

Bidegain, Maximiliano Andrés; Postemsky, Pablo Daniel; González Matute, Ramiro; Figlas, Norma Débora; Devalis, Ricardo; Delmastro, Silvia; Pereyra Huertas, Carolina; Curvetto, Néstor; Cubitto, María Amelia.

OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DEL HONGO MEDICINAL REISHI (GANODERMA LUCIDUM) PARA EL DESARROLLO DE NUTRACÉUTICOS Y FITOTERÁPICOS

Nombre de la revista

2014, pp. 1-10

Bidegain, M., Postemsky, P., González Matute, R., Figlas D., Devalis, R., Delmastro S., Pereyra Huertas, C., Curvetto N., Cubitto, M.A. (2014). Optimización de la producción del hongo medicinal Reishi (Ganoderma lucidum) para el desarrollo de nutraceuticos y fitoterápicos. En RIDCA. Disponible en: <https://repositoriodigital.uns.edu.ar/handle/123456789/6509>



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons
Reconocimiento-NoComercial-Sin Derivados 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0)
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Optimización de la producción del hongo medicinal Reishi (*Ganoderma lucidum*) para el desarrollo de nutraceuticos y fitoterápicos

Bidegain M.; Postemsky P.; González Matute R.; Figlas D.; Devalis R.; Delmastro S.;
Pereyra Huertas C.; Curvetto N.; Cubitto MA¹.

Laboratorio de Biotecnología de Hongos Comestibles y Medicinales
Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS, CONICET-
Universidad Nacional del Sur)
Bahía Blanca

Resumen

En los últimos años, el mercado de los nutra y nutricéuticos ha tenido un marcado crecimiento, sobre todo a partir de la toma de conciencia de los consumidores de la eficacia de los mismos en la prevención y tratamiento de enfermedades. *Ganoderma lucidum* es un *Basidiomycete* conocido desde hace 2.000 años por sus propiedades medicinales. Este hongo produce numerosos compuestos bioactivos, que han sido extensamente estudiados y aplicados en la elaboración de alimentos funcionales, suplementos dietarios y fitoterápicos. Actualmente, la producción mundial de este hongo es aproximadamente de 6.000 toneladas y las últimas estimaciones disponibles colocan el valor anual de los productos de *G. lucidum* en más de US\$ 2.500 millones. Sin embargo, en Argentina no existe producción industrial, comercialización, ni desarrollo de productos a base de Reishi. Este hongo puede ser cultivado en sustratos sólidos sintéticos formulados a base de diferentes residuos agro-industriales. Usualmente, su cultivo produce rendimientos menores comparado con otros hongos comestibles cultivables. Los altos costos asociados a su producción y su alto valor en el mercado hacen que cualquier mejora en los rendimientos redunde en un beneficio económico. En el marco de un proyecto PICT modalidad Start Up, fue posible trasladar los resultados de varios años de investigación a una escala piloto de producción, a fin de considerar la generación de una empresa de base tecnológica para el cultivo ecológico y normalizado del hongo Reishi. Este desarrollo continúa en el manejo post-cosecha, para la

¹ mcubitto@criba.edu.ar

obtención de productos a partir del fruto seco del hongo para uso como fitoterápico o bien como suplemento dietario. La selección del sustrato, de los aditivos y el manejo de las condiciones de cultivo, resultaron estrategias eficientes para aumentar los rendimientos de la producción. Se ha desarrollado una tecnología de bajo costo de producción de *Glucidum* utilizando como sustrato base cáscara de girasol, un residuo abundante de la industria aceitera. Se ha logrado incrementar los rendimientos en un 43% y acortar significativamente el tiempo de producción, con respecto a los datos reportados por otros autores, sin afectar la obtención de los principios activos. El manejo optimizado de la tecnología de producción de *Glucidum* permitirá obtener mejores precios y asegurar calidad, cantidad y continuidad en el suministro; por lo cual es factible su transferencia al ámbito productivo.

Palabras claves: hongo Reishi, optimización, cáscara de girasol

1. Introducción

Las nuevas tendencias en la alimentación indican una preferencia de los consumidores hacia productos naturales que, además de nutrición, aporten beneficios a la salud. Desde la antigüedad los hongos han sido usados por su alto valor nutritivo y sus propiedades benéficas para la salud. Muchos hongos comestibles ya tienen una gran aceptación por los consumidores occidentales, quienes los consideran un alimento nutritivo y saludable. En el área de la fitoterapia, actualmente son los hongos los que aportan a la industria farmacéutica una nueva fuente de salud, visualizándose como las drogas del futuro, por lo que es válido pensar que el consumo de estos productos tenderá a incrementarse en los próximos años. Los productos naturales para la salud a base de hongos constituyen un comercio millonario y en particular, en el caso del Reishi, supera holgadamente los US\$ 2.500 millones al año

Ganoderma lucidum (Curt.:Fr.)P. Karst es un Basidiomycete de la familia *Ganodermataceae*, reconocido por sus múltiples propiedades beneficiosas para la salud por muchos siglos en China, Japón y Corea (Wasser, 2005) donde se lo conoce como el hongo de la longevidad o inmortalidad. Sus nombres comunes son Reishi y Lingzhi (hierba celestial). Este hongo posee numerosos componentes activos entre los que podemos mencionar, adenosina, proteínas, vitaminas, fenoles, oligoelementos, polisacáridos y triterpenoides. En particular, polisacáridos y triterpenoides, son fracciones intensamente estudiadas por sus propiedades como antioxidante, inmunoestimulante, antitumoral, hepatoprotectora, hipoglucemiante, hipocolesterolemia, entre otras (Batra et al., 2013; Russell and Paterson, 2006; Sanodiya et al., 2009; Sliva, 2003).

El hongo Reishi se puede consumir seco en polvo, o pueden obtenerse extractos ricos en productos activos para el desarrollo de fitoterápicos, nutraceuticos y alimentos funcionales. En los Estados Unidos la comercialización de productos a base de hongo Reishi está regulado por la Ley de Salud de Suplementos Dietéticos y Educación de 1994 (DSHEA, siglas en Inglés) como un producto que está destinado a complementar la dieta. Además, *G. lucidum* ha sido recientemente incluido en el listado de la “American Herbal Pharmacopoeia and Therapeutic Compendium”. En la Comunidad Europea el hongo Reishi es considerado un alimento o ingrediente alimentario. Sin embargo, no existen reglamentos específicos que regulen a los preparados nutraceuticos (McAlister et al.,

2012). En China, *G. lucidum* es utilizado ancestralmente como parte de la Medicina Tradicional China y está incluido en la Farmacopea de la República Popular China. En Japón, el hongo Reishi está reconocido como un “alimento con usos específicos en salud” (Tanaka et al. ,2004).

En la naturaleza, la reproducción sexual mediante esporas conduce a una minúscula proporción de nuevos hongos. Sin la ayuda del conocimiento científico y la tecnología, la producción a niveles significativos no sería factible, siendo la optimización de su cultivo un avance clave para la oferta. A pesar de ello, el cultivo de Reishi posee una productividad menor comparado con otros hongos comestibles cultivables y un costo importante de producción. Debido a que en Argentina no existe producción industrial, ni desarrollo de productos a base de Reishi, es que su valor en el mercado supera a cualquier otro hongo cultivable, se justifica la necesidad de generar un proceso de producción adaptado a contextos locales que permitan optimizar los rendimientos para generar una actividad rentable.

El grupo del Laboratorio de Biotecnología de Hongos Comestibles y Medicinales (LBHCyM) del CERZOS (CONICET - Universidad Nacional del Sur) ha desarrollado un protocolo para cultivar y optimizar los rendimientos de *G. lucidum*, con una tecnología de bajo costo y amigable con el ambiente, a partir de la cáscara de girasol, residuo abundante de la industria aceitera local. También se ha desarrollado una tecnología de de contaminación del sustrato efectiva y económica. Gracias al aporte del Ministerio de Ciencia y Tecnología de la Nación (proyecto modalidad start up-PICT 2010-0271), ha sido posible la implementación de una nave de cultivo de hongos a escala piloto, equipada con sala de producción de sustrato e inoculación, sala de corrida de micelio y sala de fructificación, equipada con un sistema de monitoreo y control ambiental automático. Este proyecto surge a partir del desarrollo del propio conocimiento sobre la tecnología de cultivo ecológico de hongos en cáscara de semilla de girasol (patente en trámite, AR036088 A1). El objetivo de este proyecto ha sido trasladar los resultados de varios años de investigación a una escala piloto de producción de *G. lucidum*, utilizando como sustrato un residuo agroindustrial local y obtener extractos de compuestos bioactivos, factibles de incorporar a alimentos o al desarrollo de fitoterápicos, para ser transferidos al ámbito de la producción.

2. Metodología

2.1. Cultivo por fermentación en estado sólido

El inóculo, blanco de hongo o spawn de la cepa *Ganoderma lucidum* E47 fue obtenido de acuerdo con lo descrito por Curvetto et al. (2004), con estricto cumplimiento de la técnica aséptica. El sustrato constituido principalmente por cáscara de girasol (patente en trámite, AR036088 A1) y enriquecido con minerales y aceites vegetales, fue pasteurizado en tambores rotatorios a 80°C durante 3 h (Curvetto et al. 2004). El sustrato se inoculó con 5% (p/p) de spawn. Se llenaron bolsas de polietileno (40 x 13 cm) con 900 g de sustrato inoculado. Estas bolsas, o “troncos sintéticos”, fueron trasladadas a la sala de corrida donde se incubaron en oscuridad hasta su total colonización. En ese momento las bolsas se trasladaron a la sala de fructificación donde las condiciones ambientales se ajustaron para el inicio de los primordios y la diferenciación del píleo –fruto o sombrero-: 80 - 90% de humedad relativa, 25-30 °C, 12 h de fotoperiodo y ventilación adecuada. Al tiempo de cosecha los carpóforos se colectaron y se secaron a 60 °C, para posteriormente molerlos y obtener un material en hebras que se conserva envasado al vacío. En cada oleada de producción se registró el tiempo de corrida y fructificación desde la inoculación, la eficiencia biológica [EB= (kg hongo fresco/kg sustrato seco) x100] para cada fructificación u oleada y el número de veces que fructifica cada bolsa (oleada). La figura 1 muestra imágenes del proceso.

Los procedimientos de limpieza y desinfección de las zonas de producción, así como las operaciones de cultivo, cosecha y controles, han sido especificados en un Manual de Procedimientos y BPM desarrollado en el LBHMyC para asegurar la calidad del proceso.

2.2. Obtención de extractos

A partir del material seco se realizan extracciones acuosas y alcohólicas para obtener las fracciones ricas en polisacáridos y triterpenoides, respectivamente. Los polisacáridos son extraídos de acuerdo a Bao et al. (2002). El material, previamente molido, fue extraído con 20 – 30 volúmenes de agua a 95 – 100 °C. Este extracto acuoso fue tratado con ácido tricloroacético para remover proteínas y posteriormente dializado durante tres días. Los polisacáridos fueron precipitados por el agregado de cuatro volúmenes de etanol y

recuperados por centrifugación. Los triterpenoides son extraídos por maceración con etanol 96° durante 24 horas, su cuantificación se realizó mediante un técnica colorimétrica usando ácido ursólico como estándar, la que involucra la reacción de la vainillina con los triterpenoides en medio fuertemente ácido, para dar lugar a un compuesto coloreado que puede ser determinado por espectrofotometría (Bidegain et al.,2013).

Figura 1. Imágenes del proceso de producción y de las áreas de cultivo



2.3. Obtención de enzimas a partir del sustrato residual

El sustrato gastado fresco fue macerado en agua destilada a temperatura ambiente. La mezcla fue disgregada en un mixer durante 5 min y mantenida a 4°C durante 16 h. Luego de ese tiempo el material se comprimió para obtener la mayor cantidad de extractos. El líquido obtenido fue clarificado por centrifugación a 6.000 g y el sobrenadante se conservó a -20°C. La actividad de las lacasas fue evaluada por espectrofotometría, utilizando como sustrato syringaldazine (Sigma), ($\epsilon_{525} \frac{1}{4} 65,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)(Postemsky et al. 2014).

3. Resultados

Estos estudios de escalado de producción, basados en investigaciones previas a escala de laboratorio, han permitido definir la composición adecuada del sustrato, la calidad y proporción del inóculo, la intensidad y duración del tratamiento de descontaminación y las condiciones de cultivo. Una de las principales ventajas competitivas de este proyecto, que

le da características específicas, es que se ha logrado la producción de Reishi a partir de un sustrato a base de cáscara de girasol. Este es un residuo agroindustrial abundante y de escaso valor en Argentina, cuya disposición habitualmente constituye un problema medioambiental.

El rendimiento de la cosecha no sólo depende de la cepa de hongo empleada, sino de la composición del sustrato y las condiciones de manejo de cultivo. En la tabla 1 se muestran los resultados obtenidos en las experiencias a escala piloto, donde se procesaron 900 kg de sustrato, para realizar el manejo de 1000 bolsas o troncos sintéticos, en comparación a lo reportado por otros autores para otras condiciones de cultivo. El diseño de sustrato y manejo del sistema permitió acortar significativamente el tiempo de producción con respecto a lo reportado por otros autores, e incluso mejorar resultados previos obtenidos por nuestro grupo. Esto implica un aumento significativo de la productividad y tiene un impacto importante en los costos energéticos del proceso.

Tabla 1. Comparación de rendimientos para distintos sustratos y condiciones de cultivo

Sustrato	Tiempo (días)	EB (%)	Nº de oleadas	Ref.
Cáscara de girasol	35 ± 3	12,6 ± 1,6	1	LBHCyM
Cáscara de girasol - optimizado	28 ± 1	18,1 ± 1,9	1	LBHCyM
Paja de Arroz	34 ± 2	13.5 ± 1.7	1	(Postemsky et al. 2014) LBHCyM
Aserrín de álamo y salvado de trigo	72	20.8	3	(Erkel 2009)
Aserrín de roble y salvado de maíz	72	20.7	3	(Erkel 2009)
Aserrín de haya y salvado de maíz	72	19.9	3	(Erkel 2009)
Aserrín de carpe y residuos de té	90	34.9	2	(Peksen and Yakupoglu 2008)
Aserrín de <i>AlnusNepalensis</i>	75	15.7	2	(Gurung et al. 2013)
Bagazo de Maguey Tequilero y residuos de algodón	92	8.5 ± 0.3	1	(Soto-Velazco et al. 2002)
Residuos de café	NR*	24.2	2	(Jaramillo 2010)

*No reportado

Los estudios sobre los extractos de compuesto bioactivos demostraron que tanto el manejo realizado del cultivo como el sustrato formulado, no alteraron la concentración esperada de la fracciones de polisacáridos y triterpenoides (Bidegain y col 2013), por lo cual, considerando el menor tiempo de producción, se ha logrado mejorar también la productividad de estos compuestos.

El principal residuo de la producción del Reishi, es el sustrato que ha perdido la capacidad de generar nuevos frutos (sustrato residual). Sin embargo este sustrato ha sido biotransformado por el metabolismo del hongo, el cual posee una maquinaria enzimática compleja que le permite degradar sustancias como lignina, celulosa y hemicelulosa. Los estudios realizados por el LBHCyM han demostrado que el sustrato biotransformado por *G. lucidum* es una importante fuente de enzimas lacasas, que poseen importante aplicación en la industria. Por lo cual se ha generado una actividad amigable con el ambiente y con el potencial de desarrollar un nuevo emprendimiento productivo a partir de los residuos.

El *G. lucidum* es un hongo comestible con notables propiedades medicinales y nutritivas pero, a diferencia de otros, no es palatable por su sabor amargo y consistencia leñosa, por eso, son importantes las presentaciones de sus productos. El fruto del hongo seco molido puede ser consumido en infusiones, agregado a alimentos como café, té, chocolate o caldos, o ingerirse en cápsulas. Por otro lado, los extractos de polisacáridos y triterpenoides, dan la posibilidad de conocer la dosis de estos bioactivos, realizar formulaciones y desarrollar nuevos productos. Por lo que estos extractos amplían considerablemente el campo de aplicación hacia el desarrollo de suplementos dietarios, fitoterápicos y cosméticos.

4. Conclusiones

Se ha desarrollado y escalado el protocolo para el cultivo de Reishi en forma controlada, con insumos locales de bajo costo y óptimo rendimiento para producir un alimento funcional de alto valor, sin el agregado de ningún agroquímico, se logró así, una producción orgánica, sustentable y factible de ser transferida al ámbito productivo.

Bibliografía

- Bao X-F; Wang X-S, Dong Q; Fang J-N; Li X-Y (2002). “Structural features of immunologically active polysaccharides from *Ganoderma lucidum*”. *Phytochemistry* 59,pp.175–81.
- Batra P.; Sharma AK; Khajuria R. (2013). “Probing Lingzhi or Reishi Medicinal Mushroom *Ganoderma lucidum* (Higher Basidiomycetes): A Bitter Mushroom with Amazing Health Benefits”. *Int J MedMushrooms* 15, pp.127–143.
- Bidegain M; Cubitto MA; Curvetto NR. (2013). “Obtención de triterpenoides de *Ganoderma lucidum* cultivado en un sustrato a base de cáscara de girasol”.En *VIII Encuentro Latinoamericano y del Caribe Biotecnología*. Mar del Plata.
- Curvetto NR.; Gonzalez Matute R.; Figlas D.; Delmastro S. (2004) Cultivation of oyster mushrooms on sunflower seed hull substrate. *Mushroom Grow. Handb. 1 - Oyster Mushroom Cultiv.* MushWorld, Seoul, pp 101 – 106.
- Erkel, EI. (2009). “Yield performance of *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst cultivation on substrates containing different protein and carbohydrate sources”. *African J. Agric Res* 4,pp.1331–1333.
- Gurung OK; Budathoki U.; Parajuli G. (2013). “Effect of Different Substrates on the Production of *Ganoderma lucidum* (Curt.:Fr.) Karst”. *Our Nat* 10,pp.191–198.
- Jaramillo CL. (2010) *Simple methodology for the cultivation of the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* in Colombian coffee farms. Hacia un Desarro. Sosten. del Sist. Prod. los Hongos Comestibles y Med. en Latinoamérica Av. y Perspect. en el Siglo XXI.*
- McAlister N.; Goodger B.; Lewington A.; Wildman E.; Palmer L. (2012). “Nutraceuticals Regulation Back on European Commission Agenda for 2013”(en línea). Consultado 12/10/2014, en http://www.nutraceuticalsworld.com/issues/2012-11/view_features/nutraceuticals-regulation-back-on-european-commission-agenda-for-2013/.
- Peksen A.; Yakupoglu G. (2008). “Tea waste as a supplement for the cultivation of *Ganoderma lucidum*”. *World J Microbiol Biotechnol* 25,pp.611–618.

- Postemsky PD.; Delmastro SE.; Curvetto NR. (2014). "Effect of edible oils and Cu (II) on the biodegradation of rice by-products by *Ganoderma lucidum* mushroom". *Int Biodeterior Biodegradation* 93,pp.25–32.
- Russell M.; Paterson R. (2006). "Ganoderma - a therapeutic fungal biofactory". *Phytochemistry* 67, pp.1985–2001.
- Sanodiya BS.; Thakur GS.; Baghel RK.; Prasad GBKS; Bisen PS. (2009). "Ganoderma lucidum: a potent pharmacological macrofungus". *Curr Pharm Biotechnol* 10,pp.717–42.
- Sliva D. (2003). "Ganoderma lucidum (Reishi) in cancer treatment". *Integr Cancer Ther* 2, pp.358–64.
- Soto-Velazco C.; López MC.; Vázquez-Valls E.; Alvarez I. (2002). "Cultivation of *Ganoderma lucidum* and its effect on the production of lymphocytes". *Proc. Fourth Int. Conf. Mushroom Biol. Mushroom Prod.*, pp 379–382.
- Tanaka H.; Kaneda F.; Suguro R.; Baba H. (2004). "Current System for Regulation of Health Foods in Japan". *Japan Med Assoc J.* 126, pp.436–450.
- Wasser, S. (2005). "Reishi or Ling Zhi (*Ganoderma lucidum*)". *Encycl Diet Suppl*,pp. 603–622.