

## ESTUDIO PRELIMINAR DE LA COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DEL HONGO *Pleurotus ostreatus* CULTIVADO EN PULPA DE CAFÉ

Jessica I. Nieto-Juárez<sup>a</sup>, Ángel D. Cuzcano-Ruiz<sup>a</sup>, Walter A. Reyes-López<sup>a</sup>

### RESUMEN

Este trabajo de investigación tiene como finalidad obtener un alimento proteico y nutritivo mediante el cultivo de setas a partir de los residuos agrícolas e industriales, siendo la pulpa de café un residuo potencial para este propósito, con el fin de mejorar la salud pública y ambiental, reduciendo así la contaminación que estos residuos sólidos generan.

La composición nutricional de la seta *Pleurotus ostreatus* cultivado en pulpa de café fue estudiado, como un control de calidad para su consumo. La seta fue obtenida mediante la biotransformación del residuo sólido lignocelulósico (pulpa de café), fermentación en estado sólido. La pulpa de café fue suministrada por los cafetaleros del departamento de Amazonas (selva peruana) y Piura (sierra peruana).

Los resultados mostraron que el contenido de macronutrientes y micronutrientes en la seta *Pleurotus ostreatus* cultivado en pulpa de café procedente de los departamentos de Amazonas y Piura fueron similares. El contenido de proteína cruda, en muestra seca, fue de 28,6 % y 29,7 %, respectivamente, con un alto contenido de agua (~ 86 %) y un bajo contenido en carbohidratos (< 8 %) y grasas (< 1 %) en muestra fresca. El contenido de micronutrientes fue mayoritariamente de potasio, seguido de calcio, magnesio, sodio y trazas de hierro. La cantidad de cafeína en la seta fue menor a 10 µg/g en muestra seca.

Por consiguiente, esto indica que el alimento (seta de ostra) obtenido a partir del residuo pulpa de café es altamente proteico y saludable, el cual podría ser incluido en la dieta diaria para mejorar la salud de las personas, nutrición y controlar enfermedades.

**Palabras clave:** *Pleurotus ostreatus*, pulpa de café, macronutrientes, micronutrientes, cafeína.

---

<sup>a</sup> Grupo de Investigación en Calidad Ambiental y Bioprocesos (GICAB), Facultad de Ingeniería Química y Textil, Universidad Nacional de Ingeniería, Av. Túpac Amaru N° 210, Lima 25, Perú, jnieto@uni.edu.pe

## PRELIMINARY STUDY OF THE NUTRITIONAL COMPOSITION OF THE EDIBLE MUSHROOM *Pleurotus ostreatus* GROWN IN COFFEE PULP

### ABSTRACT

This research work aims to obtain a nutritious and protein food by growing of edible mushrooms from agricultural and industrial waste, being the coffee pulp a potential waste for this purpose, in order to improve public and environmental health, thus reducing the pollution that these solid waste generate.

The nutritional composition of the edible mushroom *Pleurotus ostreatus* grown in coffee pulp was studied as a quality control for its human consumption. The edible mushroom was obtained by the biotransformation of the lignocellulosic solid waste (coffee pulp), i.e. solid-state fermentation. The waste of coffee pulp was supplied by coffee farmers from the Department of Amazonas (Peruvian Rainforest) and Piura (Peruvian Highlands).

The results showed that the content of macro and micronutrients in the oyster mushroom grown in coffee pulp from the department of Amazonas and Piura were similar. The content of crude protein, in dry sample, was of 28,6 % and 29,7 % respectively, with a high-water content (~ 86 %) and a low content of carbohydrates (< 8%) and fats (< 1%), in fresh sample. The micronutrient content was mostly potassium, followed by calcium, magnesium, sodium and traces of iron. The content of caffeine in the oyster mushroom was less than 10 µg/g in dry sample.

Therefore, this indicates that the oyster mushroom grown on coffee pulp waste is highly nutritious and healthy, which could be included in the daily diet to improve people's health, nutrition and control diseases.

**Key words:** *Pleurotus ostreatus*, coffee pulp, macronutrients, micronutrients, caffeine.

### INTRODUCCIÓN

La biotransformación de los residuos agrícolas o agroindustriales mediante el cultivo de hongos es considerada como un método de tratamiento ecológico y de valorización debido al aprovechamiento de estos residuos para transformarlos a un alimento nutritivo (setas) que podría servir para la comercialización, y, a su vez, en la reducción del impacto ambiental que estos residuos sólidos generan.

Los hongos comestibles (setas), como *Pleurotus* spp., *Lentinula edodes*, *Volvariella volvacea*, *Auricularia* spp., *Flammulina velutipes*, entre otros, son considerados alimentos funcionales de alto valor nutricional y medicinal<sup>1-3</sup>. Su composición nutricional depende de la especie del hongo, del tipo de residuo sólido lignocelulósico y del método de cultivo<sup>4</sup>. Siendo los hongos comestibles *Pleurotus* spp., particularmente *Pleurotus ostreatus*, el más estudiado

y producido a nivel mundial debido, principalmente, a que crece en una gran variedad de residuos lignocelulósicos y a su fácil manejo en la producción. Su composición nutricional, en macronutrientes, presenta un significativo contenido, en materia seca, de proteínas (17-42 %) con buena distribución de aminoácidos esenciales y no esenciales, bajo contenido de carbohidratos (37-48 %), grasas (0,5-5 %), y, considerable contenido de fibra (24-31 %) y vitaminas<sup>5</sup>. La composición, en micronutrientes (minerales), encontrados en el cuerpo fructífero del hongo *Pleurotus ostreatus*, comúnmente llamado seta de ostra, son el potasio como elemento mayoritario, seguido por el fósforo, magnesio, sodio, calcio, hierro, zinc, manganeso y cobre<sup>5, 6</sup>.

Los sustratos lignocelulósicos, basados en residuos de café, utilizados en el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* están siendo estudiados ampliamente, debido a que se generan residuos sólidos de gran volumen e importancia ambiental<sup>7-9</sup>. La industria cafetalera desecha el 90,5 % como pulpa (vía húmeda), cáscara (vía seca), mucílago y pergamino<sup>10</sup>, siendo los más investigados la pulpa de café.

En el Perú es escasa la producción de setas de ostra (*Pleurotus ostreatus*), y se suma el desconocimiento de los aportes nutricionales de la seta cultivado en estos residuos, debido principalmente a la poca información científica o cultural que se tiene, que, por consiguiente, limita su consumo culinario y producción. A pesar de que hay evidencias que nuestras culturas pre-Inca tenían conocimiento sobre los hongos, y, sobre sus usos y beneficios, como puede verse en los mantos y huacos<sup>11</sup>. Adicionalmente, las propiedades nutricionales de las setas dependen del tipo de especie de hongo, del residuo sólido lignocelulósico y de las condiciones de cultivo. Por lo que, investigaciones para determinar la composición nutricional de setas cultivadas en residuos sólidos lignocelulósicos deben ser direccionadas, para luego, recién ser incorporadas en la dieta diaria para consumo y, finalmente, su comercialización.

El objetivo de esta investigación es evaluar la composición nutricional del hongo *Pleurotus ostreatus* cultivado en pulpa de café de dos zonas productoras de café del Perú (departamentos de Amazonas y Piura), como un control de calidad para su consumo, y, a su vez, para que sea utilizado como una alternativa de tratamiento para la reducción de la contaminación ambiental y el aprovechamiento de estos residuos. La semilla micelial del hongo se preparó a partir de un basidiocarpo comercial en el laboratorio. La composición nutricional de la seta de ostra se determinó mediante el análisis de macronutrientes y micronutrientes (minerales), y la presencia de cafeína fue también evaluada.

Además, cabe resaltar que esta investigación no solo tiene implicancias de mejorar la salud, sino también de reducir la contaminación ambiental que estos residuos generan mediante un tratamiento ecológico y sostenible que es el cultivo de hongos a partir de estos residuos.

## PARTE EXPERIMENTAL

La pulpa de café (*Coffea arabica*) fue suministrada por los cafetaleros de la provincia de Huancabamba en el departamento de Piura (sierra peruana) y por la provincia de Rodríguez de Mendoza en el departamento de Amazonas (selva peruana), quienes cultivan café orgánico, el cual fue usado como sustrato en el cultivo de las setas de ostra (*Pleurotus ostreatus*) mediante proceso de fermentación en estado sólido.

### Preparación de la semilla micelial o spwan (inóculo)

La cepa original del hongo *Pleurotus ostreatus* se obtuvo a partir de un basidiocarpo comercial, el cual fue cultivado en medio PDA (agar papa dextrosa) en placas petri en condiciones de asepsia e incubado a una temperatura de  $25 \pm 2$  °C<sup>8</sup>. Una vez que la expansión másica del micelio ha invadido toda la placa petri, se procedió a fraccionar el micelio, para ser usado en la elaboración de la semilla micelial.

La preparación de la semilla micelial *Pleurotus ostreatus* se realizó en granos de trigo, como un sustrato intermedio, para ser usado como inóculo en el sustrato definitivo, pulpa de café. Esto consistió en usar una fracción del micelio de la placa petri y añadirlo al sustrato intermedio, que ha sido precocido y esterilizado a temperatura de 121°C y presión de 15 psi por 20 minutos en bolsas de polipropileno. Estas bolsas con los granos de trigo y micelio se incubaron a  $25 \pm 2$  °C en oscuridad, y al cabo de dos semanas, los granos de trigo se encontraban invadidos por completo por el micelio, indicando que está listo para ser usado como inóculo en el residuo de pulpa de café.

### Acondicionamiento del sustrato

La preparación del sustrato consistió en pasteurizar e hidratar la pulpa de café. La pasteurización se realizó a una temperatura de  $85 \pm 5$  °C por dos horas, para eliminar los microorganismos que pueden ser competidores en la producción del hongo. La hidratación consistió en humedecer el residuo de café hasta una humedad de 70 %. Esto se logró al finalizar el proceso de pasteurización, se desechó el agua y se dejó secar a temperatura ambiente el sustrato hasta la humedad requerida, la cual se midió mediante la prueba del puño<sup>12</sup>.

### Producción del hongo

La producción del hongo en la pulpa de café se realizó en cuatro etapas: inoculación, incubación, fructificación y cosecha según Rodríguez y Jaramillo<sup>8</sup>, como puede verse en la figura 1. La inoculación consistió en mezclar la semilla micelial con el sustrato acondicionado a una proporción del 10 % (g semilla/100 g sustrato húmedo) en una bolsa de polipropileno, para 1 kg de sustrato. La incubación de las muestras inoculadas se realizó en una incubadora a una temperatura de  $25 \pm 2$  °C y en oscuridad, la expansión másica del micelio en el sustrato acondicionado duró 20 días. Una vez terminada la incubación, se procedió a fructificar las muestras, que consistió en sacar las muestras de la incubadora y ponerlas en una vitrina condicionada con ligera luz (12 h diarias), ventilación ambiental y a una temperatura de  $18,9 \pm 1$  °C y humedad relativa de  $85 \pm 5$  % (meses de junio a setiembre en Lima), y se removió

la bolsa a las muestras para un mejor desarrollo de los primordios y crecimiento del cuerpo fructífero. Una vez que el cuerpo fructífero estaba maduro, se procedió a cosechar las setas entre 7 a 15 días. La eficiencia biológica (E.B., %) se define como la producción del cuerpo fructífero fresco entre el sustrato seco<sup>8</sup>.

#### **Análisis de macronutrientes (proximal)**

El análisis proximal fue realizado mediante métodos de ensayo de la FAO Food and Nutrition Paper 14/7<sup>13</sup>. Se determinó carbohidratos, grasas, proteínas, humedad, cenizas, energía calorífica en la seta de ostra (muestra fresca).

#### **Análisis de micronutrientes (minerales)**

El análisis cuantitativo de los microelementos en la seta de ostra (muestra seca), se determinó por un equipo de Absorción Atómica, contrAA 800 Analytik Jena en el Laboratorio 21 de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional de Ingeniería. Los microelementos que se determinaron fueron potasio, sodio, calcio, magnesio, cobre, hierro, zinc y manganeso en la seta de ostra (muestra seca).

#### **Análisis de cafeína**

El contenido de cafeína, en la seta de ostra (muestra seca), se determinó mediante Cromatógrafo Líquido de Alto Rendimiento-HPLC Shimadzu, con detector de arreglo de diodos (DAD), a una longitud de onda de 272 nm, con fase móvil de agua:metanol (75:25), flujo de 1 ml/min y columna RP C18 Restek de 250 mm x 4,6 mm ID x 5 µm. El tratamiento de la muestra fue realizado mediante la norma técnica AOAC 960.2514 y la determinación de la cafeína por HPLC fue realizado según DIN 20481<sup>15</sup>.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* en el residuo pulpa de café duró de 27 a 35 días (figura 1). La eficiencia biológica (E.B.) del cultivo procedente de los departamentos de Amazonas y Piura fue de  $121,7 \pm 8,1$  % y  $90,2 \pm 10,0$  %, respectivamente. Estudios previos han reportado una E.B. de 159,9 % inoculado entre 0,5 y 3 % de spawn<sup>9</sup>, de 110-120 % no reporta la cantidad de semilla micelial utilizada<sup>16</sup> y de 90 % inoculado al 3 % de spawn<sup>8</sup>, evidenciando que nuestros resultados fueron similares en la producción del hongo *Pleurotus ostreatus* cultivado en pulpa de café, a pesar de que fue inoculado tres veces más. Esto debido, a ensayos previos que se realizaron sobre la E.B. en función de la cantidad de semilla micelial adicionado al sustrato acondicionado (pulpa de café), cuyos resultados mostraron que la óptima cantidad de semilla micelial estaba en 10 % bajo nuestras condiciones de cultivo, menor a esa cantidad el tiempo de cultivo era superior a 45 días y a mayor cantidad de semilla no aumentaba significativamente la producción (datos no mostrados).



Figura 1. Proceso de cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* en el residuo pulpa de café.

Los valores nutricionales del cuerpo fructífero (seta de ostra), obtenido en la bioconversión del residuo pulpa de café procedente de los departamentos de Amazonas (DA) y Piura (DP), reportaron contenidos de macronutrientes y micronutrientes similares. El contenido de proteína cruda fue de 28,6 % y 29,7 % para el residuo del DA y DP, en muestra seca, indicando la capacidad del hongo *Pleurotus ostreatus* de asimilar y bioconvertir los residuos lignocelulósicos y nitrogenados del sustrato<sup>4,17</sup>. La seta de ostra presentó un alto contenido de agua (~ 86 %), con un bajo contenido en carbohidratos (< 8 %) y grasas (< 1 %), en muestra fresca para ambas procedencias del residuo pulpa de café, como se muestra en la tabla 1. Esto indica que la seta de ostra es un alimento proteico con bajo contenido calórico (< 50 kcal/100g hongos frescos). Investigaciones previas han reportado que el contenido de proteína a partir de este residuo de café varió de 17 a 35 %<sup>8, 16, 18</sup>, indicando que la procedencia del sustrato (ubicación geográfica) y las condiciones de cultivo pueden influir en la bioconversión del residuo y, por ende, en la composición nutricional de macronutrientes.

Tabla 1. Análisis cuantitativo de macronutrientes de la seta *Pleurotus ostreatus* cultivado en pulpa de café de los departamentos de Piura y Amazonas (muestra fresca).

Muestra	Humedad (%)	Proteína (%)	Carbohidratos (%)	Grasas (%)	Ceniza (%)	Energía Total (kcal/100g)
Departamento de Piura						
Seta de ostra	88,11	3,53 29,69 <sup>a</sup>	7,37	0,03	0,96	43,87
Departamento de Amazonas						
Seta de ostra	87,36	3,61 28,56 <sup>a</sup>	7,92	0,09	1,02	46,93

<sup>a</sup> muestra en base seca

Con respecto al contenido de micronutrientes (minerales) en el cuerpo fructífero, se realizó previamente un análisis cualitativo, con el objeto de saber que microelementos contenía la seta para su posterior cuantificación, encontrándose la presencia de P, K (elementos mayores), Ca, Mg, Na (elementos menores) y trazas de Cu, Fe, Zn, Mn y Si (datos no mostrados). En base a esto, se procedió a realizar el análisis cuantitativo de los micronutrientes que son potenciales para la salud, siendo estos mayoritariamente de potasio (1400-1550 mg), seguido de calcio (450-550 mg), magnesio (425-450 mg), sodio (330-345 mg) y trazas de hierro (18-21 mg) en 100 g de muestra seca, para ambas procedencias del residuo pulpa de café, como se muestra en la tabla 2. Como puede observarse, la composición de minerales no presenta diferencias significativas por la procedencia del sustrato, pero sí una importante cantidad de estos para la salud. El contenido de Cu, Zn y Mn no fue detectado (L.D. < 1 ppm). Investigaciones previas han reportado que la seta *Pleurotus ostreatus*, cultivada en otros sustratos, contienen mg elemento/100 g muestra seca, como elemento mayoritario al potasio (1400-5000), seguido por el fósforo (600 -1400), magnesio (156-203), sodio (54-136), calcio (47), hierro (13), zinc (5), manganeso (1,3) y cobre (1,2)<sup>6, 8</sup>.

Estas propiedades nutricionales presentes en la seta de ostra, cultivada en residuo pulpa de café, la convierten en un alimento altamente nutritivo y proteico, el cual podría ser incorporado en la dieta diaria para su consumo, con el objetivo de mejorar la salud de las personas, la nutrición y controlar enfermedades como anemia, diabetes, colesterol, entre otras.

**Tabla 2.** Análisis cuantitativo de micronutrientes de la seta *Pleurotus ostreatus* cultivada en pulpa de café de los departamentos de Piura y Amazonas (muestra seca).

Muestra	Microelementos (mg/100 g MS)							
	K	Ca	Mg	Na	Fe	Cu	Zn	Mn
Departamento de Piura (sierra peruana)								
Seta de ostra	1537,9	451,5	449,5	332,0	18,4	N.D.	N.D.	N.D.
Departamento de Amazonas (selva peruana)								
Seta de ostra	1406,9	554,5	428,7	348,5	20,8	N.D.	N.D.	N.D.
MS = muestra seca                      N.D. = no detectado (L.D. < 1 ppm)								

Como se muestra en la tabla 3, el contenido de cafeína en la seta ostra fue muy bajo, menor a 10,0 µg/g muestra seca, comparado con otros estudios que reportan una concentración de cafeína entre 0,1 y 0,2 % en la seta ostra cultivada en residuos de pulpa y cáscara de café<sup>19,20</sup>. Además, los resultados muestran que la seta absorbe alrededor de un 50 % la cafeína presente en la pulpa de café y el resto se queda en el residuo (sustrato agotado + hongo), indicando que la seta no es capaz de degradar la cafeína, como otros autores lo reportan<sup>19,21</sup>.

**Tabla 3.** Contenido de cafeína en la seta *Pleurotus ostreatus* cultivada en pulpa de café de los departamentos de Piura y Amazonas (muestra seca).

Muestra	µg cafeína/ g muestra seca	
	Piura	Amazonas
Seta de ostra	4,347 ± 0,014	9,630 ± 0,920
Residuo (sustrato agotado + hongo)	4,748 ± 0,015	16,786 ± 0,042

### CONCLUSIONES

En este estudio preliminar se encontró que la seta de ostra, cultivada en residuo pulpa de café, es un alimento altamente nutritivo y saludable. No hubo diferencias considerables en la composición nutricional de macronutrientes (análisis proximal) y micronutrientes (minerales) del hongo *Pleurotus ostreatus* cultivado en pulpa de café procedente de los departamentos de Amazonas y de Piura. El residuo pulpa de café resultó ser un excelente sustrato para el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus*.

### AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Instituto de Investigación de la Facultad de Ingeniería Química y Textil (Proyecto de Investigación Formativa 2017, código: CPD11-2017-6) y al Vicerrectorado de Investigación (Proyecto de Investigación Formativa 2018, código: PIF-FIQT-F-3-2018) de la Universidad Nacional de Ingeniería por el financiamiento para realizar la investigación.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cheung P. Mushrooms as functional foods. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.; 2008.
2. Martínez-Carrera D, Sobal M, Morales P, Martínez W, Martínez M, Mayett Y. Los Hongos comestibles: propiedades nutricionales, medicinales y su contribución a la alimentación mexicana. El *shiitake*. México: Editorial Colegio de Postgraduados (COLPOS); 2004.
3. Khan MA, Tania M. Nutritional and Medicinal Importance of *Pleurotus* Mushrooms: An Overview. *Food Rev Intern*. 2012; 28:313-329.
4. Barba M, Assumpção F, Aparecida H, Lopes G, Ávila S, Silveira P, y col. Review: Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. *Saudi J Biol Sci*. 2019; 26:633-646.
5. Deepalakshmi K, Mirunalini S. *Pleurotus ostreatus*: an oyster mushroom with nutritional and medicinal properties. *J Biochem Tech*. 2014; 5(2):715-726.



6. Carrasco-González JA, Sema-Saldívar SO, Gutiérrez-Urbe JA. Nutritional composition and nutraceutical properties of the *Pleurotus* fruiting bodies: Potential use as food ingredient. *J Food Compost Anal.* 2017; 58:69-81.
7. Fan L, Pandey A, Mohan R, Soccol CR. Use of various coffee industry residues for the cultivation of *Pleurotus ostreatus* in solid state fermentation. *Acta Biotechnol.* 2000; 20:41-52.
8. Rodríguez N, Jaramillo C. Cultivo de hongos comestibles del género *Pleurotus* sobre residuos agrícolas de la zona cafetalera, Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, CENICAFE 2004.
9. Martínez-Carrera D, Aguilar A, Martínez W, Bonilla M, Morales P, Sobal M. Chap45: Commercial production and marketing of edible mushrooms cultivated on coffee pulp in Mexico. En: Sera T, Soccol C, Pandey A, Roussos S. Eds. *Coffee Biotechnology and Quality*. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers; 2000, p. 471-488.
10. Mussatto SL, Machado EMS, Martins S, Teixeira JA. Production, Composition and Application of Coffee and its Industrial Residues. *Food Bioprocess Technol.* 2011; 4:661-672.
11. Trutmann P. The forgotten mushrooms of ancient Peru. *Global Mountain Action, Fungi and Mountains Publication Series* 2012; 1:33.
12. Palmero R. Elaboración de compost con restos vegetales por el sistema tradicional en pilas o montones [Internet]. Cabildo Insular de Tenerife, España: Servicio Técnico de Agricultura y Desarrollo Rural; 2010. [Consultado 4 Jun 2018]. Disponible en: <http://www.ecohabitar.org/wp-content/uploads/2013/10/elaboracion-de-compost-con-restos-vegetales-1.pdf>
13. FAO. *Manuals of food quality control. 7. Food analysis: general techniques, additives, contaminants and composition* [Internet]. Rome, Italy: FAO Food and Nutrition Paper 14/7; 1986 [Consultado 7 May 2018]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/AM808E/AM808E.pdf>
14. Horwitz W, Latimer GW. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 18<sup>th</sup> Ed; Gaithersburg, Md.: AOAC International; 2005.
15. Naegele E. Determination of caffeine in coffee products according to DIN 20481 [Internet]. Waldbronn, Germany: Agilent Technologies, Inc; 2016 [Consultado 7 May 2018]. Disponible en: <https://www.agilent.com/cs/library/applications/5991-2851EN.pdf>
16. Bermúdez RC, García CN, Serrano M, Rodríguez MI, Mustelier I. Conversión de residuos agroindustriales en productos de valor agregado por fermentación en estado sólido. *RTQ.* 2014; 34(3):263-274.
17. Bermúdez RC, Morris HJ, Donoso C, Martínez CE, Ramos EI. Influencia de la luz en la calidad proteica de *Pleurotus ostreatus* var. florida. *Rev Cuba Investig Bioméd.* 2003; 22(4):226-231.
18. Nieto IJ, Chegwin C. Influencia del sustrato utilizado para el crecimiento de hongos comestibles sobre sus características nutraceuticas. *Rev Col Biotecnol.* 2010; 2(1):169-178.

19. Fan L, Soccol AT, Pandey A, Porto de Souza L, Soccol CR. Effect of caffeine and tannins on cultivation and fructification of *Pleurotus* on coffee husks. *Brazilian J Microbiol.* 2006; 37:420-424.
20. Salmones D, Mata G, Waliszewski KN. Comparative culturing of *Pleurotus* spp. on coffee pulp and wheat straw: biomass production and substrate biodegradation. *Bioresour Technol.* 2005; 96:537-544.
21. Nieto Ramírez IJ, Chegwin Angarita C, Osorio Zuluaga HJ. Incorporación de cafeína en el hongo *Pleurotus sajor-caju* cultivado sobre pulpa de café. *Rev Iberoam Micol.* 2007; 24:72-74.