INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN

PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL

UNIDAD DURANGO

ANÁLISIS DE COMPONENTES ANTIOXIDANTES EN HONGOS SILVESTRES COMESTIBLES CONSUMIDOS EN EL SALTO, PUEBLO NUEVO, DURANGO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS EN GESTIÓN AMBIENTAL

PRESENTA:

MARÍA DANIELA MARES QUIÑONES

DIRECTORES

M.C. NÉSTOR NARANJO JIMÉNEZ

DR. JOSÉ ANTONIO ÁVILA REYES

CIIDIR DURANGO

Durango, Dgo., Junio de 2014

SIP-14-BIS

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de **Durango, Dgo.** siendo las **13:00** horas del día **31** del mes de **Octubre** del **2014** se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación del: **CIIDIR-IPN Unidad Durango** para examinar la tesis titulada:

Análisis de componentes antioxidantes en hongos silvestres consumidos en El Salto, Pueblo Nuevo, Durango

Presentada por el alumno:

MARES	**QUIÑONES**	**MARÍA DANIELA**
Apellido paterno	Apellido materno	Nombre(s)

Con registro: | B | 1 | 2 | 0 | 6 | 2 | 0 |

aspirante de:

Maestría en Ciencias en Gestión Ambiental

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron ***APROBAR LA TESIS***, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Directores de tesis

M. en Néstor Naranjo Jiménez

Dr. José Antonio Avila Reyes

Dra. Laura Silvia González Valdez

M. en C. Eli Amanda Delgado Alvarado

Dr. Raúl Díaz Moreno

M. en C. José Natividad Uribe Soto

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

Dr. José Antonio Avila Reyes

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL C.I.I.D.I.R. UNIDAD DURANGO I.P.N.

SIP-13-BIS

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS
Y DESIGNACIÓN DE DIRECTORES DE TESIS

México, D.F. a 5 de junio del 2013

El Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR Durango en su sesión ordinaria No. 5 celebrada el día 4 del mes de junio conoció la solicitud presentada por el(la) alumno(a):

MARES	QUIÑONES	MARÍA DANIELA
Apellido paterno	Apellido materno	Nombre (s)

Con registro: B 1 2 0 6 2 0

Aspirante de: Maestría en Ciencias en Gestión Ambiental

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:
Análisis de componentes antioxidantes en hongos silvestres consumidos en El Salto, Pueblo Nuevo, Durango

De manera general el tema abarcará los siguientes aspectos:

2.- Se designan como Directores de Tesis a los Profesores:
M. C. Néstor Naranjo Jiménez y Dr. José Antonio Ávila Reyes

3.- El trabajo de investigación base para el desarrollo de la tesis será elaborado por el alumno en:
CIIDIR-IPN Unidad Durango
que cuenta con los recursos e infraestructura necesarios.

4.- El interesado deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente hasta la aceptación de la tesis por la Comisión Revisora correspondiente:

Directores de Tesis

M. C. Néstor Naranjo Jiménez

Dr. José Antonio Ávila Reyes

Aspirante

Ing. Bioq. María Daniela Mares Quiñones

Presidente del Colegio

Dr. José Antonio Ávila Reyes

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
C.I.I.D.I.R.
UNIDAD DURANGO
I.P.N.

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Durango, Dgo., el día **31** del mes de **Octubre** del año **2014**, la que suscribe **María Daniela Mares Quiñones** alumna del Programa de **Maestría en Ciencias en Gestión Ambiental**, con número de registro **B120620**, adscrita al **Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango. CIIDIR-IPN Unidad Durango**, manifiesta que es la autora intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del **M. en C. Néstor Naranjo Jiménez** y **del Dr. José Antonio Ávila Reyes** y cede los derechos del trabajo titulado **"Análisis de componentes antioxidantes en hongos silvestres consumidos en El Salto, Pueblo Nuevo, Durango"**, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso de la autora y/o de los directores del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a las siguientes direcciones **dany_mares10@hotmail.com**, **nneestor2@yahoo.com** y **jaavre@yahoo.com.mx**. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

María Daniela Mares

MARÍA DANIELA MARES QUIÑONES

LUGAR DONDE SE REALIZÓ

El presente estudio se realizó en el Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional y en la Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología ambos del Instituto Politécnico Nacional bajo la dirección del M. C. Néstor Naranjo Jiménez y el Dr. Gustavo Valencia del Toro. Se realizó una estancia de investigación en el Instituto Tecnológico de Chascomús del Instituto de Investigaciones Biotecnológicas “Dr. Rodolfo A. Ugalde”, bajo la asesoría del Dr. Edgardo Albertó.

Este trabajo se desarrolló en el marco del proyecto “Compuestos micoquímicos con actividad antioxidante” (SIP 20140292)

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIA

Por financiar el presente proyecto se agradece:

- Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología del Programa Nacional de Posgrados de Calidad.

- A la Comisión de Operación y Fomento a las Actividades Académicas del Instituto Politécnico Nacional a través de las becas del Programa Integral de Fortalecimiento Institucional y del Programa de Beca Institucional de Posgrado.

A mi director de tesis M. C. Néstor Naranjo por su apoyo incondicional, enseñanzas, consejos, amistad y dedicación, a todo mi comité tutorial.

Al M.C. Roberto Medina Medrano, Dr. Edgardo Albertó, Dr. Gustavo Valencia del Toro, Dra. Norma Almaraz, Dr. José Antonio Avila Reyes, Dra. María Socorro González Elizondo, M. C. Amanda Delgado, Ing Laura Anabel Páez Olivan, y Ing. Margarita Castillo, por ser parte fundamental tanto profesional como personal para la realización del presente proyecto.

A maestros y compañeros de la maestría en Gestión Ambiental.

Dedico esta tesis a mis papas, hermano y novio por mostrarme que con dedicación, esfuerzo y amor disfrutas cualquier objetivo. Gracias por todo.

“La tierra provee lo suficiente para satisfacer las necesidades de todos pero no tanto como para satisfacer la avaricia de algunos” –Mahatma Gandhi-

ÍNDICE

GLOSARIO……..…I

LISTA DE ACRÓNIMOS…….…..IV

RELACIÓN DE FIGURAS……..V

RELACIÓN DE CUADROS……VII

RESUMEN……VIII

ABSTRACT……....IX

INTRODUCCIÓN……1

I.- ANTECEDENTES……..…….....2

1.1.Hongos……2

1.2. Importancia de los hongos……....2

1.3 Consumo de hongos……3

1.4. Descripción de especies de hongos silvestres comestibles de la región del Salto, Pueblo Nuevo, Durango……....6

1.4.1. *Amanita caesarea*……6

1.4.2. *Hypomyces lactifluorum*……...7

1.4.3. *Ramaria flava*…….……...7

1.4.4. *Boletus edulis*……..…….8

1.4.5. *Hericium erinaceus*……...9

1.4.6.*Tricholoma magnivelare*……10

1.4.7.*Sparassis crispa*……...11

1.4.8. *Lycoperdon perlatum*……....12

1.4.9. Clasificación taxonómica……..13

1.5. Antioxidantes……14

1.5.1. Consumo de antioxidantes……..15

1.5.2. Evaluación de capacidad antioxidante……..15
1.5.3. Determinación de compuestos antioxidantes……...17
II. JUSTIFICACIÓN……...19
III. OBJETIVOS……..20
3.1. Objetivo General……20
3.2. Objetivo Especificos……..20
IV. HIPÓTESIS……...21
V. MATERIALES Y MÉTODOS……..22
5.1. Descripción del área de estudio……..22
5.2. Colecta de las especies de hongos……23
5.3. Métodos……...24
5.3.1. Preparación de las muestras para su análisis químico……24
5.3.2. Obtención de extracto crudo para evaluación de la actividad antioxidante..24
5.3.3. Contenido total fenólico……25
5.3.4. Contenido de flavonoides totales……....25
5.3.5. Actividad de captación de radicales libre DPPH……25
5.3.6. Evaluación de la reducción de ferrocianuro……...26
5.3.7. Evaluación de la actividad antioxidante total……26
5.3.8. Análisis de principales componentes……..……...26
5.3.9. Análisis preliminar micoquímico……...26
5.3.10. Espectroscopia infrarrojo……..27
5.3.11. Obtención de extracto crudo para análisis EC y HPLC/MS…..……27
5.3.12. Determinación de compuestos por EC……...……..28
5.3.13. Determinación de compuestos por HPLC/MS……...…….28
5.4. Análisis estadístico……..…….....29

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN……..30

6.1. Determinación del contenido fenólico total por el método de Folin Ciocalteu……..……..31

6.2. Determinación del contenido de flavonoides totales…….……..33

6.3. Determinación de la actividad antioxidante……..36

6.3.1. Captación de los radicales libres DPPH*…….……..37

6.3.2. Evaluación de la reducción de ferrocianuro……..…..38

6.3.3. Evaluación de la actividad antioxidante total……..…40

6.4. Análisis de componentes principales…….……....41

6.5. Análisis preliminar micoquimico……..….43

6.6. Espectroscopía Infrarrojo…….45

6.7. Determinación de compuestos fenólicos por EC……..…45

6.8. Determinación de compuestos fenólicos por HPLC/MS ……48

6.9. Análisis de conglomerados……..50

6.7- Aprovechamiento sustentable…….52

VII. CONCLUSIÓN……...56

IX.- RECOMENDACIONES Y SUGERENCIAS……...57

X. LITERATURA CITADA……..…58

XI. ANEXOS……70

1. Ubicación de las especies de HSC colectadas……..70
2. Estándares y su tiempo de retención usando EC……...…..71
3. Electroferogramas de compuestos fenólicos en HSC ……....72
4. Características de los estándares usados para HPLC/MS…….…..…77
5. Cromatogramas de compuestos fenólicos en HSC usando HPLC/MS……78

GLOSARIO

Anastomosis: Unión de elementos anátomicos con otros del mismo hongo.

Anillo: Estructura macroscópica que corresponde a los restos de un velo interno presente en las fases juveniles, muy usual en los Agaricales.

Antioxidante: compuestos que inhiben o retrasan la oxidación de otras moléculas mediante la iniciación de la inhibición de la propagación de reacciones en cadena

Ascocarpo: Cuerpo fructífero de un hongo perteneciente a la clase Ascomycetes.

Basidiocarpo: Cuerpo fructífero de un hongo perteneciente a la clase Basidiomycetes.

Carpóforo: Cuerpo fructífero de los hongos superiores.

Compuesto activo: Componente que porta las cualidades farmacológicas presentes en una sustancia.

Conspicuo: Ilustre, visible, sobresaliente.

Corro de brujas: Son anillos de crecimiento diferencial de la vegetación producidos naturalmente por distintas clases de hongos.

Cromatografía: es un método físico de separación basado en la distribución de los componentes de una mezcla entre dos fases inmiscibles, una fija o estacionaria y otra móvil.

Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC): es un proceso analítico que utiliza un instrumento especialmente diseñado para separar, cuantificar y analizar los componentes de una mezcla química. La muestra de interés se hace pasar mediante un flujo de disolvente hasta una columna rellena del material especial para llevar a cabo la separación de los componentes, posteriormente dichos componentes pasan a un sistema de detección acoplado con un sistema de grabación de datos.

Decurrente: Dicho de un órgano laminar, que tiene lamina prolongada inferiormente por debajo del punto de inserción, adosándose en parte al eje en que se inserta.

Ectomicorriza. Asociación simbiótica que se presenta entre las hifas de hongos (micro y macromicetos) con las raíces de plantas, sin que las hifas penetren sus raíces.

Especie: Unidad básica de clasificación taxonómica, formada por un conjunto de

individuos que son capaces de reproducirse entre sí y generar descendencia fértil, compartiendo rasgos fisionómicos y requerimientos de hábitat semejantes.

Especie en peligro de extinción: Especie cuya área de distribución o tamaño de sus poblaciones en el territorio nacional han disminuido drásticamente poniendo en riesgo su viabilidad biológica en todo su hábitat natural debido a factores tales como la destrucción o modificación drástica del hábitat, aprovechamiento no sustentable, enfermedades o depredación entre otros.

Espectrofotometría: es la medición de la cantidad de energía radiante que absorbe o transmite un sistema químico en función de la longitud de onda.

Espectrómetro de masas: es un artefacto que permite analizar con gran precisión la composición de diferentes elementos químicos e isótopos atómicos, separando los núcleos atómicos en función de su relación carga-masa

Esporas: Células reproductivas de los hongos.

Esporoma. Cuerpo fructífero del hongo

Filifome: Tiene forma o apariencia de hilo.

Gleba: Masa formada por esporas

Hialina: sustancia homogénea translúcida o transparente muy rica en polisacáridos complejos y fibras de colágeno que forma parte del cartílago.

Himenóforo: Conjunto de elementos himeniales que constituyen la parte fértil de los hongos y que pueden ser de tipo lamilar, tubuloso-poroide, espinoso, etc. **Lignícola.** Que habita sobre troncos en descomposición.

Macromicetos: clasificación según su tamaño, organismos macroscópicos. **Micorriza:** Estructura que está formada por la interacción de las hifas de hongos y raicillas de plantas. Relación simbiótica entre las raíces y hongos. Existen varios tipos, entre otros las ectomicorrizas y las endomicorrizas.

Radical libre: átomos o conjuntos de ellos que disponen de un electrón sin aparejar, condición que les confiere inestabilidad y reactividad. Estructura característica de las ectomicorrizas consiste en una red de hifas en los espacios intercelulares de las raicillas..

Reticulado: Que tiene forma de red

Rezumar: Dejar pasar a través de sus poros o grietas gotas de algún líquido

Papiráceo: De textura semejante al papel

Peridio: Parte protectora de la gleba

Píleo: Estructura en forma de sombrero que presenta el contexto en el medio y sostiene el himenóforo en su parte inferior.

Piriforme: Que tiene forma de pera

Preservar: Proteger, resguardar anticipadamente a una persona, animal, planta, hongo u cosa de algún daño o peligro.

Saprobios: Forma de vida de los hongos en la cual se alimenta de materia orgánica muerta.

LISTA DE ACRÓNIMOS

ac: ácido

ANOVA: Análisis de varianza

DPPH: 2,2 difenil, 1, picrilhidrazilo

EAA: Equivalentes de ácido ascórbico

EC: Electroforesisi capilar

EC50: Concentración media efectiva

HSC: Hongo silvestre comestible

HPLC/ MS: Cromatografía líquida de alta resolución acoplada con un espectrómetro de masas

IR: Espectroscopia Infrarrojo

m: metros

mgEAA/g: miligramos equivalentes de ácido ascórbico por gramo

mgEAG/g: miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo

mgEC/g: miligramos equivalentes de catequina por gramo

mgEQ/g: miligramos equivalentes de quercitina por gramo

mg/mL: miligramos por mililitro

min: minutos

msnm: metros sobre el nivel del mar

nm: nanómetros

tr: Tiempo de retención

µg/mL: micogramos por mililitro

RELACIÓN DE FIGURAS

Figura 1. Especies de hongos silvestres comestibles, ordenadas según su prioridad de consumo, de El Salto, Pueblo Nuevo, Durango ……...5

Figura 2.- Características morfológicas del hongo silvestre comestible *A. caesarea*…….6

Figura 3.- Características del hongo silvestre comestible *H. lactifluorum*.....7

Figura 4.- Características del hongo silvestre comestible *R. flava* ……..……..8

Figura 5.- Características del hongo silvestre comestible *B. edulis* ……..…..9

Figura 6.- Características morfológicas del hongo silvestre comestible H*.* er*inaceus*.. .....…9

Figura 7.- Características morfológicas del hongo silvestre comestible *T. magnivelare*……..……...10

Figura 8. Características del hongo silvestre comestible *S. crispa*……..….11

Figura 9. Características morfológicas del hongo silvestre comestible *L. perlatum*…….…….12

Figura 10. Localización del área de estudio…….22

Figura 11. Desecador ……..……24

Figura 12. Equipo Scpectrum GX-FT-IR System…….27

Figura 13. Equipo de electroforesis……28

Figura 14. Equipo HPLC/MS……..29

Figura 15. Curva de Calibración con ácido gálico para la determinación del contenido polifenólico total por el método de Folin-Ciocalteu…….31

Figura 16. Curva de calibración con quercetina para la determinación del contenido de flavonoides totales…… 34
Figura 17. Análisis de componentes principales de los métodos empleados para la determniación de especies con mejor actividad antioxidante.. 41
Figura 18. Espectro de IR de los HSC ……..45
Figura 19. Análisis Cluster de las especies de HSC……..….51
Figura 20. Electroferograma de compuestos fenólicos en *A. caesarea* ……..……...72
Figura 21. Electroferograma de compuestos fenólicos en *H. lactiflourum* 72
Figura 22. Electroferograma de compuestos fenólicos en *R. flava* ……..……73
Figura 23. Electroferograma de compuestos fenólicos en *B. edulis* ……..…...73
Figura 24. Electroferograma de compuestos fenólicos en *H. erinaceus* ……...74
Figura 25. Electroferograma de compuestos fenólicos en *T. magnivelare*……...74
Figura 26 Electroferograma de compuestos fenólicos en *S. crispa* ……75
Figura 27. Electroferograma de compuestos fenólicos en *L. perlatum* ……..…75
Figura 28. Electroferograma de compuestos fenólicos en *L. edodes* ……..……...76
Figura 29. Cromatograma de compuestos fenólicos en *A. caesara* …..…….……...78
Figura 30. Cromatograma de compuestos fenólicos en *H. lactiflourum* 79
Figura 31. Cromatograma de compuestos fenólicos en *R. flava* ……..…80
Figura 32. Cromatogramas de compuestos fenólicos en *B. edulis* ……....81
Figura 33. Cromatogramas de compuestos fenólicos en *H. erinaceus* ……....82
Figura 34. Cromatogramas de compuestos fenólicos en *T. magnivelare* …….…...83
Figura 35 Cromatogramas de compuestos fenólicos en *S. crispa* ……..84
Figura 36. Cromatogramas de compuestos fenólicos en *L. perlatum* ……85
Figura 37. Cromatogramas de compuestos fenólicos en *L. edodes* ……...86

RELACIÓN DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de las especies de HSC……...13

Cuadro 2. Aspectos generales de las especies de HSC colectados…….…….30

Cuadro 3. Contenido fenólico total de especies de HSC en el Salto, Pueblo Nuevo, Durango……..……..32

Cuadro 4. Contenido total de flavonoides de especies de HSC en el Salto, Pueblo Nuevo, Durango……35

Cuadro 5. Efecto de la capacidad captadora de radicales DPPH* ……..…37

Cuadro 6. Evaluación de la reducción de ferrocianuro……..39

Cuadro 7. Actividad antioxidante total……40

Cuadro 8. Análisis micoquímico de extractos metanólicos de HSC……..44

Cuadro 9. Compuestos detectados por electroforesis capilar……..……...…46

Cuadro 10. Compuestos fenólicos presentes en HSC por HPLC/MS……..48

Cuadro 11. Ubicación de las especies de HSC colectadas……...70

Cuadro 12. Estándares y su tiempo de retención usando EC……...71

Cuadro 13. Características de los estándares usados para HPLC/MS……...77

RESUMEN

El estado de Durango cuenta con una gran diversidad de hongos silvestres comestibles, su aprovechamiento se realiza de manera informal y de subsistencia para los habitantes, esto refleja una subvaloración del recurso fungícola, al desconocer otras cualidades que los hongos tienen para la nutrición y salud de las personas. El objetivo del trabajo fue determinar los componentes antioxidantes en hongos silvestres comestibles consumidos en El Salto, Pueblo Nuevo, Durango. Las especies estudiadas fueron *Amanita caesarea*, *Hypomyces lactifluorum*, *Ramaria flava*, *Boletus edulis*, *Hericium erinaceus*, *Tricholoma magnivelare, Sparassis crispa* y *Licoperdon perlatum*. Se determinaron compuestos fenólicos por EC y HPLC-/MS. Para la evaluación de la actividad antioxidante se utilizaron cinco técnicas espectrométricas conocidas como fenoles totales, flavonoides totales, capacidad bloqueadora del radical libre DPPH*, reducción férrica y capacidad antioxidante total. Los datos obtenidos se analizaron mediante un ANOVA y prueba de Tukey con un 99% de confianza. El análisis preliminar micoquimico mostró la presencia de compuestos como azúcares reductores, taninos, compuestos fenólicos, flavonoides antraquinonas, cumarinas, glicosidos cardiacos y sequisterpenlactonas. Por IR se detectó la presencia de diferentes grupos funcionales entre ellos, grupos aromáticos, hidroxi o amino general. El perfil fenólico reveló que los hongos estudiados contienen ácidos fenólicos como: ácido gálico, cafeico, ferúlico, y clorogénico. Todas las especies tienen propiedades antioxidantes. El *B. edulis* y *R. flava* fueron las especie con mayor capacidad para captar radicales libres, presentando valores bajos de EC_{50} en los ensayos químicos y una capacidad antioxidante total de 17.91 y 8.82 mg EAA/g, debido probablemente a su mayor contenido bioactivo. Estas especies podrían ser consideradas como una fuente de compuestos antioxidantes para la prevención de enfermedades. Es necesario ampliar el conocimiento de los lugareños sobre este recurso para promover su aprovechamiento sustentable en la región.

ABSTRACT

The state of Durango has a great diversity of wild edible mushrooms, their use is done informally and subsistence for the people, this reflects an undervaluation of fungicola resource, ignoring other characteristics that mushrooms have for nutrition and health people. The aim was to determine the antioxidant compounds in wild edible mushrooms consumed in Salto, Pueblo Nuevo, Durango. The species studied were *Amanita Caesarea, Hypomyces lactifluorum, Ramaria flava, Boletus edulis, Hericium erinaceus, Tricholoma magnivelare, Sparassis crispa* and *Licoperdon perlatum*. Phenolic compounds were determined by EC y HPLC/MS. For the evaluation of the antioxidant activity was use five spectrometric techniques such total phenols, total flavonoids, activity scavenging radical DPPH*, reducing power and total antioxidant capacity. The data were statistically analyzed by ANOVA and Tukey's test with 99% confidence. The preliminary analysis mycochemical showed the presence of compounds like reducing sugars, tannins, phenolic compounds, flavonoids, anthraquinones, coumarins, cardiac glycosides and sequisterpenlactones. The different functional groups including aromatic groups, hidroxi or amino was detected by IR. The phenolic profile revealed that the mushrooms studied contain phenolic acids such gallic acid, caffeic acid, ferulic acid, and chlorogenic acid. All species have antioxidant properties. The *B. edulis* and *R. flava* were the species that best showed their ability to scavenge free radicals, presenting low EC_{50} values in chemical tests and total antioxidant capacity of 17.91 and 8.82 mg EAA/g, which may be related to its higher bioactive content. These species may be considered as a source of phenolic antioxidants for disease prevention. It is necessary to expand the knowledge of the locals about this resource to promote their sustainable use in the region.

INTRODUCCIÓN

Los hongos silvestres comestibles son colectados para la alimentación y beneficio económico en más de 80 países en el mundo, además de poseer cualidades funcionales benéficas para el bosque y el hombre.

Actualmente existe un creciente interés en la determinación de fuentes naturales de compuestos biológicamente activos. Los hongos poseen diversas sustancias con actividad antimicrobiana, citostáticos., antifúngicos, antivirales y antioxidantes. Estos últimos tienen la capacidad de inhibir a los radicales libres en el organismo o impedir su formación. Debido a que reaccionan con los radicales libres para formar compuestos estables no reactivos. Los compuestos con propiedades antioxidantes son los fenoles, en sus diversas formas, simples, flavonoides y/o taninos. La actividad de los compuestos antioxidantes depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos y de su estructura química.

En el estado de Durango los habitantes de la región de El Salto, Pueblo Nuevo, colectan y consumen hongos silvestres comestibles (HSC). Las especies que principalmente colectan según su orden de prioridad son: *Amanita caesarea* (Scop. ex Fr.) Grev, *Hypomyces lactifluorum* (Schw.) Tulasne, *Ramaria flava* (Fr).Qúel, *Boletus edulis* Bull.ex Fr., *Hericium erinaceus* Persoon, *Tricholoma magnivelare*; *Sparassis crispa* y *Licoperdon perlatum*.

Por lo anterior el objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad antioxidante y determinar compuestos antioxidantes presente en diferentes especies de hongos silvestres comestibles consumidas en el Salto, Pueblo Nuevo, Durango, con el propósito de ampliar las opciones productivas del recurso y generar mejores expectativas para los habitantes de la zona sobre la importancia del recurso fúngico de la región, con un enfoque hacia la sustentabilidad.

I.- ANTECEDENTES

1.1. Hongos

Los hongos son organismos que pertenecen al reino Fungi, no realizan la fotosíntesis, pueden ser micromicetos o macromicetos, unicelulares o pluricelulares, presentar estructuras filiformes segmentadas o no llamadas hifas. Los macromicetos “setas”, producen carpóforos más o menos conspicuos que son el cuerpo fructífero del hongo. Se pueden presentar en una gran variedad de formas desde el tipo bien conocido con sombrero y pie, hasta las especies con carpóforos a modo de ménsula o los que crecen planos como costras sobre los árboles. Pese a esta diversidad los carpóforos de algunos hongos pueden parecer muy similares y requieren un examen cuidadoso para su identificación, su función es la de producir esporas sexuales. Los hongos se dividen en tres grupos o phylum según como se efectúa dicha producción: ascomicetos, basidiomicetos y zigomicetos (Laessoe, 2005).

1.2. Importancia de los hongos

La estimación actual de especies de hongos en el mundo es de 1.5 millones, de los cuales hay 70 000 especies descritas. Aquel millón y medio de especies de hongos, junto con las bacterias, son los descomponedores primarios en la biosfera (Raven, 1995). Con respecto a la diversidad de hongos en México, se estima que existen 200,000 especies (Guzmán, 1998). En el país se han descrito al menos 6000 de ellas, 2000 son micromicetos y 4000 son macromicetos, incluyendo líquenes y mixomicetos (Tovar, 2001).

Los hongos comestibles pueden ser lignícolas, parásitos y micorrízicos. Los primeros crecen sobre madera o sustratos leñosos; descomponen los restos orgánicos que se acumulan en la naturaleza. Su acción conduce la formación de sustratos cuyas moléculas son utilizadas por los vegetales para su crecimiento y desarrollo. Transforman y reciclan la materia orgánica, junto con las bacterias. Son recolectados en forma silvestre y ampliamente valorizados al ser cultivados (Miralles, 2005).

Los hongos parásitos viven o colonizan otros hongos o vegetales, donde viven a expensas de ellos (Lastra, 2001). Los micorrízicos se desarrollan en simbiosis con las raíces de la planta. Ésta recibe del hongo los nutrientes, minerales y agua, y el hongo obtiene de la planta, carbohidratos y vitaminas que él por sí mismo es incapaz de sintetizar. Se estima que entre el 90 y el 95% de las plantas terrestres presentan micorrizas de forma habitual (Wang y Qiu, 2006).

Las ventajas proporcionadas a las plantas por la micorrización son numerosas. La planta es capaz de explorar mayor volumen de suelo del que alcanza con sus raíces, al sumársele en esta labor las hifas del hongo; capta con mayor facilidad ciertos elementos como fósforo, nitrógeno, calcio, potasio, y agua del suelo; la protección brindada por el hongo hace que, además, la planta sea más resistente a los cambios de temperatura y la acidificación del suelo derivada de la presencia de azufre, magnesio y aluminio; algunas reacciones fisiológicas del hongo inducen a la raíz a mantenerse activa durante más tiempo (Martín-Amor, 2011). Todo esto redunda en una mayor longevidad de la planta, se ha comprobado que algunos árboles como los pinos pueden vivir dos años o más que los pinos sin micorrizar. Las plantas cuyas semillas carecen de endospermo dependen completamente del hongo para alimentarse y posteriormente germinar (Harrison, 2005).

De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-1994 están reconocidas 59 especies de hongos en extinción. Las especies de hongos silvestres comestibles (HSC) *A. caesarea, B. edulis* y *T. magnivelare* se encuentran sujetas a protección especial.

1.3 Consumo de hongos

Los HSC son recolectados para la alimentación y beneficio económico en más de 80 países en todo el mundo, le agregan valor funcional a los alimentos y mantienen la salud de los bosques. En Asia los hongos comestibles tienen la gran reputación de poseer propiedades medicinales. Durante los últimos 50 años, la gran mayoría de los avances en la medicina se han dado a partir de organismos como los mohos, levaduras y hongos (FAO, 2005).

Morcillo y Sánchez, (2008) señalaron que México es el principal productor de hongos en América Latina y estiman que en el período 1995-2001 se produjo el 58.6% del total de hongos comestibles provenientes de esta región, seguido de Chile con un 17.6% y Brasil con un 10.6%. Hoy en día esta actividad es importante social, económica y ecológicamente; se generan alrededor de 1500 empleos directos e indirectos, el monto de sus operaciones tiene un valor superior a los 70 millones de dólares, se estimula el cultivo de hongos lignícolas y programas de forestación para hongos micorrizícos.

En México los hongos silvestres comestibles con más demanda y buscados son: *Amanita caesarea* (yema, tecomate, amarillo), *A. rubescens* (mantecado), *Lactarius deliciosus* (enchilado), *L. indigo* (azul), *Morchella* spp. (elotito, mazorquita, colmena, chipotle), *Boletus* aff *edulis* (pambazo, panadero, cema), *B. erithropus*, *B. luridus* (galambo, hongorado), *Suillus* spp. (panzas de encino, pancita), *Cantharellus cibarius* (duraznillo), *Gomphus floccosus* (corneta, corneta de oyamel), *Lyophylum descastes* (clavitos, xolete), *Ramaria flava*, y *Ramaria* spp (patitas de pájaro, escobetas), entre otros (Zamora-Martínez, 1999).

La recolección de hongos por comunidades rurales es llevada a cabo principalmente como una actividad extra a la agricultura, asociada a otras actividades de recolección (leña, plantas medicinales y otros productos no maderables) como una estrategia de sobrevivencia (Martínez-Carrera *et al*., 2002). Se ha reportado el uso de algunas especies de hongos, con fines terapéuticos, para el tratamiento de la hipertensión, como diurético y para la reducción del colesterol (Guzmán, 1998).

En el estado de Durango se sabe que los habitantes de la región de El Salto, Pueblo Nuevo, consumen HSC en la temporada de lluvias; las especies que se colectan son macromicetos, micorrízicos y lignícolas. A continuación se mencionan especies colectadas según su orden de prioridad de consumo: *Amanita caesarea* (Scop. ex Fr.) Grev., cuyo nombre común es hongo de huevo o rojo; le sigue *Hypomyces lactifluorum* (Schw.) Tulasne, llamado por los habitantes orejas de cochino; *Ramaria flava* (Fr).Qúel, nombre común arrocitos, patitas de pájaro; *Boletus edulis* Bull.ex Fr. llamados marquesotes, pelos de lobo, *Hericium erinaceus* Persoon (melena de león); *Tricholoma magnivelare (*hongo blanco); *Sparassis crispa* y *Licoperdon*

perlatum estos últimos consumido por indígenas (Naranjo-Jiménez *et al*., 2008); en la Figura 1, se presentan ejemplares de cada una de las especies mencionadas.

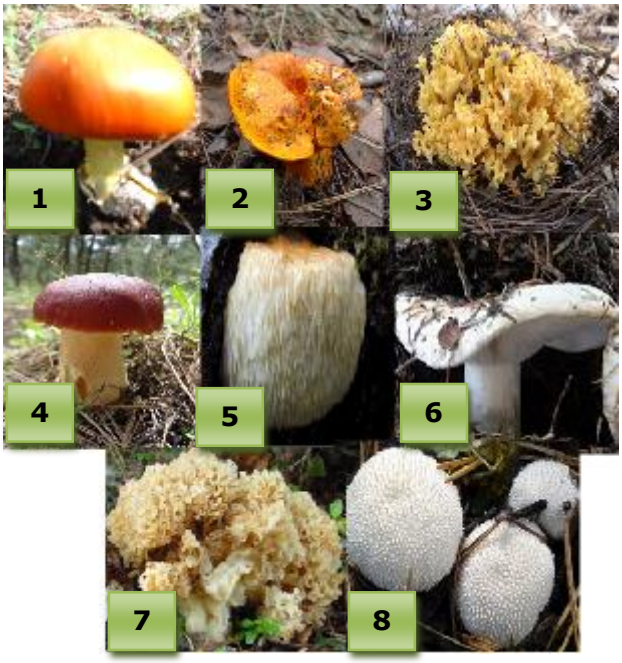

Figura 1. Especies de hongos silvestres comestibles, ordenadas según su prioridad de consumo de El Salto, Pueblo Nuevo, Durango.

1.4. Descripción de las especies de hongos silvestres comestibles de la región del Salto, Pueblo Nuevo, Durango.

Las especies *A. caesarea* (Scop ex Fr.) Grev , *B. edulis* Bull ex Fr., *R. flava* (Fr) Qúel, y *T. magnivelare* son hongos micorrízicos a diferencia de las especies *H. erinaceus* Persoon, *S. crispa, L. perlatum* y *L. edodes*, que son hongos lignícolas. El hongo *H. lactiflourum* (Schw.) Tulasne es un hongo parasito.

1.4.1. *Amanita caesarea*

Tiene un sombrero convexo plano, anaranjado dorado, las dimensiones del sombrero son de 66-124 mm, convexo a plano convexo, superficie lisa, estriado al margen, de color anaranjado amarillento o naranja rojizo. Himenóforo lamelado, con láminas libres a subadheridas de 15-16mm de ancho, subdistantes a cercanas, amarillas con el borde crenulado. Pie de 22-29 X 92-135 mm, cilíndrico de color amarillento, superficie ligeramente fibrilosa, con un anillo membranoso amarillo en la parte superior, volva carnosa. Las esporas son blaquecinas de 9.5-10.2 X 7.5-8.5 µm, subglobosas, lisas y apiculadas. Su hábitat es micorrizas con latifolias como castaños y robles. Localizados por las partes más cálidas de las zonas templadas norteñas; también en zonas subtropicales. Crece solitario o en grupos; sobre suelos arenosos. (Laessoe, 2005; García Jiménez *et al.,* 1998).

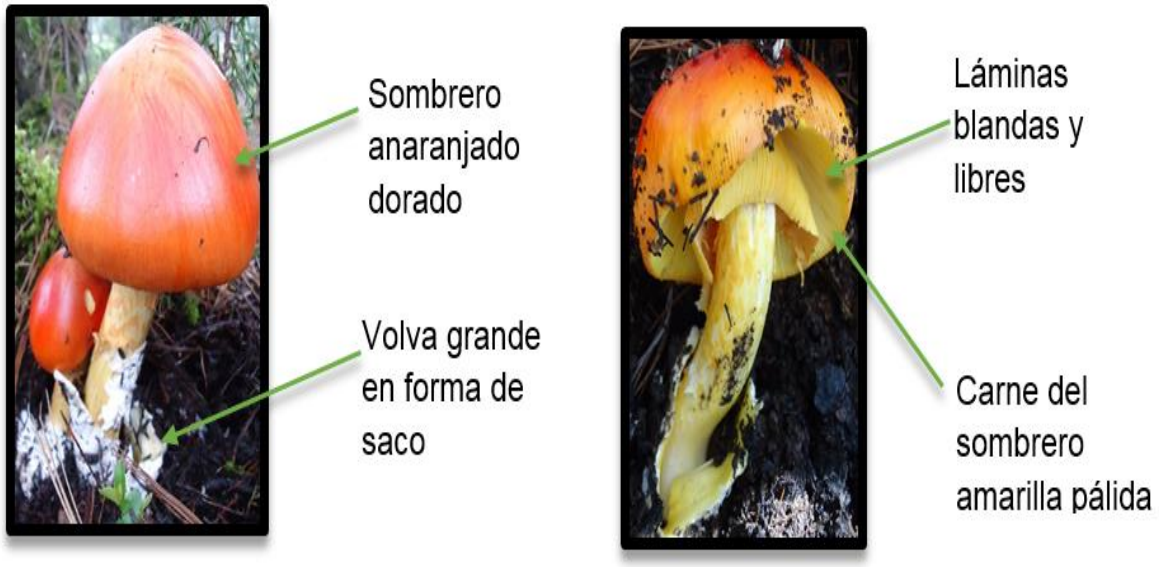

Figura 2. Características morfológicas del hongo silvestre comestible *A. caesarea*

1.4.2. *Hypomyces lactifluorum*

Hongo microscópico, parásito, crece siempre cubriendo completamente un basidiocarpo, su color varía de naranja a naranja intenso, que cuando está maduro presenta una tonalidad ligeramente blanca, lo cual indica la liberación de las esporas. Las ascosporas son de 35-43 X 6.5 micras fusiformes, de pared celular rugosa, septada. Son recolectados sobre basidiocarpos del género L*actarius* y *Russula*, encontrados en bosques de *Pinus* durante los meses de agosto y septiembre. Es una especie que se encuentra ampliamente distribuida en los bosques de México. Es uno de los hongos más apreciados en el centro del país debido a su sabor, su crecimiento sobre hongos de la Familia Russulaceae distingue a esta especie. Es un hongo comestible de buena calidad (Rogerson y Samuels, 1994).

Figura 3. Características del hongo silvestre comestible *H. lactifluorum*

1.4.3 *Ramaria flava*

Basidiocarpo de 70-90 mm de alto, de color amarillo naranja ramas superiores ramificadas. Pie de 10-20 X 28- 30 mm, de color amarillo naranja. Esporas de 8.4-9.3 X 7-4.6 µm, elipsoide, de pared celular finamente rugosa. Crece sobre suelo y hojarasca de bosques de *Quercus-pinus.* Se puede recolectar en los meses de agosto y septiembre. Se encuentra ampliamente distribuido en Norte y sur de México. Es una especie ampliamente distribuida en los bosques de México. Ha sido

citada en la bibliografía como una especie comestible de muy buena aceptación por las comunidades rurales, quienes además de recolectarla para su consumo, la ponen a la venta en los mercados locales (García Jiménez *et al.,* 1998).

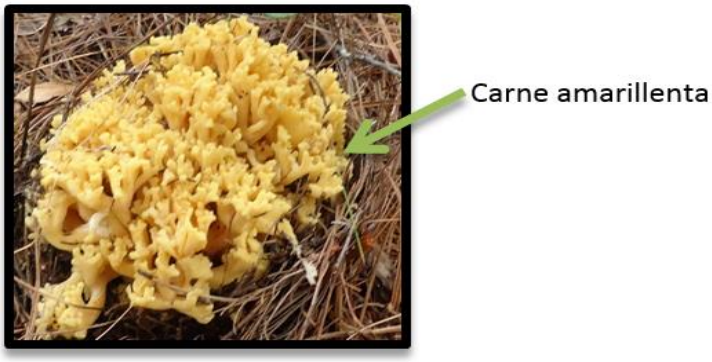

Figura 4. Características del hongo silvestre comestible *R. flava*

1.4.4. *Boletus edulis*

Todos los boletus tienen carpóforos bastantes efímeros que se caracterizan por una combinación de carne blanda, firme y de poros en la cara inferior del sombrero. El retículo blanco en la parte superior del pie y poros varía de color amarillo pálido a pardoliváceos. Tiene una carne blanca, olor tenue y sabor suave a nueces, no se tiñe al cortarlo. Crece como micorriza con latifolias y coníferas en zonas arboladas ricas en musgo. Se puede observar en zonas templadas norteñas en grupo o solitarios sobre suelos drenados. La estación en la cual crece el carpóforo es en verano-otoño. El diámetro del sombrero es de 7-25 cm, ampliamente convexa; superficie suave y arrugado en tiempo húmedo; el color varía de amarillo-marrón, piel de ante-marrón a marrón rojizo; pulpa gruesa, blanco, inmutable; olor y sabor suave. El largo del pie es de 7-20 cm y ancho de 3-8 cm de espesor igual a claviforme, blanco en la base, de color marrón más arriba;reticulaciones blancos

especialmente en el ápice; velo ausente. Las esporas son de color pardoliváceas de 12-17 x 4-6 micras. (Smith y Thiers, 1971)

Figura 5. Características morfológicas del hongo silvestre comestible *B. edulis*

1.4.5 *Hericium erinaceus*

Puede ser identificado por su sombrero con forma globosa y aspecto de erizo, con parte superior lanosa, color blancuzco de joven y pardo al madurar. Son comunes durante el verano y el otoño en las maderas duras. Generalmente estos hongos frescos son 15-20 cm de longitud y de ancho 10-15 cm. Las esporas de 5-6 x 4-5,5 micras, casi redondo, liso a rugoso ligeramente, amiloide. Crece solitario en troncos de maderas duras. Es conocido como un hongo comestible y medicinal; la textura de las setas cocinadas a menudo es comparada con los mariscos; contiene treitol, arabinitol y ácido palmítico que pueden tener efectos antioxidantes (Harrison,1973)

Figura 6. Características del hongo silvestre comestible *H. erinaceus*

1.4.6. *Tricholoma magnivelare*

Los esporomas son robustos de 100-200 mm de altura (Figura 7) y un peso aproximado de 250 g, crecen solitarios aunque en ocasiones se les encuentra en grupo, formando colonias alrededor de los troncos de árboles del género Pinus con los cuales se asocian. El tamaño del píleo varía de 60-120 mm de diámetro de forma convexa a plano-convexa, color blanco con tonalidades salmón pálido y escamas planas; con láminas gruesas, color blanco-amarillentas. El pie es de forma cilíndrica de 17.6 X 87-150 mm, ligeramente engrosado en la base. El anillo es subapical en forma de vaina, membranoso, con apariencia algodonosa en la superficie externa, olor fragante afrutado o canela, sabor dulce[1].

El hongo matsutake americano crece en altitudes entre los 2000-2900 msnm, con pendientes de 45-70%; en suelos variados como cambisol, regosol eútrico, y andosol húmico y órtico, de textura media y poco profundos (2-3 cm) frecuentemente rocosos. Predominan en clima templado subhúmedo con lluvias en verano. La temperatura promedio anual varía de 10-18°C, con una precipitación promedio anual de 600-2500 mm (Zamora y Nieto de Pascual, 2004)

Figura 7. Características morfológicas del hongo silvestre comestible *T. magnivelare*

[1]Manual que establece los criterios técnicos para el aprovechamiento sustentable de recursos forestales no maderables de clima templado-frío. Encontrado en: http://www.semarnat.gob.mx (Fecha de consulta Febrero 2013)

1.4.7. *Sparassis crispa*

Ascocarpo anual, como una masa redondeada subdividida de muchos anastomosis, ramas petaloides verticales con márgenes ondulados, finos de 100-300 mm de diámetro x 100-200 mm de alto, amarillo crema a amarillo-marrón, marrón oscuro de base en general. Pertenece a los hongos en forma de asta o de coral. Tiene varias ramificaciones. En la mayoría de los casos, las ramas están recubiertas de un tejido portador de esporas que sólo son fértiles por un lado. Es conocido como seta coliflor cuenta con múltiples lóbulos carnosos, de color crema a pardoamarillento pálido, que caracterizan a esta especie de pie corto y grueso. Los lóbulos son ramificados, aplanados o en forma de cinta y firmes; la capa productora de esporas está en uno de los lados. Su hábitat es sobre pinos, en plantaciones y terrenos arbolados nativos; forma una podredumbre blanca. En zonas templadas norteñas. Se puede encontrar esta seta a finales de verano y principios de otoño. El carpóforo tiene una altura y diámetro que van de 10-40 cm, sus esporas son color blancas-amarillas. Su fructificación es solitario sobre coníferas muertas (Breitenbach y Kränzlin, 1986)

Figura 8. Características del hongo silvestre comestible *S. crispa*

1.4.8. *Lycoperdon perlatum*

Cuerpo fructífero de 2-9 cm de altura y de 2-4 cm de ancho, de forma globosa a piriforme, peridio de color blanco a cremoso cuando es joven y café a oliváceo en la madurez, cubierto de finas escamas cónicas con el aspecto de espinas, algunas más largas que las otras, ésta densamente distribuidas hacia la parte superior del hongo, las cuales son fácilmente desprendibles dejando marcas en forma de aereolas adheridas al peridio, dándole un aspecto reticulado y de consistencia papirácea cuando se encuentra seco. En la parte superior presenta un poro el cual permite la liberación de las esporas. Estas son de 3-4.5 micras, de diámetro, globosas, ligeramente verrugosas, hialinas a amarillo verdosas en KOH. Crece solitario o en grupos en el suelo, se presenta en bosques de *Quercus* o *Pinus*. Se puede recolectar en los meses de julio a septiembre. Es un hongo ampliamente distribuido en Norteamérica y México. Esta especie se distingue por el cuerpo fructífero de color blanco (Bates, 2004).

Figura 9. Características morfológicas del hongo silvestre comestible *L. perlatum*

1.4.9. Clasificación taxonómica

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de las especies de HSC

Reino	División	Clase	Orden	Familia	Género	Especie
Fungi	*Basidiomycota*	*Agarycomycetes*	*Agaricales*	*Amanitaceae*	*Amanita*	*Amanita caesarea*
Fungi	*Ascomycota*	*Sordariomycetes*	*Hypocreales*	*Hypocreaceaee*	*Hypomyces*	*Hypomyces lactifluorum*
Fungi	*Basidiomycota*	*Agaricomycete*	*Gomphales*	*Ramariceae*	*Ramaria*	*Ramaria flava*
Fungi	*Basidiomycota*	*Agaricomycete*	*Boletales*	*Boletaceae*	*Boletus*	*Boletus edulis*
Fungi	*Basidiomycota*	*Agaricomycete*	*Russulales*	*Hericiaceae*	*Hericium*	*Hericium erinaceus*
Fungi	*Basidiomycota*	*Agaricomycetes*	*Agaricales*	*Tricholomataceae*	*Tricholoma*	*Tricholoma magnivelare*
Fungi	*Basidiomycota*	*Agaricomycetes*	*Polyporales*	*Sparassidaceae*	*Sparassis*	*Sparassis crispa*
Fungi	*Basidiomycota*	*Agaricomycetes*	*Agaricales*	*Agaricaceae*	*Lycoperdon*	*Lycoperdon perlatum*

Fuente: García Jiménez *et al.,* 1998; Harrison,1973; Laessoe, 2005

1.5. Antioxidantes

Los compuestos fenólicos tienen diversas funciones muchos proveen defensa a las plantas y hongos, contra herbívoros o patógenos; otros participan en el soporte mecánico, en la atracción de polinizadores y dispersantes de frutos; en la absorción de la radiación ultravioleta dañina o en la reducción del crecimiento de las plantas cercanas competidoras (Taiz y Zeiger, 2006).

Algunos hongos poseen compuestos fenólicos con propiedades analgésicas, anti-inflamatorias, antioxidantes, protectoras del sistema cardiovascular, antivirales, e hipoglucemiantes (Royse y May, 2003).

Los antioxidantes son compuestos que inhiben o retrasan la oxidación de otras moléculas mediante la iniciación de la inhibición de la propagación de reacciones en cadena oxidativas. Estos antioxidantes actúan principalmente en reacciones de terminación de cadenas de radicales libres, impidiendo la oxidación de lípidos y otras moléculas cediendo átomos de hidrógeno (Rivero y Betancort, 2006). Los antioxidantes pueden eliminar o bloquear los radicales libres e inhibir la peroxidación lipídica (Aherne S y O' Briens, 2002).

La actividad de los compuestos antioxidantes depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos y de su estructura química (Royse y May, 2003).

Ésta actividad en los polifenoles es la propiedad de mayor interés, debido a que contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos, los cuales reaccionan con los radicales libres.

Los antioxidantes se pueden utilizar para la preservación del valor nutritivo previniendo el deterioro oxidativo de lípidos y para propósitos medicinales. La mayor parte de la capacidad antioxidante de los vegetales, plantas u hongos es debida a los polifenoles que poseen características biológicas extensas y, particularmente, a su propiedad de secuestramiento de radicales libres (Asatiani *et al*., 2010). Una gran cantidad de estudios han establecido que los compuestos fenólicos de las plantas incluyendo los flavonoides son antioxidantes potentes con efectos antimutagénicos y anticarcinogénicos.

1.5.1. Consumo de antioxidantes

En el cuerpo humano, la contribución de los flavonoides al sistema de defensa antioxidante puede ser sustancial ya que el consumo diario de flavonoides puede estar entre 50 y 800 mg; este consumo es alto comparado con el promedio del consumo de vitamina C (70 mg), vitamina E (10 mg) o carotenoides (2 mg) (Miranda C., 2003)

1.5.2. Evaluación de capacidad antioxidante

Barros *et al.* (2009) determinaron la actividad antioxidante de hongos *Agaricus sp.* por ensayos bioquímicos y voltametría. Sus resultados mostraron que las especies *A. silvicola* y *A. silvaticus* tienen una relevante actividad antioxidante. Entre los compuestos que se encontraron destacan los ácidos hidroxibenzoico, coumarico y cafeico. Sus conclusiones fueron que en general, todas las especies analizadas sintetizan compuestos con propiedades antioxidantes como bloqueadores de radicales libres y con capacidad de inhibición de la peroxidación lipídica.

Mau *et al.,* (2002) realizó un estudio de extractos del hongo *Coriolus versicolor* y observó entre un 60-80% de inhibición de la peroxidación lipídica, esa capacidad de inhibición fue mayor que la encontrada para extractos de *Ganoderma lucidum asta* y *Ganoderma tsugae*, que presentaron valores de 40% y 10%, respectivamente.

Bueno *et al.,* (2010) realizaron estudios sobre la evaluación de la actividad antioxidante y el contenido de polifenoles en el hongo *L. edodes*, y encontraron que el contenido de polifenoles aumentó, sometiendo el hongo a un tratamiento térmico. Algunos autores han encontrado una correlación entre el contenido de fenoles totales y la actividad bloqueadora de radicales libres (Dobre *et al.,* 2011). El método usado comúnmente para análisis del contenido de fenoles totales en alimentos y vegetales es el de Folin-Ciocalteu. Este método se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolíbdico-fosfotúngstico. La transferencia de electrones a pH básico reduce los complejos fosfomolíbdico-fosfotúngstico en óxidos (Gutiérrez y Mendoza, 2008). La actividad antioxidante de los flavonoides resulta de una

combinación de sus propiedades quelantes de hierro y secuestradores de radicales libres (Bohm *et al.,*1998;Bravo,1998; Martínez *et al.,*2002). La inhibición sobre determinadas oxidasas representan otro de los mecanismos a través de los cuales lo flavonoides ejercen sus actividades antioxidantes En la actualidad hay diversos métodos para medir la capacidad antioxidante, un método muy usado se basa en la estabilidad del radical 2, 2-difenil-1-picrihidrazilo (DPPH*), y es ampliamente usado para determinar la actividad antioxidante en alimentos (Lee *et al*., 2008).

El DPPH* es un radical libre soluble en metanol y presenta coloración morada. Cuando un antioxidante es mezclado con DPPH* en la solución de metanol, el radical libre es reducido y la solución cambia de color morado a amarillo. Este cambio es medido a través de la disminución de la absorbancia a 515 nm, usando un espectrofotómetro, la magnitud de la disminución indica la eficiencia del antioxidante añadido para bloquear el radical (Brand-Williams *et al.,* 1995). La técnica de reducción férrica se basa en la determinación de la concentración final de los iones Fe^{+2} (ferrosos), formados por la reducción de iones Fe^{+3} (férricos), utilizando ferricianuro de potasio como sustancia cromógena. La medición de reducción de color permite la determinación de la actividad de metales quelantes (Bahr y Basulto, 2004).

El método de actividad antioxidante total se fundamenta en la reducción de Mo (VI) a Mo (V) por el analito de la muestra y la subsiguiente formación de fosfato Mo (V), que son compuestos verdes específicos, este cambio de coloración es medido a una absorbancia de 695 nm (Prieto, Pineda y Aguilar, 1999)

Siddhuraju y Becker (2003) determinaron la actividad antioxidante por medio del método de la decoloración del β-caroteno, la oxidación de liposomas por medio de las sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBARS) y la capacidad de capturar radicales superóxido y DPPH*.

1.5.3. Determinación de compuestos antioxidantes

Respecto a la actividad antioxidante, en los flavonoides se sabe que las flavonas y sobre todo los flavonoles se muestran como los más activos contra los radicales libres (Martinez-Flores *et al.,* 2002).

Para tener una idea general sobre la composición de las muestras a estudiar, se puede realizar un análisis micoquimico que tiene como objetivo determinar los metabolitos secundarios presentes en las especies de hongos a estudiar. Aplicando para ello una serie de técnicas. Entre los compuestos que son determinados se encuentran azúcares reductores, taninos, flavonas, flavonoles, antocianinas, sequisterpenlactonas, cumarinas, saponinas, quinonas, chalconas, alcaloides, entre otros (Hasborne, 1984; Domínguez, 1988).

La espectroscopía de infrarrojo (IR) es de gran importancia para la identificación de grupos funcionales presentes en los extractos que se desean estudiar, se ha reportado en la literatura que es una herramienta útil para la detección de la interacción entre grupos funcionales en compuestos que se desean estudiar (Li y Qu, 2010; Bojidarka *et al.,* 2008).

Para analizar simultáneamente varios tipos de analitos, así como aprovechar algunas ventajas relacionadas con la alta eficiencia, tiempo de análisis corto y simplicidad se emplea la técnica de electroforesis (Cifuentes, 2006) que es un proceso que se basa en el movimiento o migración diferencial del soluto causado por la atracción o repulsión en un campo eléctrico (Fernández *et al.,* 2005)

Uno de los métodos empleados para la extracción de compuestos es la cromatografía de líquidos de alta resolución que es la técnica analítica de separación, identificación y cuantificación, más ampliamente utilizada. La polaridad alta y baja de los flavonoides permite su extracción con disolventes polares, solos o en mezclas (agua, etanol y metanol generalmente). Algunos métodos implican la extracción primaria con disolventes no polares para eliminar grasas y ceras principalmente, y en seguida se utilizan mezclas acuosas con etanol, que se fraccionan con disolventes orgánicos de diferente polaridad (Lock *et al*., 2006).

El perfil individual de los compuestos fenólicos se puede evaluar por cromatografía de líquidos de alto rendimiento acoplado a un detector de fotodiodo array (HPLC-DAD) (Palacios *et al.,* 2011). Consta de una fase móvil que es un líquido que fluye a través de una columna que contiene a la fase fija. Con el objeto de aumentar la eficiencia en las separaciones, el tamaño de las partículas de fase fija se va disminuyendo hasta el tamaño de los micrones lo cual genera la necesidad de utilizar altas presiones para lograr que fluya la fase móvil (Helrich, 1990). La espectrometría de masas, es una técnica de análisis cualitativo, de amplia utilización para la determinación de estructuras orgánicas, por si sola o en combinación con otras técnicas de espectrofotometría (Grayson y Bennett, 2011).

La ionización por electroespray (ESI-MS) es una técnica utilizada en espectrometría de masas, basada en la obtención de iones a partir de moléculas orgánicas en fase gaseosa; una vez obtenidos estos iones, se separan de acuerdo con su masa y su carga y finalmente se detectan los compuestos (Banerjee y Mazumdar, 2012).

Los compuestos fenólicos también pueden ser evaluados por espectrometría de masas o aplicación de las dos técnicas mencionadas para una mejor identificación.

En diversas especies de hongos se ha encontrado que los principales compuestos antioxidantes son: los ácidos cafeico, clorogénico, coumarico, ferúlico, gálico, gentísico, hidroxibenzoico, homogentísico, y protocatéquico, además de la catequina, el pirogalol, y la miricetina; que son solubles en alcohol y han sido identificados por HPLC-DAD y ESI-MS (Palacios *et al.*, 2011; Barros *et al.*, 2009).

II. JUSTIFICACIÓN

Ante la creciente oposición al empleo de antioxidantes sintéticos en la alimentación, las investigaciones se han dirigido a encontrar productos naturales con actividad antioxidante, para sustituirlos o por lo menos, disminuir la cantidad necesaria al conservar los alimentos. Los hongos silvestres comestibles producen diversos metabolitos secundarios como los compuestos fenólicos que presentan actividad antioxidante.

México es el principal productor de hongos cultivados en América Latina, se estima que en el período 1995-2001 se produjo el 58.6% del total de hongos provenientes de esta región. En Durango existe una gran diversidad de hongos silvestres, algunos de ellos de importancia para los habitantes de la región serrana o forestal, debido a los beneficios económicos y nutrimentales que obtienen de estos.

Actualmente en la región del Salto, Pueblo Nuevo, se consumen hongos en la temporada de lluvias. Existe normatividad para su aprovechamiento, aunque su aplicación está limitada por el contexto socioeconómico de los habitantes de la región. Por lo anterior se genera un subaprovechamiento del recurso fungicola al desconocer otras propiedades que pueden dar valor agregado al aprovechamiento de este recurso, tales cualidades son los componentes antioxidantes que en la actualidad son demandados por sus beneficios en la conservación de alimentos y en la salud humana. Estos se presentan como una opción de ampliar las posibilidades de consumo y comercialización con el propósito a la vez de promover su aprovechamiento de manera sustentable en las regiones forestales del estado, y alejar la presión que se realiza sobre los recursos maderables.

El presente trabajo pretende generar información sobre los compuestos antioxidantes presentes en las especies de HSC de la región del Salto Pueblo Nuevo, Durango con el propósito de ampliar las opciones productivas del recurso que conlleve a un aprovechamiento sustentable.

III. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

Determinar los componentes antioxidantes en hongos silvestres comestibles consumidos en el Salto, Pueblo Nuevo, Durango.

3.2. Objetivos Específicos

- Colectar las especies de hongos silvestres comestibles de las spp *Amanita caesarea (*Socp. ex Fr.) Grev.*, Hypomyces lactiflourum* (Schw). Tulasne, *Agaricus campestris (*Linnaeus: Fries)*, Ramaria flav* (Fr). Qúel*, Boletus edulis* Bull.ex Fr., *Hericium erinaceus* Persoon, *Lactarius deliciosus* L. ex Fr. Gray, en el Salto, Pueblo Nuevo Durango, durante Julio- Septiembre del 2013
- Evaluar la capacidad antioxidante de las especies de hongos silvestres comestibles
- Realizar análisis preliminar micoquimico y espectroscopia por infrarrojo (IR)
- Determinar los componentes funcionales antioxidantes de las especies de hongos recolectadas por electroforesisis capilar (CE) y cromatografía de líquidos de alta resolución acoplado a un espectrómetro de masas (HPLC/MS)

IV. HIPÓTESIS

Las especies de hongos silvestres comestibles del Salto, Pueblo Nuevo, Durango contienen metabolitos que pueden tener capacidad antioxidante relevante para su posible utilización en aspectos nutraceuticos para el hombre. Lo anterior permitirá revalorar las propiedades y cualidades de los hongos silvestres comestibles para su aprovechamiento en la región, de acuerdo a la normatividad existente.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Descripción del área de estudio

El municipio de Pueblo Nuevo se localiza al sureste del estado de Durango, en las zonas elevadas de la Sierra Madre Occidental; limita al noreste con el municipio de San Dimas, al noreste y este con el municipio de Durango, al sureste con el municipio de Mezquital, al sur con el municipio de Huajícori del estado de Nayarit y al suroeste con el municipio de Mazatlán, el municipio de Concordia y con el municipio de Rosario del estado de Sinaloa. Tiene una extensión territorial de 6,178 kilómetros cuadrados. Está ubicado totalmente en la Sierra Madre Occidental con una porción septentrional sobre las cumbres de la cordillera, que se presentan como una inmensa planicie elevada de 2,500 a 2,600 metros sobre el nivel del mar, desgarrada por el cauce de las barrancas que rompen la meseta como verdaderas cortaduras, formando el sistema de mesas llamadas El Salto y La Ciudad, que están cubiertas por bosque de pino-encino. El clima es templado semifrío con áreas semisecas y unas cuantas porciones sub-húmedas semifrias. Las temperaturas extremas son de 36°C y de -18 C. Presenta una precipitación media anual de 1,300 milímetros, con régimen de lluvias en los meses de junio a septiembre, presentándose las primeras heladas en octubre. En los meses de diciembre y enero se registran nevadas. La población total del municipio de Pueblo Nuevo es de 47,104 personas, de las cuales 23,266 son hombres y 23,838 son mujeres.

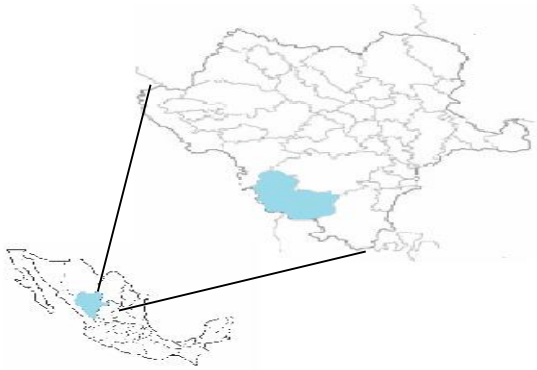

Figura 10. Localización del área de estudio

5.2. Colecta de las especies de hongos

La colecta de las especies de hongos silvestres comestibles se realizó en el mes de Agosto-Septiembre del 2013 en diversos sitios del municipio de Pueblo Nuevo que se encuentran alrededor de la región de El Salto, donde se conoce que sus habitantes colectan hongos; siendo el ejido Los Bancos, Buenos Aires, Los Coyotes, La Campana, Cebollas donde se realizaron las colectas, siguiendo la técnica descrita por Zamora-Martinez, 1994; Gómez *et al.,* 1999*.* Se localizaron las fructificaciones, mediante recorridos por el bosque, donde se buscaron montículos de hojarasca en el piso forestal. La búsqueda se realizó alrededor de los árboles, una vez ubicado el hongo, se removió la hojarasca con movimientos suaves de la mano con la finalidad de maltratar lo menos posible el cuerpo fructífero; una vez descubierto, se recolectaron los individuos maduros. Se cubrió con hojarasca el espacio que quedó al extraer el hongo, para que el micelio no se deshidratara. Se golpeó levemente el cuerpo fructífero para liberar las esporas antes de cubrir el hueco. El muestreo fue dirigido hacia las principales especies de HSC, y se tomó una muestra representativa de cada hongo, colectando como máximo 500 g de cada especie. Se indicó el número de colecta, familia, género, especie, autor, lugar, descripción de la zona, latitud, longitud, altitud, vegetación, abundancia, peso y fecha de colecta. Para la recolección se llevó un GPS, cámara fotográfica, báscula, frascos de plástico, navaja, guantes, alcohol, lupa, cinta adhesiva y plumón indeleble. En una hoja de colecta se anotó clave, especie, sitio, peso fresco, peso seco, vegetación y fecha. La identificación morfológica de los macromicetos se hizo de acuerdo a las características macro y microscópicas de varios autores (Courtecuisse y Duhem, 1995, Laessoe, 2005) los especímenes representativos fueron depositados en el herbario del Instituto de silvicultura con el número de voucher 1050 a 1058.

Se compró el hongo *Lentinula edodes,* es una especie cultivada, que se utilizó como referencia para el análisis, se consiguió ya seco en el mercado de San Juan, ubicado en la calle de Ernesto Pugibet No. 21 en el Centro Histórico de la ciudad de México.

5.3. Métodos

5.3.1.- Preparación de las muestras para su análisis químico.

Una vez recolectados los HSC, se colocaron en un desecador a una temperatura de 35°C, durante 72 hrs. Cada muestra se molió en un mortero y se tamizó usando una malla #10. Se colocaron en bolsas de papel en un lugar oscuro y seco para su posterior análisis químico.

Figura 11. Desecador

5.3.2. Obtención del extracto crudo para evaluación de la actividad antioxidante

Las pruebas se realizaron por triplicado. Se tomó 1 g de cada muestra y se colocó en 10 mL en una proporción 80:20 metanol-agua, se agitó por 24 horas en un Lab-Line LED Orbit Shaker Modelo 3518. Posteriormente las muestras fueron cubiertas con papel aluminio para proteger los componentes fotosensibles. Se centrifugó a 8000 rpm /10 min en una centrifuga marca Boeco Germany modelo U-32R. Se extrajo el sobrenadante 1 y se conservó. La pastilla se re-disolvió en metanol- agua (80:20) se puso en agitación durante 5 horas, se extrajo el sobrenadante 2. Enseguida se centrifugaron los dos extractos del sobrenadante de cada muestra, obteniéndose el extracto crudo, el cual fue usado en las técnicas posteriores.

5.3.3 Contenido total fenólico

La técnica utilizada fue la de Singleton y Rossi, 1965, con algunas modificaciones. Se tomaron 125µL de extracto crudo de cada muestra, se le agregaron 1.25 mL de agua desionizada, 125µL del reactivo de Folin Ciocalteu y 375µL de $NaCO_3$ al 20%. Se agitaron los tubos y se dejaron en la oscuridad por 2 hrs. Las muestran se leyeron en el espectrofotómetro UV/VIS Optizen POP a 760 nm. El blanco se preparó con todos los componentes, en lugar de 250 µL de extracto crudo, fueron 250 µL de metanol.

5.3.4. Contenido de flavonoides totales

Se siguió la técnica descrita por Barros *et al.,* (2009) con algunas modificaciones, se tomaron 200 µL de muestra (extracto crudo) con una disolución 80:20, se le agregaron 1800 µL de metanol y 120 µL de $ALCL_3$ al 5**%,** las muestras se leyeron en el espectrofotómetro, usando una celda de vidrio, a 425nm. El blanco se preparó con 2000 µL de metanol + 120 µL de $ALCL_3$ al 5%.

5.3.5 Actividad de captación de radicales libres DPPH

El método utilizado fue el de Vaz *et al., (*2011), con algunas modificaciones. Se midió la capacidad de los extractos para atrapar el radical 1,1 difenil- 2- picrihidrazil (DPPH) (Prior R, Wu, x y Schainch K, 2005). Para el ensayo se usaron cuatro concentraciones de 0 a 150 µL de cada muestra, después se adicionó una solución de DPPH de tal manera que se mantuvo un volumen final de 1 mL. Como blanco se utilizó 1 mL de solución DPPH 0.1 M + 1 mL de metanol. El decremento en la absorbancia fue determinado a 523 nm después de 20 min. Las concentraciones de DPPH * en el medio de reacción contra las concentraciones de flavonoles de las muestras se graficaron para determinar por regresión lineal, la concentración inicial de DPPH* (EC_{50}). Los valores se expresaron en mg/mL. La prueba se realizó por triplicado y se calcularon los valores medios, como estándar de comparación se utilizó ácido ascórbico.

5.3.6. Evaluación de la reducción de ferrocianuro

El poder reductor se determinó según el método descrito por Siddhuraju y Becker., (2003) con algunas modificaciones. Donde 150 microlitros de solución de la muestra a diversas concentraciones se mezcló con 1.1 mL de buffer fosfato (0.2 M, pH 6.6) y 2.5 mL de ferrocianuro de potasio al 1.0%. Después, la solución se incubó a 50 °C durante 20 min, 2.5 mL de ácido tricloroacético al 10.0%, se añadió la muestra, que se centrifugó a 2800 rpm durante 10 min. Posteriormente 2.5 mL de la capa superior de esta solución se mezcló con 2.5 mL de agua desionizada y 0.5 mL de cloruro férrico (0.1%, w/v), y en seguida se midió la absorbancia a 700 nm. Los valores de EC_{50} se expresaron en mgEAA/g de muestra.

5.3.7. Evaluación de la actividad antioxidante total.

Este método mide la actividad antioxidante total el cual se basa en la reducción de Mo^{+4} a Mo^{+5} por el analito de la muestra y la subsiguiente formación del complejo de fosfato Mo^{+5} que cambia a un color verde mostrando un pH ácido (Padmaja, Sravanthi y Hemalatha, 2011).

La actividad antioxidante total de los extractos se determinó usando el reactivo fosfomolibdeno de acuerdo al método de Prieto P, Pineda M, y Aguilar M, (1999). Donde 0.3 mL de extractos metanólicos (1mg/mL) se mezcló con 3 mL de solución reactiva (6 M de ácido sulfúrico, 28mM de fosfato de sodio y 4 mM de molibdato de amonio). La mezcla se incubó a una temperatura de 95 C por 90 min. Después la absorbancia se midió a 695 nm contra a un blanco. Los valores de EC_{50} se expresaron en mg EAA/mL de muestra.

5.3.8. Análisis de principales componentes

Se utilizó el programa Past 3.0. con la intención de conocer cual variable aporta más a la varianza de los métodos empleados

5.3.9. Análisis preliminar micoquímico

Para la identificación de diversas clases de componentes químicos se realizó un análisis preliminar micoquimico utilizando la metodología propuesta por Domínguez (1988) y Harborne (1984).

5.3.10. Espectroscopia infrarroja.

Se utilizó el método de Szymanska-Chargot *et al.,* (2015) con algunas modificaciones. Los extractos crudos de cada especie fueron concentrados por evaporación y secados. El equipo utilizado para la espectroscopia infrarroja fue Spectrum GX FT-IR System. Los parámetros de escaneo que se utilizaron fue de 4000 a 400 cm^{-1}. Para analizar los datos se utilizó el software Spectrum 50.1

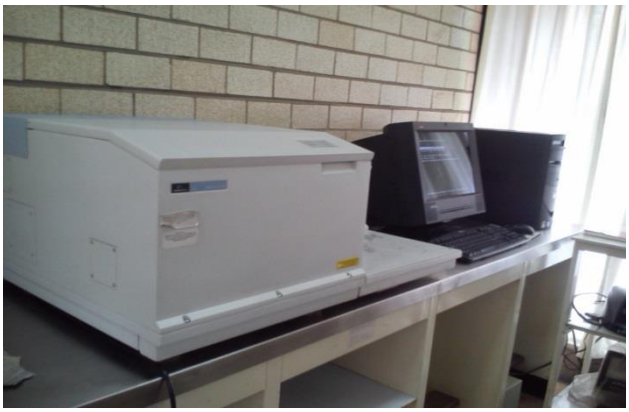

Figura 12. Equipo Spectrum GX FT-IR System.

5.3.11. Obtención de extracto crudo para análisis EC y HPLC/MS

Se utilizó el método descrito por Vaz *et a*l., (2011) con algunas modificaciones donde 1.5 g de muestra se extrajo usando una mezcla de metanol:agua (80:20), en un volumen de 15mL a una temperatura de 20°C por 6 horas. La muestra se pasó a un sonicador por 15 minutos, el extracto se centrifugó a 4000g por 10 min. El residuo se extrajo con 2 porciones adicionales de metanol:agua. La combinación de los extractos se evaporó a 40°C a una presión reducida para remover la acetona. La fase acuosa se lavó 30 mL de éter etílico en tres ocasiones Las fase orgánicas se evaporó a 40°C a sequedad, se redisolvió en agua:metanol (80:20) en 1mL y se pasó a través de un filtro desechable de 0.22 µm.

5.3.12. Determinación de compuestos por EC

Se utilizó la metodología propuesta por Hurtado-Fernández *et al.,* (2013) con algunas modificaciones. Para la detección de los compuestos se empleó un equipo Beckman P/ACE MDQ Capillary electrophoresis system, usando un buffer de borato 40 mM, pH 9.3, un capilar de sílice de 50 cm y 75 micras de diámetro, las muestras fueron inyectadas en el anódico a una presión de 0.5 psi por 10 segundos. Cada corrida se llevó a un voltaje de 20 kV por 30 minutos y se mantuvo a una temperatura de 25°C. La detección UV se realizó a 254 nm. Para analizar los datos se utilizó el software 32 Karat.

Figura 13. Equipo de electroforesis

5.3.13. Determinación de compuestos por HPLC/MS

El análisis se realizó usando un cromatografo de líquidos Hewlett-Packard 1100 series de acuerdo a la técnica establecida por Vaz *et al.,(*2011). La separación se alcanzó en fase inversa con un termostato a 25 º C. Los disolventes utilizados fueron: (A) ácido acético al 2,5% en agua, (B) ácido acético al 2,5% y acetonitrilo (90:10) y (C) 100% acetonitrilo grado HPLC. El gradiente empleado fue: isocrática 100% de A durante 10 minutos, 50% A y 50% de B durante 10 min, isocrático 100% B durante 15 min, 90% B y el 10% C durante 10 minutos, 70% de B y C del 30% durante 10 min, 50% B y el 50% C durante 5 min, 20%B y 80% C durante 5 minutos, un 100% durante 5 minutos, con un caudal de 0,5 ml/ min. La detección se llevó a cabo en un detector con arreglo de diodos (DAD). El análisis ESI-MS se realizó utilizando un detector de FinninganTM LCQ MS (Thermoquest, Cordoba, Buenos Aires, Argentina.) equipado con una fuente de API, utilizando una ionización

electrospray Interfaz (ESI). Tanto el gas envolvente y el gas auxiliar fueron de nitrógeno a velocidades de flujo de 1,2 y 6.1/min, respectivamente. La tensión capilar y fuente fueron de 10 V y 3,5 kV, y la temperatura del capilar fue de 175 º C. Se registró en el modo de iones negativos entre m / z 80 y 620. La MS fue programado para llevar a cabo una serie de tres exploraciones consecutivas: una masa total de 150 a 1500 amu, una exploración de zoom del ion más abundante en un rango de 5 amu ±, y un MS-MS scan del ion más abundante en la masa total utilizando una energía normalizada de colisión de 45%. Los compuestos fenólicos presentes en las muestras se caracterizaron de acuerdo a su espectros UV-Vis e identificados por sus espectros de masas usados y tiempos de retención en comparación con los de los estándares comerciales (ac. gálico, ac. ferúlico, ac. clorogénico, ac. cinámico, ac. homogentísico, ac. cafeico y pirogalol). Para el análisis cuantitativo de compuestos fenólicos, se obtuvo una curva de calibración por inyección de diferente concentración de los estándares mencionados. Los resultados se expresaron como mg por g de peso seco (ps).

Figura 14. Equipo HPLC/MS

5.4. Análisis estadístico.

Los resultados obtenidos en actividad antioxidante se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) seguido por la prueba de Tukey con un alfa de 0.01. Se utilizó el software IBM SPSS Statistics 21. Se realizó una correlación entre el contenido fenólico y la cantidad de flavonoides. Se elaboró un análisis de principales componentes. Se hizo un análisis de conglomerados para la determinación de compuestos.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Enseguida se presentan algunos aspectos generales de las colectas de HSC del Salto, Pueblo Nuevo, Durango (Cuadro 2).

Cuadro 2. Aspectos generales de las especies de HSC colectados

Clave	Especie	Sitio de coleta	% Humedad de los hongos	Altura (m)	Vegetación	Fecha de colecta
2.2	*Amanita caesarea*	Cebollas	90.1	2400	Pino-encino	02/08/13
2.5		La campana	91.84	2800	Pino-encino	03/08/13
2.6		Puentecillas	93.76	2310	Pino-encino	03/08/13
3.3	*Hypomyces lactiflourum*	Los Bancos	90.12	2325	Pino-encino	09/08/13
3.7		Los Coyotes	85.67	2484	Pino-encino	10/08/13
4.4	*Ramaria flava*	Buenos Aires	92.95	2729	Pino-encino	09/08/13
4.5		La Campana	94.05	2568	Pino-encino	24/08/13
4.9		Los Túneles	92.01	2778	Pino-encino	16/08/13
5.5	*Boletus edulis*	La Campana	85.2	2800	Pino-encino	16/08/13
5.4		Buenos Aires	92.72	2729	Pino-encino	07/09/13
5.6		Puentecillas	88.39	2744	Pino-encino	31/09/13
6.8	*Hericium erinaceus*	La Herradura	88.06	2561	Pino-encino	24/08/13
6.6		Puentecillas	87.27	2747	Pino-encino	31/08/13
7.5	*Tricholoma magnivelare*	La Campana	93.11	2800	Pino-encino	07/09/13
8.6	*Sparassis crispa*	Puentecillas	96.4	2747	Pino-encino	31/08/13
8.4		Buenos Aires	92.5	2729	Pino-encino	24/08/13
8.9		Los Tuneles	94.2	2310	Pino-encino	16/08/13
9.4	*Lycoperdon perlatum*	Buenos Aires	91.8	2743	Pino-encino	09/08/13

En el Cuadro 2, se observa que las especies colectadas crecen en bosque de pino-encino, entre una altitud de 2310 – 2800 msnm. En general se considera que el contenido de humedad de los basidiocarpos fue de 90% aproximadamente, lo que corresponde a lo reportado por Albertó, (2008) sobre hongos de la región pampeana de Argentina.

Las especies *B. edulis* y *A. caesarea* fueron principalmente colectadas debido a su abundante presencia reportando una biomasa mayor en relación a las otras especies colectadas. Poulos y Camp, (2005) encontraron que la distribución y abundancia de especies forestales está relacionada con la altitud y la humedad del suelo, e indirectamente, con la exposición a la radiación solar la cual puede variar en diferentes zonas. Situación prevalente en el área de colecta del presente estudio. Las especies menos colectadas fueron *T. magnivelare* y *L. perlatum.*

6.1. Determinación del contenido fenólico total por el método de Folin-Ciocalteu

Se determinó el contenido fenólico total de los extractos metanólicos de cada especie de HSC, empleando el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, y se calculó su concentración fenólica a partir de la ecuación obtenida de la curva de calibración de ácido gálico: y =0.0042x -0.023, la cual presentó una correlación lineal, con R^2 = 0.9932 como se observa en la figura 15.

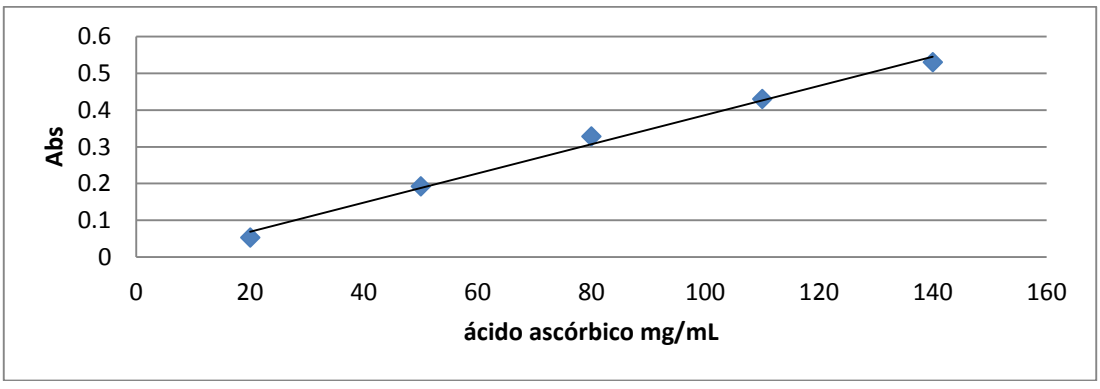

Figura 15. Curva de calibración con ácido gálico para la determinación del contenido polifenólico total por el método de Folin-Ciocalteu.

Una vez obtenida la curva de calibración se determinó el contenido total fenólico de cada especie (Cuadro 3).

Cuadro 3. Contenido fenólico total de especies de HSC en el Salto, Pueblo Nuevo, Durango.

Clave	Extracto metanólico	Lugar	mgEAG/g	Letra
4.4	*R. flava*	Buenos Aires	4.145±0.15	a
2.2	*A. caesarea*	Cebollas	3.676±0.11	b
5.5	*B. edulis*	La Campana	2.663±0.3	c
9.4	*L. perlatum*	Bueno Aires	2.650±0.22	c
5.4	*B. edulis*	Buenos Aires	2.633±0.14	c
7.5	*T. magnivelare*	La Campana	2.463±0.08	d
2.5	*A. caesarea*	La Campana	2.346±0.11	e
2.6	*A. caesarea*	Puentecillas	2.260±0.13	f
3.3	*H. lactiflourum*	Los Bancos	1.396±0.36	g
3.7	*H. lactiflourum*	Los Coyotes	1.303±0.25	h
1.0	*L. edodes*	Cultivada	1.270±0.18	h
8.6	*S. crispa*	Puentecillas	1.266±0.12	h
4.5	*R. flava*	La Campana	1.533±0.18	i
5.6	*B. edulis*	Puentecillas	0.976±0.13	j
6.8	*H. erinaceus*	Los Túneles	0.812±0.15	k
8.4	*S. crispa*	Buenos Aires	0.763±0.25	k
8.9	*S. crispa*	Los Túneles	0.670±0.21	l
6.6	*H. erinaceus*	Puentecillas	0.450±0.11	m
4.9	*R. flava*	Los Túneles	0.383±0.19	m

Los valores son la media de tres repeticiones.
Diferente literal indica diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.01$).

Se observa en el cuadro 3 que el contenido fenólico total de cada especie varía, *R. flava* colectada en Buenos Aires (4.145 mg EAG/g) presentó el mayor contenido de compuestos fenólicos, contrastando con la de menor contenido, dicha especie colectada en los Túneles (0.383mg EAG/g).

Se aprecia que las especies de HSC del Salto, Pueblo Nuevo, Durango, presentaron menor cantidad de contenido fenólico que el reportado en la literatura. Gursoy *et al.,* (2010), indican valores para *R. flava* de 10.51 mg EAG/mg de extracto metanólico, especie colectada en Mugla, Turkia. Los hongos presentan un número variable de compuestos fenólicos, el ácido gálico y ácido protocatéquico se informan como los compuestos fenólicos más comunes, que son utilizados para cuantificar fenoles totales (Kim *et al.,* 2008). Varios autores han informado de la correlación que existe entre la polaridad del disolvente de extracción y el contenido fenólico (Puttaraju *et al.,* 2006; Cheung *et al.,* 2003). Ozen *et al*., (2011), sugiere para extractos metanólicos de *R. flava* cantidades de 25.58±0.58 miligramos de pirocatecol por gramo, de especie colectada en Giresun, Turkia. Liu *et al.,*(2013) reporta para dicha especie evaluando extractos de agua destilada (61.01 mgEAG/g). Para *A. caesarea,* Cengiz *et al., (*2010) publica contenido en fenoles totales de 1.9 µg de pirocatecol por miligramo de extracto metanólico. Para la especie *H. lactiflourum* no se encontraron reportes sobre contenido de fenoles totales por lo cual es el primer estudio sobre esto.

El contenido fenólico de las especies de hongos puede variar debido a el tipo de nutrientes que conforman el sustrato donde intervienen las condiciones climáticas que los rodean, haciendo que los hongos presentes en regiones diferentes o en sustratos que varían en composición puedan alterar y cambiar su metabolismo generando una amplia variedad de compuestos (Tee, 2006)

6.2. Determinación del contenido de flavonoides totales

Con el propósito de obtener mayor información acerca de la naturaleza de las sustancias fenólicas presentes en los HSC, se midió el contenido de flavonoides totales.

Para cuantificar los flavonoides se utilizó quercetina, se elaboró una curva de calibración, en donde se obtuvo la ecuación y= 0.02x-0.009, la cual presentó una correlación lineal $R^2 = 0.996$ (figura 16).

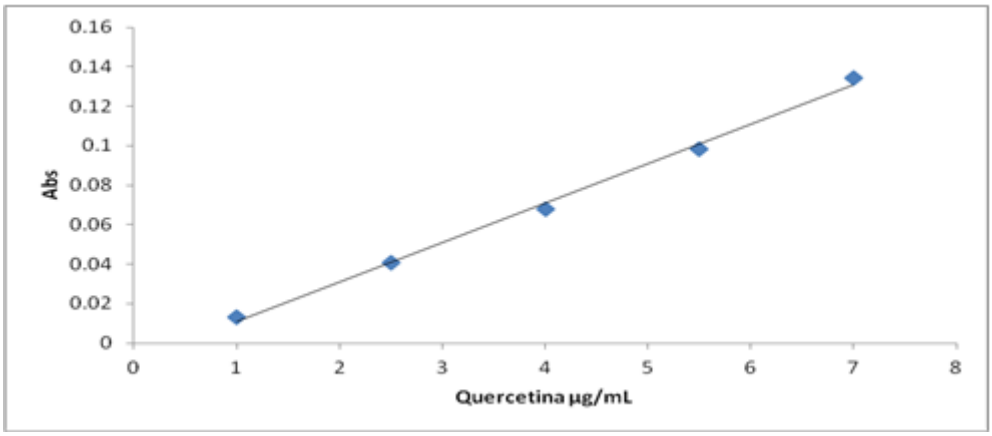

Figura 16. Curva de calibración con quercetina para la determinación del contenido de flavonoides totales.

Utilizando la curva de calibración y las absorbancias respectivas de cada extracto metanólico, se determinó el contenido de flavonoides de las especies de HSC en el Salto, Pueblo Nuevo, Durango (Cuadro 4).

Cuadro 4. Contenido total de flavonoides de especies de HSC en el Salto, Pueblo Nuevo, Durango.

Clave	Extracto metanólico	Lugar	mgEQ/g	Letra
5.5	*B. edulis*	La Campana	2.766±0.015	a
5.4	*B. edulis*	Buenos Aires	2.370±0.14	b
9.4	*L. perlatum*	Bueno Aires	2.296±0.23	c
3.7	*H. lactiflourum*	Los Coyotes	1.256±0.29	d
2.2	*A. caesarea*	Cebollas	1.246±0.11	d
2.6	*A. caesarea*	Puentecillas	1.017±0.08	e
8.6	*S. crispa*	Puentecillas	0.733±0.16	f
2.5	*A. caesarea*	La Campana	0.626±0.21	g
1.0	*L. edodes*	Cultivada	0.613±0.31	g
7.5	*T. magnivelare*	La Campana	0.603±0.17	g
6.8	*H. erinaceus*	Los Túneles	0.428±0.19	h
8.4	*S. crispa*	Buenos Aires	0.38±0.07	h,i
4.9	*R. flava*	Los Túneles	0.346±0.12	i,j
4.5	*R. flava*	La Campana	0.293±0.09	j,k
5.6	*B. edulis*	Puentecillas	0.246±0.17	k
8.9	*S. crispa*	Los Túneles	0.270±0.24	k
4.4	*R. flava*	Buenos Aires	0.239±0.16	k
6.6	*H. erinaceus*	Puentecillas	0.143±0.28	l
3.3	*H. lactiflourum*	Los Bancos	0.142±0.19	l

Los valores son la media de tres repeticiones.
Diferente literal indica diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.01$).

Se observó en el cuadro 4 que la concentración de flavonoides varía dependiendo la especie y el sitio de colecta. El hongo *B. edulis* (2.766 mg EQ /g) tiene mayor cantidad de flavonoides, a diferencia del hongo *H. erinaceus* (0.143 mg EQ/g) y *H.* lactiflourum *(*0.142 mgEQ/g) que presentaron menor contenido de flavonoides. Destaca el sitio de colecta La Campana para el primer hongo en mención con un

mayor contenido de flavonoides al contrario del sitio Puentesillas donde se colectó la misma especie. Para *H. erinaceus* destaca el sitio La Herradura a diferencia del sitio Puentecillas. Lo cual podría ocurrir por factores anteriormente mencionados por (Tee, 2006). Para la especie *H. lactiflourum* no se encontraron reportes sobre contenido de flavonoides totales por lo cual es el primer estudio sobre esto.

Se analizó estadísticamente que el contenido de flavonoides tuvo una correlación positiva con la concentración fenólica.

Los flavonoides forman complejos rojos con cloruro de aluminio en medios alcalinos (Turner, 1952). Como se observa en el cuadro 4, la concentración de flavonoides es similar al reportado en la literatura, para *B. edulis* colectado en España, sugieren valores de 2.0 mgEC/g (Palacios *et al*., 2011) y de 1.75±0.13 mg/g Ozen *et al.,* (2011) para aquellos HSC colectados en Giresun, Turkia. En *H. erinaceus* se reportan cantidades de 1.61 mg EC/g (Mujić *et al.,* 2010) usando como solvente de extracción n-hexano. Li *et al.*,(2012) reporta valores de 0.62 mgEQ/g. Los efectos protectores de los flavonoides en los sistemas biológicos se atribuyen a su capacidad de transferir electrones de radicales libres, catalizadores de metales de quelato (Ferrali *et al*., 1997). Se observó que las cantidades de flavonoides son bajas, los hongos necesitan para su crecimiento condiciones de humedad y sombra. Wilkinson, 1977 reporta que las plantas que crecen a pleno sol tienen mayor contenido de flavonoides que las que crecen en la sombra, lo cual se ha interpretado como un mecanismo de defensa de la planta debido las oxidaciones promovidas por la luz UV. Las zonas donde se colectaron los hongos estaban generalmente protegidas por árboles y presentaban condiciones de humedad favorables para su crecimiento.

6.3. Determinación de la actividad antioxidante.

Varios informes han demostrado de forma convincente una estrecha relación entre la actividad antioxidante y el contenido fenólico (Prasad *et al.,* 2005; Kyslychenko *et al.,* 2010). Las propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos desempeñan un papel importante en la estabilidad de los productos alimenticios, así como en los mecanismos de defensa antioxidante de los sistemas biológicos (Macheix y

Fleuriert, 1998). Los mecanismos de defensa contra los efectos de las oxidaciones excesivas proporcionan acción de diversos antioxidantes (Antolovich *et al*., 2002).

6.3.1. Captación de radicales libres DPPH*

La curva de calibración fue usada para calcular la concentración en el medio de reacción: A_{523nm}= 0.0337+0.0202 (DPPH*), con una relación lineal de r= 0.9978. En el cuadro 5, se puede apreciar que las especies de HSC estudiadas presentan buena actividad captadora de radicales libres DPPH*

Cuadro 5. Efecto de la capacidad captadora de radicales DPPH*

Clave	Extracto metanólico	Lugar	DPPH (µg/mL)	Letra
4.4	*R. flava*	Buenos Aires	16±0.12	a
2.2	*A. caesarea*	Cebollas	51±0.21	a,b
1.1	*L. edodes*	Cultivada	102±0.17	b
6.8	*H. erinaceus*	La Herradura	193±0.28	c
5.5	*B. edulis*	Puentecillas	216±0.24	c,d
3.7	*H. lactiflourum*	Los Coyotes	238±0.26	c,d
5.4	*B. edulis*	Buenos Aires	265±0.31	d,e
3.3	*H. lactiflourum*	Los Bancos	333±0.09	d,e
6.6	*H. erinaceus*	Puentecillas	366±0.11	e
5.6	*B. edulis*	Puentecillas	401±0.07	e
8.9	*S. crispa*	Los Túneles	420±0.19	e
2.5	*A. caesarea*	La Campana	478±0.21	f
7.5	*T. magnivelare*	La Campana	689±0.16	g
4.5	*R. flava*	La Campana	820±0.28	h
2.6	*A. caesarea*	Puentecillas	940±0.14	i
8.4	*S. crispa*	Buenos Aires	960±0.29	i
9.4	*L. perlatum*	Buenos Aires	1036±0.15	j
8.6	*S. crispa*	Puentecillas	1106±0.18	j
4.9	*R. flava*	Los Túneles	1631±0.09	k

Los valores son la media de tres repeticiones. Diferente literal indica diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.01$)

La técnica DPPH es ampliamente utilizada para evaluar la actividad antioxidante debido a que este radical no es afectado por reacciones secundarias como la quelación de iones de metal o la inhibición de enzimas. La actividad antioxidante puede ser evaluada calculando la EC_{50} que corresponden a la cantidad de extracto requerido para captar el 50 % de los radicales DPPH* presentes en la muestra. Una baja EC_{50} en esta técnica indica una alta actividad antioxidante (Amarowicz *et al*.,

2004 y Woldegiorgis, 2014). En el cuadro 5 se observa que la especie de mayor importancia es *R. flava* (EC_{50} = 16 µg/ mL) y dicha especie colectada en Los Túneles presenta una menor importancia (EC_{50}= 1631 µg/mL); Liu *et a*l., (2013) reportó para *R. flava* colectada en Mongolia (EC_{50}= 5.86 µg/mL) usando extractos disueltos en agua destilada. Para *B. edulis* colectado en Kopaonik, Serbia*,* Kosanić *et al.,* (2012) reportó (EC_{50}= 212 µg/mL) extractos disueltos en sulfóxido de dimetilo. La especie *A. caesarea* que es la más consumida en el Salto, Pueblo Nuevo, presenta una *(*(EC_{50}= 51 µg/mL). Filipa *et al.,* (2011) reporta una EC_{50}= 7.41 mg/mL usando para su evaluación 5 g de dicha especie colectada al Norte de Portugal disuelta en 100 mL de metanol. Para la especie *H. lactiflourum* no se encontraron reportes sobre captación del radical DPPH* por lo cual es el primer estudio sobre esto.

La captación del radical DPPH* que realizan los extractos metanólicos de HSC de el Salto, Pueblo Nuevo puede ser mejor debido a la concentración del extracto así como factores ambientales. Los compuestos fenólicos responden a una expresión genético dependiente inducida por factores ambientales como luz, nutrición y estrés (Häkkinen S, 2000).

6.3.2. Evaluación de la reducción de ferrocianuro

Se realizó una curva de calibración para calcular la concentración en el medio de reacción, donde se obtuvo la siguiente ecuación: A_{700nm}= 4.2133x +0.2365 (ácido ascórbico*), con un coeficiente de correlación r= 0.9975. Los extractos presentaron diferencias significativas.

Cuadro 6. Evaluación de la reducción de ferrocianuro

Clave	Extracto metanólico	Lugar	Reducción Férrica (mgEAA/g)	Letra
4.9	*R. flava*	Los Túneles	0.00892±0.15	a
5.4	*B. edulis*	Buenos Aires	0.00841±0.08	b
5.6	*B. edulis*	Puentecillas	0.0078±0.07	c
6.8	*H. erinaceus*	La Herradura	0.00658±0.16	d
7.5	*T. magnivelare*	La Campana	0.00602±0.34	e
8.9	*S. crispa*	Los túneles	0.00573±0.09	f
2.2	*A. caesarea*	Cebollas	0.005825±0.14	f
2.5	*A. caesarea*	La Campana	0.00479±0.084	g
2.6	*A. caesarea*	Puentecillas	0.004675±0.012	g
3.3	*H. lactiflourum*	Los Bancos	0.003229±0.27	h
3.7	*H. lactiflourum*	Los Coyotes	0.003067±0.38	h
4.4	*R. flava*	Buenos Aire	0.0028±0.12	i
4.5	*R. flava*	La Campana	0.00255±0.07	j
5.5	*B. edulis*	La Campana	0.00221±0.04	k
6.6	*H. erinaceus*	Puentecillas	0.00096±0.11	l
1.1	*L. edodes*	Cultivada	0.0008907±0.19	l
8.4	*S. crispa*	Buenos Aires	0.000876±0.08	l
8.6	*S. crispa*	Puentecillas	0.0007148±0.09	m
9.4	*L. perlatum*	Buenos Aires	0.000633±0.23	n

EC_{50} = mg EAA/g muestra. Los valores son la media de tres repeticiones. Diferente literal indica diferencias estadisticas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.01$).

En el cuadro 6, se observa que la especie *R. flava* colectada en los Túneles destaca en su capacidad para reducir el ion ferroso en contraste con especies como *S. crispa* y *L*. *perlatum* que tiene menor capacidad para captarlo. No obstante todas las especies de HSC estudiadas presentan bajos valores en actividad quelante de hierro. El método de reducción férrica se basa en la reducción del Fe^{+3} a Fe^{+2} el cual se monitorea midiendo la absorbancia 700 nm (Oyaizu, 1986). Como se puede observar utilizando este método, existen diferencias significativas entre las especies de HSC, no obstante las especies de HSC estudiadas no presentan buena capacidad reductora, en comparación a las reportadas en la literatura. Para el hongo *R. flava* colectado en Mugla, Turkia (Gursoy *et al.,* 2010) reportó valores de 1.915 mgEAA/mL. Para la especie *H. lactiflourum* no se encontraron reportes sobre reducción férrica por lo cual este es el primer estudio sobre ello.

6.3.3. Evaluación de la actividad antioxidante total.

La especie *B. edulis* colectada en Buenos Aires destaca por su capacidad de reducción del Mo (VI). Se observa que el hongo con menor importancia es *S. crispa* (Cuadro 7).

Cuadro 7 Actividad antioxidante total

Clave	Extracto metanólico	Lugar	Fosfomolibdeno (mgEAA/g)	Letra
5.4	*B. edulis*	Buenos Aires	17.91±0.18	a
5.5	*B. edulis*	La Campana	15.044±0.05	b
9.4	*L. perlatum*	Buenos Aires	11.285±0.24	c
2.5	*A. caesarea*	La Campana	9.647±0.19	d
3.3	*H. lactiflourum*	Los Bancos	9.506±0.11	e
6.6	*H. erinaceus*	Puentecillas	9.374±0.08	f
6.8	*H. erinaceus*	La Herradura	9.242±0.31	g
8.6	*S. crispa*	Puentecillas	9.104±0.08	h
2.2	*A. caesarea*	Cebollas	8.848±0.19	i
4.4	*R. flava*	Buenos Aire	8.82±0.28	j
2.6	*A. caesarea*	Puentecillas	8.768±0.06	k
5.6	*B. edulis*	Puentecillas	8.252±0.27	l
4.5	*R. flava*	La Campana	7.995±0.35	m
7.5	*T. magnivelare*	La Campana	7.762±0.16	n
4.9	*R. flava*	Los Túneles	6.266±0.22	ñ
8.9	*S. crispa*	Los túneles	5.519±0.34	o
1.1	*L. edodes*	Cultivada	4.298±0.09	p
3.7	*H. lactiflourum*	Los Coyotes	4.274±0.17	q
8.4	*S. crispa*	Buenos Aires	4.19±0.23	r

Los valores son la media DE± de tres repeticiones y p≤0.01. Diferente literal indica diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey (p <0.01).

Actualmente, se han desarrollado varios métodos para medir el potencial antioxidante total entre los que se encuentran el método de fosfomolibdeno (Rice-Evans, 2000). Éste método es cuantitativo ya que la actividad antioxidante se expresa como el número de equivalentes de ácido ascórbico (Prieto, Pineda y Aguilar, 1999). Es un método de evaluación de actividad antioxidante muy utilizado en plantas (Padmaja *et al.,* 2011*)* generalmente detecta antioxidantes tales como ácido ascórbico, algunos compuestos fenólicos ,tocoferol , carotenoides (Prieto, Pineda y Aguilar, 1999) .En el cuadro 7 se observa que la especie *B. edulis*

colectada en Buenos Aires presenta una actividad antioxidante significativa (17.9 mgEAA/g). Ozen, 2011 reportan valores de 6000µmol α-tocoferol/g en *B. edulis*, colectado en la región del mar negro en Turkia. Para las demás especies de HSC estudiadas no se reportan valores, utilizando la presente técnica, por lo consiguiente el presente estudio es el primer reporte sobre actividad antioxidante total.

6.4. Análisis de componentes principales

En los cuadros 3-7 se observa que la especies de hongos varían de acuerdo a su capacidad para captar o inhibir radicales libres, todos los extractos de setas tienen actividad antioxidante, significativa ($p < 0,01$). Se realizó un análisis de principales componentes para conocer cuál de los métodos empleados indica con mayor probabilidad la variable que afecta su varianza (figura 17).

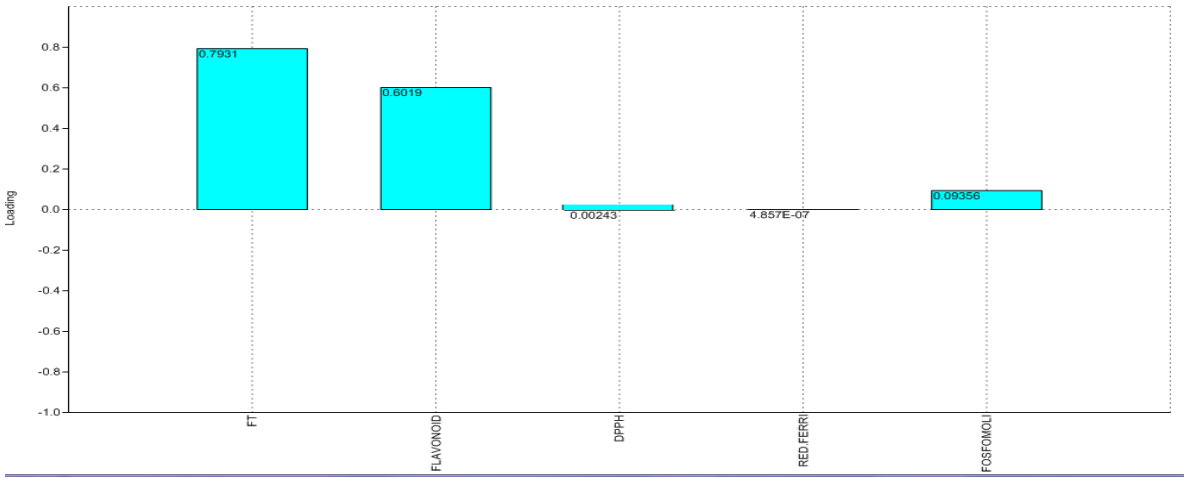

Figura 17. Análisis de componentes principales de los métodos empleados para la determinación de especies con mejor actividad antioxidante.

Como se observó en la figura 17, el contenido fenólico aporta un 70% a la varianza, seguido de la cantidad de flavonoides con un 60%. Entre los métodos de captación o reducción de radicales libres destaca el de actividad antioxidante total con un 9%. Debido a lo señalado destaca la especie *R. flava y B. edulis.* Los resultados presentados en la figura 17 indican que la actividad antioxidante de los hongos tiene mayor probabilidad de estar relacionada a la presencia de compuestos fenólicos ,

flavonoides y capacidad de reducción del Mo (VI), mediante la donación de electrones o captación de radicales libres (Barros, Baptista y Ferreira*,* 2007).

En el análisis de componentes principales la especie *B. edulis* es la que presenta mejor actividad antioxidante, seguido de *R. flava*, y *A. caesarea.* Estas especies son micorrizicas.

Los macromicetos micorrízicos con asociación a las raíces de las plantas, establecen una relación simbiótica de ectomicorrizas, con beneficios tanto para la planta como para el hongo (Smith y Read, 1997). Esta simbiosis puede influir en la producción de metabolitos secundarios, incluyendo compuestos bioactivos (Filipa *et al.,* 2011). Se ha comprobado que las fructificaciones se nutren por el micelio de todo el organismo que se encarga de traslocar nutrientes desde toda la red de micelio denominada red de Hartig, hacia los basidiocarpos (Müller y Wolfgang, 1976). En el estudio se observó que la especie que presentó baja actividad antioxidante fue *S. crispa,* que es una especie lignícola (Cuadro 7)
La presencia de metabolitos secundarios es debido principalmente a que los hongos son incapaces de sintetizar macromoléculas a partir del dióxido de carbono y la energía procedente de la luz por el hecho de que no poseen clorofila, por lo tanto, su biogénesis está condicionada principalmente por el tipo de nutrientes que conforman el sustrato donde intervienen las condiciones climáticas que los rodean, haciendo que los hongos presentes en regiones diferentes o en sustratos que varían en composición puedan alterar y cambiar su metabolismo generando una amplia variedad de compuestos químicos (Jong y Birmingham. 1992; Tee, 2006).

El hongo *L. edodes,* especie cultivada se utilizó para comparar con los demás HSC su actividad antioxidante debido a que es muy reconocido por sus propiedades medicinales. Éste presentó baja actividad antioxidante con respecto a las demás especie. Woldegiorgis *et al.,* 2014, reporta valores en contenido fenólico total de (3.45±0.22 mgEAG/g). No obstante su capacidad para captar el radical DPPH* es mejor. Por lo que podrían existir otros compuestos además de los fenoles que están actuando como antioxidantes. Se ha reportado que la actividad antioxidante de la

planta está correlacionada con el contenido de sus compuestos fenólicos (Velioglu *et al.,* 1998). Por lo tanto, es importante considerar el efecto del contenido fenólico en la actividad antioxidante del hongo (Woldegiorgis *et al*., 2014).

La falta de correlación significativa entre los demás métodos es debido, por un lado, a los indicadores utilizados para evaluar la actividad antioxidante, que no reflejan el mismo estado del proceso oxidativo y por otra parte, a las condiciones experimentales en las que se lleva a cabo las evaluaciones, como la temperatura, la presencia de metales catalizadores, la exposición a la luz y disolventes implicados en la reacción (Silva y Neuza, 2011). La diferencia en el contenido fenólico de algunos antioxidantes expresados en hongos en este estudio podría ser dependiente de la localización y de las especies que fueron expuestas a condiciones de estrés, etc (Woldegiorgis *et al.,* 2014).

6.5. Análisis preliminar micoquimico

Los compuestos fitoquimicos son un grupo de sustancias no nutrientes presentes en las plantas, que son biológicamente activos y tienen un importante rol en la interacción con la planta, el medio ambiente así como befeneficios a la salud (Schreiner *et al.,* 2006). En el cuadro 8, se observa que ninguna especie presenta alcaloides, antocianinas o saponinas. Existe presencia de flavonas, compuestos fenólicos, cumarinas, glucósidos cardiacos en todas las especies. En algunas especies como *H. erinaceus,* se encuentran azúcares reductores, taninos, antraquinonas y sesquiterpenclactonas. Hamzah *et al.,* 2014, reporta la existencia de glicosidos cardiacos, flavonoides, fenoles, saponinas, taninos, terpenos y esteroides en dicha especie. El *H. lactiflorum* fue el único que presentó chalconas. Mujić *et al.,* (2010) indica la presencia de fenoles totales y flavonoides para *B. edulis;* Fernandez *et al.,* (2014) publicó la existencia de azúcares reductores en la especie mencionada. Puttaraju *et al.,* (2006) señaló la presencia de fenoles totales en *S. crispa*.

Cuadro 8 . Análisis micoquímico de extractos metanólicos de HSC

Especie	Alcaloides	Flavonas	Flavonoles	Xantonas	Chalconas	Antocianinas	Azúcares reductores	Saponinas	Taninos	Compuesto fenólicos	Antraquinonas	Cumarinas	Glicosidos cardiacos	Sequisterpenlactonas
A. caesarea	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+++
H. lactiflourum	-	++	-	-	+	-	-	-	++	+	+++	+	+++	+++
R. flava	-	++	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	++	-
B. edulis	-	+++	-	-	-	-	+++	-	-	++	+	+	++	++
H. erinaceus		+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+
T. magnivelare	-	++	-	-	-	-	+	-	++	++	+	+	+	++
S. crispa	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+
L. perlatum	-	+	-	-	-	-	-	-	+	++	+	-	++	-
L. edodes	-	++	-	-	-	-	+	-	+	++	++	+	++	-

(-) ausencia (+) presencia

6.6. Espectroscopia Infrarroja

La identificación de grupos funcionales presentes en extractos por medio de espectroscopia infrarroja es considerada una herramienta útil (Bojidarka *et al.,* 2008). En la figura 18 se muestran los IR de los extractos crudos de los HSC por evaporación. Se puede observar en las muestras de HSC la presencia de grupos hidroxilo en la longitud de onda de 3400-3100 cm^{-1}, grupos aminos en 1640-1550 cm^{-1} y posibles hidróxidos cíclicos en longitud de onda de 1480-1405 cm^{-1}. Don *et al.,* (2014) reportó estudios en IR para la caracterización de polisacáridos en *B. edulis,* utilizando un extracto etanólico el cual fue destilado y filtrado donde se observó la presencia de grupos hidroxilos en el rango 3452 cm^{-1}.

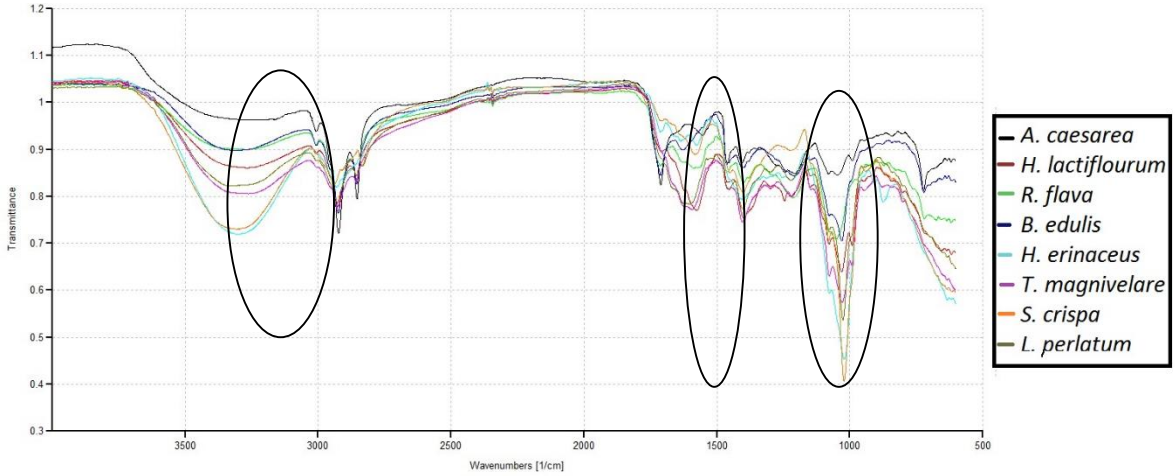

Figura 18. Espectro de IR de los HSC

6.7. Determinación de compuestos fenólicos por EC

En el cuadro 9, se observan los compuestos que fueron detectados por electroforesisi capilar. En donde destaca la especie *B. edulis.* Los electroferogramas de cada especie con la determinación de los compuestos fenólicos se encuentran en Anexo 3. En la literatura no existen estudios en EC de las especies de HSC estudiadas.

Cuadro 9. Compuestos detectados por electroforesis capilar

Especie	Tiempo de retención (min)	Compuesto
A. caesarea	5.9±0.2	Ac. cinámico
	8.4±0.05	Ac. clorogénico
	14±0.1	Ac. gálico
	5.1±0.08	Ac. cafeico
H. lactiflourum	6.6±0.15	Ac. ferúlico
	8.4±0.08	Ac. clorogénico
	5.9±0.24	Ac. cinámico
	5.1±0.15	Ac. cafeico
R. flava	14±0.07	Ac. gálico
	6.6±0.19	Ac. ferúlico
	8.4±0.08	Ac. clorogénico
	5.9±0.35	Ac. cinámico
	5.1±0.08	Ac. cafeico
B. edulis	14±0.25	Ac. gálico
	6.6±0.10	Ac. ferúlico
	8.4±0.19	Ac. clorogénico
	6.6±0.31	Ac. cinámico
	5.1±0.24	Ac. cafeico
	5.8±0.02	Pirogalol
H. erinaceus	14±0.15	Ac. gálico
	6.6±0.04	Ac. ferúlico
	8.4±0.16	Ac. clorogenico
	6.6±0.07	Ac. cinámico
	5.1±0.25	Ac. cafeico
T. magnivelare	14±0.31	Ac. gálico
	6.6±0.18	Ac. ferúlico
	5.9±0.34	Ac. cinámico
	5.1±0.19	Ac. cafeico
	5.8±0.47	Pirogalol
S. crispa	14±0.18	Ac. gálico

Continuación

		Continuación
	8.4±0.14	Ac. clorogénico
	5.9±0.08	Ac. cinámico
	5.1±0.11	Ac. cafeico
L. perlatum	14±0.09	Ac. gálico
	8.4±0.24	Ac. clorogénico
	5.9±0.17	Ac. cinámico
	5.1±0.19	Ac. cafeico
	5.9±0.42	Pirogalol
L. edodes	14±0.16	Ac. gálico
	8.4±0.32	Ac. clorogénico
	5.9±0.19	Ac. cinámico

6.8. Determinación de compuestos fenólicos por HPLC/MS

En el cuadro 10 se observan los compuestos que se determinaron en cada especie con su tiempo de retención y longitud de onda máxima.

Los cromatogramas de cada especie con la determinación de los compuestos fenólico se encuentran en Anexo 4.

Cuadro 10. Compuestos fenólicos presentes en HSC por HPLC/MS

Especie	Tiempo de retención (min)	λ max	Tipo de ácidos fenólicos
L. edodes	10.036±0.022	280	Ac. gálico
	40.36±0.115	235sh-236sh-313	Ac. clorogénico
	58.342±0.031	279	Ac. cinámico
	48±0.121	249sh-256sh-333	Ac. cafeico
A. caesarea	10.036±0.034	275	Ac. gálico
	63.43±0.004	238sh,290sh,321	Ac. ferúlico
	40.35±0.015	245sh-296sh-323	Ac clorogénico
	58.345±0.156	276	Ac. cinámico
	48.01±0.048	238sh-291sh-324	Ac. cafeico
H. lactiflourum	10.036±0.054	270	Ácido gálico
	63.43±0.043	240sh,299sh,325	Ácido ferúlico
	40.351±0.055	252sh-296sh-323	Ácido clorogénico
	58.344±0.156	276	Ácido cinámico
	48.01±0.048	239sh-296sh-323	Ácido cafeico
	13.058±0.230	228sh-298-355	Pirogalol
R. flava	10.036±0.089	270	Ac. gálico
	63.43±0.065	239sh,296sh,323	Ac. ferúlico
	40.351±0.034	245sh-296sh-323	Ácido clorogénico
	58.341±0.068	276	Ácido cinámico
	48.06±0.070	249sh-292sh-321	Ácido cafeico
	13.05±0096	227sh-260-359	Pirogalol
B. edulis	10.036±0.089	279	Ac. gálico
	63.44±0.065	237sh,292sh,321	Ac. ferúlico
	40.352±0.034	245sh-296sh-323	Ácido clorogénico
	58.341±0.068	271	Ácido cinámico
	48.03±0.070	237sh-284sh-319	Ácido cafeico
	13.059±0.096	238sh-258-375	Pirogalol
H. erinaceus	10.036±0.036	280	Ac. gálico
	63.44±0.45	240sh,236sh,353	Ac. ferúlico
	40.352±0.041	244sh-296sh-321	Ácido clorogénico
	58.341±0.026	277	Ácido cinámico
	48.03±0.036	240sh-291sh-321	Ácido cafeico
T. magnivelare	10.036±0.148	270	Ac. gálico
	63.44±0.065	237sh,294sh,321	Ac. ferúlico
	58.340±0.165	274	Ácido cinámico
	48.015±0.122	249sh-216sh-343	Ácido cafeico
	13.059±0.096	218sh-299-360	Pirogalol
S. crispa	10.037±0.129	278	Ac. gálico
	40.353±0.138	230sh-286sh-393	Ácido clorogénico
	58.34±0.038	275	Ácido cinámico
	48.03±0.195	249sh-296sh-383	Ácido cafeico
L. perlatum	10.036±0.016	277	Ac. gálico
	63.44±0.062	238sh,257sh,343	Ac. ferúlico
	40.352±0.081	245sh-296sh-333	Ácido clorogénico
	58.341±0.169	276	Ácido cinámico
	48.03±0.187	237sh-298sh-323	Ácido cafeico
	13.059±0.049	222sh-290-364	Pirogalol

Los valores son la media DE ± de tres repeticiones y $p \leq 0.01$.

En el cuadro 10 se aprecia que los hongos *H. lactiflourum, R. flava, B. edulis* y *L. perlatum* contienen la mayor cantidad de compuestos fenólicos. Al observar el cromatograma de los compuestos presentes en *B. edulis* (Anexo 5, Figura 32) respecto a los demás cromatogramas de *H. lactiflourum, R. flava* y *L. perlatum* (Anexo 5, Figura 30, 31 y 36) se muestran mayor cantidad de compuestos no identificados, que pueden ejercer un efecto sinérgico en la actividad antioxidante.

La capacidad antioxidante es generalmente el resultado de la actividad combinada de una amplia gama de compuestos, incluyendo fenólicos, péptidos, ácidos orgánicos y otros componentes (Gallardo, Jiménez y Garcia-Conesa, 2006). Palacios *et al., (*2011) señala que las especies silvestres en relación con las cultivadas han sido poco estudiadas, de aquí deriva la importancia de este estudio.

Para la especie *H. lactiflourum,* no se encontraron reportes sobre la composición fenólica, por lo consiguiente el presente estudio es el primer reporte sobre el contenido y composición fenólica para esta especie.

Liu *et al.,* (2013) encontraron para *R. flava* compuestos como quercetina, crisina y pinocembrina. Palacios *et al.,* (2011) reportaron para *B. edulis* la presencia de ácidos como: cafeico, clorogénico, p-coumarico, gálico, gentísico, p-hidroxibenzoico, homogentisico y protocatequico, además de la miricetina. Esta especie es un macromiceto micorrizico (Smith y Read, 1997). Dicha condición además de diferentes factores como la especie, estado fenológico, sustrato y condiciones ambientales puede influir en la producción de metabolitos secundarios, incluyendo compuestos bioactivos (Filipa *et al.,* 2011). Nowacka *et al., (*2014), publicó para *L. perlatum* la presencia de los siguientes compuestos: 4-OH ácido benzoico, ácido p-coumárico y ácido salicílico.

El ácido gálico y el ácido cafeico está presente en todas las especies de HSC y el hongo cultivado *L. edodes*. El ácido gálico posee actividad anticancerigena, antiinflamatoria, hepaprotectivo, neuroprotector y analgésico. En la industria farmacéutica se utiliza como agente hemostático y astringente en casos de hemorragia interna. Algunos ungüentos para tratar psoriasis y hemorroides externas

contienen este ácido (Gali *et al*., 1992; Stich, Rosin y Brison, 1982; Ohno *et al.,*1999, Anjana, Monika y Shukla, 2007; Zhongbing *et al.,* 2006).

Los ácidos cinámicos son otro grupo de fenoles caracterizados por una cadena insaturada de tres átomos de carbono. El ácido cafeico es uno de los ácidos hidroxicinámicos con potente actividad antioxidante (Gülçin, 2005; Chimi *et al.,*1988), el ácido clorogénico y su isómero, como el 4-O-cafeil-quínico es más abundante en las plantas y son los antioxidantes más activo de este grupo.

En ninguna de las muestras de HSC se encontró ácido homogentísico. Palacios *et al.,* 2011 reportaron su presencia para *B. edulis* y otras especies de HSC colectados en España, el ácido ferúlico se detectó en el presente trabajo. Filipa *et al.,* 2011 no reportaron la presencia de ácido homogéntisico, ni ferúlico en las especies de hongos estudiadas colectadas al norte de Portugal. La composición de los hongos depende de factores ambientales y condiciones de cosecha (Kim *et al*., 2008).

6.9. Análisis de conglomerados

Se determinó la presencia de 5 ácidos fenólicos y el análisis micoquímico reveló la existencia de 8 compuestos fenólicos. Se encontraron un total de 13 compuestos fenólicos en las diferentes especies de HSC estudiados. (Cuadro 9 y 10). Se indicaron flavonoides, taninos, ácidos fenólicos los cuales aportan actividad antioxidante (Hosu *et al.,*2014; Cliff, King & Schlosser, 2007). El análisis cluster tiene como punto de partida una matriz de distancias o proximidades entre pares de sujetos (casos) o variables, lo que permite cuantificar su grado de similitud-semejanza en el caso de proximidades para variables (Visauta, V., B. 1998). En la figura 19, el análisis de agrupamiento permitió separar diferentes cluster de cada una de las especies. Los perfiles fenólicos obtenidos mostraron una tendencia entre especie especifica de los HSC analizadas. La especie *R. flava* es muy diferente de *B. edulis* tanto en composición química como en estructura morfológica. Se observa que las especies más similares en cuanto a composición química son *B. edulis, T. magnivelare,* estas especies varían en presencia u ausencia de ac. fenólico, pirogalol y taninos. Químicamente las especies mencionadas son reportadas en la

literatura con una amplia gama de compuestos de valor medicinal (Shu-Yao *et al*.,2008; Breene, 1990; Mattila, 2001; You *et al.,* 2013; Yin *et al.,* 2011).

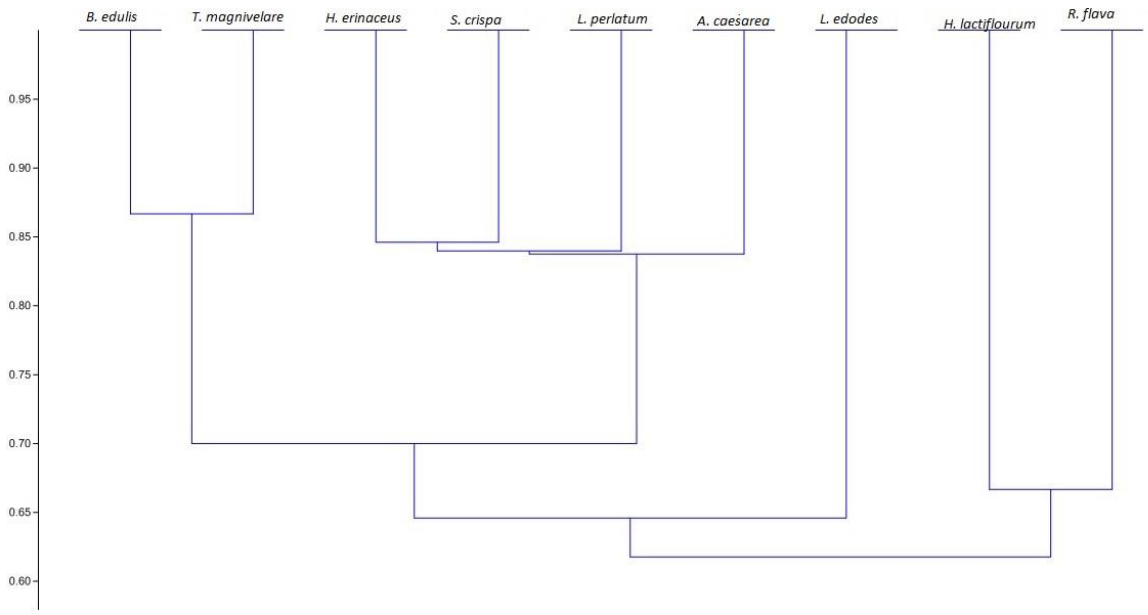

Figura 19. Análisis Cluster de las especies de HSC

Este estudio sugiere que los análisis de compuestos fenólicos podrían ser útiles en los estudios taxonómicos que incluyen especies de setas, además de ser importantes para la salud de las personas. Se requieren estudios adicionales para concluir acerca de este punto, ya que se sabe que los niveles de compuestos fenólicos dependen de varios factores tales como las técnicas de cultivo, cultivo, condiciones de cultivo, proceso de maduración, las condiciones de procesamiento y de almacenamiento, así como condiciones de estrés tales como la radiación UV, la infección por patógenos y parásitos, la contaminación del aire y la exposición a temperaturas extremas (Nackz y Shahidi, 2006).

6.7. Aprovechamiento sustentable

Si se acepta la interdependencia hombre-sociedad-medio ambiente, entonces surge la necesidad de enfrentar la problemática ambiental dentro de sistemas analíticos comprensivos, que representen, en forma adecuada, la realidad que históricamente se ha ido integrando (Bifani, 1981). Los bosques son el repositorio de diversidad biológica terrestre más grande del mundo. Asimismo desempeñan un papel fundamental en la mitigación del cambio climático, contribuyen a la conservación del suelo, el agua en muchos ecosistemas frágiles y en forma significativa a la seguridad alimentaria. En el 2007 se aprobó el instrumento jurídicamente no vinculante sobre todos los tipos de bosques (instrumento forestal). Uno de sus cuatro objetivos mundiales es “potenciar los beneficios económicos, sociales y ambientales de los bosques, incluso mejorando los medios de subsistencia de las personas que dependen de ellos (FAO, 2014).

Hay dos graves problemas que se presentan en el mundo: la producción de alimentos y la conservación y mejoramiento del medio ambiente. Ambos se pueden resolver con el uso de microorganismos que viven asociados a las plantas (simbiosis), sin emplear fertilizantes ni insecticidas, simplemente con lo que la naturaleza proporciona. Entre estos organismos se encuentran los hongos ecto y endomicorrízicos, los cuales proveen de nutrientes, agua y tienen impactos no nutricionales sobre las plantas como capacidad para excluir iones tóxicos, influencia positiva sobre la fotosíntesis, actividad hidráulica de la planta y control de patógenos (Valdéz, 2014). Para una gestión sustentable de los HSC en el bosque es necesario que se realice:

*Un ordenamiento territorial: donde las comunidades y el gobierno decidan y definan el uso de cada tramo de su territorio y las técnicas que consideran más apropiadas para el aprovechamiento de sus recursos.

*Manejo sustentable del bosque: es la combinación de las capacidades técnicas locales, del saber ancestral de la población, con los conocimientos técnicos

aportados por los profesionales del ramo, provenientes de programas públicos con el fin de realizar un uso racional del aprovechamiento del bosque.

*Recolección y producción de hongos: es necesario que la recolección y el cultivo de hongos como actividad organizada, genere empleos e ingresos durante una época del año, sobre todo para las mujeres, cuando no existen otras alternativas de empleo.

Respecto a lo mencionado, las especie principalmente consumidas por los habitantes del Salto, Pueblo Nuevo, Durango son *A. caesarea,* y *B. edulis,* éstas se presentaron mayoritariamente en los sitios de colecta. *B. edulis* y *R. flava* son las que mostraron mejor contenido y actividad antioxidante. En el Anexo 1 se encuentran las especies de HSC colectados del Salto, Pueblo Nuevo, Durango, donde se indican las coordenadas geográficas de su localización.

La Ley de Conservación de la Vida Silvestre define el manejo sustentable como la aplicación de métodos y técnicas para la conservación y aprovechamiento sostenible de la vida silvestre y su hábitat, este manejo es integral cuando se considera de manera relacionada aspectos biológicos, sociales, económicos y culturales. Debido a esto en México, la Ley Forestal en su artículo 13 establece que el aprovechamiento con fines comerciales de los recursos no maderables, que incluye a los hongos silvestres en general, requerirá de un aviso del interesado escrito a la SEMARNAT. Las empresas comercializadoras son consideradas por la NOM-10-RECNAT-1996 como centros de almacenamiento o acopio y el único requisito para comercializar los hongos es su inscripción en el Registro Forestal Nacional y estar en libertad de negociar con los ejidos y las comunidades los términos en los que se realizará la compra de los hongos para cada temporada. La especie *A. caesarea. B. edulis* y *T. magnivelare* se encuentran sujetas bajo protección especial. Lo que implica que en la regulación de su aprovechamiento además se aplica la Ley General de Vida Silvestre que señala en su artículo 40 que para el aprovechamiento de especies silvestres se deberá presentar un plan de manejo, además en su artículo 87 se indica que para el caso particular de ejemplares de especies silvestres en riesgo se deberá contar con:

a) Criterios, medidas y acciones para la reproducción controlada y el desarrollo de dicha población en su hábitat natural incluidos en el plan de manejo

b) Medidas y acciones específicas para contrarrestar los factores que han llevado a disminuir sus poblaciones o deteriorar sus hábitats.

c) Un estudio de la población que contenga estimaciones rigurosas de las tasas de natalidad, mortalidad y un muestreo.

Es necesario comprender las relaciones entre la cosecha de HSC y otros productos y servicios derivados de los bosques, al igual que elaborar mejoras en las prácticas y directrices para su organización. Existe un importante comercio en múltiples productos a base de hongos comestibles que han inspirado a una nueva clase de turismo conocido como micoturismo que confieren un valor económico a la belleza escénica del paisaje, el deshidratado de hongos silvestres, el uso de hongos con fines ornamentales o productivos y elaboración de productos no tradicionales a base de hongos.

El éxito de los esquemas de reglamentación depende de quién controla o posee los bosques. Se necesita un enfoque pragmático para proteger los recursos naturales y garantizar un acceso justo y equitativo a los recolectores. Toda concepción de desarrollo que proponga y oriente la actividad económica y social hacia determinados objetivos, ignorando el contexto ambiental del sistema social, tarde o temprano llevará a un proceso de deterioro del medio natural que, en el largo plazo, frustra el logro de los objetivos socioeconómicos. Si esta concepción es estrictamente ecologista o ambientalista, que haga abstracción del sistema social, sus conflictos en términos de poder, sus desigualdades y sus desequilibrios, ocasionará también un deterioro del ambiente, al no considerar los factores causales de orden social y económico que dan origen a este deterioro y al aplicar criterios de racionalidad ecológica ajenos muchas veces a los objetivos sociales. Los objetivos de desarrollo económico y social deben sustentarse en un manejo adecuado del medio (Bifani, 1981).

Los bosques se deben utilizar responsable y sustentablemente en busca de incorporar mayor valor agregado a los productos de origen biológico. En cualquiera de las investigaciones y aplicaciones de la biotecnología es requisito hacer uso inteligente, respetuoso y sustentable de la biodiversidad (Ledesma, 2014). En este sentido, la biotecnología ha ayudado y puede seguir ayudando en considerables aspectos en beneficio del ser humano y del ambiente. Se requiere de una sociedad bien informada que pueda analizar todas y cada una de las alternativas tecnológicas para contender con los diferentes problemas y demandas, y se de apoyo a la comunidad científica nacional para poder evaluarlas y aprovecharlas (Bólivar, 2014). La inversión privada a gran escala es a menudo el método preferido para la introducción de nueva tecnología y la creación de empleo. Las políticas que fomentan la inversión extranjera en la actividad forestal no dejan de suscitar polémicas. La inversión forestal en proyectos de desarrollo puede causar trastornos a las comunidades rurales locales y perturbar los valores medioambientales de los bosques. Se han adoptado medidas para ampliar la información acerca de los planes locales de microcrédito y pequeñas subvenciones y cómo acceder a ellos, en particular mediante la organización, el fomento de la capacidad de las pequeñas cooperativas de productores y la creación de oportunidades de diálogo entre los bancos y las partes interesadas del sector forestal. (FAO, 2014).

El desarrollo no debe degradar el medio ambiente biofísico, ni agotar los recursos naturales. La desigualdad mundial prevaleciente si bien genera impactos acumulativos que se expresan a escala global, produce también manifestaciones locales que afectan la calidad de vida en diversos grados según las condiciones socioeconómicas de la población. Esto establece de entrada una situación injusta en la distribución de los costos sociales y ecológicos de la actividad humana. ¿Podrán crearse las condiciones económicas, culturales, institucionales y políticas necesarias para ajustar a tiempo las bases en las que se sostiene la fase actual del capitalismo, en función de los imperativos de la conservación ecológica y la equidad social? Ese es el reto de la propuesta del desarrollo sustentable (Gutiérrez y González, 2010).

VII.- CONCLUSIÓN

- Los compuestos fenólicos de los HSC colectados en el Salto, Pueblo Nuevo, Durango presentaron actividad antioxidante significativa ($p<0.01$).
- Respecto a la determinación de los compuestos fenólicos destacó la especie *B. edulis.*
- El análisis preliminar micoquimico mostró la presencia de compuestos como azúcares reductores, taninos, compuestos fenólicos, flavonoides antraquinonas, cumarinas, glicosidos cardiacos y sequisterpenlactonas.
- Por IR se detectó la presencia de diferentes grupos funcionales en las muestras de HSC entre ellos, grupos aromáticos,hidroxi o amino general.
- El análisis EC y HPLC-MS reveló la presencia del ácido gálico y el cafeico en las especies de hongos silvestres comestibles. El primero en mención, se encontró como el principal contribuyente del contenido fenólico total. En actividad antioxidante destacó el hongo *B. edulis* y *R. flava*.
- Existe una correlación positiva entre el contenido fenólico y la actividad antioxidante.
- Para la especie *H. lactiflourum*, no se encontraron reportes sobre la composición química, por lo consiguiente el presente estudio es el primer reporte sobre el actividad antioxidante y composición química para esta especie.
- Estas especies podrían ser consideradas como una fuente de compuestos bioactivos para la prevención de enfermedades. Es relevante que los habitantes conozcan sobre las propiedades antioxidantes de los hongos silvestres comestibles de la región y realicen un uso sustentable de estos.

IX.- RECOMENDACIONES Y SUGERENCIAS

- Se observa que los hongos tienen bajo contenido fenólico, no obstante presentan buena actividad antioxidante, esto se puede deber a la presencia de otros compuestos como azucares, ácidos grasos monoinsaturados o tocoferoles, por lo cual ser recomienda realizar estudios sobre la presencia de estos compuestos para conocer la influencia que ejercen estos sobre la actividad antioxidante y la posible extracción de compuestos en trabajos posteriores.
- Continuar estudios sobre especies en otras regiones del país y también de especies no comestibles que tienen estos componentes para valorar su capacidad antioxidante y sus aplicaciones farmacológicas
- Es conveniente estudiar variaciones entre cepas de la misma especie para conocer si la variación antioxidante se debe a factores del ambiente o características de cada cepa.
- El reto para los gestores ambientales respecto al uso sustentable de los bosques es equilibrar las demandas relativas a estos y proporcionar un marco en el cual los responsables de ordenación forestal puedan trabajar efectivamente. En lo que se refiere a los HSC esto significa minimizar el impacto del aprovechamiento, permitiendo a los recolectores un acceso justo y equitativo a los bosques, así como incentivar el cultivo y subcultivo de las especies comestibles.

X. LITERATURA CITADA

Aherne S., N. O'Brien. 2002. The relation of structure to antioxidant active of quercitin and some of its derivates. Journal Food Science, 31: 518-523.

Albertó Edgardo. 2008. Cultivo intensivo de los hongos comestibles: Como cultivar champiñones, gígolas, shiitake y otras especies. Hemisferio del sur. Argentina.

Amarowicz, R., Pegg, R.B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., Weil, J.A. 2004. Freeradical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. Food Chem. 84: 551–562.

Anjana J, Monika B., S. Shukla. 2007. Protective effect of Terminalia belerica Roxb. and gallic acid against carbon tetrachloride induced damage in albino rats. Journal of Ethnopharmacology.109: 214–218

Antolovich M., Prenzler P.D., Patsalides E., McDonald S., K Robards. 2002 Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*. 127. 183–198.

Asatiani, M. D., Elisashvili V., Songulashvili G., Reznick A. Z., Wasser S. P. 2010. Higher basidiomycetes mushrooms as a source of antioxidants.Scientific Publishers. India.1: 311-326

Bahr Valcárcel Pablo, Basulto Lemus Yoel. 2004. El potencial Reductor Férrico (FRP).Un ensayo para evaluar la capacidad antioxidante en suero. http://www.cocmed.sld.cu/no84/n84ori4.htm

Barnejee Shibdas, Mazumdar Shyamalava. 2012. Elecrospray Ionization Mass Spectrometry: A tecnhnique to Access the information beyond the molecular weight of the analyte. International Journal of Analytical Chemistry. http://dx.doi.org/10.1155/2012/282574

Barros, L., M. Dueñas, I. Ferreira, P. Baptista, C. Santos-Buelga. 2009. Phenolic acids determination by HPLC-DAD-ESI/MS in sixteen different Portuguese wild mushrooms species. Food and Chemical Toxicology 47: 1076-1079.

Bates, S.T.2004. Arizona members of the Geastraceae y Lycoperdaceae Basidiomycota, Fungi. Masters Thesis. Arizona State University: Tempe, AZ. 445 p.

Bifani Paolo. 1981. La relación hombre-naturaleza como fenómeno social. Medio Ambiente y Desarrollo Sostenible. CIFCA. Madrid

Bohmn B.A. 1998. Introduction to Flavonoids. Harwood Academic Publishers, Amsterdam. The Netherlads.

Bólivar Zapata Francisco. 2014 OGM una opción para pensar. Conversus. 75. IPN, México.4-5.

Brand-Williams, Culever W. M. E., Berset C..1995.Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel Wissenschaft and Technologie 28:25-30.

Bravo, L. 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. Nutr Rev, 56 (11), 317-33

Breitenbach, J., F. Kränzlin. 1986. Fungi of Switzerland. Non-Gilled Fungi. Luzern, Switzerland: Verlag Mykologia. 2. 412

Bueno C, M. Sánchez, L. Tapia, S. Luna. 2010. Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles del hongo Shiitake (Letinula edodes) tratado térmicamente http://www.tuinventas.com/attachments/article/2800/Resumen.pdf

Cengiz Sarikurkcu, Tepe Bektas, Karslisemiz Deniz, Hali M. l Solak.2010. Evaluation of metal concentration and antioxidant activity of thee edible mushroom from Mugla, Turkey. Food and chemical toxicology.48.1230-1233.

Cheung L. M., Cheung P. C. K, Ooi V. E. C. 2003. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. Food Chemistry. 81:249–255.

Chimi, H., Sadik, A., LeTutour, B., Rahani, H. 1988.Contribution á l'étude des pouvoirs antioxidants dans I'huile d'olive du tyrosol, de I'hydroxityrosol, de I'acide cafeique et du BHT".Rev. Fr. Corps Gras.35: 339-344

Cifuentes A. 2006. Recent advances in the application of capillary electromigration methods for food analysis. Electrophoresis. 27: 283–303

Courtecuisse, R.,Duhem, B. 1995. In Mushrooms and toadstools of Britain and Europe. London: HarperCollins Publishers.

Dobre, I., G. Dâdei, L. Patrascu, A. M. Elisei, R. Segal. 2011. The antioxidant activity of selected Romanian honeys. The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati-Food Technology 34: 67-73.

Domínguez, A. X., 1988. Métodos de Investigación Fitoquímica. Editorial Limusa, México, D.F.

Don Wang, Shu-Qing Sun, Wei-Zhen Wu, Shun-Lia Yang, Jian-MIng Tan. 2014.Characterization of a water-soluble polysaccharide from Boletus edulis and its antitumor and immunomodulatory activities on renal cancer in mice. Carbohydrate Polymers. 105: 127-134.

FAO. 2005. Usos tradicionales y contemporáneos de los hongos como alimento o medicina, ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/008/y5489s/y5489s00.pdf

FAO. 2014. El estado de los bosques del mundo. Potenciar los beneficios socioeconómicos de los bosques. Roma.

Fernandez Ângela, Barreira João C.M. Antonio L. Amilcar, Oliveira P. P. Beatriz M., Martins Anabela, Ferreira C.F.R. Isabel. 2014.Feasibility of electron-beam irradiation to preserve wild dried mushrooms: Effeccts on chemical composition and antioxidant activity.Innovative Food Science and Emergin Technologies. 22: 158-166

Fernández Gutiérrez A., Segura Carretero A., Carrasco Pancorbo A .2005. Fundamentos teóricos y modos de separación, in: A. Fernández Gutiérrez, A. Segura Carretero (Eds.), Electroforesis capilar: Aproximación según la técnica de detección.Granada. 11–54.

Ferrali M, Signorini C, Caciotti B, Sugherini L, Ciccoli L, Giachetti D, Comporti M. 1997. Protection against oxidative damage of erythrocyte membranes by the flavonoid quercetin and its relation to iron chelating activity. Febs Lett. 416:123–129.

Filipa S. Reis, Sandrina A. Heleno, Lillian Barros, Maria João Sousa, Anabela Martins, Celestino Santos-Buelga, Isabel C.F.R. Ferreira.2011. Toward the

antioxidant and chemical characterization of mycorrhizal mushrooms from Northeast Portugal. Journal of Food Science.76: c824- c830

Gali HU, Perchellet EM, Klish DS, Johnson JM, Perchellet JP.1992 Antitumor-promoting activities of hydrolysable tannins in mouse skin. Carcinogenesis. 13: 715-718

Gallardo C, Jimenez L, Garcia-Conesa MT. 2006. Hydroxycinnamic acid composition and in vitro antioxidant activity of selected grain fractions. Food Chem 99: 455-463.

García Jiménez Jesús, Pedraza Kamino Diana, Silva Barrón Carlos, Andrade Melchor Rosa Laura, Castillo Tovar José. 1998. Hongos del estado de Querétaro. Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.

Gómez, C. M. Zamora- Martínez, J. Castellanos. 1999. Sugerencias Técnicas para la recolección del Hongo Blanco de Ocote. Instituto Nacional de investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. México. 23p.

Grayson M, John Bennett Fenn. 2011. A curious road to the prize. Journal of The American Society for Mass Spectrometry.22:1301-1308.

Gursoy, N., Sarikurkcu, C., Tepe, B., Solak, M.H., 2010. Evaluation of antioxidant activities of 3 edible mushrooms: Ramaria flava (Schaef.: Fr.) Quel., Rhizopogon roseolus (Corda) T.M. Fries., and Russula delica Fr. Food Sci. Biotechnol. 19, 691– 696

Gutiérrez, O. A., A. Mendoza. 2008. Medición de fenoles y actividad antioxidante en maleza usada para alimentación animal. Memorias del simposio de Metrología, Universidad Autónoma de Querétaro, México, 1-5, https://www.cenam.mx/simposio2008/sm_2008/memorias/M2/SM2008-M220-1108.pdf

Gutiérrez Garza Estherla, Gonzáles Guadiano Édgar. 2010. De las teorías del desarrollo al desarrollo sustentable. Constucción de un enfoque multidisciplinario. Siglo XXI. México.

Guzmán, G.1998. La Diversidad Biológica en Iberoamérica. Acta Zoologica Mexicana, Instituto de Ecología, A.C., Xalapa, México.

Gülçin Ilhami. 2005. La actividad antioxidante del ácido cafeico (ácido 3-4-dihidroxicinámico). Toxicology Journal. 217:213-220

Häkkinen S. 2000. Flavonols and Phenolic Acids in Berries and Berry Products. University Printing Office Kuopio. Finland.

Hamzah Rabiat Unekwu, Jigam Ali Audu, Makun Hussaini Makun, Erwim Evans Chidi. 2014. Asian Pac J Trop Dis. 4: s153-s157

Harbone, J.B., 1973. Phytochemical Methods. Chapman and Hall, London.

Harrison, KA.1973.El GenusHericium en América del Norte.Michigan Botánico 12: 177-194.

Harrison Maria J. 2005. Signaling in the arbuscular mycorrihizal symbiosis. Annual Review of Microbiology. 59: 19-42

Helrich K.C. 1990. Official Methods of the AOAC. Association of official Analytical Chemists, USA.

Hurtado-Fernández Elena, Contreras-Gutiérrez Paulina K., Cuadros-Rodríguez Luis., Carrasco-Pancorbo Alegría, Fernández-Gutiérrez Alberto.2013.Merging a sensitive capillary electrophoresis-ultraviolet detection method with chemometric exploratory data analysis for the determination of phenolic acids and subsequent characterization of avocado fruit. Food Chemistry. 141: 3492-3503.

Inoue M, Suzuki R, Koide T, Sakaguchi N, Ogihara Y, Yabu Y. 1994 Antioxidant, gallic acid, induces apoptosis in HL-60RG cells. Biophys Res Commun.204: 898-904

Jong. S.C., Birmingham, J. M. 1992 Medicinal Benefits of the mushrooms Ganoderma.Adv. Appl. Microbiol.37: 101-34.

Kim, M.Y., P. Seguin, J.K. Ahn, J.J. Kim, S.C. Chun, E.H. Kim, S.H. Seo, E.Y. Kang, S.L. Kim, Y.J. Park, H.M. Ro , I.M. Chung. 2008. Phenolic compound concentration and antioxidant activities of edible and medicinal mushrooms from Korea. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56: 7265-7270.

Koleva Bojidarka B, Kolv Tsonko M, Spiteller Michael. 2008. Determination of cephalosporins in solid binary mixtures by polarized IR-and Raman Spectroscopy. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 48: 201-204.

Kosanić Marijana, Ranković Branislav, Dašic Marko. 2012. Mushrooms as posible antioxidant and antimicrobial agents. Iranian Journal of pharmaceutical Research. 11:1095-1102.

Kuschinsky, G., Lüllmann, H., Mohr, K., 1993. Positiv inotrop wirksame Substanzen. Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie, 13: 163–179.

Kyslychenko, V., U. Karpiuk, I. Diakonova, M. S., Abu-Darwish. 2010. Phenolic compounds and terpenes in the green parts of Glycine hispida. Advances in Environmental Biology. 4: 490-494.

Lastra Menéndez. 2001. Bosques naturales de Asturias. Universidad de Oviedo. Asturias,España.

Laessoe, T. 2005. Manual de Identificación de Hongos. Omega. Barcelona, España.

Ledesma Rocio. 2014. De vacunas y quesos a la Biotecnología. Conversus. 75. IPN, México.3.

Lee, I., B. H. Kang, J. K. Roh, J. R. Kim. 2008. Lack of carcinogenicity of lyophilized Agaricus blazei Murill in a F344 rat two year bioassay. Food and Chemical Toxicology 46: 87-95

Li Hua, Park Sol, Moon Bokyoung, Yoo Book-Young, Lee YOung-Wook, Lee Chan. 2012. Targeted phenolic analysis in *Hericium erinaceum* and its antioxidant activities. Food Sci. Biotechnol. 21: 881-888.

Li Wenlong, Qu Haibin. 2010. Rapid quantification of phenolic acids in RAdix Salvia Miltrorrhiza extract solutions by FT-NIR spectroscopy in

transflective mode.Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 52: 425-431

Liu Kun, Wang Junli, Zhao Le, Wang Qian. 2013.Anticancer, antioxidant and antibiotic activities of mushroom *Ramaria flava*. Food and chemical Toxicology. 58.375-380

Lock, O., Cabello, I., Doroteo H. V. 2006. Análisis de flavonoides en plantas, http://old.iupac.org/publications/cd/medicinal_chemistry/Practica-VI-6.pdf

Macheix, J, Fleuriet, A., 1998. Flavonoids in Health and Disease. Marcel Dekker Inc, New York. 839-868

Martín-Amor, A., Domínguez- Núñez J., López-Leiva C. 2011. Efectos de la inoculación del hongo de micorrización Tuber melanosporum y la rizobacteria Pseudomonas fluorescens en la calidad de la plántula de Pinus halapensis, Proyecto fin de carrera, Universidad Politécnica de Madrid, España, 1-161, http://oa.upm.es/6345/2/PFC_ANA_MARTIN_AMOR.pdf.

Martínez-Carrera, C., P. Morales, E. Pellicer-González, H, León, A. Aguilar, P. Ramírez, P. Ortega, A. Largo, M. Bonilla, M. Gómez. 2002. Studies on the traditional management and processing of matsutake mushrooms in Oaxaca, México. Micología Aplicada Internacional 14: 25-42

Martínez-Flores, J. González, J. Culebras, M. Tuñón. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición hospitalaria, 271-278.

Mau, J. L., H. C. Lin, C. C. Chen. 2002. Antioxidant properties of several medicinal mushrooms. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50: 6072-6077.

Miralles Bellver Lourdes. 2005. Agentes Medioambientales. Mad. S. L. Sevilla, España.

Miranda, C. 2003. Antioxidant Activities of flavonoids. Departament of Environmental and Molecular Toxicology Oregon State University, http://lpi.oregonstate.edu/f-w00/flavonoid.html

Morcillo M., Sánchez M. 2008. Cultivo de setas y desarrollo rural en Nicaragua. Barcelona, España: Micología forestal & aplicada.

Müller Emil y Wolfgang Loeffler.1976. Micología, manual para naturalistas y médicos. Omega, S.A. Barcelona

Naranjo-Jiménez, N., N. Almaraz-Abarca, J. Herrera-Corral, N. Uribe-Soto. 2008. Propuesta metodológica para el aprovechamiento de hongos silvestres comestibles en Durango. Memorias del VII Congreso Internacional, XIII Congreso Nacional, III Congreso Regional de Ciencias Ambientales Cd. Obregón, Sonora, México.

Nackz, M., Shahidi, F. 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence extraction and analysis. J. Pharmaceut. Biomed. Anl. 41: 1523-1542

Nowacka Natalia, Nowak Renata, Drozd Marta, Olech Marta, Los Anna Malm Renata. 2014. Analysisi of phenolic constituents, antiradical and antimicrobial activity of edible mushrooms growing wild in Poland. Food Science and Technology. http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.05.41

Ohno Y, Fukuda K, Takemura G, Toyota M, Watanabe M, Yasuda N.1999. Induction of apoptosis by gallic acid in lung cancer cells. Anticancer Drugs.10: 845–851.

Oyaizu, M., 1986. Studies on product of browing reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. Japanese Journal of Nutrition. 44. 307-315.

Ozen, T., Darcan, C., Aktop, O., Turkekul, I. 2011. Screening of antioxidant, antimicrobial activities and chemical contents of edible mushrooms wildly grown in the Black Sea region of Turkey. Comb Chem High Throughput Screen.14. 72-84.

Padmaja M., Sravanthi M Hemalatha K.P.J.2011. Evaluation of two Indian Medicinal Plants. Journal of Phytology.3: 86-91.

Palacios, M. Lozano, C. Moro, M.D. Arrigo, M.A. Rostagno, J.A. Martinez. 2011. Antidant properti of phenolic compounds ocurring in edible mushrooms. Journal Food Chemistry, 674-678.

Poulos, H.M. y. Camp, A.E. 2005.Vegetation-Environment Relations of the Chisos Mountains, Big Bend National Park, Texas USDA Forest Service Proceedings RMRS-P-36. 6pp.

Prasad, N.K., S. Divakar, G.R. Shivamurthy, S. M. Aradhya. 2005. Isolation of a free radical scavenging antioxidant from water spinach (Ipomoea aquatica Forsk). Journal of the Science of Food and Agriculture. 85: 1461-1468

Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of Vitamin E. Analytical Biochemistry 269: 337- 341.

Prior, R., Wu, x., Schaich K. 2005. Standardized Methods for Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods an Dietary Supplements.Journal of Agriculture and Food Chemistry 53: 4290-4302.

Puttaraju, S. U. Venkateshaiah, S. M. Dharmesh, S. M. N., R. Somasundaram. 2006. Antioxidant activity of indigenous edible mushrooms. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 54:9764–9772.

Raven P. 1995. What is biological diversity and why is importan to us? Environmental Review 2,http://www.environmentalreview.org/archives/vol 02/raven.html.

Rivero Rosales, A., J. R. Betancort Rodríguez. 2006. Evaluación de la actividad antioxidante de polifenoles de algas marinas. www.iupac.org/publications/cd/medcinal_chemistry/

Rice-Evans, C.A. 2000. Measurement of total antioxidant capacity, J. Clin. Pathol., 54: 339-339.

Rogerson, C.T., Samuels, G.J.1994. Agaricicolous Species of Hypomyces. Mycologia 86: 839-866.

Royse, D. J., B. May. 2003. Multilocus enzyme electrophoresis for the genetic analysis of edible mushrooms. In: Genetics and breeding of edible mushrooms (Eds. Chang, S. T., J. A. Buswell, P. G. Miles). Gordon and Breach Science Publishers. The Netherlands, pp. 225-248

Schreiner, S. Huyskens-Keil, Phytochemicals inf ruit and vegetables: health promotion and posthaverst elicitors, Crit. Rev. Plant Sci. 25: 267-278

Siddhuraju, P., K. Becker. 2003. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (Moringa oleifera Lam.). Journal of Agricultural and Food Chemistry 51: 2144-2155.

Silva Ana Carolina , Neuza Jorge. 2011. Antioxidant properties of *Lentinus edodes* and *Agaricus blazei* extracts. Journal of Food Quality 34: 386-394.

Singleton, V. L., Rossi, J. A. J. 1965. Colorimetric of total phenolics with phosphomolybdic- phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture.16.114-158.

Smith, AH., Thiers, HD. 1971.El Boletes de Michigan. University of Michigan Press: Ann Arbor, MI.426

Smith SE., Read DJ. 1997. Mycorrhizal simbiosis. 2nd ed. Longon: Academic Press.

Stich HF, Rosin M.,P., Brison L. 1982. Inhibition of mutagenicity of a model nitrosation reaction by naturally occurring phenolics, coffee and tea. Mutat Res. 95: 119-28.

Szymanska-Chargot M., Chylinska M. Kruk B. A. Zdunek. 2015. Combining FT-IR spectroscopy and multivariate analysis for qualitative and quantitative analysis of the cell wall composition changes during apples development. Carbohydrate Polymers. 115: 93-103.

Taiz, L., Zeiger, E. 2006. Fisiología vegetal, Universitat Jaume, Castellón de la Plana, España.

Tee Susanna. 2006. Setas, identificación y recoleción. ISBN 140547806. Parragón.

Tovar, V. J. A. 2001. Qué tan diversos son los hongos. Memorias del IV Congreso Mexicano de Etnobiología. Asociación Etnobiológica Mexicana (AEM). México.

Turner, A. 1952. Absorptiometric method for determination of rutin in buckwheat leaf meal and other plant materials. Analytical Chemistry, 24, 606.

Valdéz Ramirez María. 2014. Importancia ecológica de los árboles. Conversus. 75. IPN. México. 8-9.

Vaz A. Josiana, Barros Lillian, Martins Anabela, Santos-Buelga Celestino, Vasconcelos M. Helena, Ferreira C.F.R. Isabel. 2011. Chemical composition of wild edible mushrooms and antioxidant properties of their water soluble polysaccharidic and ethanolic fractions.Food Chemistry.126:610-616

Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L, Oomah, B. D. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits vegeetalbes and grain. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 46: 413-417.

Wang, B., Qiu Y.L.2006. «Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants.Springer,16:299-366.

Wilkinson, R. E., Kaspearbaue, M. J. 1977. Epiculticular alkane content of tocacco as influence by phtoperiod, temperatura and leaf age. Phytochemistry 11:2439-2442.

Woldegiorgis Ashagrie Z., Abate Dawit, Haki Gulelat D., Ziegler Gregory R. 2014. Antioxidant property of edible mushrooms collected from Ethiopia.Food Chemistry. 157:30-36.

Zamora-Martínez, M.C. 1994. Guía tecnológica para la recolecta y propagación del hongo blanco de ocote (*Tricholoma magnivelare (*Peck) Redhead (hongo blanco de ocote). Guía tecnológica No. 3 SARH/INIFAP. México, D.F. 28p

Zamora-Martínez, M. C. 1999. Hongos comestibles de México. Memorias del Ciclo de Conferencias “La investigación y la educación forestal en México”.SEMARNAT, México, http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/InfJ064.pdf

Zamora M., M. C., Nieto de Pascual P., C. 2004. Studies of Tricholoma magnivelare in Mexico. Micología Aplicada Internacional 1 (16): pp 13-23.

Zhongbing L, Guangjun N, Peter S, Belton C, Huiru T. 2006. Structure–activity relationship analysis of antioxidant ability and neuroprotective effect of gallic acid derivatives, Neurochemistry International.48: 263–274

ANEXO 1

Especies de HSC colectados del Salto, Pueblo Nuevo, Durango, donde se indican las coordenadas geográficas de su localización.

Cuadro 11. Ubicación de las especies de HSC colectadas

Sitio de colecta	Especies	Latitud	Altitud
Cebollas	*B. edulis*	23° 37' 53"	105° 24' 64"
	A. caesarea		
Los Bancos	*H. lactiflourum*	23°39' 16"	105° 44' 15"
Buenos Aires	*R. flava*	23° 42' 5"	105°43' 45"
	B. edulis		
	A. caesarea		
	H. lactiflourum		
	S. crispa		
	L. perlatum		
La Campana	*A. caesarea* *T. magnivelare*	23° 45' 11"	105° 31' 09"
	B. edulis		
	R. flava		
	L. perlatum		
Estación Los Coyotes	*H. lactiflourum*	23° 52' 21.4 "	105° 18' 63"
La Herradura	*H. erinaceus*	23° 75' 28"	105° 34' 75"
	B. edulis		

ANEXO 2

Se muestran los estándares, su tiempo de retención que fue utilizado para determinar los compuestos fenólicos de los HSC, por electroforesis capilar.

Cuadro 12. Estándares y su tiempo de retención usando EC

Clave	Estándares	Tiempo de retención (min)
1	Ac. cafeico	5.1
2	Ac. cinámico	5.6
3	Pirogalol	5.8
4	Ac. ferúlico	6.6
5	Ac. clorogenico	8.4
6	Ac. gálico	14
7	Ac. homogentisico	4.8

ANEXO 3

A continuación se presentan los electroferogramas de los compuestos fenólicos con el número de clave correspondiente (Anexo 2) determinados en los HSC.

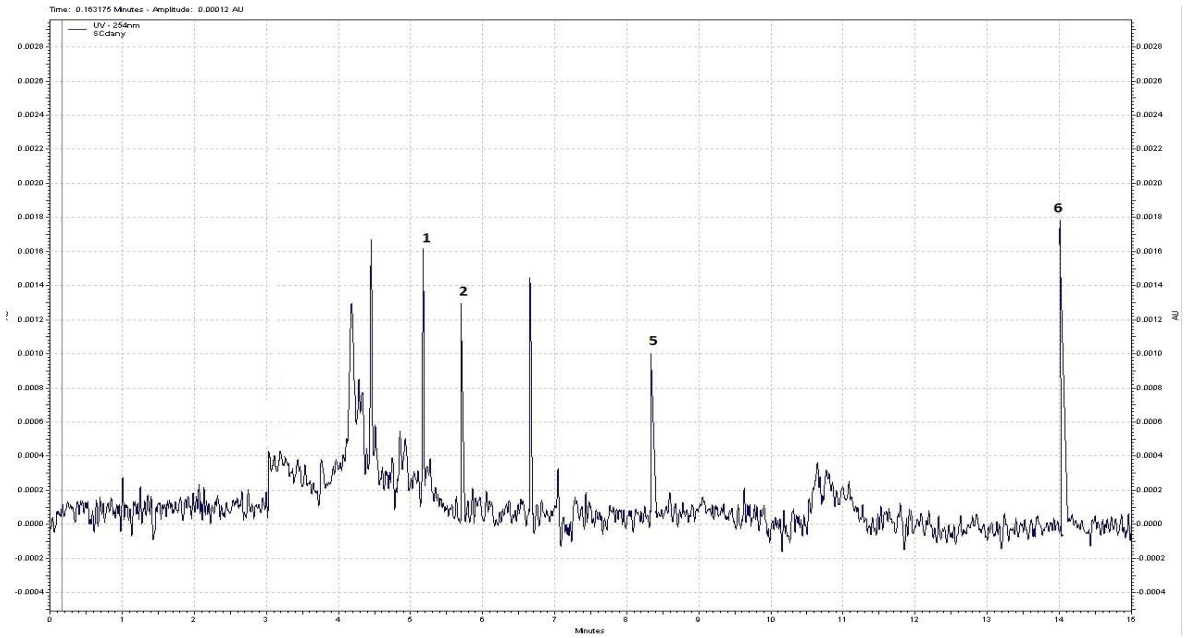

Figura 20. Electroferograma de compuestos fenólicos en *A.caesarea*

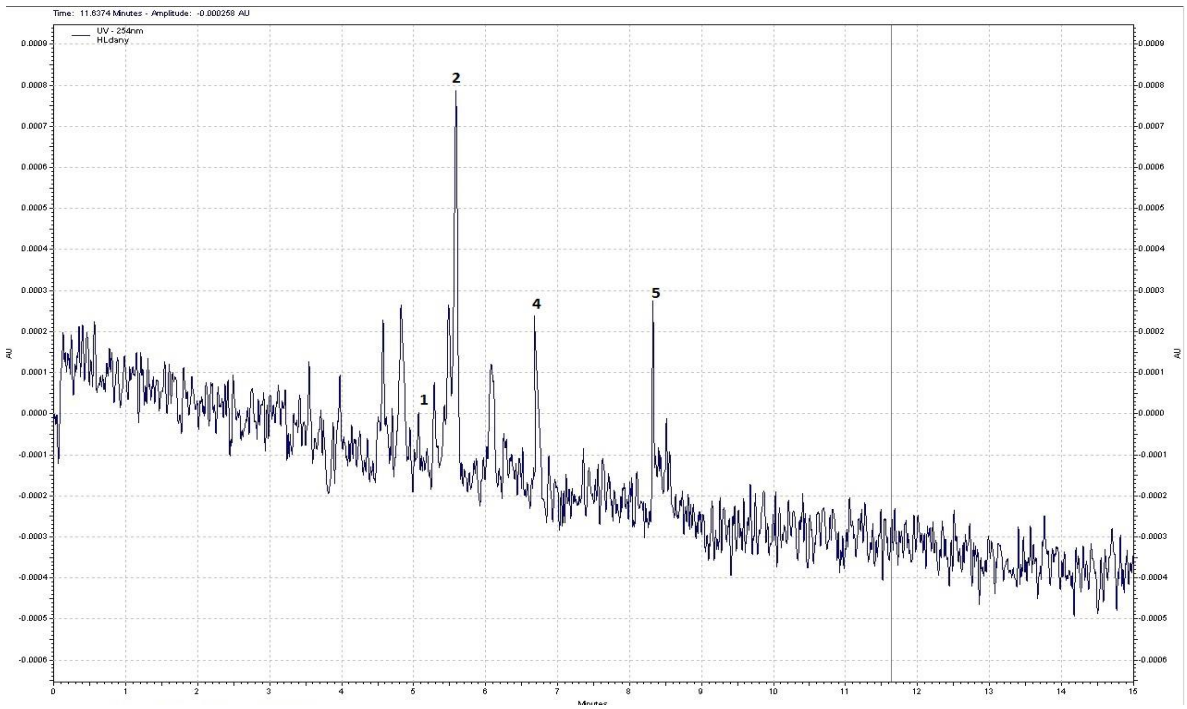

Figura 21. Electroferograma de compuestos fenólicos en *H. lactiflourum* por EC

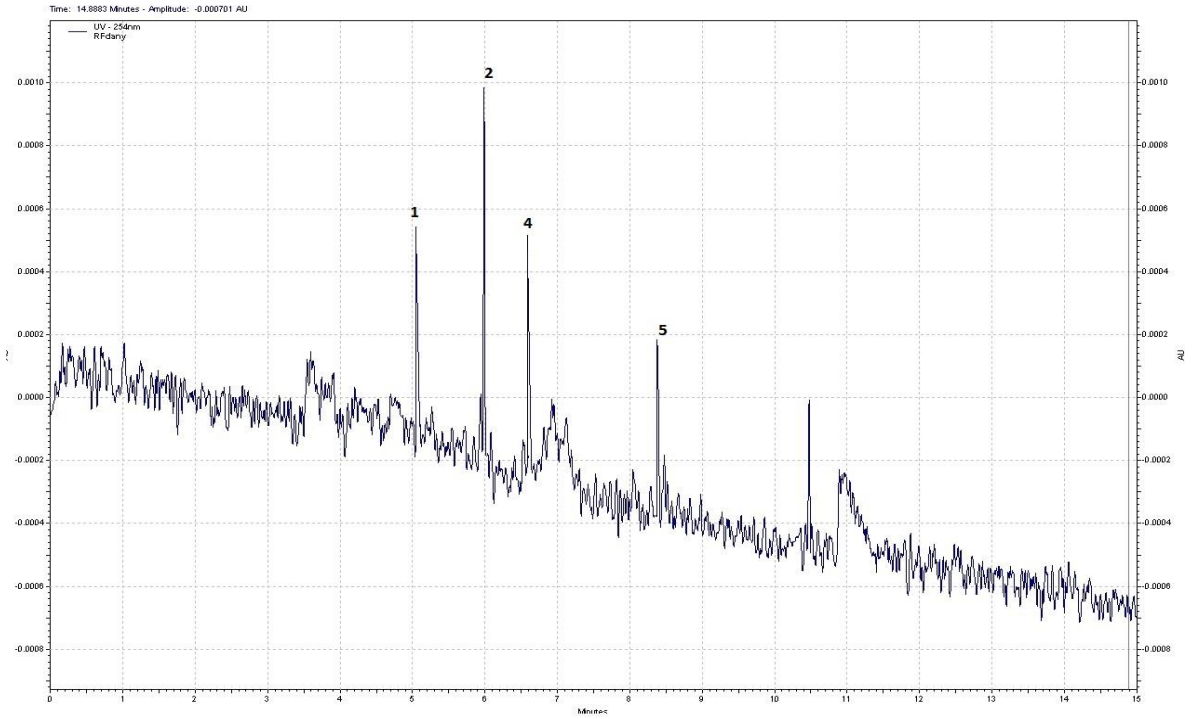

Figura 22. Electroferograma de compuestos fenólicos en *R. flava*

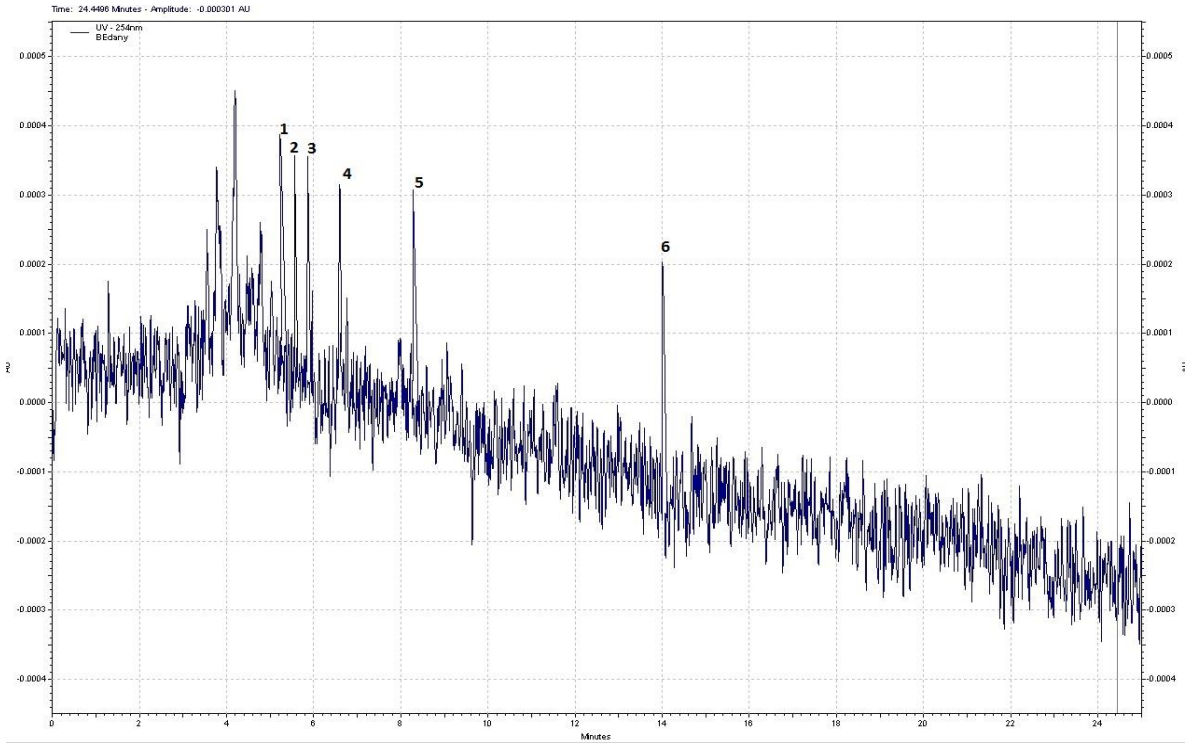

Figura 23. Electroferograma de compuestos fenólicos en *B. edulis*

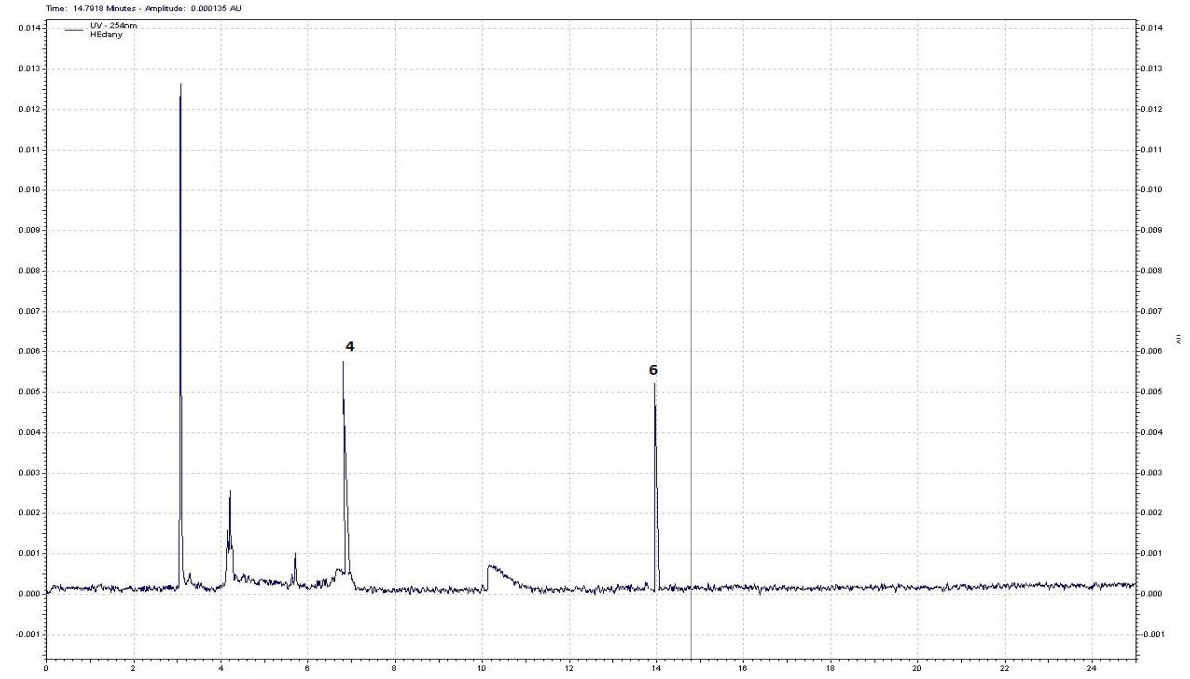

Figura 24. Electroferograma de compuestos fenólicos en *H. erinaceus*

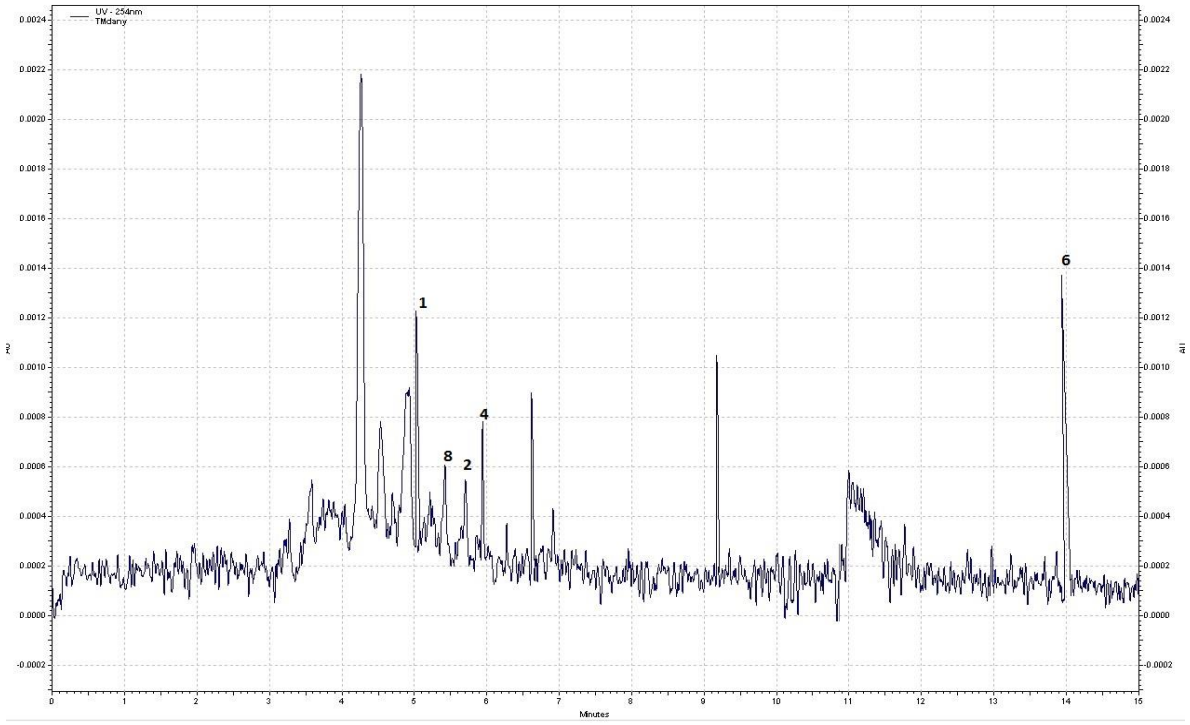

Figura 25. Electroferograma de compuestos fenólicos en *T. magnivelare*

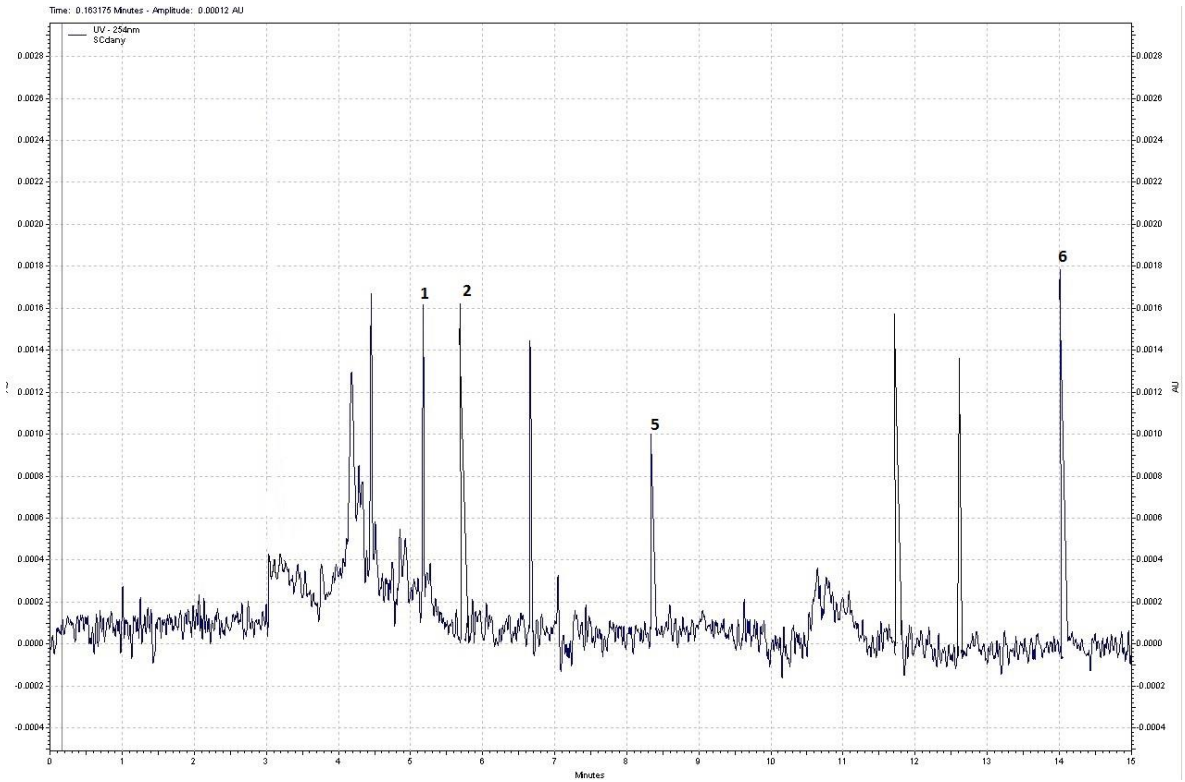

Figura 26. Electroferograma de compuestos fenólicos en *S. crispa*

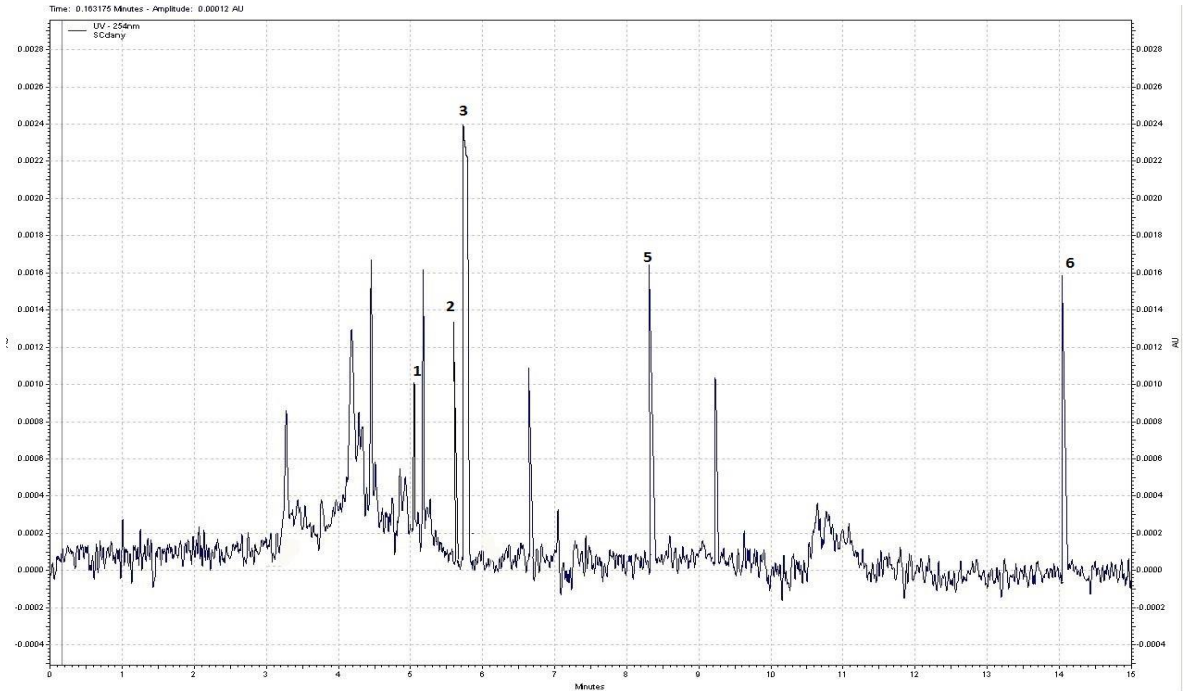

Figura 27. Electroferograma de compuestos fenólicos en *L. perlatum*

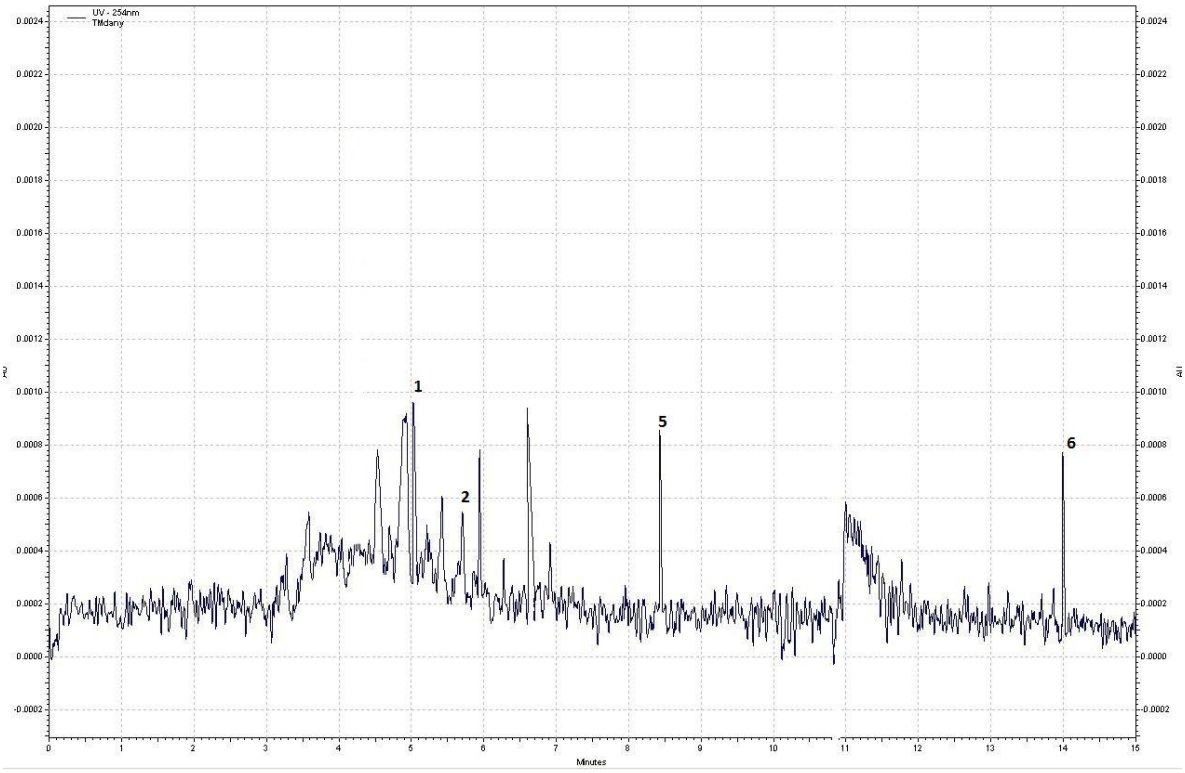

Figura 28. Electroferograma de compuestos fenólicos en *L. edodes*

ANEXO 4

En el cuadro 13 se muestran los estándares, su tiempo de retención y su peso molecular que fue utilizado para determinar los compuestos fenólicos de los HSC. Se asigna una clave a cada estándar, que es útil en el anexo 5.

Cuadro 13. Características de los estándares usados para HPLC/MS

Clave	Estándares	Tiempo de retención (min)	Masa g/mol
1	Ac. gálico	10.036	170
2	Ac. ferúlico	63.42	194
3	Ac. clorogénico	40.35	353
4	Ac. cinámico	58.34	148
5	Ac. homogentisico	19	168
6	Ac. cafeico	48	180
7	Pirogalol	13.057	126

ANEXO 5

A continuación se presentan los cromatogramas de los compuestos fenólicos con el número de clave correspondiente (Anexo 4) determinados en los HSC.

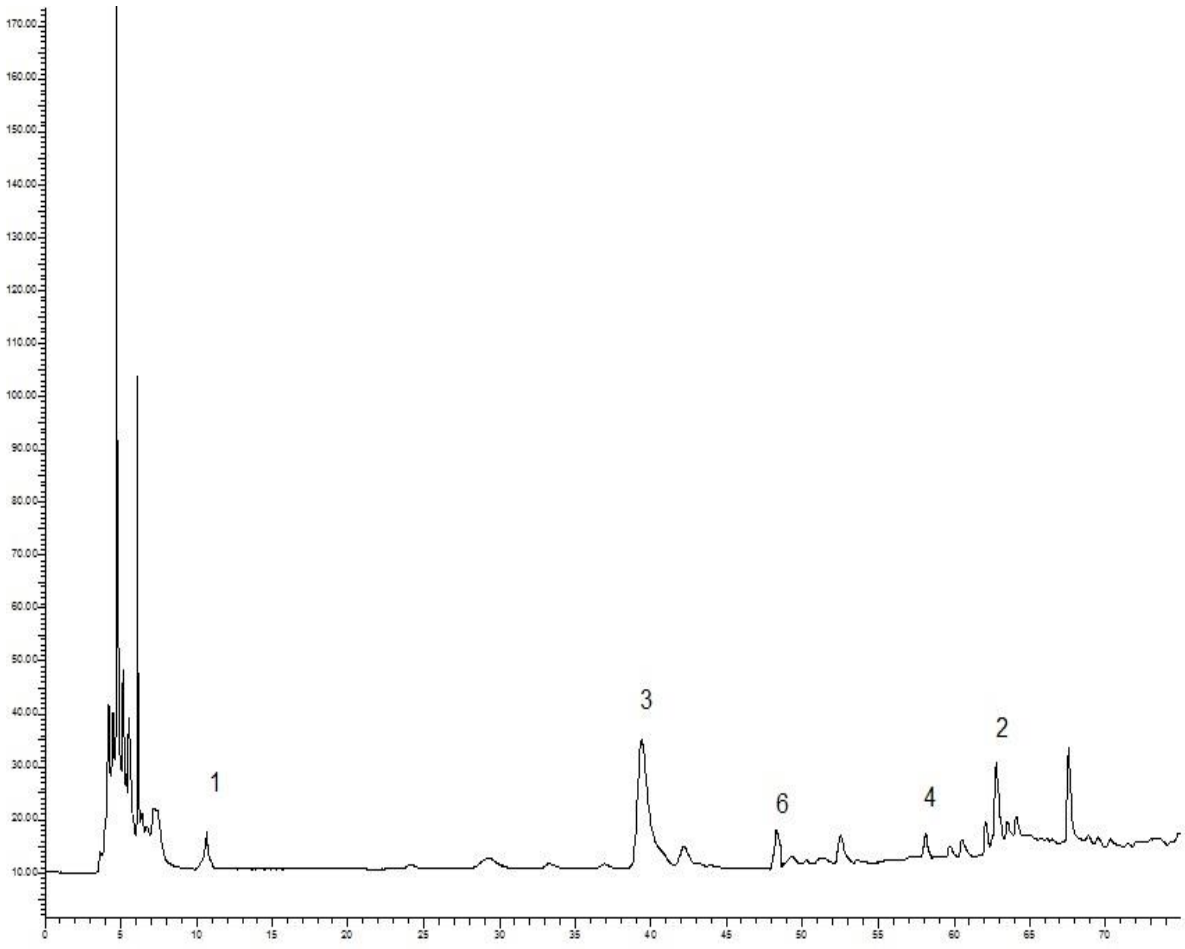

Figura 29. Cromatograma de compuestos fenólicos en *A. caesarea.*

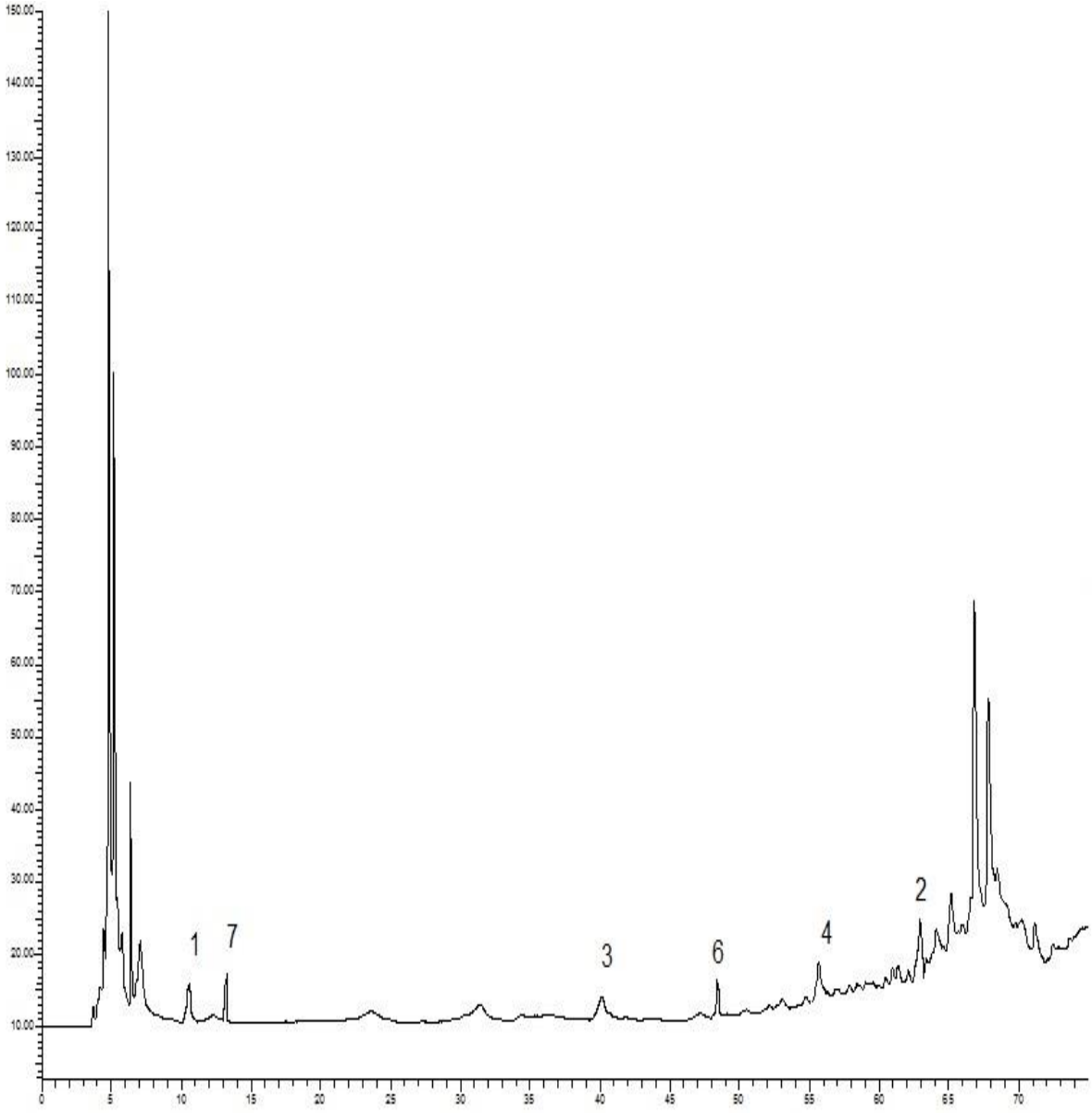

Figura 30. Cromatograma de compuestos fenólicos en *H. lactiflourum.*

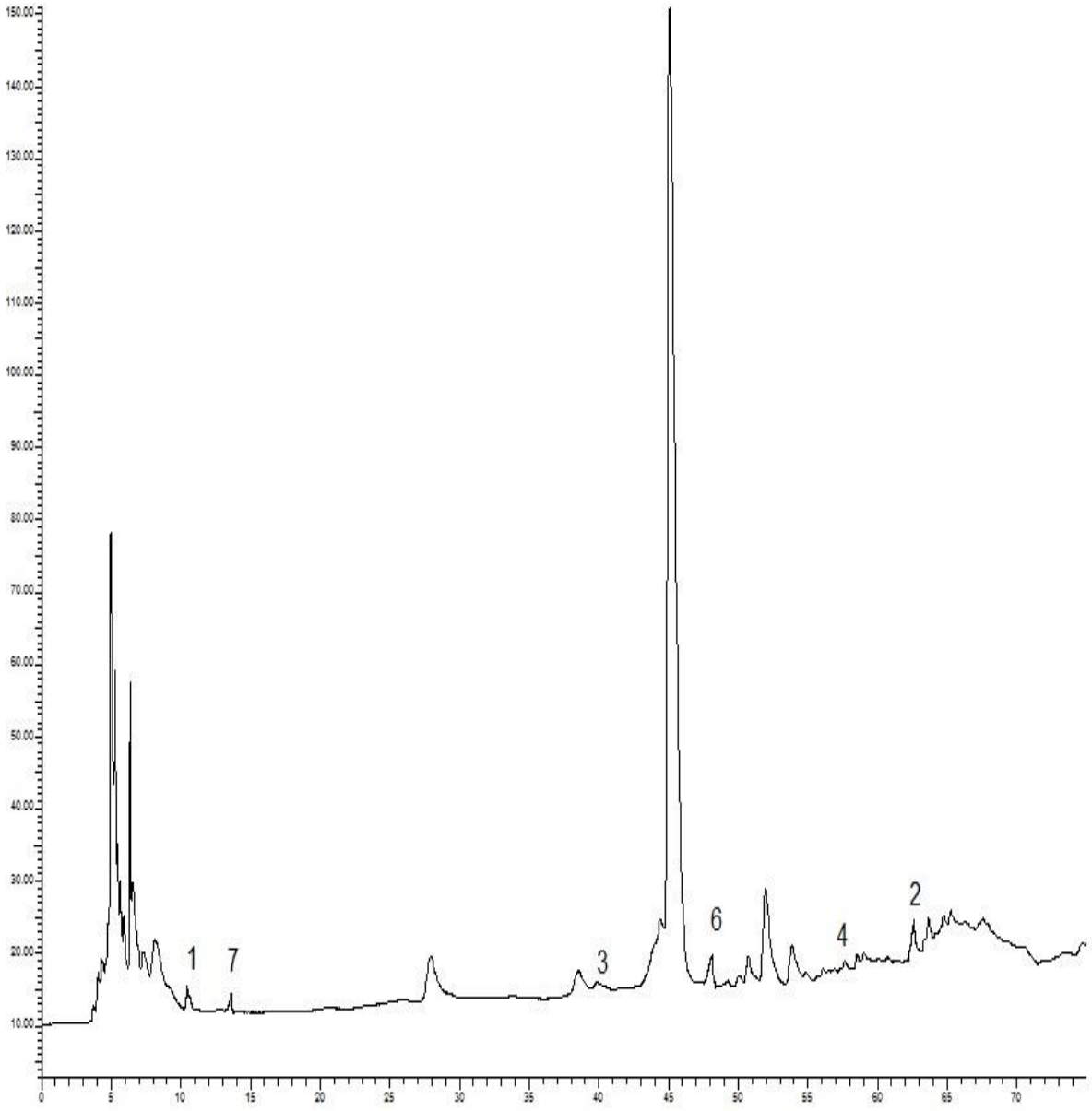

Figura 31. Cromatograma de compuestos fenólicos en *R. flava.*

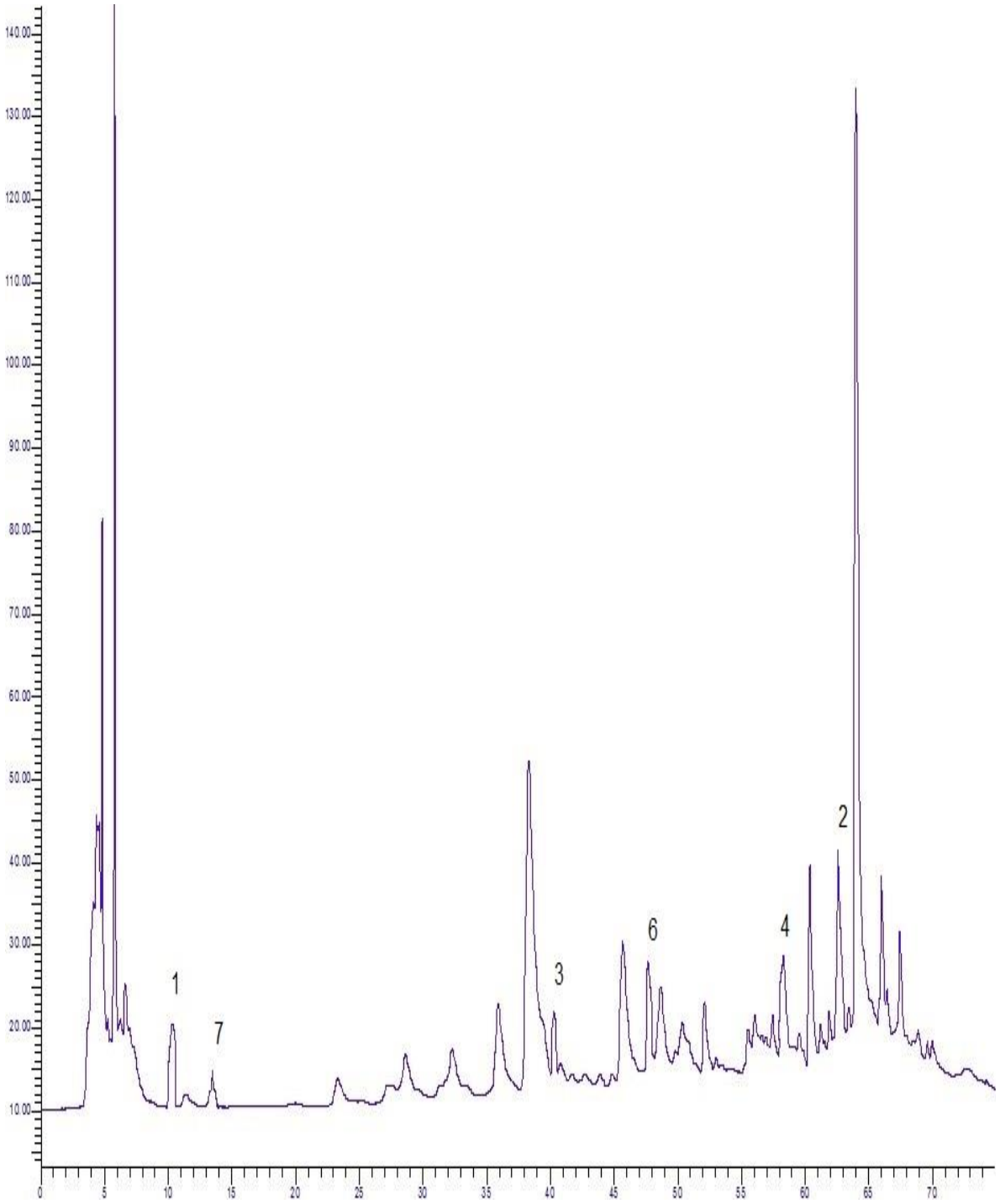

Figura 32. Cromatograma de compuestos fenólicos en *B. edulis.*

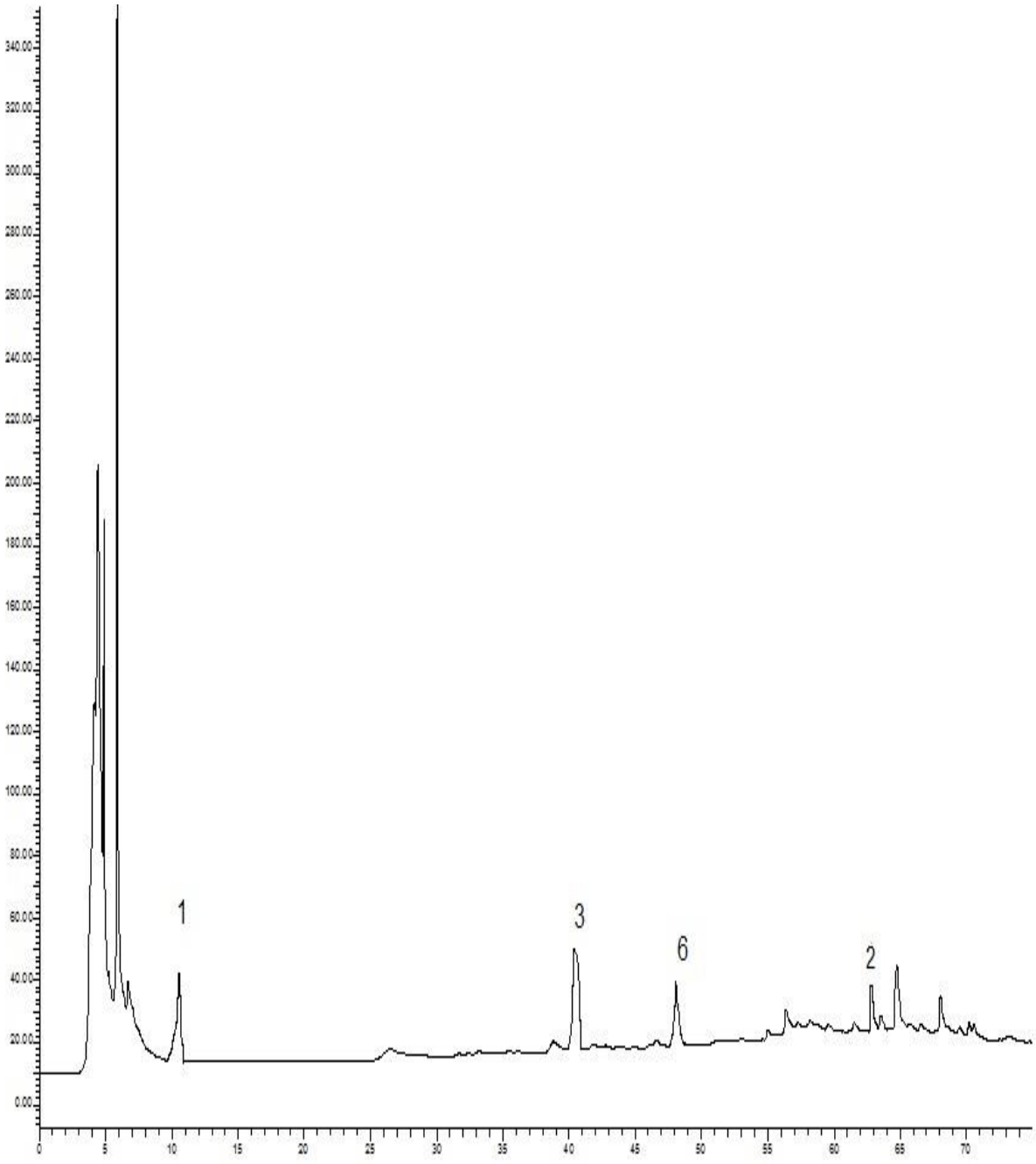

Figura 33. Cromatograma de compuestos fenólicos en *H. erinaceus*

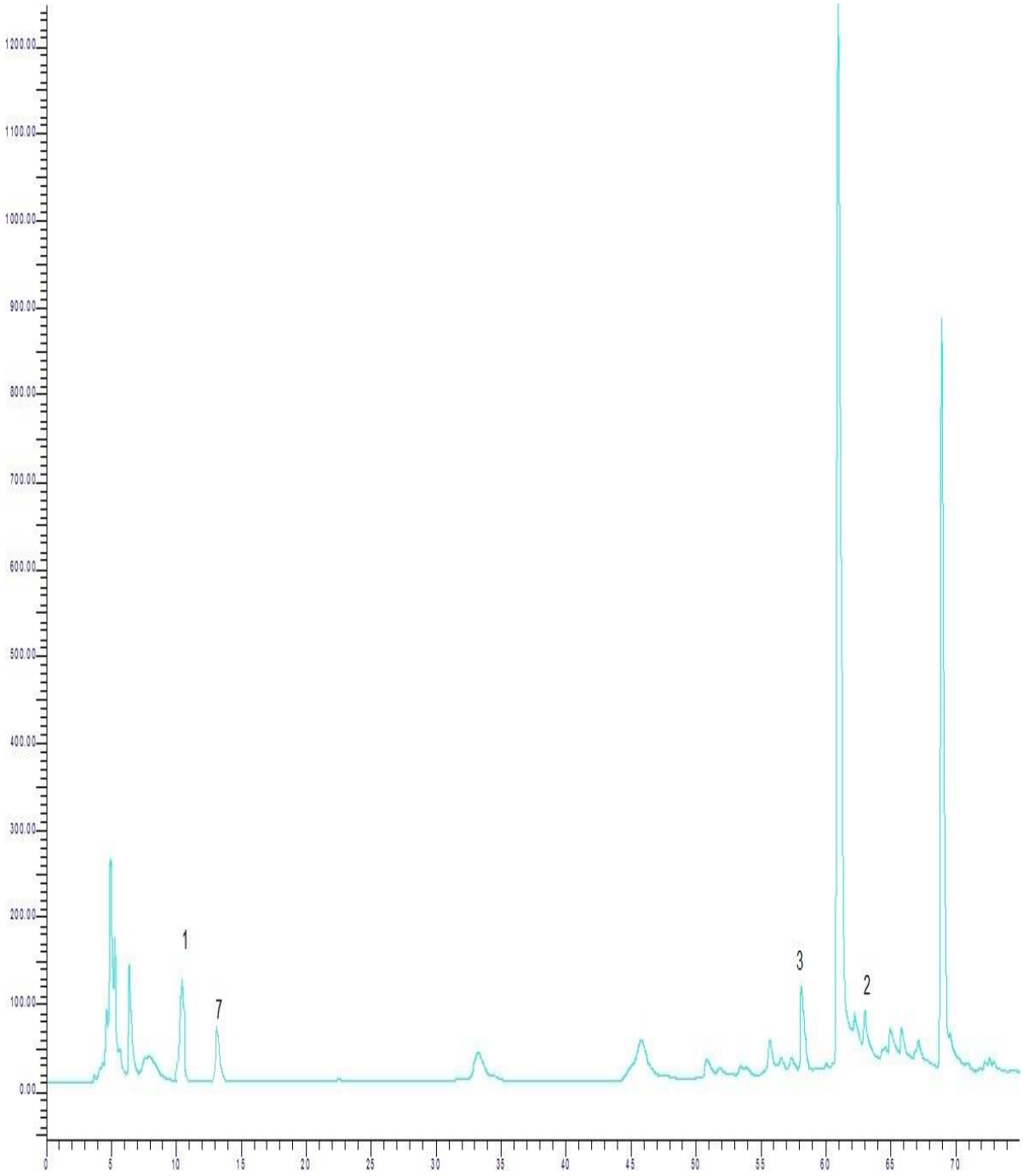

Figura 34. Cromatograma de compuestos fenólicos en *T. magnivelare.*

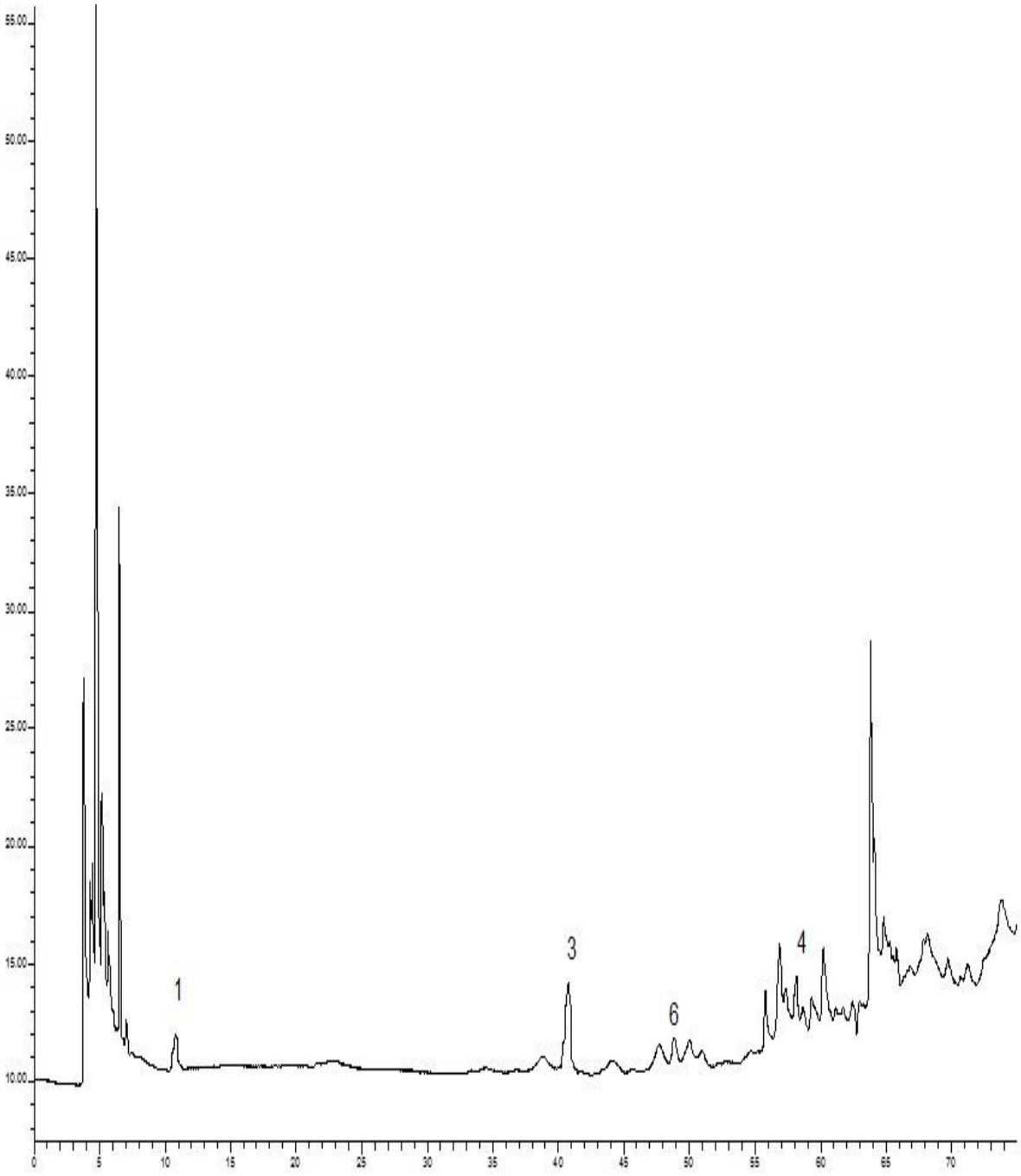

Figura 35. Cromatograma de compuestos fenólicos en *S. crispa.*

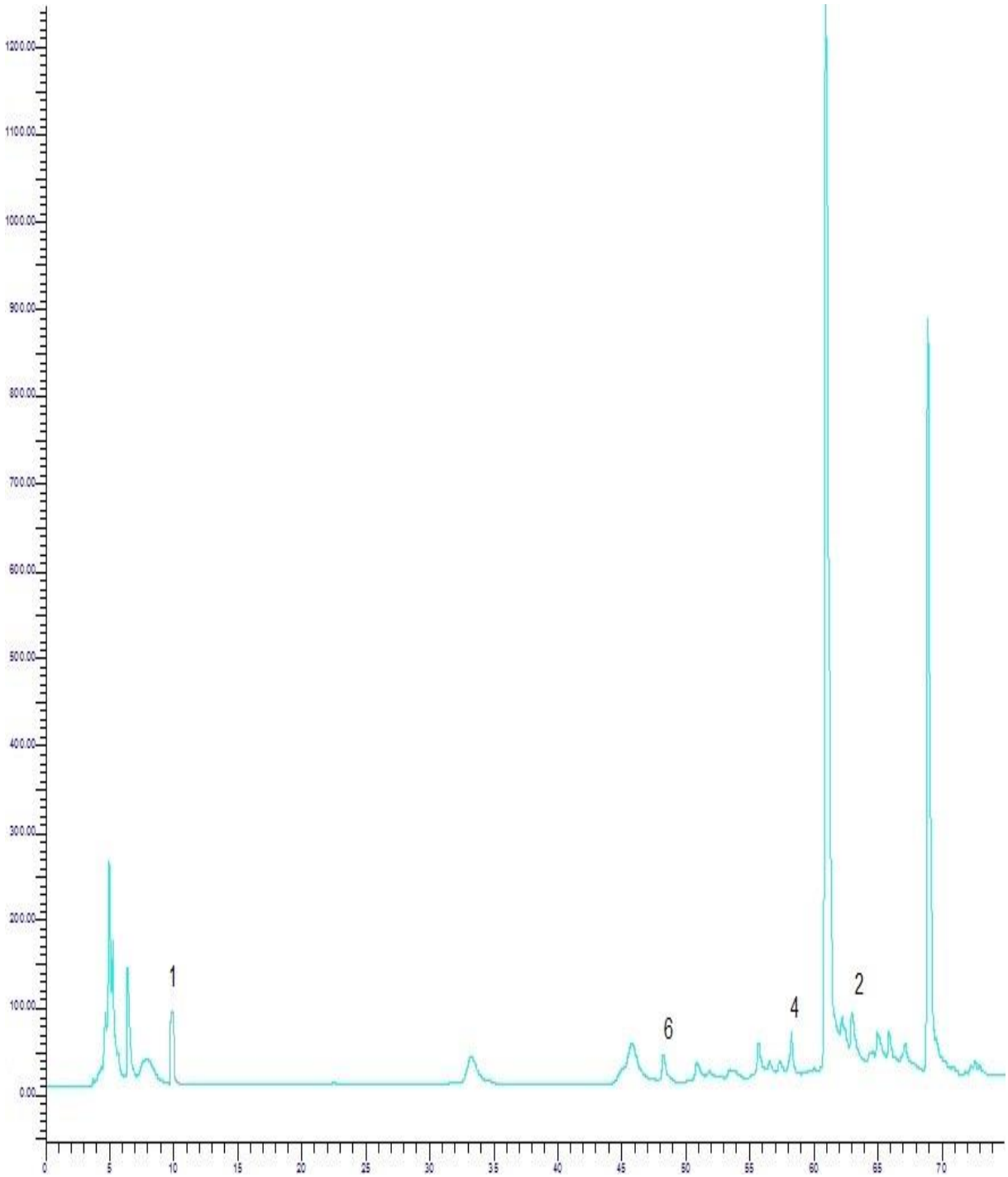

Figura 36. Cromatograma de compuestos fenólicos en *L. perlatum*

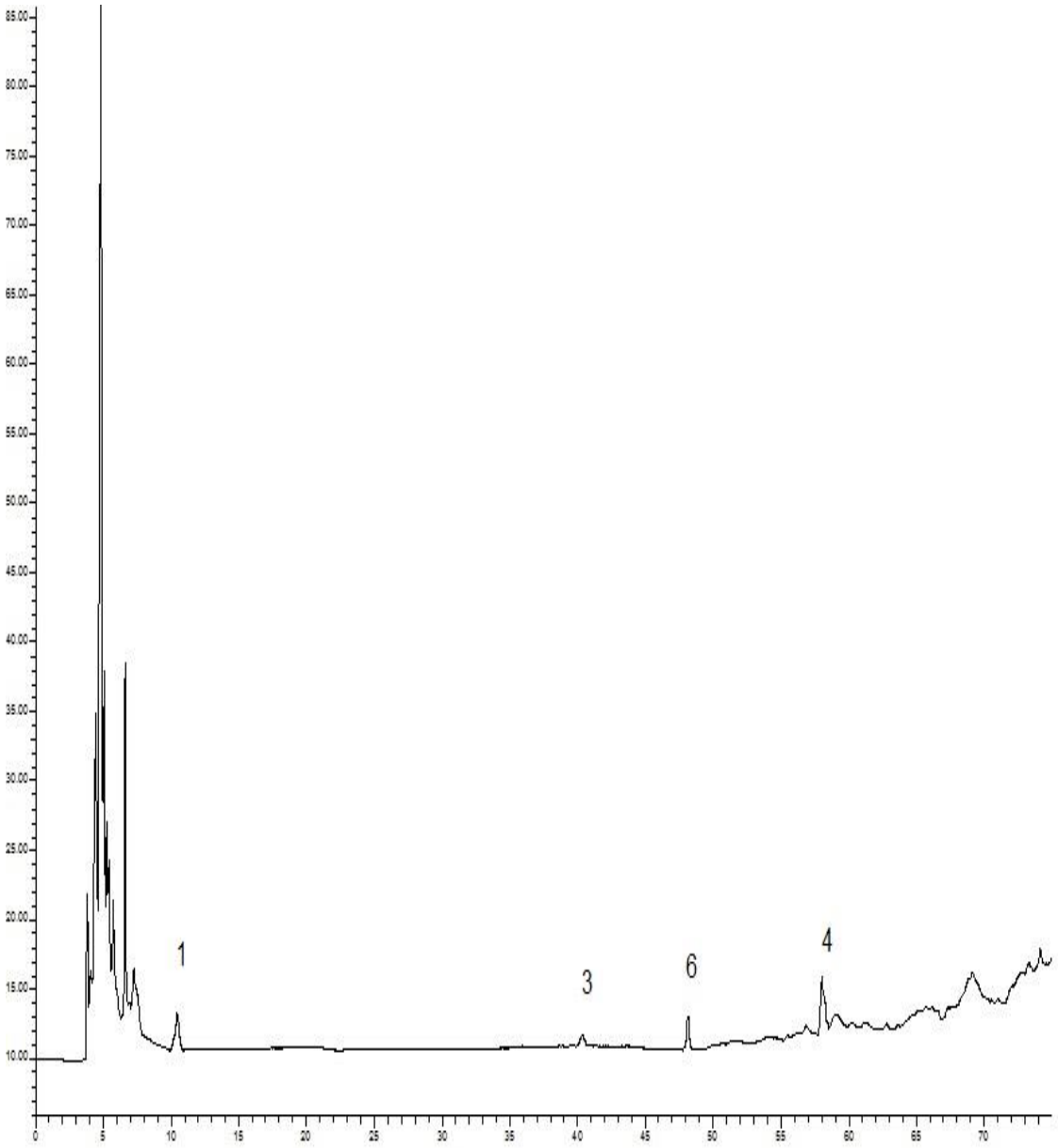

Figura 37. Cromatograma de compuestos fenólicos en *L. edodes*