

**Transformación y Agroindustria**

Artículo de investigación científica y tecnológica

# Compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de la fermentación en estado sólido de bagazo de manzana (*Malus domestica* Borkh., var. panochera)

Total phenolic compounds and antioxidant activity of solid-state fermentation of apple bagasse (*Malus domestica* Borkh., var. panochera)

 Diego Ibarra-Cantún<sup>1</sup>  María Elena Ramos-Cassellis<sup>1</sup>  Madai Gizeh Sánchez-Arzubide<sup>1</sup>  
 Rosalía del Carmen Castelán-Vega  Marco Antonio Marín-Castro<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México

\*Autor de correspondencia: Marco Antonio Marín-Castro. Departamento de Investigación en Ciencias Agrícolas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 14 Sur 6301 Edificio IC1, 72570 Puebla, México.  
[marco.marin@correo.buap.mx](mailto:marco.marin@correo.buap.mx)

Recibido: 08 de julio de 2020  
Aprobado: 12 de abril de 2022  
Publicado: 1 de agosto de 2022

Editor temático: Sebastian Escobar, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria [AGROSAVIA]

Para citar este artículo: Ibarra-Cantun, D., Ramos-Cassellis, M. E., Sánchez-Arzubide, M. G., Castelán-Vega R. C., & Marín-Castro, M. A. (2022). Compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de la fermentación en estado sólido de bagazo de manzana (*Malus domestica* Borkh., var. panochera). *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 23(2), e2103. DOI [https://doi.org/10.21930/rcta.vol23\\_num2\\_art:2103](https://doi.org/10.21930/rcta.vol23_num2_art:2103)

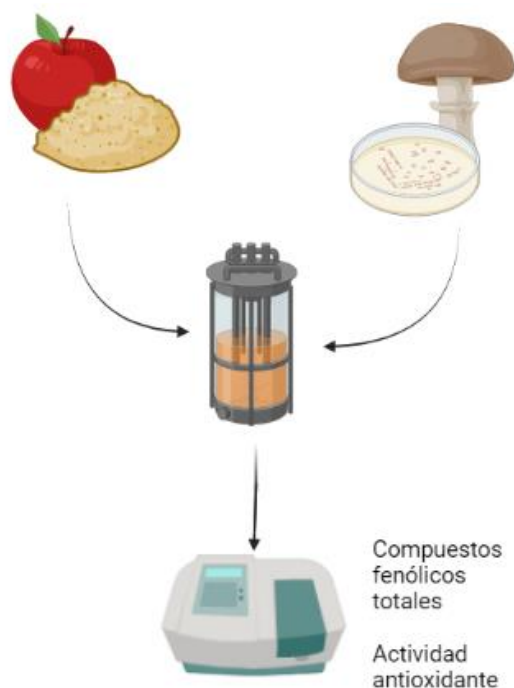
**Resumen:** La agroindustria genera cantidades importantes de residuos lignocelulósicos. Estos son utilizados como sustrato en la producción de hongos del género *Pleurotus*, que a través de la fermentación en estado sólido (FES) producen metabolitos secundarios. El objetivo de este trabajo fue determinar la cantidad de compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante de extractos de metanol obtenidos de la FES en bagazo de manzana con la cepa *Pleurotus ostreatus* durante 28 días. La fermentación sólida se realizó en los días 0, 7, 14, 21 y 28 de los extractos de metanol. Posteriormente, se evaluaron el contenido de compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante por los métodos 1,1-difenil-2-picrilhidracilo (DPPH•) y 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6 sulfonato de amonio (ABTS+). Las 45 muestras fueron analizadas a través de un análisis de varianza y prueba de medias de Tukey. Los resultados mostraron la biosíntesis de compuestos fenólicos totales a partir del día 21 de la FES, con una concentración de  $0,39 \pm 0,07$  mg equivalentes de ácido gálico/g sustrato en base seca (mg de EAG/g sustrato bs). La actividad antioxidante en ambos métodos también se manifestó en el día 21 con actividades equivalentes, de  $342,10 \pm 1,08$  mg/mL para DPPH y  $323,02$  mg/mL en ABTS. En consecuencia, los compuestos fenólicos extraídos de la FES del residuo de manzana con la cepa *P. ostreatus* pueden considerarse como una alternativa de valorización de un subproducto que actualmente es considerado como un desecho agroindustrial.

**Palabras clave:** agroindustria, análisis proximal, fitoquímicos, *Pleurotus ostreatus*, residuo lignocelulósico.

**Abstract:** Agro-industry generates significant amounts of lignocellulosic waste. These residues are used as a substrate in the production of *Pleurotus* fungi, which produces secondary metabolites through solid-state fermentation (SSF). The aim of this project was to determine the amount of total phenolic compounds and the antioxidant activity of methanol extract of the solid fermentation of the apple residue with the *Pleurotus ostreatus* strain during 28 days. Solid fermentation was carried out in 45 mL bioreactors with apple residue. Then, methanol extracts were performed on days 0, 7, 14, 21 and 28. Subsequently, the content of total phenolic compounds and antioxidant activity were evaluated by two different methods: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH•) and 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS+). The 45 samples were analyzed through an analysis of variance and Tukey's test means. Results showed the biosynthesis of the total phenolic compounds from the 21st day of the SSF, giving a concentration of  $0.39 \pm 0.07$  mg gallic acid equivalents (GAE)/g of substrate of dry weight (mg GAE/g substrate dw). The antioxidant activity in both methods was also manifested on 21st day with  $342.10 \pm 1.08$  mg/mL concentrations for DPPH and  $323.02$  mg/mL in ABTS. In consequence, the phenolic compounds extracted from the SSF of the apple residue with the *P. ostreatus* strain can be an alternative for recovery of a derivative considered as a waste.

**Keywords:** agro-industry, lignocellulosic waste, phytochemicals, *Pleurotus ostreatus*, proximate analysis





**Figura 1.** Graphical abstract (Creado con BioRender.com).

## Introducción

El bagazo de manzana resultante de la extracción del jugo, utilizado en el proceso industrial de producción de sidra, es considerado como residuo agroindustrial. Su producción fluctúa entre el 15 % y 30 % del total de fruta procesada (Vicente et al., 2005), que para el 2018 en el municipio de Huejotzingo, en el estado de Puebla, México, fue de 18,5 toneladas de manzana empleada en la producción de sidra (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP], 2019). Estos desechos han servido como fuente potencial de azúcares, lípidos, carbohidratos, ácidos minerales, fibras dietarias, compuestos inorgánicos, fitoquímicos, incluidos fenoles, carotenoides y tocoferoles (Lin et al., 2013).

Los fitoquímicos representan una oportunidad prometedora como compuestos altamente demandados por los sectores alimentario, farmacéutico y cosmético (Dilas et al., 2009; Ruales-Salcedo et al., 2017). Los compuestos fenólicos son compuestos aromáticos hidroxilados que poseen uno o más anillos aromáticos con uno o más grupos hidroxilo, que incluyen una gran cantidad de subclases, como flavonoides, ácidos fenólicos, estilbenos, lignanos, taninos y polifenoles oxidados, entre otros (Peñarrieta et al., 2014), que son utilizados para el tratamiento y prevención de diversas enfermedades como cáncer, diabetes, trastornos cardiovasculares y daño hepático; asimismo, presentan actividad antimicrobiana y antioxidante (Baydar & Baydar, 2013). Los antioxidantes en la dieta humana son de gran interés como posibles agentes protectores para reducir el daño oxidativo causado por radicales, el cual puede estar relacionado con el envejecimiento y enfermedades como la aterosclerosis, el cáncer y la artritis reumatoide

(Mau et al., 2002).

Uno de los procesos para la obtención de compuestos antioxidantes suele involucrar procesos de fermentación en estado sólido (FES) (Barrios-González & Mejía, 1996), sobre un soporte sólido, con un bajo contenido de humedad que ocurre en estado natural (Nigam & Singh, 1994; Robinson et al., 2002). Recientemente la FES ha sido empleada para generar polifenoles que contribuyan al enriquecimiento de alimentos fermentados o bien en la hidrólisis de diversos materiales lignocelulósicos para la producción de compuestos fenólicos con actividad antioxidante de importancia industrial (de Boer et al., 2016).

La posibilidad de utilizar diversos residuos agroindustriales como materia prima en la producción de FES denota la posibilidad de aprovechar desechos, que al ser recursos bióticos no explotados pueden fungir como soporte o sustrato en la producción de metabolitos secundarios con valor agregado a bajos costos de producción (Rodríguez Couto, 2008).

La demanda de compuestos bioactivos con actividad antioxidante, obtenidos de fuentes naturales o por la aplicación de bioprocesos, como la FES, ha propiciado el interés de la industria alimenticia, para desarrollar alimentos funcionales, y la farmacéutica, para la obtención de nuevos fármacos (Andrade-Damián et al., 2019; Salinas-Flores et al., 2019).

Martínez-Ávila et al. (2013) describen las ventajas biotecnológicas de la fermentación de residuos agroindustriales para la producción de fitoquímicos con alta actividad antioxidante y con valor comercial agregado, tales como ácidos orgánicos, proteínas, alcohol, enzimas y compuestos fenólicos (Mamma et al., 2008). Además es una técnica eficiente y económica, debido a la alta especificidad de las reacciones que se llevan a cabo en el sistema y al uso de residuos vegetales de baja o nula utilidad como soporte y fuente de nutrientes para los microorganismos que se emplean (Martins et al., 2011; Soccol et al., 2017), por lo que se puede obtener también valor agregado de esos residuos (Pandey, 2003).

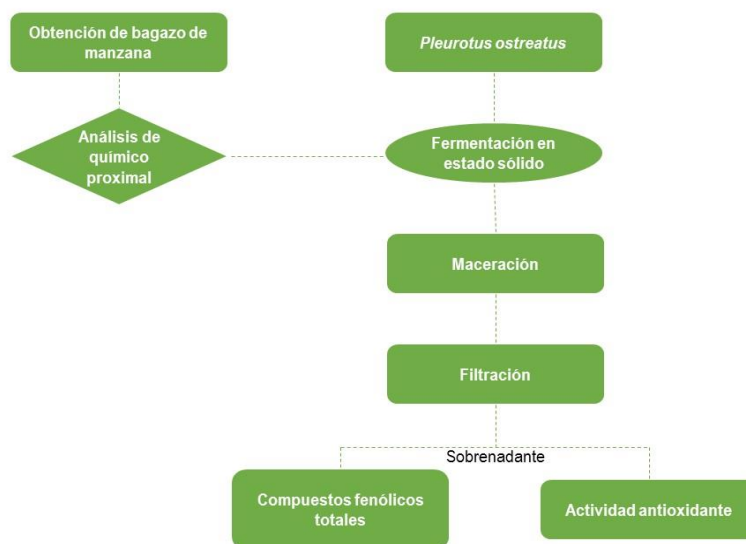
El uso de residuos para la producción de hongos propicia el desarrollo sustentable por el aprovechamiento máximo de recursos y disminuye la disposición de residuos orgánicos (Piña-Guzmán et al., 2016). Ya que la mayoría de los residuos agroindustriales se degradan lentamente debido a su naturaleza lignocelulósica, rica en celulosa, hemicelulosa y lignina, puede provocar contaminación ambiental y daños adversos a la salud si no se someten a un adecuado proceso de explotación (Vargas & Pérez, 2018). El cultivo de setas es un sistema biotecnológico eficiente, pues logra altos rendimientos y buena productividad con pocos controles ambientales. Además, su tiempo de crecimiento es corto, con un amplio intervalo de temperaturas y la posibilidad de usar diversos materiales lignocelulósicos como sustratos, que son fuente de carbono para su crecimiento y para la obtención de compuestos de interés biológico como enzimas y fitoquímicos (Piña-Guzmán et al., 2016; Ramírez-Carmona & Muñoz-Blandón, 2016).

La composición química de cada residuo agroindustrial varía según la especie, por lo que es indispensable estudiar las propiedades fisicoquímicas del bagazo de manzana para conocer la viabilidad del desecho para el crecimiento y desarrollo del hongo seta. Por lo anterior, este trabajo tuvo como objetivo determinar la adaptación de desarrollo de *Pleurotus ostreatus* en el bagazo de manzana, así como la cantidad de compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante de

extractos de metanol obtenidos durante la fermentación sólida por 28 días del residuo de manzana inoculado con la cepa *P. ostreatus*.

## Materiales y métodos

La metodología utilizada en este trabajo describe, a partir de la obtención del residuo agroindustrial, el análisis proximal y los análisis químicos realizados para determinar los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante generados durante su fermentación en estado sólido por el hongo *Pleurotus ostreatus* (figura 2).



**Figura 2.** Descripción de la metodología utilizada.

Fuente: Elaboración propia

### Obtención y tratamiento del residuo agroindustrial

Se colectaron 50 kg de bagazo de manzana (*Malus domestica* Borkh., var. panochera) obtenida por el método de cuarteo, de acuerdo con la Norma Mexicana NMX-AA-15-1985 (Diario Oficial de la Federación [DOF], 1985), procedentes de la industria sidrera de la localidad de Huejotzingo, Puebla, México. Este bagazo se escaldó a una temperatura de 70 °C por 10 minutos; posteriormente, se deshidrató en un horno de aire forzado (Lumistell mod HTP 72) a 70 °C durante seis horas, y se pulverizó en un procesador de alimentos (Halldé mod CC 32) hasta obtener un tamaño de partícula de 0,250 mm; por último, se conservó en una bolsa cerrada herméticamente para su posterior análisis.

### Composición química de bagazo de manzana

Al residuo se le realizó el análisis químico proximal: contenido de humedad, cenizas, proteínas por el método Kjeldahl, extracto etéreo, carbohidratos totales, fibra cruda y fibra dietaria total, que es la sumatoria de la fibra insoluble y la fibra soluble (Helrich, 1990). El contenido de lignina fue obtenido por el método de Klason, calculado a través de la metodología de Schwanninger y Hinterstoisser (2002), mientras que los porcentajes de hemicelulosa y celulosa fueron determinados a través de las cantidades de fibra detergente neutra (FDN) (Horwitz, 2006) y fibra detergente ácida (FDA) (Horwitz, 2006). El análisis se determinó por triplicado.

### **Microorganismos utilizados en la fermentación**

Se utilizó la cepa de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) P. Kumm. (Fungi: Agaricomycetes, Agaricales: Pleurotaceae), obtenida en el Departamento de Investigación en Ciencias Agrícolas del Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. La cepa fue activada en agar papa dextrosa (Bioxon) en cajas Petri e incubada a 25 °C por 72 h.

### **Fermentación en estado sólido**

Se utilizaron 10 g de bagazo de manzana con 80 % de humedad y pH de 6,5 por cada biorreactor. Los biorreactores de vidrio con dimensiones de 9,7-2,6 cm se esterilizaron en una autoclave (AES A mod CV300) a 121 °C y 15 psi durante 45 minutos. Posteriormente, se determinó la cantidad de *P. ostreatus*, equivalente a 3 mg de biomasa en peso seco, y se introdujo en los biorreactores por triplicado para su fermentación en una estufa (Ríos Rocha mod 070) a 25 °C, para ser evaluados los días 0, 7, 14, 21 y 28 de la fermentación.

### **Obtención de extractos**

Después del tiempo de fermentación, se les adicionó 12 mL de metanol al 100 %. Posteriormente, se sometieron a agitación en un Shaker (Orbital Shaker Leex KJ-201BD) a 80 rpm durante 1 h; luego, se filtraron y se centrifugaron (Centrifuga Hermle Z 200A) a 750 rpm por 12 min, y el sobrenadante se almacenó en tubos Eppendorf a -20 °C para su posterior análisis.

### **Cuantificación de compuestos fenólicos totales (CFT)**

Se utilizó el método propuesto por Singleton y Rossi (1965) con algunas modificaciones. A 50 µL de extracto se le agregaron 250 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu 50 %; se agitó y se dejó reposar en oscuridad durante 8 min. Posteriormente, se adicionó 1,25 mL de CaCO<sub>3</sub> al 5 % (m/v); finalmente, se dejó reposar por 30 min en oscuridad a temperatura ambiente. La absorbancia se leyó a 725 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Jenmay 7305). Se utilizó una curva de calibración de ácido gálico (Sigma Aldrich, CAS 149-91-7) ( $y = 1,9196x + 0,1124$ ,  $R^2 = 0,977$ ) en un intervalo de 0-0,3 mg/mL. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de ácido gálico/gramos sustrato en base seca (mg de EAG/g sustrato BS).

### Determinación de actividad antioxidante por método de 1,1-difenil-2-picrilhidracilo (DPPH•)

Se empleó el método desarrollado por Brand-Williams et al. (1995) con modificaciones. Se tomaron 10 µL de extracto obtenido de la FES; se agregaron 990 µL de DPPH (Sigma Aldrich, CAS 1898-66-4) 0,188 mM. La mezcla se homogenizó y se mantuvo en oscuridad durante 30 min a temperatura ambiente. Posteriormente, se midió la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Jenmay 7305), siendo A0 la absorbancia del control (metanol) y A1 la absorbancia del extracto (muestra). Los resultados se expresaron como la concentración inhibitoria al 50 % (CI<sub>50</sub>), para lo cual se calculó el porcentaje de inhibición de cuatro diferentes concentraciones, con el fin de obtener una curva de regresión lineal. El cálculo del porcentaje de inhibición se realizó de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje de inhibición (\%)} = \left[ \frac{A_0 - A_1}{A_1} \right] \times 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

### Determinación de actividad antioxidante por método de 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6 sulfonato de amonio (ABTS+)

Se utilizó el método propuesto por Re et al. (1999). Para ello, se tomaron 0,0033 g de persulfato de potasio y 0,0194 g de reactivo ABTS (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico) (Sigma Aldrich, CAS 30931-67-0) en 5 mL de agua destilada. La mezcla se agitó y se colocó en oscuridad durante 16 h a temperatura ambiente. Después de transcurrido este tiempo, se realizó una mezcla con etanol absoluto con el radical ABTS+ hasta obtener una absorbancia de  $0,70 \pm 0,02$  a 754 nm. Tras esto, se agregaron 3.920 µL de la solución de radical ABTS y se registró la absorbancia inicial (Ai); luego, se adicionaron 80 µL de extracto, se mezclaron y al término de 7 min se registró la absorbancia final (Af) con el uso de un espectrofotómetro UV-Vis (Jenmay 7305). Los resultados fueron expresados como la concentración media inhibitoria (CI<sub>50</sub>), para lo cual se calculó el porcentaje de inhibición aplicando la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje de inhibición (\%)} = \left[ \frac{A_i - A_f}{A_i} \right] \times 100 \quad \text{Ecuación 2}$$

### Análisis estadístico

En el análisis químico proximal del bagazo de manzana se hicieron tres repeticiones de cada análisis realizado. El diseño experimental consistió en definir un bagazo experimental (1 nivel), un solvente para la extracción (1 nivel) y cinco periodos de toma de muestra durante la FES, correspondientes a los días 0, 7, 14, 21 y 28 (cinco niveles). Las determinaciones se hicieron por triplicado (tres repeticiones) de cada una de las muestras obtenidas. Los resultados se examinaron utilizando el paquete estadístico Statistical Analysis System (SAS) versión 9.0 (SAS Institute Inc,

1999), donde se realizaron las pruebas de análisis de varianza (ANOVA) y prueba de medias (Tukey  $\alpha = 0,05$ ). Los valores se expresaron en media y desviación estándar.

## Resultados y discusión

### Composición química de bagazo de manzana

Los resultados del análisis químico proximal del bagazo de manzana se expresaron en g/100 g (tabla 1). El porcentaje de humedad en el bagazo fue adecuado, ya que concentraciones menores a 10 % previenen el crecimiento y reproducción de microorganismos responsables de la descomposición y reducen las reacciones de deterioro (Afolabi, 2014; Sandulachi, 2012). El contenido de cenizas, proteína, extracto etéreo, carbohidratos totales, fibra cruda y fibra dietaria total presentaron valores similares a los reportados por Figuerola et al. (2005) en pulpa de manzana, Younis y Ahmad (2015) en residuo de manzana y Romelle et al. (2016) en cáscara de manzana. De estos parámetros, cabe destacar que los carbohidratos poseen las propiedades biológicas de favorecer reacciones metabólicas; la concentración de carbohidratos presente en el bagazo de manzana puede ser considerada apropiada, ya que materiales lignocelulósicos con alto contenido de carbohidratos generan un adecuado crecimiento y desarrollo del hongo *Pleurotus* (Zhou et al., 2016).

**Tabla 1.** Composición química de bagazo de manzana (g/100 g)

Composición química	Valores encontrados (g/100 g)	Valores reportados por otros autores (g/100 g)					
		Figuerola et al. (2005)	Younis y Ahmad (2015)	Romelle et al. (2016)	Szymańska-Chargot et al. (2017)	Pathania et al. (2018)	Castillo et al. (2011)
Humedad	7,55 ± 0,10	2,00 ± 0,09	10,04 ± 0,52	-	-	-	-
Cenizas	1,52 ± 0,04	1,24 ± 0,03	1,59 ± 0,11	-	-	-	1.7
Proteínas	5,18 ± 0,43	3,68 ± 0,08	4,50 ± 0,81	-	-	-	1.9
Extracto etéreo	7,76 ± 0,83	-	-	-	-	-	1.2
Carbohidratos	50,53 ± 0,20	28,9	-	59,96 ± 0,44	-	-	-
Fibra cruda	27,45 ± 2,00	-	-	13,95 ± 0,10	-	-	16.6
Fibra dietaria total	41,63 ± 1,30	25 - 60	62,67 ± 0,54	-	-	-	-
Hemicelulosa	8,66 ± 1,58	-	-	-	5,44 ± 0,49	11	-
Celulosa	21,90 ± 0,45	-	-	-	8,81 ± 0,51	36	-
Lignina	13,87 ± 1,20	-	-	-	2,98 ± 0,67	19	-

Fuente: Elaboración propia

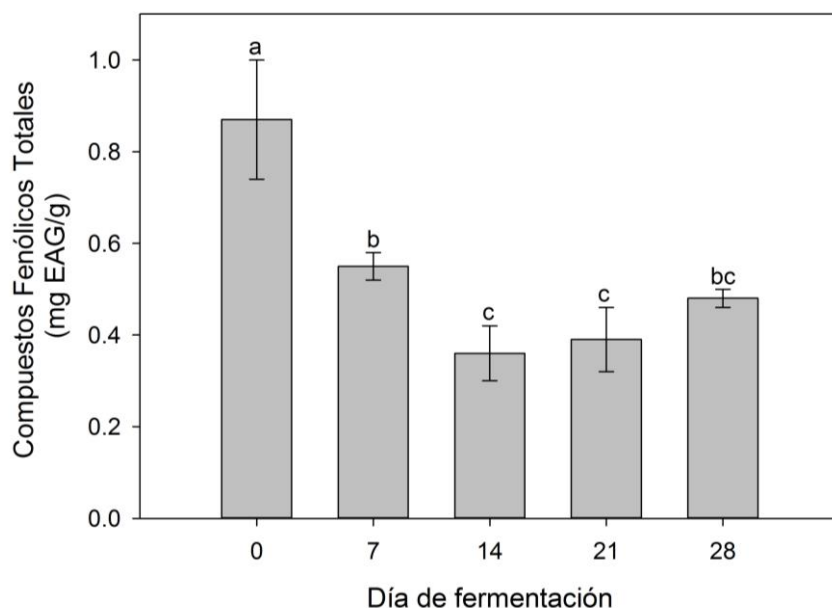
El residuo de manzana es un alimento con una buena fuente de fibra dietaria, debido a que su contenido oscila entre 25-60 g/100 g de materia seca (Figuerola et al., 2005; Garau et al., 2007). La fibra dietaria se compone de complejos carbohidratos de las paredes celulares como celulosa, hemicelulosa, pectinas y lignina, así como de polisacáridos intracelulares que no son hidrolizados por las enzimas digestivas de los humanos (Raghavendra et al., 2006). Las concentraciones de hemicelulosa, celulosa y lignina fueron similares a las reportadas por Szymańska-Chargot et al. (2017) y Pathania et al. (2018). Mejía Giraldo et al. (2007) y Rojas-González et al. (2019) mencionan que los residuos con contenidos importantes de celulosa y hemicelulosa superiores de 19,09 % en base seca pueden ser utilizados como sustrato potencial para la extracción de metabolitos secundarios. La lignina, a pesar de encontrarse en niveles bajos en frutas y verduras, es un polímero fenólico formado por tres precursores monoméricos principales: alcohol *p*-cumarílico, alcohol sinapílico y alcohol coniferílico; por lo tanto, se le puede relacionar con la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos (Vicente et al., 2009; Zheng et al., 2009).

La presencia de celulosa, hemicelulosa y lignina en el bagazo de manzana propicia la adaptación de *Pleurotus*, que se caracteriza por ser un hongo saprófito que descompone los subproductos de las plantas agrícolas, degradando los residuos de lignocelulosas como fuente de nutrición y convirtiéndolos en biomasa rica en proteínas (Savoie et al., 2019). Esto proporciona una forma económica y respetuosa con el medio ambiente de convertir los desechos agroindustriales en materiales potencialmente valiosos que se pueden utilizar en la fabricación de papel, producción de combustible de biomasa, compostaje, alimentación humana y animal, entre otros (Besufekad et al., 2020; Sánchez, 2009). Incluso recientemente se han identificado ventajas de los desechos agrícolas lignocelulósicos utilizados como sustratos en FES para la obtención de enzimas y metabolitos secundarios (Ibarra-Cantún et al., 2020; Wang et al., 2019).

### Compuestos fenólicos totales (CFT)

La concentración mayor de compuestos fenólicos totales (CFT) se presentó en el día cero:  $0,87 \pm 0,12$  mg de EAG/g sustrato BS; sin embargo, este contenido corresponde a los metabolitos secundarios del residuo de manzana, que en ese momento no ha iniciado el proceso de fermentación. Este resultado fue bajo en comparación con otros experimentos que señalan concentraciones de hasta  $52,2 \pm 4,80$  mg de EAG/g sustrato BS en extracto de metanol del residuo de manzana (Peschel et al., 2006). Conforme avanza el tiempo de fermentación, el contenido de CFT disminuye, y fue a partir del día 21, con una concentración de  $0,39 \pm 0,07$  mg de EAG/g sustrato BS hasta el día 28 con una concentración de  $0,48 \pm 0,02$  mg de EAG/g sustrato BS, cuando se muestra una estabilización del contenido de CFT y un aumento en el día 28 de fermentación (figura 3). Esto mostró que la biosíntesis de compuestos fenólicos inició a partir del día 21, ya que la producción de compuestos bioactivos se realiza después de la trofofase, es decir, al inicio de la fermentación; el hongo toma los nutrientes necesarios para su crecimiento y adaptación a su medio y es hasta el proceso de idiofase, donde no existe proliferación celular, cuando presenta la biosíntesis de metabolitos secundarios, los cuales ayudan a la cepa de *Pleurotus* a permanecer y sobrevivir en el residuo (Liao et al., 1995).





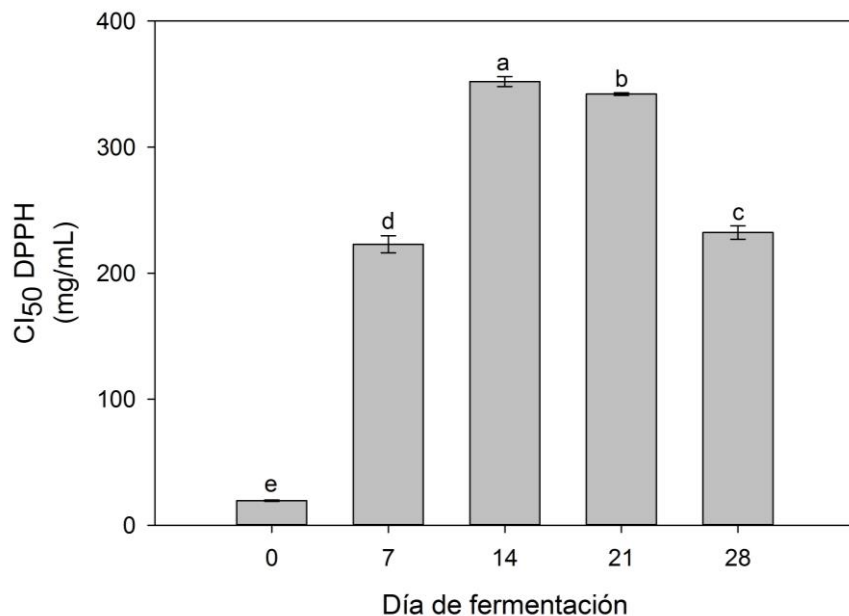
**Figura 3.** Compuestos fenólicos totales de la fermentación en estado sólido de *Pleurotus ostreatus* en residuos de manzana (mg EAG/g sustrato BS). Letras diferentes en cada columna indican diferencia significativa Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Fuente: Elaboración propia

La biosíntesis de CFT en residuos de piña y arroz, a partir de la fermentación sólida, reportó valores similares a los encontrados en esta investigación: concentraciones de 0,179-0,650 mg de EAG/g sustrato BS (Rashad et al., 2016). Sin embargo, en residuos de manzana bajo fermentación por *Phanerochaete chrysosporium* (Burdsall) (Fungi: Basidiomycota, Polyporales, Phanerochaetaceae), se reportaron concentraciones más altas: 4,6-16,12 mg de EAG/g sustrato BS en extractos con solventes de distinta polaridad (Ajila et al., 2011).

### Actividad antioxidante

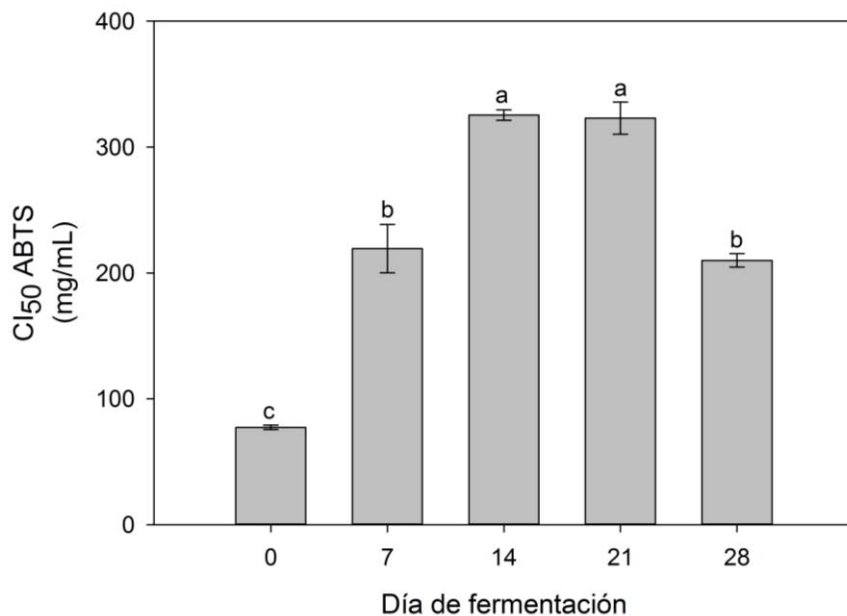
La actividad antioxidante tuvo el mismo comportamiento en el tiempo cero que el contenido de CFT, donde la actividad antioxidante fue mayor:  $19,47 \pm 0,57$  mg/mL, debido a que el residuo de manzana manifestó la mayor concentración de compuestos fenólicos. Posterior al inicio de la fermentación, la capacidad de los compuestos fenólicos para inhibir la formación de radicales DPPH se observó a partir del día 21 con una concentración de  $342,10 \pm 1,08$  mg/mL, llegando a los  $232,32 \pm 5,33$  mg/mL en el día 28; esta disminución se debe a una mayor actividad antioxidante del extracto de metanol, es decir, un valor de  $CI_{50}$  más bajo indica una mayor actividad antioxidante, ya que se requiere una menor concentración de antioxidantes necesarios para reducir la cantidad inicial del radical DPPH en un 50 % (Shrikanta et al., 2015) (figura 4).



**Figura 4.** Capacidad inhibitoria al 50 % de DPPH de la fermentación en estado sólido de *Pleurotus ostreatus* en residuos de manzana (mg/mL). Letras diferentes en cada columna indican diferencia significativa Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Fuente: Elaboración propia

En la prueba ABTS se presentó un intervalo de 77,29-325,44 mg/mL de residuo (figura 5). Además, se observó la misma tendencia del CI<sub>50</sub>-DPPH, una mayor actividad antioxidante en el día 0, y hasta el día 21 y 28 se volvió a manifestar dicha actividad con concentraciones de 323,02 y 210,08 mg/mL, respectivamente.



**Figura 5.** Capacidad inhibitoria al 50 % de ABTS de la fermentación en estado sólido de *Pleurotus ostreatus* en residuos de manzana (mg/mL). Letras diferentes en cada columna indican diferencia significativa Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Fuente: Elaboración propia

El incremento de la actividad antioxidante al final de la fermentación se debió a la producción de compuestos fenólicos totales que se generan después de la trofofase. Además, Dey et al. (2016) mencionan que los hongos degradan primero la lignina a través del efecto de las enzimas lignolíticas (lignina peroxidasa, manganeso peroxidasa y lacasa), y luego pueden acceder a polisacáridos ricos en energía para su metabolismo y continuar con su crecimiento. La hidrólisis enzimática de los conjugados fenólicos no solo libera fenólicos libres, sino que también produce un peso molecular más bajo que contribuye a aumentar la actividad antioxidante (Ferreira-Leitão et al., 2017; Verduzco-Oliva & Gutierrez-Uribe, 2020). Aunado a lo encontrado por Cai et al. (2012), quienes manifestaron que los compuestos fenólicos determinaron la capacidad antioxidante en residuos tratados a partir de la fermentación sólida, los contenidos tanto en compuestos fenólicos como en la capacidad antioxidante pueden variar por diferentes factores ecológicos: clima, cantidad lumínica, etapa de desarrollo, procesamiento y almacenamiento del material vegetal o residuo, así como las condiciones de extracción, el tiempo, el método, la temperatura de extracción, el tipo de solvente y la susceptibilidad a la degradación (Ignat et al., 2011; Palomino García et al., 2015; Zambrano et al., 2018). Por esta razón, es necesario seguir investigando acerca de la obtención de metabolitos secundarios, mediante la fermentación en estado sólido a partir de residuos lignocelulósicos.

## Conclusiones

El bagazo de manzana es una alternativa de aprovechamiento para las industrias alimentaria y farmacéutica, debido a la creciente demanda de compuestos fenólicos, dando así un uso a este residuo que contribuye a la sostenibilidad y a la conservación del medio ambiente. El análisis químico proximal arrojó que el contenido de carbohidratos, hemicelulosa, celulosa y lignina tuvieron las características óptimas para que el bagazo de manzana fuera empleado como sustrato en la generación de compuestos fenólicos totales a partir de la fermentación en estado sólido generada por el hongo *Pleurotus ostreatus*. Si bien el contenido de CFT disminuye al inicio de la FES, también mostró una estabilización en su contenido en el día 21 y se aprecia un aumento en el día 28, por lo que la propuesta de un ensayo con más días de fermentación puede darnos concentraciones mayores de CFT y de actividad antioxidante.

## Agradecimientos

Los autores agradecen al apoyo recibido al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por el financiamiento de la estancia posdoctoral a Diego Ibarra Cantún (convocatoria 2018) y al Programa de Desarrollo Profesional Docente para el Tipo Superior (PRODEP), con folio PTC-BUAP-PTC-560.

## Descargos de responsabilidad

Todos los autores realizaron aportes significativos al documento, están de acuerdo con su publicación y manifiestan que no existen conflictos de interés en este estudio.

## Referencias

- Afolabi, I. S. (2014). Moisture migration and bulk nutrients interaction in a drying food systems: A review. *Food and Nutrition Sciences*, 5(8), 692-714. <https://doi.org/10.4236/fns.2014.58080>
- Ajila, C. M., Brar, S. K., Verma, M., Tyagi, R. D., & Valéro, J. R. (2011). Solid-state fermentation of apple pomace using *Phanerocheate chrysosporium* – Liberation and extraction of phenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 126(3), 1071-1080. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.129>
- Andrade-Damián, M. F., Muñoz-Márquez, D. B., Wong-Paz, J. E., Veana-Hernández, F., Reyes-Luna, C., & Aguilar-Zárate, P. (2019). Estudio exploratorio de la extracción de pigmentos de *Curcuma longa* L. por fermentación en estado sólido utilizando cinco cepas fúngicas. *Mexican Journal of Biotechnology*, 4(3), 1-11. <https://doi.org/10.29267/mxjb.2019.4.3.1>
- Barrios-González, J., & Mejía, A. (1996). Production of secondary metabolites by solid-state fermentation. *Biotechnology Annual Review*, 2, 85-121. [https://doi.org/10.1016/S1387-2656\(08\)70007-3](https://doi.org/10.1016/S1387-2656(08)70007-3)
- Baydar, N. G., & Baydar, H. (2013). Phenolic compounds, antiradical activity and antioxidant capacity of oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill.) extracts. *Industrial Crops and Products*, 41, 375-380. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.04.045>
- Besufekad, Y., Mekonnen, A., Girma, B., Daniel, R., Tassema, G., Melkamu, J., Asefa, M., Fikiru, T., & Denboba, L. (2020). Selection of appropriate substrate for production of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Journal of Yeast and Fungal Research*, 11(1), 15-25. <https://doi.org/10.5897/JYFR2019.0187>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- De Boer, A., Urlings, M. J. E., & Bast, A. (2016). Active ingredients leading in health claims on functional foods. *Journal of Functional Foods*, 20, 587-593. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.11.025>
- Cai, S., Wang, O., Wu, W., Zhu, S., Zhou, F., Ji, B., Gao, F., Zhang, D., Liu, J., & Cheng, Q. (2012). Comparative study of the effects of solid-state fermentation with three filamentous fungi on the total phenolics content (TPC), flavonoids, and antioxidant activities of subfractions from oats (*Avena sativa* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(1), 507–513. <https://doi.org/10.1021/jf204163a>
- Castillo, Y., Ruiz, O., Angulo, C., Rodríguez, C., Elías, A., & La, O. (2011). Inclusión de residuos de panadería en algunos metabolitos e indicadores bromatológicos de la fermentación en estado sólido del bagazo de manzana. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 45(2), 141-144. <https://www.redalyc.org/pdf/1930/193022245007.pdf>

- Dey, T. B., Chakraborty, S., Jain, K. Kr., Sharma, A., & Kuhad, R. C. (2016). Antioxidant phenolics and their microbial production by submerged and solid state fermentation process: A review. *Trends in Food Science & Technology*, *53*, 60-74. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.04.007>
- Diario Oficial de la Federación [DOF]. (1985). Norma de Muestreo – Método de Cuarteo (NMX-AA-15-1985), México.
- Dilas, S., Čanadanović-Brunet, J., & Četković, G. (2009). By-products of fruits processing as a source of phytochemicals. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, *15*(4), 191-202. <https://doi.org/10.2298/CICEQ0904191D>
- Ferreira-Leitão, V., Cammarota, M., Gonçalves Aguiéiras, E., Vasconcelos de Sá, L., Fernandez-Lafuente, R., & Guimarães Freire, D. (2017). The protagonism of biocatalysis in green chemistry and its environmental benefits. *Catalysts*, *7*(1), 9. <https://doi.org/10.3390/catal7010009>
- Figuerola, F., Hurtado, M. L., Estévez, A. M., Chiffelle, I., & Asenjo, F. (2005). Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. *Food Chemistry*, *91*(3), 395-401. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.04.036>
- Garau, M. C., Simal, S., Rosselló, C., & Femenia, A. (2007). Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties of dietary fibre and antioxidant capacity of orange (*Citrus aurantium* v. Canoneta) by-products. *Food Chemistry*, *104*(3), 1014-1024. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.009>
- Helrich, K. (Ed.). (1990). *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (Vol. II). AOAC.
- Horwitz, W. (Ed.). (2006). *Official methods of analysis of AOAC International*. AOAC International.
- Ibarra-Cantún, D., Ramos-Cassellis, M. E., Marín-Castro, M. A., & Castelán-Vega, R. C. (2020). Secondary metabolites and antioxidant activity of the solid-state fermentation in apple (*Pirus malus* L.) and agave mezcalero (*Agave angustifolia* H.) bagasse. *Journal of Fungi*, *6*(3), 137. <https://doi.org/10.3390/jof6030137>
- Ignat, I., Volf, I., & Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, *126*(4), 1821-1835. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.026>
- Liao, X., Vining, L. C., & Doull, J. L. (1995). Physiological control of trophophase–idiophase separation in streptomycete cultures producing secondary metabolites. *Canadian Journal of Microbiology*, *41*(4–5), 309-315. <https://doi.org/10.1139/m95-043>
- Lin, C. S. K., Pfaltzgraff, L. A., Herrero-Dávila, L., Mubofu, E. B., Abderrahim, S., Clark, J. H., Koutinas, A. A., Kopsahelis, N., Stamatelatou, K., Dickson, F., Thankappan, S., Mohamed, Z., Brocklesby, R., & Luque, R. (2013). Food waste as a valuable resource for the production of chemicals, materials and fuels. Current situation and global perspective. *Energy & Environmental Science*, *6*(2), 426-464. <https://doi.org/10.1039/c2ee23440h>
- Mamma, D., Kourtoglou, E., & Christakopoulos, P. (2008). Fungal multienzyme production on industrial by-products of the citrus-processing industry. *Bioresource Technology*, *99*(7), 2373-2383. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.05.018>
- Martínez-Ávila, G. C. G., Ascacio-Valdés, J. A., Sepúlveda-Torre, L., Rodríguez-Herrera, R., Aguilera-Carbó, A., & Aguilar, C. N. (2013). Extracción asistida por fermentación

- fúngica de antioxidantes fenólicos. *Acta Química Mexicana*, 5(9), 16-24. <http://www.actaquimicamexicana.uadec.mx/articulos/AQM9/4.-%20extraccion.pdf>
- Martins, S., Mussatto, S. I., Martínez-Avila, G., Montañez-Saenz, J., Aguilar, C. N., & Teixeira, J. A. (2011). Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review. *Biotechnology Advances*, 29(3), 365-373. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.01.008>
- Mau, J.-L., Lin, H.-C., & Song, S.-F. (2002). Antioxidant properties of several specialty mushrooms. *Food Research International*, 35(6), 519-526. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(01\)00150-8](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00150-8)
- Mejía Giraldo, L. F., Martínez Correa, H. A., Betancourt Gutiérrez, J. E., & Castrillón Castaño, C. E. (2007). Aprovechamiento de residuo agroindustrial del mango común (*Mangifera indica* L.) en la obtención de azúcares fermentables. *Ingeniería y Ciencia*, 3(6), 41-62. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=83530603>
- Nigam, P., & Singh, D. (1994). Solid-state (substrate) fermentation systems and their applications in biotechnology. *Journal of Basic Microbiology*, 34(6), 405-423. <https://doi.org/10.1002/jobm.3620340607>
- Palomino García, L. R., Biasetto, C. R., Araujo, A. R., & Bianchi, V. L. D. (2015). Enhanced extraction of phenolic compounds from coffee industry's residues through solid state fermentation by *Penicillium purpurogenum*. *Food Science and Technology*, 35(4), 704-711. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.6834>
- Pandey, A. (2003). Solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 13(2-3), 81-84. [https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(02\)00121-3](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(02)00121-3)
- Pathania, S., Sharma, N., & Handa, S. (2018). Utilization of horticultural waste (Apple Pomace) for multiple carbohydrase production from *Rhizopus delemar* F<sub>2</sub> under solid state fermentation. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(1), 181-189. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2017.10.013>
- Peñarrieta, J. M., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., & Bravo, J. A. (2014). Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Revista Boliviana de Química*, 31(2), 68-81. [http://www.bolivianchemistryjournal.org/QUIMICA%202014B/6 Phenolics in%20foods.pdf](http://www.bolivianchemistryjournal.org/QUIMICA%202014B/6%20Phenolics%20in%20foods.pdf)
- Peschel, W., Sánchez-Rabaneda, F., Diekmann, W., Plescher, A., Gartzía, I., Jiménez, D., Lamuela-Raventós, R., Buxaderas, S., & Codina, C. (2006). An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. *Food Chemistry*, 97(1), 137-150. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.03.033>
- Piña-Guzmán, A. B., Nieto-Monteros, D. A., & Robles-Martínez, F. (2016). Utilización de residuos agrícolas y agroindustriales en el cultivo y producción del hongo comestible seta (*Pleurotus* spp.). *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 32(1), 141-151. <https://doi.org/10.20937/RICA.2016.32.05.10>
- Raghavendra, S. N., Ramachandra Swamy, S. R., Rastogi, N. K., Raghavarao, K. S. M. S., Kumar, S., & Tharanathan, R. N. (2006). Grinding characteristics and hydration properties of coconut residue: A source of dietary fiber. *Journal of Food Engineering*, 72(3), 281-286. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.12.008>
- Ramírez-Carmona, M., & Muñoz-Blandón, O. (2016). Agroindustrial waste cellulose using fermented broth of white rot fungi. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 15(1), 23-31. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v15n1/1665-2738-rmiq-15-01-00023.pdf>

- Rashad, M. M., Abdou, H. M., & Mahmoud, A. E. (2016). Production of some bioactive materials by *Pleurotus ostreatus* from pineapple residues and rice straw via solid state fermentation. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 7(5), 2730-2736. [https://www.rjpbcs.com/pdf/2016\\_7\(5\)/\[349\].pdf](https://www.rjpbcs.com/pdf/2016_7(5)/[349].pdf)
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Robinson, T., Singh, D., & Nigam, P. (2002). Fermentación en estado sólido: Una tecnología microbiana promisoría para la producción de metabolitos secundarios. *Vitae*, 9(2), 27-36. <https://www.redalyc.org/pdf/1698/169818107003.pdf>
- Rodríguez Couto, S. (2008). Exploitation of biological wastes for the production of value-added products under solid-state fermentation conditions. *Biotechnology Journal*, 3(7), 859-870. <https://doi.org/10.1002/biot.200800031>
- Rojas-González, A. F., Flórez-Montes, C., & López-Rodríguez, D. F. (2019). Prospectivas de aprovechamiento de algunos residuos agroindustriales. *Revista Cubana de Química*, 31(1), 31-52. <http://scielo.sld.cu/pdf/ind/v31n1/2224-5421-ind-31-01-31.pdf>
- Romelle, F. D., Rani, A., & Manohar, R. S. (2016). Chemical composition of some selected fruit peel. *European Journal of Food Science and Technology*, 4(4), 12-21. <https://www.eajournals.org/wp-content/uploads/Chemical-Composition-of-Some-Selected-Fruit-Peels.pdf>
- Ruales-Salcedo, A. V., Rojas-González, A. F., & Cardona-Alzate, C. A. (2017). Obtención de compuestos fenólicos a partir de residuos de uva isabella (*Vitis labrusca*). *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 15(2), 72-79. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(v15\)edicionespecialn2.578](https://doi.org/10.18684/bsaa(v15)edicionespecialn2.578)
- Salinas-Flores, A., Guevara-Aguilar, A., Natividad-Torres, E. A., Baeza-Jiménez, R., & Buenrostro-Figueroa, J. J. (2019). Efecto de las condiciones de extracción sobre la capacidad antioxidante de compuestos fenólicos de cáscara de granada. *Mexican Journal of Biotechnology*, 4(2), 33-46. <https://doi.org/10.29267/mxjb.2019.4.2.33>
- Sánchez, C. (2009). Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnology Advances*, 27(2), 185-194. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.11.001>
- Sandulachi, E. (2012). Water activity concept and its role in food preservation. *Meridian Engineering*, 4, 40-48. [https://utm.md/meridian/2012/MI\\_4\\_2012/8\\_Art\\_Sandulachi\\_E\\_Water.pdf](https://utm.md/meridian/2012/MI_4_2012/8_Art_Sandulachi_E_Water.pdf)
- Shrikanta, A., Kumar, A., & Govindaswamy, V. (2015). Resveratrol content and antioxidant properties of underutilized fruits. *Journal of Food Science and Technology*, 52(1), 383-390. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-0993-z>
- SAS Institute Inc. (1999). *SAS/STAT®* (Versión 9.0) [Software]. SAS Institute Inc. [https://www.sas.com/es\\_co/software/stat.html](https://www.sas.com/es_co/software/stat.html)
- Savoie, J.-M., Mata, G., Atanasova Penichon, V., & Foulonge-Oriol, M. (2019). Using mushroom-forming fungi in preventing and reducing mycotoxins in cereal products. *Scientia Fungorum*, 49, e1256. <https://doi.org/10.33885/sf.2019.49.1256>
- Schwanninger, M., & Hinterstoisser, B. (2002). Klason Lignin: Modifications to improve the precision of the standardized determination. *Holzforschung*, 56(2), 161-166. <https://doi.org/10.1515/HF.2002.027>

- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP]. (2019, junio 27). *Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera SIAP*. [http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos\\_a.php](http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos_a.php)
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158. <http://www.ajevonline.org/content/16/3/144.full.pdf>
- Socol, C. R., Ferreira da Costa, E. S., Letti, L. A. J., Karp, S. G., Woiciechowski, A. L., & Vandenberghe, L. P. de S. (2017). Recent developments and innovations in solid state fermentation. *Biotechnology Research and Innovation*, 1(1), 52-71. <https://doi.org/10.1016/j.biori.2017.01.002>
- Szymańska-Chargot, M., Chylińska, M., Gdula, K., Koziol, A., & Zdunek, A. (2017). Isolation and characterization of cellulose from different fruit and vegetable pomaces. *Polymers*, 9(10), 495. <https://doi.org/10.3390/polym9100495>
- Vargas, Y. A., & Pérez, L. I. (2018). Aprovechamiento de residuos agroindustriales para el mejoramiento de la calidad del ambiente. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 14(1), 59-72. <https://doi.org/10.18359/rfcb.3108>
- Verduzco-Oliva, R., & Gutierrez-Urbe, J. A. (2020). Beyond enzyme production: Solid state fermentation (SSF) as an alternative approach to produce antioxidant polysaccharides. *Sustainability*, 12(2), 495. <https://doi.org/10.3390/su12020495>
- Vicente, A. R., Manganaris, G. A., Sozzi, G. O., & Crisosto, C. H. (2009). Nutritional quality of fruits and vegetables. En W. J. Florkowski, R. L. Shewfelt, B. Brueckner, & S. E. Prussia (Eds.), *Postharvest Handling. A Systems Approach* (pp. 69-122). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-408137-6.00005-3>
- Vicente, F., Cueto, M. A., de la Roza, B., & Argamentería, A. (2005). Caracterización de subproductos de la manzana para su uso en nutrición animal. *ITEA*, 26(2), 560-662.
- Wang, F., Xu, L., Zhao, L., Ding, Z., Ma, H., & Terry, N. (2019). Fungal laccase production from lignocellulosic agricultural wastes by solid-state fermentation: A review. *Microorganisms*, 7(12), 665. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7120665>
- Younis, K., & Ahmad, S. (2015). Waste utilization of apple pomace as a source of functional ingredient in buffalo meat sausage. *Cogent Food & Agriculture*, 1(1), 1119397. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1119397>
- Zambrano, C., Kotogán, A., Bencsik, O., Papp, T., Vágvölgyi, C., Mondal, K. C., Krisch, J., & Takó, M. (2018). Mobilization of phenolic antioxidants from grape, apple and pitahaya residues via solid state fungal fermentation and carbohydrase treatment. *LWT*, 89(1), 457-465. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.025>
- Zheng, H., Hwang, I.-W., & Chung, S.-K. (2009). Enhancing polyphenol extraction from unripe apples by carbohydrate-hydrolyzing enzymes. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, 10(12), 912-919. <https://doi.org/10.1631/jzus.B0920186>
- Zhou, S., Ma, F., Zhang, X., & Zhang, J. (2016). Carbohydrate changes during growth and fruiting in *Pleurotus ostreatus*. *Fungal Biology*, 120(6-7), 852-861. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2016.03.007>