*, *Armillariella polymyces*, *Amanita garabitoana*, *Boletus edulis*, *Cantharellus lateritius*, *Laccaria amethystina*, *Lactarius deliciosus*, *Neolentinus ponderosus* y *Pleurotus ostreatus*). Se utilizó un método cualitativo por cromatografía en capa fina (CCF) y tres ensayos macrométricos *in vitro* de cuantificación de fenoles totales, reducción del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) y decoloración del radical catiónico del reactivo ácido 2,2'-azinobis-(ácido-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS). Los extractos acuosos mostraron mayor actividad antioxidante que los extractos etanólicos en todas las técnicas cuantitativas realizadas. La especie que mostró mayor actividad antioxidante en ambos extractos fue *B. edulis*, cuyos resultados en el extracto acuoso fueron: fenoles totales  $93.46 \pm 18.17$  mg/g, DPPH  $IC_{50}$  0.93 mg/mL (IC<sub>95%</sub> 0.65-1.28) y en ABTS  $IC_{50}$  0.96 mg/mL (IC<sub>95%</sub> 0.63-1.35); los resultados en el extracto etanólico fueron: Fenoles totales  $42.70 \pm 3.48$  mg/g, DPPH  $IC_{50}$  2.75 mg/mL (IC<sub>95%</sub> 2.46-3.07) y 4.13 mg/mL (IC<sub>95%</sub> 2.67-5.88). Se evidencia de esta forma que las especies de basidiomicetos estudiadas presentan actividad antioxidante por lo cual pueden ser una fuente potencial de antioxidantes naturales.

**Palabras claves:** *Agaricus brunnescens*, *Amanita garabitoana*, *Boletus edulis*, alimentos funcionales, hongos comestibles

### Abstract

Antioxidants are essential in the body to prevent oxidative damage. These antioxidant substances are obtained from different sources such as fruits, plants and mushrooms. In Guatemala, diverse species of mushrooms are commercialized and consumed, however their antioxidant activity has not been documented in Guatemala. The goal of this study aimed to determine the antioxidant activity of aqueous and ethanolic extracts obtained from edible basidiomycete's species: *Agaricus* aff. *bisporus*, *A. brunnescens*, *Armillariella polymyces*, *Amanita garabitoana*, *Boletus edulis*, *Cantharellus lateritius*, *Laccaria amethystina*, *Lactarius deliciosus*, *Neolentinus ponderosus* and *Pleurotus ostreatus*. Thin layer chromatography (TLC) was used as a qualitative method to determine the presence of antioxidant activity, subsequently, three *in vitro* macrometric assays were used: the quantification of total phenolics, reduction of 1,1-diphenyl-2-picrilhidrazil (DPPH) radical, and discoloration of the acid reagent 2,2'-azinobis-(acid-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical cation. Aqueous extracts exhibited higher antioxidant activity than ethanolic in all the quantitative techniques used. The specie that showed greater antioxidant activity in both extracts was *B. edulis*, whose results of aqueous extract were as follows: Total phenolics  $93.46 \pm 18.17$  mg/g, DPPH  $IC_{50}$  0.93 mg/mL (CI<sub>95%</sub> 0.65-1.28) and ABTS  $IC_{50}$  0.96 mg/mL (CI<sub>95%</sub> 0.63-1.35); results of ethanolic extract were: Total phenolics  $42.70 \pm 3.48$  mg/g, DPPH  $IC_{50}$  2.75 mg/mL (CI<sub>95%</sub> 2.46-3.07) and ABTS  $IC_{50}$  4.13 mg/mL (CI<sub>95%</sub> 2.67-5.88). Based in the result of the study all the basidiomycete's species that were evaluated have antioxidant activity, therefore, are potential sources of natural antioxidants.

**Keywords:** *Agaricus brunnescens*, *Amanita garabitoana*, *Boletus edulis*, functional foods, edible mushrooms



## Introducción

En los últimos años se ha determinado que muchas enfermedades crónicas son provocadas por radicales libres, sustancias que tienen la capacidad de causar reacciones oxidativas en el organismo y desencadenar enfermedades metabólicas, neurodegenerativas y cardiovasculares. Debido a esto, se hace necesaria la investigación de las propiedades antioxidantes de productos naturales, los cuales presentan menor toxicidad en relación con los compuestos sintéticos utilizados actualmente como aditivos alimenticios (Imark, Kneubühl, & Bodmer, 2001).

En muchos países el consumo de hongos es utilizado tradicionalmente como una alternativa alimenticia, ya que estos poseen diversas propiedades nutricionales y se pueden cultivar mediante técnicas sencillas de bajo costo; además sus diferentes componentes han mostrado actividad inmunomoduladora, antimicrobiana, antitumoral, antiinflamatoria y antioxidante (Paz, 2011; Rodríguez, Ramírez, González, Oliva, & Sánchez, 2009; Sommerkamp, 1990).

La selección de las especies se hizo en base a su disponibilidad, ya que todas poseen un elevado potencial de comercialización en los mercados nacionales y su consumo puede contribuir a la economía del campesino (Bran, Flores, Morales, & Cáceres, 2003; Sommerkamp, 1990).

Estudios previos realizados en otros países han comprobado la actividad antioxidante que presentan diversas especies de basidiomicetos comestibles (Elmastas, Isildak, Turkecul, & Temur, 2007; Ferreira Baptista, Villas-Boas, & Barros, 2007; Heleno, Barros, Sousa, Martins, & Ferreira, 2010; Jayakumar, Ramesh, & Geraldine, 2006; Tsai, Tsai, & Mau, 2006), incluyendo investigaciones donde se han aislado e investigado los polisacáridos de *Agaricus* aff. *bisporus*, mostrando interesantes propiedades antioxidantes que confieren protección ante el daño oxidativo (He, Ru, Dong, & Sun, 2012).

En Guatemala no se han documentado estudios que evalúen la actividad antioxidante de basidiomicetos comestibles, por lo que el principal objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antioxidante *in vitro* de los extractos etanólicos y acuosos de diez especies de basidiomicetos por medio de cuatro métodos, uno cualitativo y tres cuantitativos.

## Materiales y métodos

### Obtención del material fúngico

Las especies de basidiomicetos *A. bisporus*, *A. brunnescens* y *Pleurotus ostreatus* fueron adquiridos comercialmente en La Central de Mayoreo (CENMA) del departamento de Guatemala, y se identificaron taxonómicamente en la Micoteca de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Las especies *Armillariella polymyces*, *Amanita garabitoana*, *Boletus edulis*, *Cantharellus lateritius*, *Laccaria amethystina*, *Lactarius deliciosus* y *Neolentinus ponderosus* fueron obtenidas en los mercados municipales de Tecpán, Guatemala y Alta Verapaz, dichas especies fueron proporcionadas por la Unidad de Bioensayos del Departamento de Citohistología de la Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, al igual que los extractos con etanol al 95% de *A. garabitoana*, *A. polymyces*, *B. edulis*, *L. deliciosus* y *N. ponderosus*.

### Preparación de los extractos

Los extractos etanólicos fueron obtenidos de acuerdo a la técnica de extracción continua por percolación descrita por Cáceres y colaboradores (2012), utilizando como disolvente etanol al 95%, percolación continua y concentrados en un evaporador rotatorio a temperatura controlada (< 45°C). Los extractos acuosos se obtuvieron según Carmona, López, González y Muñoz (2006), preparando una infusión, suspensión de una sustancia orgánica en un líquido caliente a manera que se disuelvan sus partes solubles; se agregó 1 g de material seco a 100 mL de agua desmineralizada hirviendo, se dejó reposar por 10 min y por último se filtró utilizando papel filtro.

### Evaluación de la actividad antioxidante

Los extractos se evaluaron por procedimientos que miden la actividad antioxidante *in vitro* establecidos en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT), originalmente establecidos para evaluar la actividad antioxidante de extractos vegetales (Cáceres et al., 2012), que a continuación se describen.

**Cromatografía en capa fina (CCF).** Se aplicaron 10 µL de muestra de cada extracto y 5 µL de los estándares antioxidantes, quercetina, rutina y terbutil-

hidroquinona (TBHQ) en una cromatoplaque de silica gel 60F<sub>254</sub> (Merck). Se colocó la placa en la cámara de vidrio saturada con acetato de etilo, ácido acético, ácido fórmico y agua (100:11:11:26). Luego de secar y asperjar con DPPH (1 mg/mL en metanol) se determinó la actividad antioxidante observándose decoloración del DPPH en las bandas respectivas, cuya intensidad fue medida por cruces.

**Cuantificación de fenoles totales.** Se realizó según la metodología de Lima (2003) y Lock (1994), utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu. Se preparó una curva de calibración utilizando ácido gálico (0.1 mg/mL) de la cual se tomaron volúmenes de 0 µL a 250 µL en intervalos de 50 µL y se completó el volumen de cada uno con agua desmineralizada para llegar a un volumen de 4 mL adicionando también 0.4 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu y 0.8 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 10%. Del extracto se prepararon dos muestras; la primera con 3.95 mL de agua, 0.4 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu, 0.8 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 10% y 50 µL de extracto; la segunda muestra con 3.90 mL de agua, 0.4 mL de reactivo Folin-Ciocalteu, 0.8 mL de carbonato de sodio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) al 10% y 100 µL de extracto. Los tubos de reacción se agitaron en un vortex durante 30 seg, se calentaron de 90-100 °C por 1 min y se dejaron enfriar. Se realizó la lectura de absorbancia en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 765 nm. La cantidad de fenoles totales fue expresada como µg equivalentes de ácido gálico por mg de extracto.

**Reducción del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH).** Según la metodología de Sharma y Bhat (2009) y Lima (2003). Se preparó una serie de cuatro tubos de reacción por ensayo. Al primer tubo (blanco del control) se le agregó 1 mL de una solución tampón de acetato y 2 mL de metanol; al segundo tubo (control), se le agregó 1 mL de tampón de acetato, 1.5 mL de metanol y 0.5 mL de solución metanólica de DPPH 500 µM; al tercer tubo (blanco del ensayo), se le agregó 1 mL de tampón de acetato, 1.9 mL de metanol, 0.1 mL de extracto; al cuarto tubo (ensayo), se le agregó 1 mL de tampón de acetato, 1.4 mL de metanol, 0.1 mL del extracto y 0.5 mL de solución de DPPH 500µM. Se agitó en vortex por 30 seg e incubó a temperatura ambiente por 30 min protegido de la luz. Se realizó la lectura de la absorbancia (Abs) en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nm contra el blanco respectivo. Se calculó el porcentaje de Inhibición (%Inh) de la Abs por medio de la Ecuación

[1], que se interpreta según el valor de CI<sub>50</sub>, es decir, la concentración del extracto requerida para disminuir un 50% la absorbancia de DPPH.

(Ecuación 1)

$$\frac{\text{Abs del control} - \text{Abs de la dilución} * 100}{\text{Abs del control}} = \% \text{ Inh}$$

**Decoloración del radical catiónico del reactivo ácido 2,2'-azinobis-(ácido-3- etilbenzotiazolina-6-sulfónico, ABTS).** El procedimiento se basó en lo descrito por Re y colaboradores (1999) y Vasco, Ruales y Kamal-Eldin (2008). Se preparó el catión ABTS<sup>+</sup> con la mezcla de la solución ABTS (7 mM) y la solución de persulfato de potasio (2.45 mM) con 18 h previas de incubación. Se diluyó en etanol al 95% (1:30) para obtener una absorbancia (Abs) de (0.70 ± 0.2) en una lectura de absorbancia en el espectrofotómetro a 734 nm. La solución de trabajo se incubó durante 30 min a 30 °C. La dilución del extracto (3 µL) se mezcló con 3 mL de la solución de trabajo de ABTS. Se leyó la Abs en el espectrofotómetro a 734 nm en los minutos 1, 4 y 6. Se calculó el % Inh de la Abs por medio de la ecuación 1. Esta se interpreta según el valor de CI<sub>50</sub>, es decir, la concentración del extracto requerida para disminuir un 50% la absorbancia de ABTS. Los resultados se expresan como Actividad Antioxidante Equivalente a Trolox (TEAC), que representa la concentración de solución de Trolox que tiene la misma capacidad antioxidante que el extracto.

## Diseño y análisis de datos

Se realizó un estudio experimental inferencial de tipo dosis-respuesta, utilizándose las siguientes variables. Independientes: (1) Las diez especies de basidiomicetos comestibles. (2) Extractos acuosos y etanólicos de los basidiomicetos comestibles. (3) Concentraciones de cada extracto. Dependientes: Actividad antioxidante detectada por medio de los ensayos macrométricos DPPH, ABTS, y Cuantificación de fenoles.

Los resultados obtenidos en CCF únicamente se describieron al observar la cromatoplaque. Asimismo, se realizaron tres réplicas por extracto obtenido de cada especie (10 extractos etanólicos y 10 extractos acuosos) así como de los estándares utilizando los siguientes ensayos: cuantificación de fenoles totales, determinación de actividad antioxidante por DPPH y ABTS. Para la cuantificación de fenoles totales se reporta la media de las tres cuantificaciones y su respectiva desviación estándar.

Para las técnicas de DPPH y ABTS se calculó la ecuación de la recta y se evaluó estadísticamente con el coeficiente de determinación ( $r^2$ ). Todas las mediciones se representaron en diagramas de dispersión para determinar gráficamente la tendencia de los datos. Se obtuvo un comportamiento lineal con el que se realizó un análisis de regresión lineal simple. Para cada extracto se calculó el valor de concentración Inhibitoria media (CI<sub>50</sub>) empleando la ecuación de la recta (CI<sub>50</sub> = [50-pendiente]/intercepto) con un intervalo de confianza del 95%.

El valor de TEAC indicado en la tabla de resultados representa la concentración de solución de Trolox que tiene la misma capacidad antioxidante que el extracto. Los valores de TEAC se determinaron según la siguiente ecuación:

(Ecuación 2)

$$\Delta A_{\text{trolox}} = (A_{T=0 \text{ Trolox}} - A_{T=6 \text{ Trolox}}) - \Delta A_{\text{solvent}(0-6 \text{ min})}$$

$$\Delta A_{\text{trolox}} = m \cdot [\text{Trolox}]$$

$$\text{TEAC}_{\text{extracto}} = (\Delta A_{\text{extracto}}/m) \cdot d$$

Donde  $\Delta A$  = reducción de la absorbancia,  $A$  = absorbancia al tiempo dado,  $m$  = pendiente de la curva estándar,  $[\text{Trolox}]$  = concentración de Trolox,  $d$  = factor de dilución por triplicado.

## Resultados

Las especies, tipo de extracto, y resultados obtenidos pueden visualizarse en la Tabla 1. El método cualitativo de CCF con revelador DPPH, demuestra que la actividad antioxidante fue positiva para todos los extractos de las 10 especies, comparándose con tres estándares: quercetina (+++), rutina (++++), y TBHQ (+++) los cuales también mostraron actividad positiva.

En la metodología de cuantificación de fenoles totales, *B. edulis*, demostró la mayor cantidad de fenoles totales tanto en el extracto etanólico (42.70 ± 03.48 µg ácido gálico/mg de extracto) como acuoso (93.46 ± 18.17 µg ácido gálico/mg de extracto), seguido de los extractos acuosos de *A. garabitoana* (84.98 ± 04.81 µg ácido gálico/mg de extracto) y *A. bisporus* (62.92 ± 00.71 µg ácido gálico/mg de extracto). Las especies que reportaron menor cantidad de fenoles totales fueron los extractos etanólicos de *P. ostreatus* (6.15 ± 1.14 µg ácido gálico/mg de extracto) y *C. lateritius* (5.44 ± 0.08 µg ácido gálico/mg de extracto) (Tabla 1).

En cuanto al ensayo macrométrico de reducción del radical DPPH, se determinó que la mejor actividad antioxidante la presentó el extracto de *B. edulis*, tanto el acuoso (CI<sub>50</sub> de 0.93 mg/mL, IC<sub>95%</sub> 0.65-1.28) como el etanólico (CI<sub>50</sub> de 2.75 mg/mL, IC<sub>95%</sub> 2.46-3.07), ya que inhibió el 50% de los radicales de oxidación con la menor cantidad de extracto. El extracto que presentó la segunda mejor actividad fue el extracto acuoso de *A. garabitoana* (CI<sub>50</sub> 1.18 mg/mL, IC<sub>95%</sub> 1.07-1.29), mientras que el que presentó la menor actividad fue el extracto etanólico de *P. ostreatus* (CI<sub>50</sub> 23.81 mg/mL, IC<sub>95%</sub> 22.61-26.21). Por el método de ABTS la mayor actividad también se demostró en el extracto acuoso de *B. edulis* (CI<sub>50</sub> 0.96 mg/mL, IC<sub>95%</sub> 0.63-1.35). Se observó que la TEAC en los extractos acuosos presenta los valores más altos, obteniendo el mejor resultado con el extracto acuoso de *B. edulis* con un valor de 22.37 µmol/g extracto.

## Discusión

Los radicales libres son producidos durante el metabolismo celular en condiciones normales y patológicas. La oxidación es esencial para muchos organismos vivos en la generación de energía la cual sirve de combustible en diversos procesos biológicos. Sin embargo, la producción no controlada de radicales libres derivados del oxígeno, provocan daño oxidativo al ADN, proteínas y otras macromoléculas, dando como resultado el desarrollo de procesos asociados con el envejecimiento y enfermedades degenerativas como cáncer, artritis reumatoide, cirrosis y arterosclerosis (Fraga, Shigenaga, Park, Degan, & Ames, 1990; Halliwell & Gutteridge, 2007). La ingesta de alimentos ricos en sustancias antioxidantes como ácido ascórbico, carotenoides,  $\alpha$ -tocoferol, compuestos fenólicos y polisacáridos, entre otros, previene, disminuye o alarga el desarrollo de las enfermedades mencionadas, creando la defensa antioxidante del organismo para protegerlo contra el daño oxidativo (Halliwell & Gutteridge, 2007).

De cada una de las especies se trabajó un extracto etanólico al 95% y un extracto acuoso para obtener compuestos polares y apolares. Se ha reportado que se obtienen mejores beneficios trabajando con el extracto completo que solo con los metabolitos aislados, ya que el extracto como una mezcla compleja de compuestos fitoquímicos, provoca mayores efectos aditivos y sinérgicos (Barros et al., 2008).

Asimismo, se evaluó la actividad antioxidante *in vitro* por medio de cuatro métodos, uno cualitativo y tres

Tabla 1

Actividad antioxidante y cuantificación de fenoles totales en extractos acuosos y etanólicos de 10 especies de basidiomicetos comestibles

Especie	Extracto	Cuantificación de fenoles totales*		Determinación de la actividad antioxidante		
		µg equivalentes de ácido gálico/mg de extracto	Cromatografía en capa fina	DPPH CI <sub>50</sub> (mg/mL)**	ABTS CI <sub>50</sub> (mg/mL)**	TEAC (µmol/g)
<i>Armillariella polymyces</i>	Etanólico	6.75 ± 1.24	++	18.04 (15.12-21.63)	20.32 (16.23-23.01)	3.90
	Acuoso	12.10 ± 0.41	++	4.80 (3.95-5.80)	4.32 (3.26-5.65)	15.51
<i>Amanita garabitoana</i>	Etanólico	27.11 ± 1.49	+++	9.70 (6.84-13.51)	14.45 (12.29-17.01)	4.66
	Acuoso	84.98 ± 4.81	++++	1.18 (1.07-1.29)	2.86 (2.29-3.56)	15.99
<i>Boletus edulis</i>	Etanólico	42.70 ± 3.48	++++	2.75 (2.46-3.07)	4.13 (2.67-5.88)	9.15
	Acuoso	93.46 ± 18.17	++++	0.93 (0.65-1.28)	0.96 (0.63-1.35)	22.37
<i>Neolentinus ponderosus</i>	Etanólico	12.80 ± 0.91	+++	16.10 (14.03-18.51)	17.21 (15.07-19.70)	4.00
	Acuoso	47.82 ± 0.64	++	6.56 (6.17-6.97)	4.06 (3.24-5.86)	14.98
<i>Lactarius deliciosus</i>	Etanólico	11.14 ± 0.92	+++	17.04 (13.82-21.12)	10.59 (08.84-12.64)	5.91
	Acuoso	50.46 ± 2.97	++++	2.10 (1.78-2.95)	3.89 (3.41-4.47)	15.63
<i>Agaricus bisporus</i>	Etanólico	11.86 ± 1.07	++++	12.94 (11.40-14.70)	15.38 (13.49-17.56)	4.71
	Acuoso	62.92 ± 0.71	++++	2.45 (2.00-2.94)	3.85 (3.15-4.65)	15.96
<i>Laccaria amethystina</i>	Etanólico	9.42 ± 1.73	+++	17.24 (15.03-19.82)	18.48 (16.26-21.08)	4.26
	Acuoso	36.48 ± 6.93	++	4.55 (3.6-5.69)	4.22 (3.83-4.64)	14.83
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Etanólico	6.15 ± 1.14	++	19.86 (16.81-23.59)	23.81 (22.61-26.21)	3.89
	Acuoso	43.32 ± 1.53	++	4.79 (3.4-6.61)	3.95 (3.42-4.60)	15.29
<i>Cantharellus lateritius</i>	Etanólico	5.44 ± 0.08	++	21.75 (19.73-24.13)	20.27 (17.57-23.49)	3.91
	Acuoso	10.87 ± 0.46	++	6.80 (6.22-7.44)	6.17 (5.53-6.90)	11.70
<i>Agaricus brunnescens</i>	Etanólico	14.03 ± 0.76	++++	2.61 (1.87-3.25)	7.08 (5.82-8.52)	8.24
	Acuoso	50.02 ± 2.07	+++	3.91 (2.9-5.05)	3.72 (2.86-4.74)	18.26

Nota. \*El valor corresponde a media ± desviación estándar. \*\*Intervalos de confianza al 95%. CI<sub>50</sub> = Concentración inhibitoria media (50%). DPPH = 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo. ABTS = 2,2'-azinobis-(ácido-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico). TEAC = Capacidad antioxidante equivalente a Trolox.

cuantitativos. El primero fue el método cualitativo para demostrar la actividad antioxidante y orientar la cuantificación; todos los extractos mostraron algún grado de actividad antioxidante.

Respecto a fenoles totales la mayor actividad la demostró el extracto etanólico y acuoso de *B. edulis*,

seguido de los extractos acuosos de *A. garabitoana* y *A. bisporus*. Las especies con menor cantidad de fenoles totales fueron los extractos etanólicos de *P. ostreatus* y *C. lateritius*, por lo que se esperaría una menor actividad antioxidante. Sin embargo, en estudios previos se reportó que el extracto etanólico liofilizado del micelio

de *P. ostreatus* demostró una actividad antioxidante mayor (6.74 mg/mL), esto puede deberse a la liofilización del extracto, ya que se sabe que con ello se conservan al máximo los compuestos fenólicos relacionados al potencial antioxidante (Vamanu, 2012).

Se observa correlación directa entre el contenido de fenoles y la actividad antioxidante de los basidiomicetos evaluados en el presente estudio, tal y como se describe en la literatura (Barros et al., 2008). En estudios recientes realizados en hongos comestibles se reporta actividad antioxidante atribuida al contenido de fenoles; estos estudios reportan en *B. edulis* valores de fenoles totales 31.64 y 12.77 µg/mg en el extracto metanólico, 5.73 µg/mg en el extracto etanólico y 5.81 µg/mg en el extracto acuoso (Keleş, Koca, & Gençcelep, 2011; Sarikurkcu, Tepe, & Yamac, 2007; Tsai et al., 2006). Yang y colaboradores (2002) reportaron para *P. ostreatus* valores de fenoles totales de  $15.7 \pm 0.10$  µg/mg en el extracto etanólico, mientras que Elmastas y colaboradores (2007) encontraron en el extracto metanólico un contenido de  $12.1 \pm 0.10$  µg/mg.

El ensayo macrométrico de reducción del radical DPPH, demostró que la mejor actividad antioxidante la presentaron los extractos acuoso y etanólico de *B. edulis*, ya que inhibió el 50% de los radicales de oxidación con la menor cantidad de extracto. El extracto que presentó la segunda mejor actividad fue el extracto acuoso de *A. garabitoana*, caso contrario el extracto etanólico de *P. ostreatus* mostró menor actividad, cabe mencionar que los extractos acuosos presentaron mayor actividad en comparación con los etanólicos, esto debido a que la naturaleza de los metabolitos produce una diferencia en la actividad antioxidante.

En estudios en *B. edulis* se reportan valores de  $CI_{50}$  de 1.75 mg/mL en el extracto etanólico (Tsai et al., 2006). Asimismo se ha reportado actividad antioxidante de las especies estudiadas como los extractos metanólicos de *A. bisporus* ( $CI_{50}$  4.49 mg/ml) y *L. deliciosus* ( $CI_{50}$  8.52 mg/ml) por el método de DPPH. Al comparar los resultados obtenidos en el presente estudio y los reportados en otros estudios; se observan diferencias, en los resultados cuantitativos, las cuales pueden deberse a las condiciones analíticas y metodológicas utilizadas (Barros et al., 2008; Ferreira et al., 2007).

La mayor actividad antioxidante obtenida por el método de ABTS la demostró el extracto acuoso de *B. edulis* ( $CI_{50}$  0.96 mg/mL, CI 95% 0.63-1.35).

Con el método de ABTS se observó una menor actividad antioxidante que con DPPH; esto indica que los compuestos con características apolares que están

presentes en los extractos no presentan mucha actividad antioxidante en comparación con los compuestos con características polares.

El resultado de la actividad antioxidante obtenida con los extractos de las especies de hongos evaluadas no es tan elevada en comparación con la actividad de los estándares utilizados, sin embargo, la especie de basidiomiceto que presentó la mejor actividad antioxidante por medio de todas las metodologías fue *B. edulis*, aproximándose mucho más al  $CI_{50}$  de los estándares.

Todos los extractos acuosos mostraron los mejores resultados mediante todas las metodologías utilizadas, a pesar de tener un menor rendimiento, aportando así una valiosa información ya que el extracto acuoso se asemeja a la forma natural del consumo de los hongos en la dieta humana.

Respecto a la capacidad antioxidante TEAC, se observó que los extractos acuosos presentaron los valores más altos, obteniendo el mejor resultado con el extracto acuoso de *B. edulis* con un valor de 22.37 µmol/g extracto; el resto de las especies evaluadas muestran una tendencia similar, lo cual concuerda con los resultados obtenidos mediante DPPH y ABTS. Estudios con los ensayos FRAP, TEAC y DPPH demuestran, que *B. edulis* es uno de los hongos silvestres comestibles con mayor actividad antioxidante (Witkowska, Zujko, & Mironzcuk-Chodakowska, 2011)

Comparando las metodologías, varios autores reportan que el método de radical DPPH es un método fácil, simple y reproducible; el radical sintético utilizado es más estable y menos fotosensible que el radical catiónico ABTS (Kuskoski, 2005). Se obtuvo una alta reproducibilidad tanto en ABTS como en DPPH además de presentar intervalos de confianza con una amplitud considerablemente estrecha; lo cual indica que no hay mucha dispersión entre las mediciones de las tres réplicas realizadas. Con el método de DPPH se obtuvieron menores  $CI_{50}$ , indicando que posiblemente los metabolitos de los basidiomicetos que confieren propiedades antioxidantes poseen características polares.

Se mostró que cada extracto posee una tendencia similar en la cuantificación obtenida mediante las diferentes técnicas utilizadas, la especie que reflejó mayor cantidad de fenoles totales reportó la mejor actividad antioxidante en las dos metodologías de cuantificación, evidenciando que los compuestos ricos en polifenoles, es decir, los pigmentos con poder antioxidante que tienen más de un grupo fenol en cada molécula, son los que mayor actividad antioxidante presentan lo cual permite correlacionar con estudios previos (Barros et al., 2008; Caballeros, 2001).

Con estos hallazgos se evidencia el potencial de los hongos para ser promovidos como alimentos funcionales ya que pueden ser utilizados como agentes protectores, aportando antioxidantes naturales al ser humano por medio de la dieta y de esta forma reducir el daño oxidativo, mantener la salud, longevidad y calidad de vida (Kozarski et al., 2015)

## Agradecimientos

Al personal del Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT) por facilitar los materiales, el equipo e instalaciones utilizados en la realización de este estudio, principalmente a la Dra. Sully Cruz y Licda. Nereida Marroquín. Al Departamento de Citohistología, principalmente a las MA. Isabel Gaitán y Margarita Paz por su apoyo. Al Lic. Roberto Cáceres por su colaboración en la identificación taxonómica de los basidiomicetos.

## Referencias

- Barros, L., Falcão, S., Baptista, P., Freire, C., Vilas-Boas, M., & Ferreira, I. (2008). Antioxidant activity of *Agaricus sp.* mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Food Chemistry*, *111*, 61-66.
- Bran, M. C., Flores, R., Morales, O., & Cáceres, R. (2003). *Contribución al conocimiento de los hongos comestibles en Guatemala*. Guatemala.
- Caballeros, K. (2001). *Optimización de dos métodos para el tamizaje de la actividad antioxidante de extractos* (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Cáceres, A., Lange, K., Cruz, S. M., Velásquez, R., Lima, S., Menéndez, M. C., & González, J. (2012). Assessment of antioxidant activity of 24 native plants used in Guatemala for their potential application in natural product industry. *Acta Horticulturae*, *964*, 85-92.
- Carmona, R., López, O., González, M., & Muñoz, A. (2006). Optimización del proceso de obtención del extracto acuoso de *Calendula officinalis*. *Revista Cubana Plantas Medicinales*, *11*, 3-4.
- Elmastas, M., Isildak, O., Turkecul, I., & Temur, N. (2007). Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis*, *20*, 337-345.
- Ferreira, I., Baptista, P., Vilas-Boas, M., & Barros, L. (2007). Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food Chemistry*, *100*, 1511-1516.
- Fraga, C., Shigenaga, M., Park, J., Degan, P., & Ames, B. (1990). Oxidative damage to DNA during aging: 8-hidroxy-2'-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *87*, 4533-4537.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J. (2007). *Free radicals in Biology and Medicine*. United States (4th. ed.) New York: Oxford University Press.
- He, J., Ru, Q., Dong, D., & Sun, P. (2012). Chemical characteristics and antioxidant properties of crude water soluble polysaccharides from four common edible mushrooms. *Molecules*, *17*, 4373-4387.
- Heleno, S., Barros, L., Sousa, M. J., Martins, A., & Ferreira, I. C. F. R. (2010). Tocopherols composition of Portuguese wild mushrooms with antioxidant capacity. *Food Chemistry*, *119*, 1443-1450.
- Imark, C., Kneubühl, M., & Bodmer, S. (2001). Occurrence and activity of natural antioxidants in herbal spirits. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *1*, 239-243.
- Jayakumar, T., Ramesh, E., & Geraldine, P. (2006). Antioxidant activity of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*, on CCl<sub>4</sub>-induced liver injury in rats. *Food and Chemical Toxicology*, *44*, 1989-1996.
- Keleş, A., Koca, I., & Gençlelep, H. (2011). Antioxidant properties of wild edible mushrooms. *Food Processing & Technology*, *2*, 130-136.
- Kozarski, M., Klaus, A., Jakovljevic, D., Todorovic, N., Vunduk, J., Petrović, P., ..., van Griensven, L. (2015). Antioxidants of edible mushrooms. *Molecules*, *20*, 19489-19525
- Kuskoski, E. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Tecnología de Alimentos*, *25*, 726-732.
- Lima, S. (2003). *Evaluación de distintos solventes para el proceso de extracción en la determinación de*

- la actividad antioxidante de quilete* (*Solanum americanum*) y *mamey* (*Mammea americana*). (Tesis de licenciatura). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Lock, O. (1994). Investigación fitoquímica, Métodos en el estudio de productos naturales (2da Ed.). Perú: Fondo editorial de la Pontificia Universidad del Perú.
- Paz, M., (2011). Composición química, actividad inmunomoduladora y biocida de basidiomicetos comestibles de Guatemala (FODECYT No. 30-2007). Guatemala: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, N., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26, 1231-1237.
- Rodríguez, C., Ramírez, K., González, N., Oliva, S. & Sánchez, E. (2009). *Determinación de la actividad inmunomoduladora de los basidiomicetos comestibles* *Cantharellus lateritius* Singer (*Berk*) Singer, *Armillariella polymyces* (*Pers.: Letell.*) Sing & Clem, *Laccaria amethystina* Cooke, *Lactarius deliciosus* (*L. ex Fr*) S. F. Gray y *Pleurotus ostreatus* (*Jacq. ex Fr.*) Kumm (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Sarikurkcü, C., Tepe, B., & Yamac, M. (2007). Evaluation of the antioxidant activity of four edible mushrooms from the Central Anatolia, Eskisehir-Turkey: *Lactarius deterrimus*, *Suillus collitinus*, *Boletus edulis*, *Xerocomus chrysenteron*. *Bioresource Technology*, 99, 6651-6655.
- Sharma, O., & Bhat, T. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*, 113, 1202-1205.
- Sommerkamp, Y. (1990). *Hongos comestibles en los mercados de Guatemala* (Cuaderno de Investigación No. 3-90). Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación.
- Tsai, S., Tsai, H., & Mau, J. (2006). Antioxidant properties of *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea*, and *Boletus edulis*. *Food Science and Technology*, 40, 1392-1402.
- Yang, J., Lin, H., & Mau, J. (2002). Antioxidant properties of several commercial mushrooms. *Food Chemistry*, 77, 229-235.
- Vamanu, E. (2012). *In vitro* antimicrobial and antioxidant activities of ethenolic extract of lyophilized mycelium of *Pleurotus ostreatus* PQMZ91109. *Molecules*, 17, 3653-3671.
- Vasco, C., Ruales, J., & Kamal-Eldin, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, 111, 816-823.
- Witkowska, A. M., Zujko, M. E., & Mironzcuk-Chodakowska, I. (2011). Comparative study of wild edible mushrooms as sources of antioxidants. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 13, 335-341.