

Calidad proteínica de tres cepas mexicanas de setas (*Pleurotus ostreatus*)

Mayela Bautista Justo, Ma. Guadalupe Alanís Guzmán, Elvira González de Mejía, Carlos L. García Díaz,
Gerardo Martínez, Eleazar Barboza Corona

Universidad de Guanajuato, Universidad Autónoma de Nuevo León, Universidad Nacional Autónoma de México,
Universidad Autónoma de Querétaro. México

RESUMEN. Se evaluó la calidad proteínica de los cuerpos fructíferos de tres cepas mexicanas de *Pleurotus ostreatus* (INIREB-8, CDBB-H-896 y CDBB-H-897), cultivadas en invernadero, temperatura registrada de: 22-28°C y 75-85% de humedad relativa, en paja de trigo como sustrato. La concentración de proteína (Nx4.38), osciló entre 17.26 y 19.97 g/100g en peso seco. Sus puntajes químicos estuvieron entre 74 a 93% siendo la lisina disponible el primer aminoácido limitante para las cepas INIREB-8 y CDBB-H-896 y la leucina para la CDBB-H-897. Los valores de digestibilidad in vitro fueron de: 67.75-68.38%. El valor proteínico relativo varió de 100.06 a 107.85%, siendo menor que el del frijol soya cocido y huevo entero; e iguales estadísticamente a los de la leche descremada en polvo, caseína más metionina y albúmina; y superiores a los del arroz, maíz, frijol, lenteja, haba y pasta para sopa. En función de lo anterior se puede concluir que por su contenido de aminoácidos esenciales, las proteínas de las setas (especialmente la cepa INIREB-8) se complementan adecuadamente con la de los cereales, por lo cual es altamente recomendable incluirlas en la dieta diaria.

Palabras clave: *Pleurotus ostreatus*, calidad proteínica.

SUMMARY. Protein quality of Mexican *Pleurotus ostreatus* strains The protein quality of fruits bodies of three *Pleurotus ostreatus* Mexican strains (INIREB-8, CDBB-H-896 and CDBB-H-897) was evaluated. The protein concentration (Nx4.38) ranged from 17.26 to 19.97 g/100g dry weight; chemical scores were between 74 and 93% with available lysine as a first limiting amino acid in either INIREB-8 and CDBB-H-896 strains or leucine in CDBB-H-897 strain. The nutritional evaluation revealed 67.75 to 68.38% in vitro digestibility. Relative protein values were from 100.06-107.85%, which were lower than soybean meal and whole egg but larger than those of rice, maize, beans, fava beans and pasta, no differences were found between these values and those of skim milk powder, casein plus methionine and albumin. In accordance with the last results we concluded that due to their essential amino acids content, mushroom proteins are a good complement of cereals; furthermore, it is highly recommended to include *Pleurotus* in the daily diet.

Key words: Oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*, protein quality.

INTRODUCCION

Algunos investigadores han considerado a los hongos como la "carne de los bosques" en tanto que otros no les atribuyen ningún valor nutricional; sin embargo, la realidad es que la calidad nutricional de los hongos es muy variable aún entre las mismas especies. Por ejemplo, en contenido de proteína (Nx4.38), se puede encontrar valores tan altos como el 40% en peso seco o tan bajos como el 8.9%; la concentración de lisina disponible puede variar entre el 10 y 62% de la lisina total y los de valor biológico desde 45.3 hasta 95.8% (1,2). No se puede generalizar con respecto a la calidad de la proteína de los hongos, ya que habrá especies cuya contribución a la dieta sea muy buena y otras cuyo valor nutricional sea insignificante. El contenido de aminoácidos individuales en diversas clases de hongos también varía considerablemente; por ejemplo, se han encontrado concentraciones de metionina y leucina que van desde 0.34 a 1.99 y 1.4 a 3.89 g/100g en peso seco, respectivamente y contenidos tan bajos de aminoácidos esenciales

totales como 5.3 g/100g de materia seca en hongos silvestres (3).

La determinación de proteína cruda (Nx6.25) en los hongos sobreestima el valor de proteína, debido a que solamente entre el 34 y 89% de este nitrógeno total, proviene de proteína verdadera; esto puede ser explicado parcialmente por el hecho de que los hongos contienen cantidades significativas de nitrógeno no proteico, principalmente en sus paredes quitinosas (1-3).

Los hongos contienen también aminoácidos libres usuales y poco comunes (4), así como otros compuestos nitrogenados (5-7). Se han reportado que *Agaricus campestris* contiene compuestos aminados, dentro de los que se consideran 10 aminoácidos indispensables, aminoácidos libres y compuestos intermediarios en la biosíntesis de aminoácidos esenciales (8).

Se ha sugerido (4,9,10) que el factor de conversión de nitrógeno a proteína es alrededor de 4 y no 6.25. Específicamente, se recomienda 4.38 para calcular el valor

más cercano al verdadero contenido de proteína en los hongos (1). Fujihara et al., (10) encontraron un factor promedio de 3.99 ± 0.76 para distintos géneros de hongos y de 4.15 para el *Pleurotus ostreatus*; asimismo, señalaron que el mejor método para conocer el contenido real de proteína es por análisis de aminoácidos, en este estudio se hace uso del factor 4.38 para convertir el N a proteína.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad de la proteína de tres cepas mexicanas de setas (*Pleurotus ostreatus*), compararlas con otros alimentos de uso común en México y conocer su contribución real a la dieta humana como parte de la alimentación diaria.

MATERIALES Y METODOS

Origen de las cepas

Las cepas de *Pleurotus ostreatus* INIREB-8 del Instituto de Ecología de Xalapa, Veracruz, México, se adquirió en el Centro de Investigaciones Ecológicas del Sureste de Tapachula Chiapas, México. Las cepas CDBB-H-896 y CDBB-H-897 fueron donadas por el Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Zacatenco.

Preparación de las muestras

Las setas se cultivaron sobre paja de trigo, en invernadero (temperatura de 22 a 28°C y una humedad relativa de $80 \pm 5\%$) (11) y se cosecharon en la madurez comercial (12). A los cuerpos fructíferos se les eliminó la base del estípite (entre 0.5 y 1 cm) para evitar cualquier contaminación con el substrato, se deshidrataron a 30°C en un horno de convección forzada (B & T Searle Company BS2648), se molieron en un micromolino General Electric usando un tamiz de malla 40 y se conservaron en frascos cerrados a 4°C hasta su análisis.

El frijol negro, flor de mayo, haba, lenteja, frijol soya que se usaron en este estudio se adquirieron en el mercado local y se cocinaron utilizando métodos caseros convencionales. El huevo entero se hirvió durante 5 min, el arroz con jitomate fue guisado según receta casera en la que el arroz se fríe y después se hierve aproximadamente 20 min, la harina de maíz, las tortillas, leche en polvo descremada y soya texturizada se adquirieron en el supermercado y no recibieron ningún tratamiento. Todas las muestras se deshidrataron por 12 horas a 100°C en un horno de convección forzada B & T Searle Company y se molieron pasando la muestra por un tamiz de malla 80. Se utilizó también albúmina de bovino fracción V, reactivo analítico (Baker).

A las muestras de setas se les practicaron todos los análisis en tanto que a los demás alimentos sólo se les determinó el valor proteínico relativo (VPR) empleando el microorganismo *Tetrahymena thermophila*. Al frijol soya, frijol negro y lentejas cocidos, también se les determinó la digestibilidad in vitro.

Proteína

El contenido de proteína de las setas se calculó determinando el nitrógeno total por el método de Kjeldahl (13) y se usó el factor de conversión de nitrógeno a proteína de 4.38.

Quitina

La quitina se extrajo de las muestras de setas con solución de HCl 6N y KOH 5N (14) y los cálculos se hicieron de acuerdo a la técnica descrita por Meyers et al (15).

Aminoácidos y puntaje químico

Las setas deshidratadas se desengrasaron con éter etílico y se hidrolizaron con HCl 6N a 145°C durante 4 horas en un digestor Tecator AB. El ácido se eliminó por evaporación al vacío, y se procedió al análisis por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) mediante el uso de un equipo Waters Millipore con detector de fluorescencia de barrido Waters 470 y columna Nova-pack C18, utilizando como solvente un buffer acuoso Waters AccQ. Tag y acetonitrilo: agua HPLC 20 Megohm en proporción 60:40 (16,17).

Para la determinación de triptófano, las muestras se hidrolizaron con $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ en un autoclave a 15 lb/in² durante 7 horas y se neutralizaron con HCl 6N. Se centrifugaron a 2700g durante 10 min y el color se reveló con dimetilamino benzaldehído en HCl concentrado 0.5% y nitrito de sodio al 0.2%, la absorbancia se leyó en un Spectronic 20 a 590 nm de acuerdo con el método de Miller (18).

La cistina se cuantificó por espectrofotometría midiendo su absorción a 540 nm, con la técnica de Block y Weiss (19). Para esto, la muestra se hidrolizó con una mezcla de cantidades iguales de HCl 6N y ácido fórmico y el ácido se eliminó por evaporación al vacío. Después las muestras fueron analizadas por cromatografía en papel, usando como solvente alcohol N-butílico: acético:agua (250:60:250 v/v), en un tiempo de desarrollo de 32 horas en dos etapas. El color se obtuvo usando como revelador ninhidrina 0.25% en acetona, como estándares fueron usados aminoácidos puros (Sigma).

La lisina disponible se cuantificó según la técnica de Hurrell et al., con anaranjado ácido y anhídrido propiónico (20).

Para el cálculo del puntaje químico de los aminoácidos se utilizó el patrón de referencia publicado por la FAO en 1985 para niños de 2 a 5 años (21).

Digestibilidad in vitro

La muestra de setas desengrasada y molida se digirió con una mezcla de tripsina quimotripsina y peptidasa. Después de 10 min se hicieron lecturas de la caída de pH y la digestibilidad se calculó aplicando la ecuación descrita en Hsu et al., (22). El estándar utilizado fue la caseína de la Nutrition Biochemical Co.

Valor proteínico relativo (VPR)

Se determinó por el método de Baker et al. (23), para lo cual las muestras problema y la caseína (Sigma) como estándar de referencia, se secaron y se desengrasaron con éter etílico; se molieron y se digirieron con bromelia y ácido mercaptosuccínico. Después se esterilizaron, se inocularon con *Tetrahymena thermophila* (WH14 ATCC 30008) y se incubaron a 28°C por tres días. Finalmente, se leyó la absorbancia a 650 nm y el valor proteínico relativo (VPR) se determinó según la siguiente ecuación:

$$\text{VPR} = \frac{\text{Abp}}{\text{AbSt}} \times 100$$

Endonde: Abp = Absorbancia de problema y AbSt = Absorbancia del estándar

Análisis estadístico

Se utilizó diseño completamente aleatorizado. Se efectuó un análisis de varianza y la diferencia entre las medias se estableció según la prueba de rangos múltiples de Duncan (24). Para el procesamiento de datos se empleó el paquete estadístico Microsoft Excel.

RESULTADOS Y DISCUSION**Proteína**

El contenido de proteína Nx4.38 en las cepas INIREB-8, CDBB-H-896 y CDBB-H-897 fue de 19.97±0.18, 17.26±0.14 y 19.26±0.12 respectivamente.

Quitina

Las cepas estudiadas presentaron un contenido de quitina (media±D.E.) de 4.00±0.22 y 4.03±0.21g/100g en peso seco para las cepas INIREB-8 y CDBB-H-897 respectivamente, las cuales no mostraron diferencias significativas (p<0.05). Sin embargo, la quitina en la cepa CDBB-H-896 fue significativamente superior (p<0.05) presentando un contenido de 4.62±0.01g/100g. No obstante, los valores reportados por Bano y Rajarathnam (2) para *Pleurotus ostreatus* (entre 4.68 y 4.90% en peso seco) son similares a los encontrados para esta última cepa. La determinación de la quitina total es importante, debido a que este polisacárido es el principal componente nitrogenado que altera el valor de proteína cuando se utiliza 6.25 como factor de conversión de N a proteína.

Aminoácidos y puntaje químico

El contenido de aminoácidos calculados en mg de aminoácidos por gramo de proteína corregida (Nx4.38) y el patrón de referencia de la FAO para niños de 2 a 5 años de edad de 1985 se puede apreciar en la Tabla 1, con excepción de la lisina disponible en las tres cepas y la leucina en la cepa CDBB-H-897, todos los demás aminoácidos superan los

contenidos marcados por el patrón de la FAO.

TABLA 1
Contenido de aminoácidos en setas *Pleurotus ostreatus*

mg/g de proteína (Nx4.38)*	INIREB-8 Media±D.E.**	CDBB-H-896 Media±D.E.	CDBB-H-897 Media±D.E.	Patrón FAO 1985
Aspártico	120.50±7.91	112.00±0.37	126.78±2.10	
Serina	48.36±0.25	50.06±0.80	47.39±0.79	
Glutámico	211.33±5.00	187.31±2.27	235.10±1.52	
Glicina	47.45±1.23	44.25±0.99	43.65±0.68	
Histidina	28.60±0.68	26.79±0.12	26.59±0.42	19
Arginina	70.70±1.20	85.95±0.75	68.08±0.86	
Treonina	51.25±1.24	51.74±1.18	51.54±0.53	34
Alanina	64.15±0.63	61.77±1.66	64.04±0.22	
Prolina	30.55±0.63	31.18±0.01	30.65±0.21	
Tirosina	35.96±0.00	36.02±0.03	34.63±0.000	63
Valina	51.28±0.68	49.40±0.25	47.11±0.15	35
Metionina	21.16±0.30	19.26±0.02	19.30±0.12	25
Cistina	16.40±0.00	17.50±0.00	15.37±0.00	
Lisina total	72.09±1.26	72.22±0.14	69.04±1.64	58
Lisina disponible	53.36±0.02	42.62±0.05	54.93±1.22	
Isoleucina	43.32±0.44	40.86±0.19	38.45±0.66	
Leucina	71.57±0.84	70.17±0.41	61.16±5.01	28
Fenilalanina	51.10±0.88	40.88±0.55	36.39±1.35	66
Triptófano	19.61±0.50	17.92±0.50	22.80±0.50	11

*Media de dos determinaciones

** Desviación estándar.

En las cepas INIREB-8 y CDBB-H-896 el puntaje químico fue de 92 y 74% respectivamente, para lisina como único aminoácido limitante; en tanto que en la CDBB-H-897 fue de 93 y 95% para leucina y lisina como primero y segundo limitantes. Es importante mencionar que en el cálculo del puntaje químico se tomó el contenido de lisina disponible y no el de lisina total. El puntaje químico para *Pleurotus ostreatus* calculado con datos de la literatura (2) es de 76% para los aminoácidos azufrados en tanto que para *Pleurotus eous* los limitantes son los aromáticos con 86% de puntaje químico y en esta misma cepa el contenido de lisina es muy alto con un puntaje de 191% (Tabla 2). No se puede generalizar con respecto a las deficiencias de algunos de los aminoácidos en las setas ya que su contenido puede variar aún entre las mismas especies y depende también de otros factores como la cepa, las condiciones de cultivo y el sustrato (1,2).

Digestibilidad in vitro

Los valores de las medias de la digestibilidad in vitro de las tres cepas no mostraron diferencias significativas (p<0.05) y fueron de 68.38±0.81 para la CDBB-H-896 y CDBB-H-897 y de 67.75±0.54% para la INIREB-8. Estas cifras son similares al valor de 67.60% reportado por Levai (25) para *Pleurotus sp* cfr. Florida Type H 7 quien uso para su determinación el mismo método empleado en este trabajo, y se encuentran dentro del intervalo de 63 a 89% de digestibilidad in vitro reportado para *Pleurotus spp* (2). Sin embargo, la digestibilidad de las setas resultó ser menor que la del frijol soya cocido

(87.36%), frijol negro cocido (83.74%), y lenteja cocida (89.17%).

TABLA 2

Puntaje químico de aminoácidos de setas (*Pleurotus ostreatus*) cepa INIREB-8, CDBB-H-896 y CDBB-H-897 referido al patrón FAO 1985, comparado con datos de la literatura

	INIREB-8 %	CDBB-H-896 %	CDBB-H-897 %	<i>P. ostreatus</i> * %	<i>P. eous</i> * %
Histidina	150	141	140	89(17)	205(39)
Treonina	150	152	151	135(46)	200(68)
Total de aromáticos**	138	121	113	106(67)	86(54)
Valina	146	141	135	157(55)	243(85)
Total de azufrados***	150	147	138	76(19)	128(32)
Lisina	92	74	95	78(45)	191(111)
Isoleucina	154	146	137	150(42)	203(57)
Leucina	108	106	93	103(68)	129(85)
Triptófano	178	162	207	118(13)	127(14)

* Entre paréntesis se indican los mg de aminoácidos por g de proteína cruda corregida Nx4.38

Fuente: Bano y Rajarathnan, 1988

** Tirosina y fenilalanina

*** Cistina y metionina

TABLA 3

Valor proteínico relativo (VPR) de muestras de setas comparado con el de diversos alimentos

Muestra	VPR Media±D.E.
Soya (frijol)	138.00±5.72 ^a
Huevo entero	116.32±5.77 ^b
Soya texturizada	111.26±0.63 ^b
CDBB-H-896	107.85±4.94 ^{bc}
Caseína+0.3% metionina	107.49±1.90 ^{bcd}
INIREB-8	107.21±0.20 ^{bcd}
Leche descremada en polvo	106.82±0.00 ^{bcd}
Albúmina de bovino V	104.12±0.00 ^{cd}
CDBB-H-897	100.96±1.06 ^{de}
Frijol flor de mayo	95.00±5.61 ^{ef}
Arroz con jitomate	93.27±2.77 ^{fg}
Harina de maíz	92.12±0.30 ^{fg}
Frijol negro	90.89±1.73 ^{fg}
Tortilla de maíz	88.63±3.97 ^{fgh}
Pasta para sopa	88.23±11.06 ^{gh}
Lenteja	87.25±8.31 ^{gh}
Haba	83.22±5.46 ^h
Arroz blanco	64.44±3.47 ⁱ

Super índices distintos indican diferencia significativa ($p < 0.05$)

Valor proteínico relativo (VPR)

Los resultados del VPR de las setas comparados con los de otros alimentos se presentan en la Tabla 3. Ahí se puede observar que en general fueron inferiores y diferentes estadísticamente al del frijol soya que alcanzó un VPR de 138% y al del huevo entero de 116.32. Sin embargo, los VPR de las cepas CDBB-H-896 e INIREB-8 fueron estadísticamente iguales ($p < 0.05$) al de la soya texturizada (111.26%), caseína + metionina (107.49%), albúmina bovina (104.12%) y leche descremada en polvo (106.82%). El VPR de la cepa CDBB-H-897 fue igual estadísticamente al de la caseína más metionina, leche descremada, albúmina bovina, frijol flor de mayo y al del arroz guisado con jitomate, pero superior al de la harina de maíz, frijol negro, tortilla de maíz, pasta para sopa, lenteja, haba y arroz blanco. Se observó en este estudio que el método utilizado clasificó a la soya como la mejor proteína y además, a la albúmina, a la caseína estándar y a la leche descremada en polvo, en un nivel equiparable al obtenido para la proteína de las setas.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos de este trabajo indican que la mejor de las cepas estudiadas fue la INIREB-8 con un puntaje de 93% con lisina disponible como único aminoácido limitante. En general se puede concluir que las proteínas de las setas tienen un alto valor nutritivo con puntajes por arriba de 70% y contienen todos los aminoácidos esenciales, lo que ayuda a complementar en forma adecuada la proteína de los cereales como el arroz, el trigo y el maíz. Lo anterior aunado al fácil cultivo de estos hongos, sugiere que es altamente recomendable promover el consumo de setas (*Pleurotus ostreatus*), como una alternativa para elevar la calidad de la dieta consumida por la población que basa su alimentación en los cereales.

AGRADECIMIENTO

A la Dra. Angella Sotelo López del Departamento de Bioquímica y Farmacia de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, por su apoyo en el análisis de aminoácidos.

REFERENCIAS

1. Crisan EV, Sands A. Nutritional value. In: Chang ST, Hayes WA, editors. The biology and cultivation of edible mushrooms. New York: Academic Press, 1978:137-167.
2. Bano Z, Rajarathnam S. *Pleurotus* mushrooms. Part II Chemical composition, nutritional value post-harvest physiology, preservation and role as human food. CRC Crit Rev in Food Sci and Nutr 1988;27:87-158.
3. Muhammad W, Sattar A, Khan S. Composition of wild and cultivated mushrooms of Pakistan. Mush J Tropics 1988;27:87-158.

4. Ogawa T, Oka Y, Sasaoka K. Amino acid profiles of common cultivated mushrooms including the identification of N-N- γ -L-glutamyl 3-sulfo-L-alanyl glycine in *Flammulina velutipes*. J Food Sci 1987;52(1):135-136.
5. Hughes DH, Lynch DL, Somers GF. Chromatographic identification of the amino acids and carbohydrates in cultivated mushrooms *Agaricus cammpestris* L. ex Fries. J Agric Food Chem 1958;6:850-853.
6. Sato E, Aoyagi Y, Sugahara T. Contents of free amino acids in mushrooms. Nipp Shokkuhin Kogyo Gakkaishi 1985;32(7):509-521.
7. Alofe FV. Amino acids and trace minerals of three edible mushrooms from Nigeria. J Food Comp Anal 1991;4(2):167-174.
8. Altamura MR, Robins FM, Andreotti RE, Long L Jr., Hasseistrom T. Mushroom ninhydrin-positive compounds. Amino acids, related compounds and other nitrogenous substances found in cultivated mushrooms, *Agaricus campestris*. J Agric Food Chem 1967;15:1040-1045.
9. Danell E, Eaker D. Amino acid and total protein content of edible mushrooms, *Cantharullus cibarius* (fries). J Sci Food Agric 1992;60:333-337.
10. Fujihara S, Kasuga A, Aoyagi Y, Sugahara T. Nitrogen-to-protein conversion factors for some common edible mushrooms. J Food Sci 1995;60:1045-1047.
11. Soto-Velazco C, Arias A, Fausto S. Elaboración de inóculos en bolsas de polipapel para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*. In: Sociedad Mexicana de Micología editor. Memorias del IV Congreso Nacional de Micología. Tlaxcala, Tlax. México 1991:94.
12. Zadrazil F, Kurtzman RH. The biology of *Pleurotus* cultivation in the tropics. In Chang ST, Quimio TH, editors. Tropical mushrooms biological nature and cultivation methods. Hong Kong: The Chinese University Press, 1982;77-298.
13. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of the AOAC. 15th ed. Arlington, Virginia, USA. K. Herlich (Ed). 1990.
14. Bernarth FR, Venkatasubramanian K. Methods of enzyme immobilization. In: Demain AL, Solomon NA, editors. Manual of Industrial microbiology and biotechnology. Washington: American Society for Microbiology. 1986.
15. Meyers SP, Rutledge JP, Sonu SC. Variability in proximate analysis of different processed shrimp meals. Feedstuffs 1973;45(47):34.
16. Waters Division of Millipore. Silica Analytical Column. Care and use, Manual. Waters Publications, 1991.
17. Millipore Corporation. Waters AccQ. Tag Chemistry package. Instruction Manual. WAT 052 874, REVO. Milford, 1993.
18. Miller EL. Determination of the tryptophan content of feedingstuffs with particular reference to cereals. J Sci Fd Agric 1967;18:381-386.
19. Block RJ, Weiss KW. Estimation of amino acids in protein hydrolyzates by paper chromatography. In: Block RJ, Weiss KW, editors. Amino Acid Handbook. Springfield: Thomas C.C. publisher, 1956:71-109.
20. Hurrel RF, Lerman P, Carpenter KJ. Reactive lysine in foodstuffs as measured by a rapid dye-binding procedure. J Food Sci 1979;44:1221-1227.
21. FAO/WHO/UNU. Expert Consultation Energy & Protein Requirements. WHO Tech. Rep. Ser N° 724. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 1985.
22. Hsu HW, Vavak DL, Satterlee LD, Miller GA. A multienzyme technique for estimating protein digestibility. J Food Sc 1977;42:1269-1273.
23. Baker H, Frank O, Rusoff I, Morck RA, Hunter SH. Protein quality of foodstuffs determined with *Tetrahymena thermophila* and rat. Nutr Rep Inter 1978;17:525-536.
24. Montgomery DG. Diseño y análisis de experimentos. México: Grupo Editorial Iberoamericana, 1991.
25. Levai J. Nutritional and utilizable value of some cultivated mushrooms. Mushroom Sci 1989;XII:295-304.

Recibido: 27-08-1997

Aceptado: 14-12-1998,