



Universidad de Valladolid

TRABAJO DE FIN DE GRADO

NUTRICIÓN HUMANA Y DIETÉTICA

CURSO 2016-2017

**EFECTOS DEL COCINADO DE LAS SETAS
COMESTIBLES *BOLETUS EDULIS* Y
LENTINULA EDODES SOBRE LAS
PROPIEDADES ANTIRRADICALARIAS**

AUTORA:

VERÓNICA DE LA FUENTE SANZ

TUTOR:

TOMÁS GIRBÉS JUAN

AGRADECIMIENTOS

Mi más sincero agradecimiento a mi tutor Tomás Girbés Juan por todos los conocimientos adquiridos durante el desarrollo del trabajo, así como por la ayuda ofrecida en la realización del mismo. A su vez agradecer la ayuda en laboratorio por parte de la profesora Pilar Jiménez López, y a los compañeros con los que he compartido laboratorio. También doy las gracias por la oportunidad de haber trabajado en el laboratorio del departamento con todo lo necesario siempre a mi disposición.

RESUMEN

En el presente estudio se ha comparado la composición en ciertas sustancias antioxidantes, así como su actividad antioxidante, antirradicalaria y poder reductor, en las setas *Boletus edulis* y *Lentinula edodes* en crudo y en cocinado, mediante diferentes métodos experimentales. Éstas son dos de las setas más consumidas habitualmente, sin embargo, su consumo suele ser en cocinado, por lo que conocer la pérdida o ganancia nutricional es fundamental para saber la cantidad ingerida de cada compuesto, ya que tienen una finalidad en el organismo. Los antioxidantes cumplen una función muy importante evitando estados extremos de estrés oxidativo a nivel celular, ayudando a los sistemas endógenos con la misma función. No obstante, un exceso de los mismos puede conllevar un efecto contrario, por ello puede resultar interesante conocer la cantidad total ingerida. Además de por su efecto antioxidante, las setas destacan por otras propiedades beneficiosas para la salud, como: efecto anticancerígeno, inmunomodulador, antihipercolesterolémico, antidiabético, antiobesogénico, etc. Muchos de estos efectos se deben a unos polisacáridos hallados en abundancia en algunos tipos de setas, como en *Lentinula edodes*, llamados β -glucanos. Por todo ello, es importante estudiar su composición en este tipo de sustancias, y poder aplicar estos conocimientos para utilizarlas como tratamiento para diversas enfermedades, ya sea dentro de la dieta o a nivel farmacológico.

Palabras clave: setas, antioxidantes, *Boletus edulis*, *Lentinula edodes*, cocinado

Índice

AGRADECIMIENTOS	2
RESUMEN.....	4
1. INTRODUCCIÓN	8
1.1 El reino Fungi.....	8
1.2 Estructura de los hongos	8
1.3 Composición química y nutricional de las setas	10
1.4 Propiedades medicinales de las setas	12
1.5 Propiedades culinarias y efectos de los tratamientos en las setas	13
1.6 Estrés oxidativo y efecto antioxidante.....	14
1.7 Descripción de las setas de estudio	17
2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	19
3. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1 Material biológico	21
3.2 Tratamientos culinarios en las muestras cocinadas	21
3.3 Obtención de los extractos	21
3.4 Determinación del contenido fenólico total	22
3.5 Determinación de la capacidad antioxidante.....	22
3.6 Determinación de la capacidad antirradicalaria	23
3.7 Determinación de los flavonoides totales.....	23
3.8 Determinación del poder reductor.....	23
4. RESULTADOS	25
4.1 Determinación del contenido fenólico total (Folin-Ciocalteau).....	25
4.2 Determinación de la actividad antioxidante (Cuprac).....	26
4.3 Determinación de la capacidad antirradicalaria (DPPH).....	28
4.4 Determinación de los flavonoides totales.....	29
4.5 Determinación del poder reductor.....	30

5. DISCUSIÓN	32
6. CONCLUSIONES	35
7. BIBLIOGRAFÍA.....	36
ANEXO I	1

1. INTRODUCCIÓN

1.1 El reino Fungi

Los hongos se definen como organismos eucariotas heterótrofos, ya sean unicelulares o pluricelulares, que absorben la materia orgánica a través de la pared celular, perteneciendo así al reino Fungi.

El reino Fungi fue descrito en 1969 por Robert H. Whittaker. En él diferencia a los hongos de las plantas debido a que: son heterótrofos y no autótrofos, carecen de clorofila, y su pared celular está formada mayoritariamente por quitina y glucanos, en vez de celulosa.

La diversa información científica que se obtiene a través del estudio de las distintas especies y géneros que forman parte de este reino hace que su clasificación sea confusa y esté en cambio de forma constante. No obstante, se pueden distinguir, mayormente, cinco divisiones: *Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Chytridiomycota*, *Glomeromycota*, *Microsporidia* y *Zygomycota* (Kirk, Cannon, Stalpers, & Minter, 2010).

1.2 Estructura de los hongos

La gran mayoría de los hongos, incluidos los microscópicos, tienen en común la formación de unos filamentos celulares, llamados hifas, las cuales pueden estar separadas por tabiques llamados septos. Es entre estas divisiones donde podemos encontrar los núcleos en el protoplasma, sin embargo, algunos hongos producen hifas aseptadas. El conjunto de estas hifas, posterior a su crecimiento, se denomina micelio.

Erróneamente se denomina seta al tipo de hongos macroscópicos a estudiar, pero la seta es tan sólo la parte fructífera de este, es decir, el fruto desarrollado a partir del micelio (hongo), el cual se encuentra bajo tierra. La principal función de la seta o carpóforo, es la reproductiva, produciendo y dispersando las esporas. No todos los hongos producen este cuerpo, por lo que no comparten la misma estructura, sin embargo, en las

setas comúnmente conocidas (*Basidiomycotas* y algunos *Ascomycotas*) podemos diferenciar las siguientes partes (Fig 1.1):

Volva: Se trata del resto del velo universal o general, que cubre a la seta antes de su desarrollo, y puede tener diferentes formas (abierta, circuncisa, saciforme, friable, membranosa, etc.), lo cual permite determinar la especie dentro del género. No todos los géneros lo desarrollan, encontrándose entre los más comunes *Amanita* y *Volvaria*.

Anillo: Es el resto del velo parcial, cuya función es cubrir el himenio durante su desarrollo. De nuevo, no se encuentra en todos los géneros, y según su forma puede ser: aplicado, ascendente, descendente, en rueda, doble, estriado cortiniforme, etc. En algunas setas se encuentra un anillo diferente denominado cortina, que suele desaparecer una vez completado el crecimiento del himenio.

Pié: Es la estructura que sostiene al himenio y al sombrero. También puede resultar definitoria a la hora de clasificar la seta, según su forma (delgado, atenuado, cilíndrico, grueso, en forma de maza, sinuoso, radicante, bulboso, hinchado, etc.) y según su superficie (liso, estriado, punteado, leonado, venoso, escamoso, escrobiculado, reticulado, etc.).

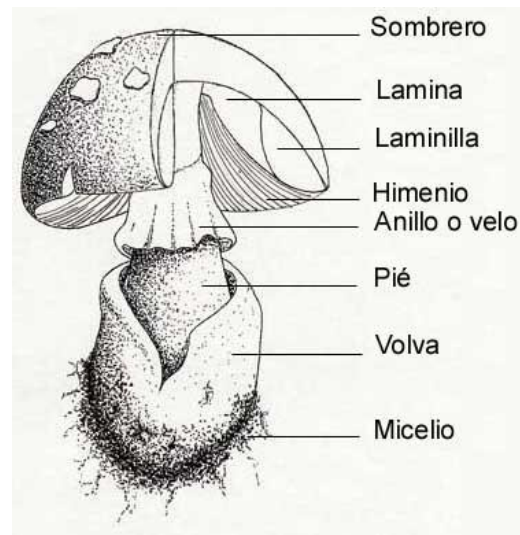


Figura 1.1 Estructura de una seta
(fuente: usuaris.tinet.cat/fongs)

Sombrero: Protege al himenio y, por lo tanto, fomenta la formación y dispersión de las esporas. Gracias al sombrero se puede hacer una gran diferenciación entre género y especies debido a las diferentes formas (convexa, deprimida, cónica, mamelonada, cilíndrica, infundibiliforme, hemisférica, extendido, embudada, etc.), tamaños y colores. Además, otras características fundamentales del sombrero para clasificar las setas son:

- Cutícula, la cual protege la superficie del sombrero y proporciona el color al mismo, y puede ser: flocosa, glabra, escamosa, fibrilosa, cuarteada, mechosa, etc.
- Margen o borde, que puede adquirir diferentes formas: ondulado, apendiculado, acanalado, festoneado, estriado, etc.

- Carne, que suele darle el olor y sabor característicos a la seta, y una consistencia definitoria, como puede ser: fibrosa, granulosa, dura o viscosa.

Himenio: Es la parte encargada de la creación, desarrollo y dispersión de las esporas, que será más eficiente cuanto mayor sea la superficie de la que disponga, lo cual depende de su forma (láminas, poros, pliegues y aguijones). Estas formas van a determinar en gran parte, también, la clasificación de estos hongos. La producción de las esporas puede realizarse mediante reproducción sexual o asexual.

Actualmente se estima que existan un total de 150.000-160.000 especies de setas, de las cuales solo se conocería el 10% aproximadamente. Las setas más consumidas a nivel mundial son *Agaricus bisporus*, *Lentinula edodes* y *Pleurotus spp*, en este orden, siendo China el país con mayor producción de setas comestibles.

1.3 Composición química y nutricional de las setas

La composición nutricional de las setas puede diferir bastante entre ellas, e incluso entre las de la misma especie según su forma de cultivo (silvestres o cultivadas), estadio de desarrollo y/o el lugar de recogida. Las setas destacan por su alto nivel de agua o humedad, la cual puede representar entre un 80% y un 90% (Reis, Barros, Martins, & Ferreira, 2012). En cuanto a la materia seca, se considera que las setas suponen una buena fuente de proteínas e hidratos de carbono beneficiosos.

La cantidad de proteína en las diferentes especies de setas puede variar mucho, desde el 10% hasta el 80% de la materia seca en algunos casos, como en la especie *Agaricus bisporus*, encontrándose la mayoría entre los 200-250g/Kg de materia seca (Barros, Baptista, Correia, Morais, & Ferreira, 2007) . El perfil de aminoácidos de las setas ha sido comparado con el de la proteína animal debido a su alto contenido en algunos como la leucina, valina, glutamina o, sobre todo, alanina, ácido glutámico y aspártico. Sin embargo, se observa que los valores bajos de metionina podrían hacer de éste un aminoácido limitante en las setas (Kalač, 2012).

El contenido en grasa es bajo, destacando en el perfil de ácidos grasos los monoinsaturados y poliinsaturados, sobre todo linoleico y oleico (Barros et al., 2007). En tercer lugar, pero en menor cantidad, se encuentra el ácido graso saturado palmítico.

Los hidratos de carbono suelen ser el nutriente más abundante en las setas, constituyendo aproximadamente la mitad de la materia seca, encontrándose los niveles más altos en *Lentinula edodes*. En este grupo destacan, sobre todo, los azúcares (polioles) y los polisacáridos (glucanos). Entre los polioles se encuentra una mayor cantidad de manitol y trealosa. Por otro lado, la quitina, polisacárido insoluble en agua, actúa como fibra, ya que no es digerible en humanos. Entre los glucanos, se ha realizado gran hincapié en el estudio de los β -glucanos, como el lentinano de *Lentinula edodes*, debido a sus efectos positivos en la salud (Money, 2016).

Respecto a los minerales, se observa un alto contenido en potasio y fósforo, semejante, e incluso superior, al de las plantas en algunos casos. En contraposición, es resaltable la baja cantidad de calcio y sodio encontrada en estos alimentos. Además, se ha estudiado el efecto acumulativo de algunas especies con respecto a metales pesados (sobre todo las que se encuentran cerca de las ciudades o carreteras) como el mercurio o el cadmio, que pueden resultar en un efecto perjudicial para la salud. También, se ha observado que algunas especies del género *Boletus*, especialmente *Boletus edulis*, destacan por tener grandes cantidades de Selenio, mineral deficiente en algunas poblaciones como la europea.

Otro aspecto negativo de las setas, en referencia a la acumulación de elementos perjudiciales para la salud, es la radioactividad, que es mayor que en las plantas de forma natural. Esto se ha visto agravado en catástrofes como la de Chernobyl o Fukushima.

El contenido en vitaminas destaca sobre todo por el ácido ascórbico y el tocoferol, además de vitaminas del grupo B, sin embargo, se encuentran en menores niveles que en los vegetales. Recientemente se ha centrado la atención en la posibilidad de las setas como fuente de provitamina de ergocalciferol (ergosterol), e incluso como fuente de Vitamina D2 en los casos de cultivo con suficiente luz (Kalač, 2012).

Por último, debido a la importancia que se ha dado en los últimos años al efecto antioxidante, se han estudiado los compuestos que podrían participar en este efecto en las setas. Se ha encontrado predominancia de los compuestos fenólicos, siendo en algunos casos mayoritarios los flavonoides.

En referencia a las diferencias entre especies silvestres o cultivadas, se observa que las segundas tienen mayores niveles de azúcares y grasas, sobre todo monoinsaturadas, mientras que las primeras son más ricas en proteínas y grasas

poliinsaturadas, además de tener un mayor contenido en fenoles (Barros, Cruz, Baptista, Estevinho, & Ferreira, 2008).

1.4 Propiedades medicinales de las setas

El uso medicinal de las setas es muy antiguo, sobre todo en China, ya sea con el cuerpo fructífero como tal, como con extractos en seco de las mismas. No obstante, no todos los efectos defendidos en la medicina tradicional China con respecto a estos hongos han sido demostrados, y muchos de ellos pueden resultar peligrosos para la salud. Por ello, se continúa estudiando los efectos beneficiosos para la salud reales y su posible aplicación, entre los que se encuentran los siguientes:

- El efecto antitumoral de las setas ha sido muy estudiado en los últimos años debido al aumento en la incidencia de los diferentes tipos de cáncer. Entre ellos, se ha visto que ciertas especies inhiben de manera significativa la actividad de diversos tipos, como el de mama, el carcinoma hepatocelular, el cáncer de cuello uterino, el pancreático, el gástrico o la leucemia aguda (M. Zhang, Cui, Cheung, & Wang, 2007). Gran parte de este efecto antitumoral se debe a los polisacáridos de algunas especies. En concreto, se ha estudiado el efecto de algunos β -glucanos como el lentinano (*Lentinula edodes*), que actúa activando el sistema inmune, y que ha sido utilizado desde 1985 en Japón junto con la quimioterapia, como tratamiento coadyuvante en el cáncer de estómago (Meng, Liang, & Luo, 2016).
- La actividad inmunomoduladora se debe, principalmente, a compuestos bioactivos como los polisacáridos, proteínas, proteoglucanos y triterpenoides. Uno de los mecanismos que utilizan para incrementar las funciones inmunes es aumentar la actividad de linfocitos, macrófagos y células natural-killer (Guo, Choi, & Cheung, 2012).
- Actividad antimicrobiana, antiviral, antibacteriana e, incluso, antifúngica. Esta capacidad antibacteriana también produce un efecto antiinflamatorio, que puede producirse, además, debido a los compuestos antioxidantes y a los polisacáridos, que disminuyen los niveles de citoquinas proinflamatorias.

- Efecto hipolipemiante y hepatoprotector, debido a que disminuye los niveles de lípidos sanguíneos y en el hígado, previniendo enfermedades metabólicas como la hipercolesterolemia o el hígado graso, y sus posibles consecuencias. Además, la disminución del colesterol mediante las estatinas se debe a la Lovastatina, la cual se aisló primeramente de las setas, y con algunas especies se observa un aumento del HDL colesterol (Martel et al., 2017).
- Efecto antidiabético y antiobesogénico mediante diferentes mecanismos, como: el efecto antiinflamatorio, en contraposición al efecto proinflamatorio de los adipocitos en situaciones de obesidad; el efecto saciante y la disminución de la absorción lipídica mediante la fibra, lo cual también contribuye al efecto hipolipemiante; o, la acción de los polisacáridos en la microbiota intestinal, promoviendo los efectos anteriores y aumentando la sensibilidad a la insulina. También se ha observado en algunos tipos de setas, como *Pleurotus eryngii*, un aumento del glucógeno hepático y la insulina, así como una recuperación de las células β pancreáticas (J. Zhang et al., 2016). Además, el valor calórico de estos alimentos es muy bajo, debido en gran parte a su mínimo contenido en grasas. Estos resultados se pueden observar con un consumo de al menos tres raciones por semana, sustituyendo a la carne roja en la dieta (Martel et al., 2017).
- Entre los efectos antioxidantes de las setas se pueden encontrar la inhibición de la peroxidación lipídica, la reducción de las lipoproteínas de baja densidad o la actividad antirradicalaria, entre otras. Se han observado altos niveles de fenoles en diferentes especies, pero se considera que los compuestos que más participan en la actividad antioxidante son los polisacáridos (J. Zhang et al., 2016).

En algunos casos se podría proceder al desarrollo de alimentos funcionales o medicinas para el tratamiento y la prevención de estas enfermedades, a partir de los compuestos activos que participan en los mecanismos por los que se producen estos efectos beneficiosos sobre la salud de la población (Cardoso et al., 2017).

1.5 Propiedades culinarias y efectos de los tratamientos en las setas

Los hongos han sido un recurso importante en la cocina, ya sea en la creación de alimentos para realizar diferentes tipos de fermentación, elaboración de quesos como el

camembert o el roquefort, o simplemente su uso en la elaboración de recetas. Éste último se ha convertido en un uso muy apreciado, tanto en la cocina tradicional de algunos países, como en la alta cocina debido a sus aromas y sabores, que hacen de los platos auténticos manjares, ya sea con el cuerpo fructífero como tal, como desecado.

Estos aromas se deben a su composición en derivados del octano y octeno, isoprenoides, aldehídos y cetonas, sulfuros y compuestos heterocíclicos (Kalač, 2012). Además, durante el cocinado se producen varias reacciones, como la de Maillard, la cual, debido a los productos que se generan, reporta colores, aromas y sabores característicos que llaman la atención del consumidor (Somoza, 2005).

No obstante, el cocinado, como ocurre con el resto de alimentos, conlleva una pérdida en el valor nutricional, no sólo a nivel de macronutrientes, sino también a nivel de micronutrientes y compuestos fenólicos o enzimáticos, con carácter antioxidante. Aunque en algunos casos, como en *Lentinula edodes*, se observa una ganancia en fenoles tras el cocinado, lo cual podría deberse principalmente a los compuestos con capacidad antioxidante resultantes de la reacción de Maillard (Choi, Lee, Chun, Lee, & Lee, 2006).

1.6 Estrés oxidativo y efecto antioxidante

Los radicales libres son especies con uno o más electrones desapareados que se producen en reacciones metabólicas con oxidación de sustratos. Entre los radicales libres más comunes se encuentran los del oxígeno (ROS), como el singulete ($^1\text{O}_2$), el subperóxido (O_2^-) o el peróxido (O_2^{2-}), entre otros. Además, existen radicales libres de otros átomos como el azufre, fósforo, nitrógeno, selenio, arsénico, hierro, bromo y cloro, el cual es de vital importancia en la alimentación debido a su presencia en el agua de consumo.

La presencia de estos radicales en el cuerpo humano es necesaria para diversos procesos metabólicos, y un exceso leve se neutraliza mediante diversos mecanismos fisiológicos. Sin embargo, cuando se supera esta capacidad neutralizante, el aumento de estos radicales lleva al cuerpo a un estado de estrés oxidativo, favoreciéndose patologías como el cáncer, la diabetes o enfermedades neurodegenerativas, así como el envejecimiento. Esto se debe a que los radicales libres reaccionan con biomoléculas como

las proteínas, el ADN, los lípidos o, incluso, los carbohidratos. Los ROS afectan en particular a las biomembranas causando lipoperoxidación (Fig 1.2).

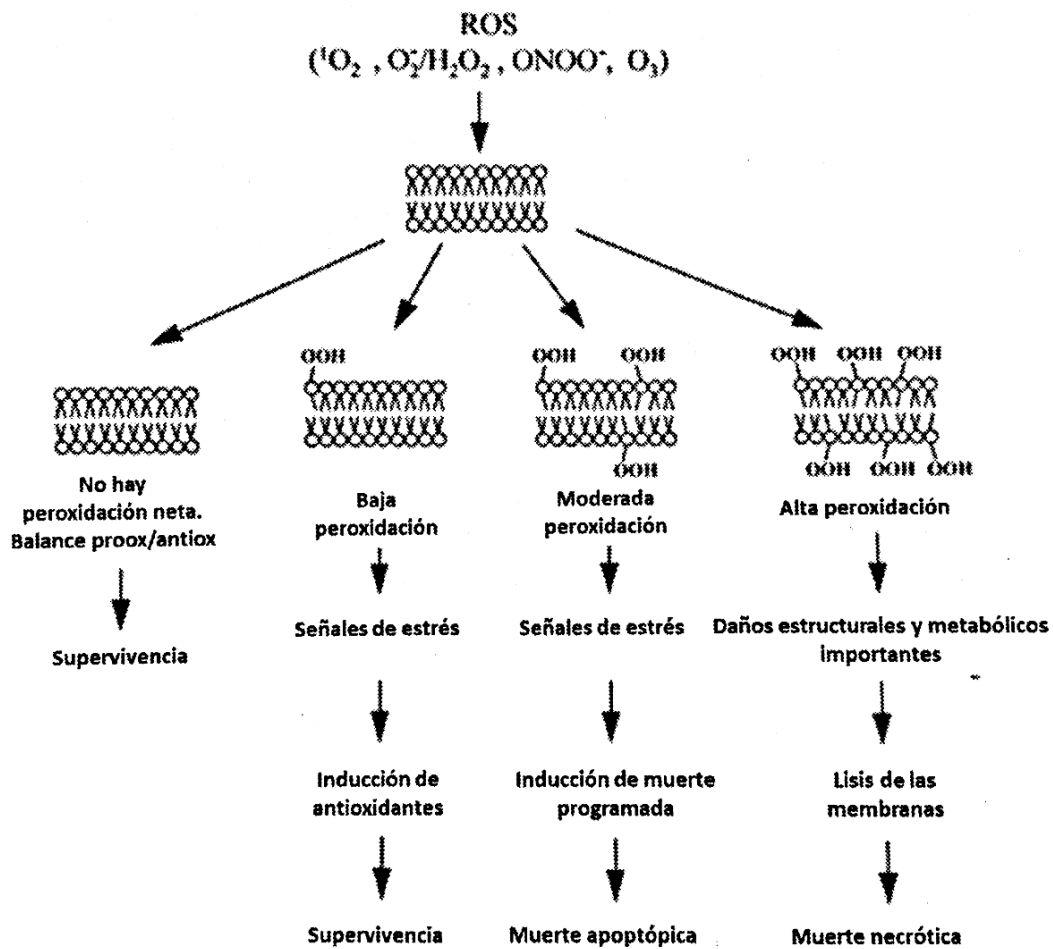


Figura 1.2 Efectos de los radicales libres del oxígeno (ROS) sobre las cadenas alifáticas de los fosfolípidos de membrana (Girbés et al., 2014)

Entre los sistemas endógenos de eliminación de radicales libres (Fig 1.3) se encuentran: Subperóxido dismutasa (SOD), Catalasa (CAT) y Glutación peroxidasa (GSH-Px). El potencial redox del glutati6n es el indicador general del estado redox celular (Agapito, Sanz-Alfayate, Gomez-Niño, Gonzalez, & Obeso, 2009). Este potencial depende del aporte de sustancias antioxidantes, entre ellas las vitaminas C y E, presentes en los alimentos.

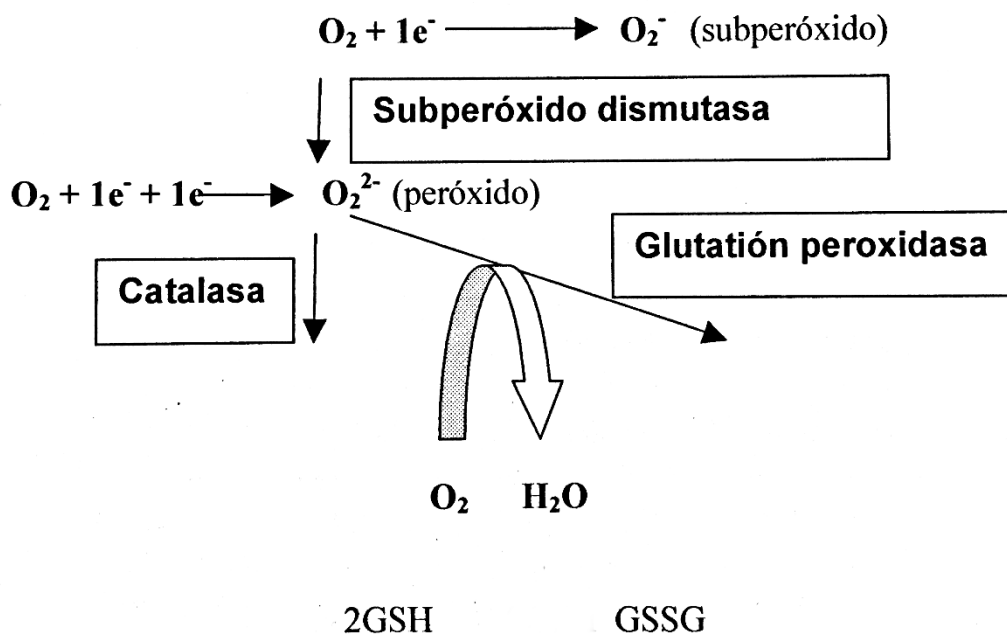


Figura 1.3 Sistemas endógenos de eliminación de radicales libres. (Girbés et al., 2014).

La utilización de antioxidantes dietarios o en suplementos puede ser un buen recurso para reducir el estrés oxidativo con las patologías que conlleva, sin embargo, en algunos casos puede ser contraproducente a altas dosis debido al efecto hormético. La hormesis se define como “la respuesta bifásica en que ciertos agentes químicos y físicos afectan a los seres vivos: dosis bajas provocan efectos ‘favorables’ y dosis altas provocan efectos ‘adversos’ (Jiménez, Descalzo, & Girbés, 2017).

Los antioxidantes encontrados en las setas son mayoritariamente compuestos fenólicos, destacando los ácidos fenólicos y los flavonoides, seguidos de los tocoferoles, el ácido ascórbico y los carotenoides (Ferreira, Barros, & Abreu, 2009).

1.7 Descripción de las setas de estudio

Boletus edulis (Fig 1.4): comúnmente conocido como hongo blanco o calabaza. Pertenece a la división *Basidiomycota*, clase *Homobasidiomycetes*, subclase *Agaricomycetidae*, orden *Boletales* y familia *Boletaceae*. Posee un sombrero de grandes dimensiones de color pardo, con gran cantidad de carne, viscosa en tiempo de lluvia y seca después. El pie también destaca por sus dimensiones, siendo en la mayoría de ocasiones más carnoso que el sombrero. La carne también cambia con la madurez de la propia seta, siendo más dura en la juventud y más esponjosa a posteriori. Además, esta especie destaca por su himenio con textura porosa, con tubos blancos al inicio de su desarrollo, pasando por amarillos y terminando en verdosos en la madurez final.



Figura 1.4 *Boletus edulis*.
(fuente: www.panfunghi.it)

Esta seta se puede encontrar desde finales de verano hasta final de otoño en bosques de hayas, robles, castaños y pinos. Destaca por su característico aroma y un sabor dulce a avellana, lo cual hace que sea muy apreciada en la alta gastronomía.

Su composición es de aproximadamente un 90% de humedad, con un contenido del 50% de carbohidratos, 30% de proteínas, 10% de grasa y 10% de cenizas, pertenecientes a la materia seca (Liu et al., 2016).

Lentinula edodes (Fig 1.5): La especie *Lentinus edodes* ha cambiado recientemente de nombre y ha pasado a denominarse *Lentiluna edodes* (UPOV & Pegler, 2011).

Esta seta es comúnmente conocida con el nombre “Shiitake”, pertenece a la división *Basidomycota*, clase *Homobasidiomycetes*, subclase *Agaricomycetidae*, orden *Tricholomatales* y familia *Pleurotaceae*.

Su sombrero es convexo, de color pardo oscuro, y en ocasiones cubierto por una cutícula escamosa. El himenio está formado por láminas de color blanco y el pie es corto y, frecuentemente, curvado, debido a su crecimiento en los troncos de los árboles. Su carne destaca por su espesor y color blanquecino, reportando un olor y sabor muy característicos que hacen de esta seta un alimento altamente utilizado en la realización de recetas culinarias.



Figura 1.5 *Lentinula edodes* (Shiitake).
(fuente: Wikimedia)

Su procedencia es asiática, por lo que en Europa es más frecuente encontrarla cultivada. En China se ha cultivado desde hace más de 1000 años, y su uso medicinal se remonta a cientos de años atrás, tratándose de la segunda especie más consumida en la actualidad.

Su composición es casi del 90% en humedad, y en materia seca: 73% de carbohidratos, 17% de proteínas, 2% de grasas y 8% de cenizas (Roncero-Ramos, Mendiola-Lanao, Pérez-Clavijo, & Delgado-Andrade, 2017). Además, destaca por su contenido en fibra, formada mayormente por quitina, lignina y β -glucanos. Entre los últimos se ha dado un valor especial al Lentinano debido a su efecto antitumoral.

2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

El poder antioxidante, antirradicalario y reductor de las setas, ha sido muy estudiado en los últimos años. No obstante, debido a que, de manera general, las setas se consumen cocinadas, sería necesario conocer si el nivel de estas actividades, beneficiosas para la salud, aumenta o disminuye.

Al realizar una búsqueda en la base de datos de Pubmed en relación al presente estudio, se encuentran los siguientes resultados (Tabla 2.1):

Palabras de búsqueda	Revisiones		Trabajos experimentales		Total	
	10 años	5 años	10 años	5 años	10 años	5 años
Antioxidants	15.937	7.907	171.771	82.139	173.708	90.046
Antioxidants food	3.202	1.803	30.628	17.977	33.830	19.780
Antioxidants food mushrooms	18	14	347	246	365	260
Antioxidants food mushrooms cooking	1	0	9	5	10	5
<i>Boletus edulis</i> cooking	1	0	4	2	5	2
<i>Lentinula edodes</i> cooking	1	1	9	7	10	8

Tabla 2.1 Cuadro de búsqueda. (Pubmed). Fecha de búsqueda: 8/6/2017

Se puede observar, al llegar al límite de la búsqueda, que hay muy poca información sobre la composición de las especies estudiadas tras el cocinado y, por lo tanto, de la capacidad antioxidante y los compuestos que la desempeñan. Estudiar estas sustancias tras el cocinado es importante ya que, en la mayoría de ocasiones, estos alimentos se ingieren cocinados, con su consiguiente pérdida o ganancia nutricional. Este cambio en la composición debe ser conocido para tener en cuenta cuál sería la mejor forma de consumo de estos alimentos, así como su cantidad, para obtener el resultado deseado.

El presente estudio se ha realizado para conocer el efecto de la cocción de estas setas sobre sus actividades antioxidantes y antirradicalarias, y hacerlo en unas condiciones lo más cercanas posible a la realidad, ya que hasta ahora no hay precedentes publicados.

Objetivo global: Determinación de los efectos del calentamiento asociado al cocinado sobre los parámetros relacionados con las propiedades de las setas comestibles *Lentinula edodes* y *Boletus edulis*.

Objetivos parciales:

- Determinación de las concentraciones relativas de los fenoles totales con el reactivo de Folin-Ciocalteu en setas sin y con tratamiento térmico.
- Determinación de la actividad antioxidante por el método Cuprac en setas sin y con tratamiento térmico.
- Determinación de la actividad antirradicalaria por el método del radical DPPH en setas sin y con tratamiento térmico.
- Determinación de los flavonoides totales en setas sin y con tratamiento térmico.
- Determinación del poder reductor con ferricianuro potásico en setas sin y con tratamiento térmico.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

El material fungible, así como los equipos, reactivos e ingredientes utilizados en las diferentes determinaciones y métodos aquí explicados, se adjuntan en el Anexo I.

3.1 Material biológico

Para la realización de los experimentos se han obtenido extractos a partir de *Boletus edulis* silvestre y *Lentinula edodes* de cultivo obtenida en el supermercado.

3.2 Tratamientos culinarios en las muestras cocinadas

Para el *Lentinula edodes* salteado, se trocean pie y sombrero y se realiza el proceso por separado. Se utilizan 5 ml de aceite de oliva, cebolla y sal, y se saltea durante 2'30'' minutos.

Para el *Boletus edulis* se llevan a cabo dos tratamientos térmicos: salteado y cocido, separando también pie y sombrero. Se utilizan 5 ml de aceite de oliva y cebolla para el salteado de la seta (pie, por un lado, y sombrero, por otro) troceada, durante 1'30'' minutos. Mientras tanto se pone a hervir el agua y se cuece el arroz durante 30 minutos. En el minuto 20 se añaden la seta y la cebolla salteadas, y en el último minuto se añade el queso.

3.3 Obtención de los extractos

Para la preparación de las muestras se limpiaron y secaron las setas evitando la destrucción de las mismas. Posteriormente se separaron pies y sombreros de cada una y se pesaron las cantidades necesarias para la extracción de las muestras (Tabla 3.1).

	<i>Boletus edulis</i>	<i>Boletus edulis</i> cocinado	<i>Lentinula edodes</i>	<i>Lentinula edodes</i> cocinada
Pie	24,9	10,62	24,96	9,58
Sombrero	25,05	9,54	25	17,92

Tabla 3.1 Cantidades de seta utilizadas para la extracción de las muestras. La variación de los pesos se debe a la poca cantidad de muestra disponible. Las cantidades están expresadas en gramos.

Para obtener la consistencia necesaria se cortaron en pequeños trozos con una tijera y se trituraron en un mortero mientras se añadía la cantidad necesaria de tampón (0,28 M NaCl y 5 mM de fosfato sódico a pH 7,4) según el peso de muestra obtenido, con una relación muestra tampón de 1:4. El material resultante se agita durante 30 minutos y se extruye con una malla de nylon. El líquido obtenido se centrifuga a 3500 rpm a 4°C durante 30 minutos en tubos cónicos de plástico de 50 ml equilibrados y, por último, se recoge el sobrenadante y se guarda a -20°C hasta su uso posterior. En el caso de las muestras cocinadas se pasa antes por una gasa para eliminar la capa de grasa.

3.4 Determinación del contenido fenólico total

Para esta determinación se llevó a cabo el método de Folin-Ciocalteu (Jimenez et al., 2014). Para llevar a cabo la reacción se utilizaron: 0,68 ml de agua destilada 0,6 ml de carbonato sódico al 7,5%, 0,2 ml del reactivo de Folin-Ciocalteu y 0,02 ml de muestra, haciendo un total de 1,5 ml. A continuación, se incuban durante 10 minutos a 50°C, y se mide la absorbancia a 760 nm en el espectrofotómetro. Para la realización de la recta patrón se utiliza ácido gálico 2,5 mM. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico por gramo de seta.

3.5 Determinación de la capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se determinó mediante el método Cuprac (Jimenez et al., 2014). En la reacción, con un volumen final de 4 ml, se utilizaron: 1 ml de Cloruro de cobre 10 mM, 1 ml de Neocuproína 7,5 mM, 1 ml de Acetato de amonio 1M a pH 7, 0,02

ml de muestra y el resto, 0,98 ml, de agua destilada. Para la recta patrón se utilizó ácido gálico 1 mM en etanol. A continuación, se mantuvo durante 60 minutos en la oscuridad, y se procedió a medir la absorbancia a 450 nm en el espectrofotómetro. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico por gramo de seta.

3.6 Determinación de la capacidad antirradicalaria

La capacidad antirradicalaria se midió mediante el método del 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Jimenez et al., 2014). Se utilizaron diferentes cantidades en los dos tipos de seta para conseguir obtener resultados consistentes. Para *Boletus edulis* se utilizaron: 0,1 ml de muestra y 2,9 ml de DPPH 0,1 mM. Para *Lentinula edodes* se utilizaron: 0,2 ml de muestra y 2,8 ml de DPPH 0,1 mM. Para la recta patrón se utilizó el reactivo Trolox. La muestra y el reactivo estándar se añadieron con una diferencia de un minuto entre cada tubo, esperando 10 minutos en total hasta la medida de la absorbancia a 515 nm en el espectrofotómetro, espaciando la medida un minuto también, para que reaccione bien la solución. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de trolox por gramo de seta.

3.7 Determinación de los flavonoides totales

Para la determinación de flavonoides totales se ha llevado a cabo el método descrito por (Zhishen, Mengcheng, & Jianming, 1999), con algunas modificaciones. Se realiza una mezcla de 2.5 ml con los siguientes componentes: 1,6 ml de agua elix, 0,25 ml de muestra, 0,075 ml de NaNO₂ en el minuto 0, 0,075 ml de AlCl₃ en el minuto 5 y 0,5 ml de NaOH en el minuto 6. El flavonoide utilizado para la realización de la recta patrón es la quercetina. A continuación, se mide la absorbancia a 410 nm en el espectrofotómetro. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de quercetina por gramo de seta.

3.8 Determinación del poder reductor

El poder reductor fue determinado mediante el método del Ferricianuro (Barros et al., 2007). Para una solución final de 2,2 ml, a 0,1 ml de muestra se le añadieron 1 ml de

etanol, 1 ml de fosfato sódico 200 mM a pH 6,6, y 1 ml de ferricianuro potásico al 1%. Esta solución se incuba a 50°C durante 20 minutos y, posteriormente, se añade 1 ml de tricloroacético al 10%. Una vez hecho esto se deja reposar 10 minutos y se toma un extracto de 1 ml para continuar con el experimento. A ese extracto se le añaden 1 ml de agua destilada y 0,2 ml de cloruro férrico al 0,1%. Para la realización de la recta patrón se utilizó ácido ascórbico 10 mM. A continuación, se mide la absorbancia a 700 nm en el espectrofotómetro. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido ascórbico por gramo de seta.

4. RESULTADOS

Se realizaron, tanto la recta patrón como las muestras, por triplicado, y se utilizó el valor medio de cada resultado. Además, los resultados de cada determinación están corregidos mediante la diferencia entre la absorbancia de la solución y la de la muestra en agua.

4.1 Determinación del contenido fenólico total (Folin-Ciocalteu)

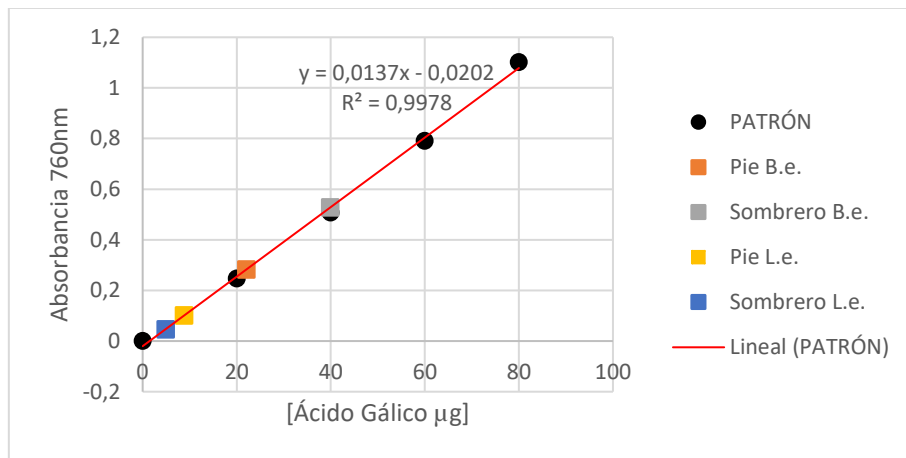


Figura 4.1 Recta patrón. Método de Folin-Ciocalteu. Extractos en crudo. B.e: *Boletus edulis*; L.e: *Lentinula edodes*.

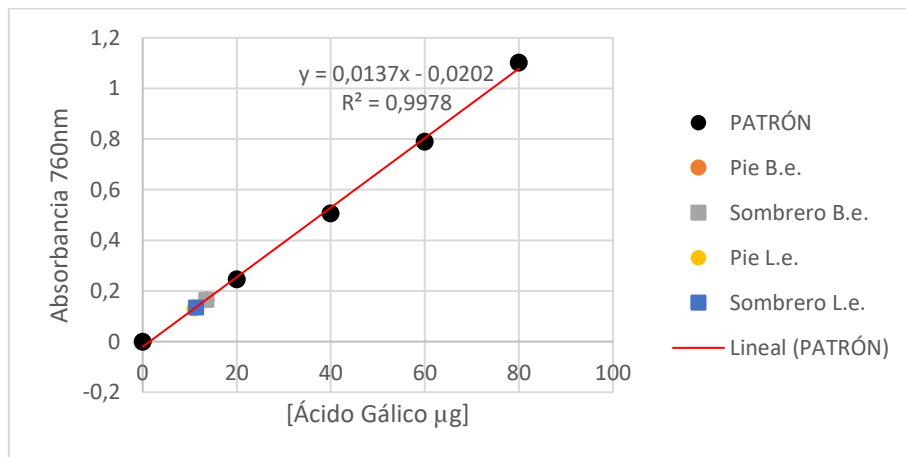


Figura 4.2 Recta patrón. Método de Folin-Ciocalteu. Extractos en cocinado. B.e: *Boletus edulis*; L.e: *Lentinula edodes*.

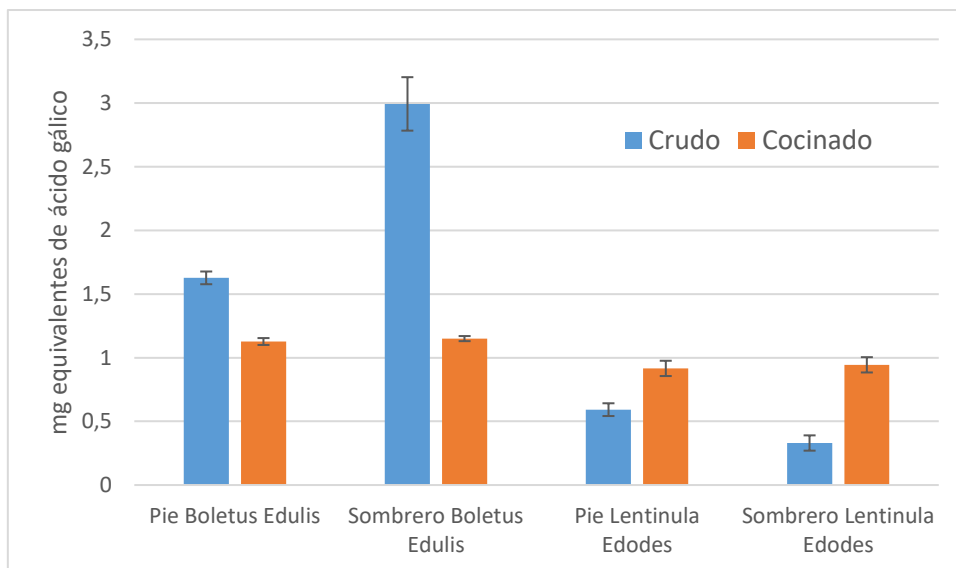


Figura 4.3 Contenido en fenoles totales analizado por el método de Folin-Ciocalteu. Cantidades expresadas en mg equivalentes de ácido gálico por gramo de seta (pie o sombrero).

Tras los cálculos, se observó mayor cantidad de fenoles en el caso del *Boletus edulis* en crudo que en *Lentinula edodes*, con predominancia del sombrero con respecto al pie. En cuanto al cocinado, en el caso del *Boletus edulis* se observó un descenso acusado de los fenoles igualándose en sombrero y pie, con una pérdida del 30,7% y 61,6% respectivamente. En el caso de *Lentinula edodes* se produce un aumento en la cantidad, tanto en el pie como en el sombrero, del 54,7% y 186,1%, de manera que también quedan igualadas.

4.2 Determinación de la actividad antioxidante (Cuprac)

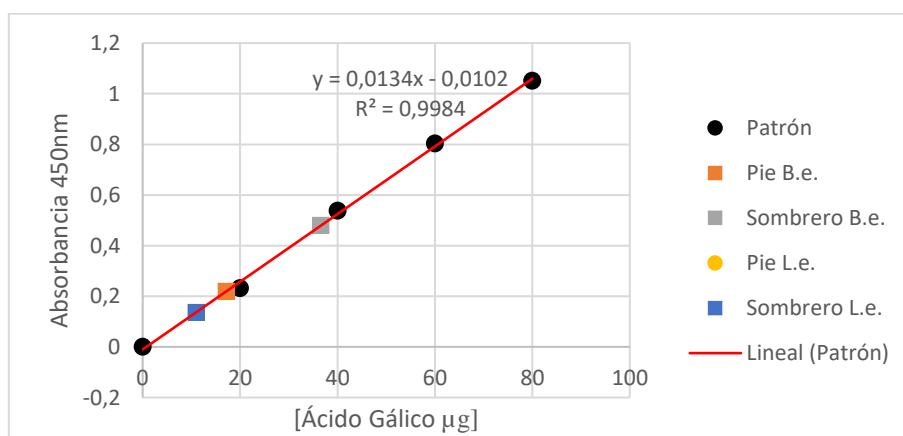


Figura 4.4 Recta patrón. Método de Cuprac. Extractos en crudo. B.e: *Boletus edulis*; L.e: *Lentinula edodes*.

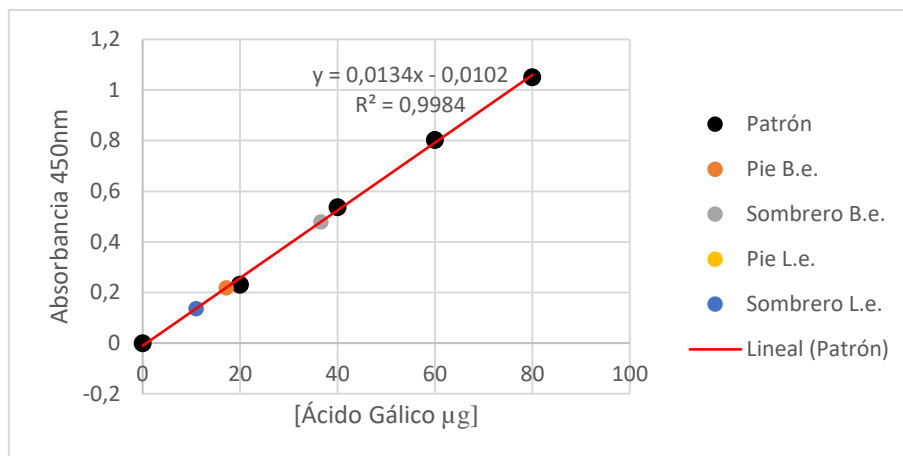


Figura 4.5 Recta patrón. Método de Cuprac. Extractos en cocinado. B.e: *Boletus edulis*; L.e: *Lentinula edodes*.

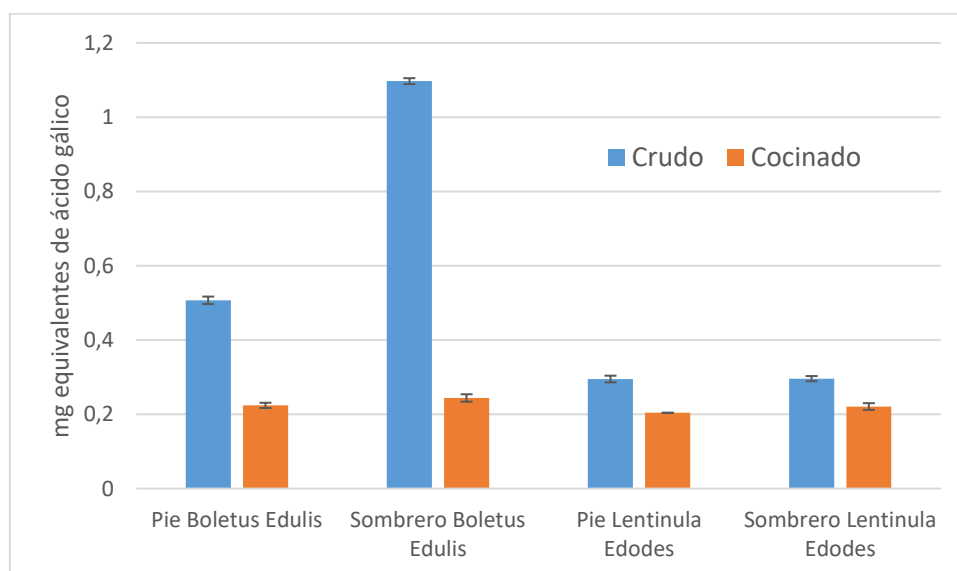


Figura 4.6 Actividad antioxidante medida por el método de Cuprac. Cantidades expresadas en mg equivalentes de ácido gálico por gramo de seta (pie o sombrero).

Los resultados de este método reportan una mayor actividad antioxidante en el *Boletus edulis*, predominando ésta en el sombrero, mientras que en *Lentinula edodes* se observa una actividad antioxidante muy baja. Después del cocinado se produce un gran descenso en el *Boletus edulis*, con una pérdida del 55,8% en el pie y del 77,8% en el sombrero. En el *Lentinula edodes* el descenso es menor, con una disminución del 30,9% y 25,3% en pie y sombrero, respectivamente.

4.3 Determinación de la capacidad antirradicalaria (DPPH)

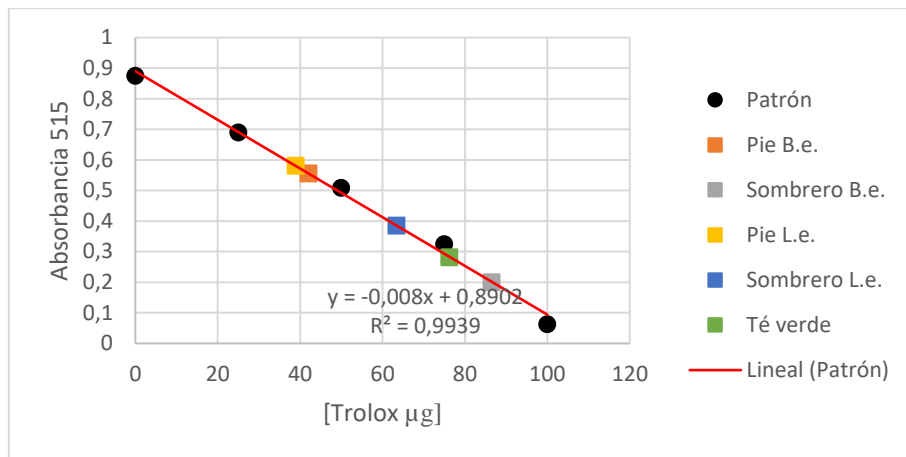


Figura 4.7 Recta patrón. Método del radical DPPH. Extractos en crudo. B.e: *Boletus edulis*; L.e: *Lentinula edodes*.

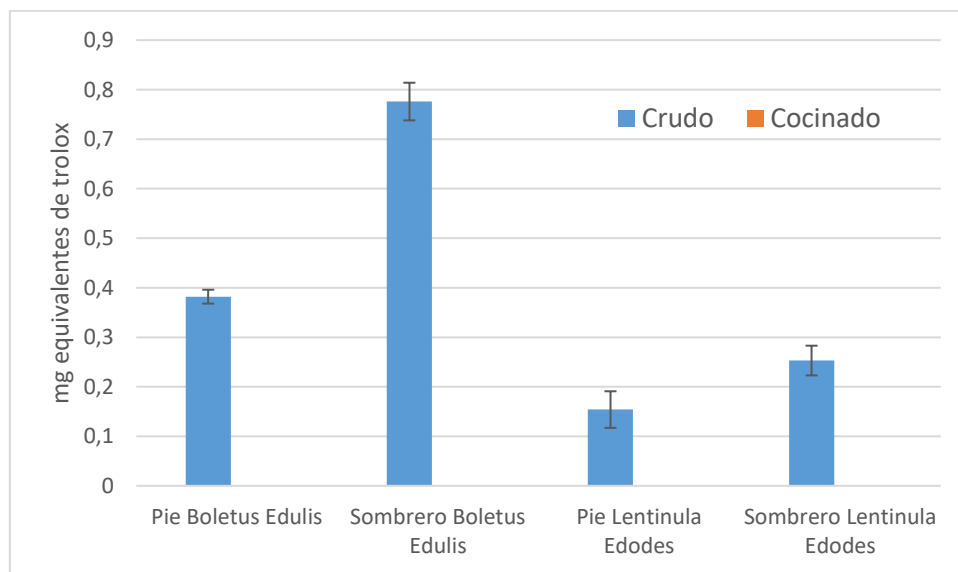


Figura 4.8 Capacidad antirradicalaria obtenida con el radical DPPH. Cantidades expresadas en mg equivalentes de trolox por gramo de seta (pie o sombrero).

En la determinación de la actividad antirradicalaria se observa que es bastante baja en los dos tipos de setas, siendo mayor en el caso del *Boletus edulis*, sobre todo en el sombrero. Tras el cocinado se produce una pérdida casi total, siendo imposible su medición ya que la absorbancia recoge niveles mayores a los representativos en la recta patrón. Para demostrar que el experimento funciona, se realizó la medición del té verde con un resultado de 85,5 mg equivalentes de trolox. El valor fue mucho mayor que en las

setas, por lo que se determinó que la falta de resultados fue por la desaparición prácticamente total de la capacidad antirradicalaria tras el cocinado.

4.4 Determinación de los flavonoides totales

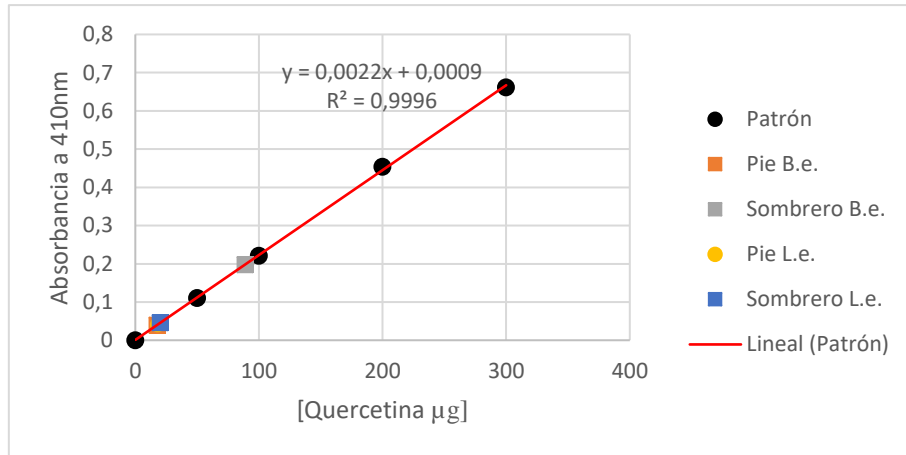


Figura 4.9 Recta patrón. Determinación de flavonoides totales. Extractos en crudo. B.e: *Boletus edulis*; L.e: *Lentinula edodes*.

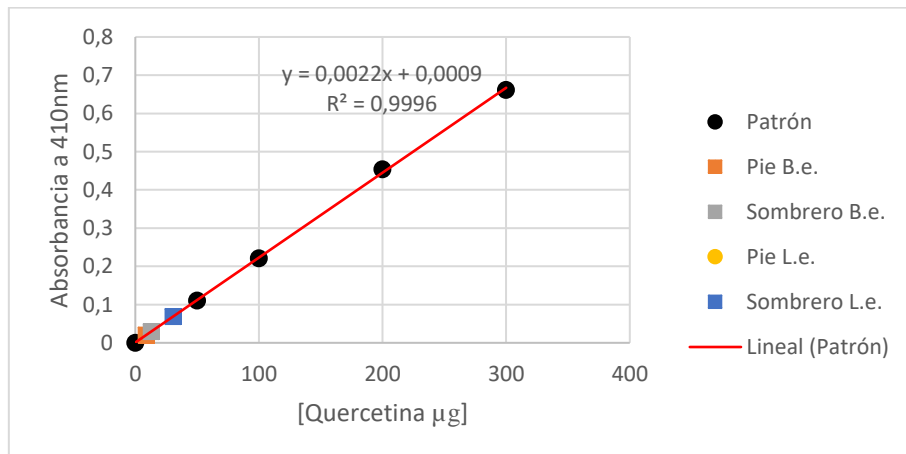


Figura 4.10 Recta patrón. Determinación de flavonoides totales. Extractos en cocinado. B.e: *Boletus edulis*; L.e: *Lentinula edodes*.

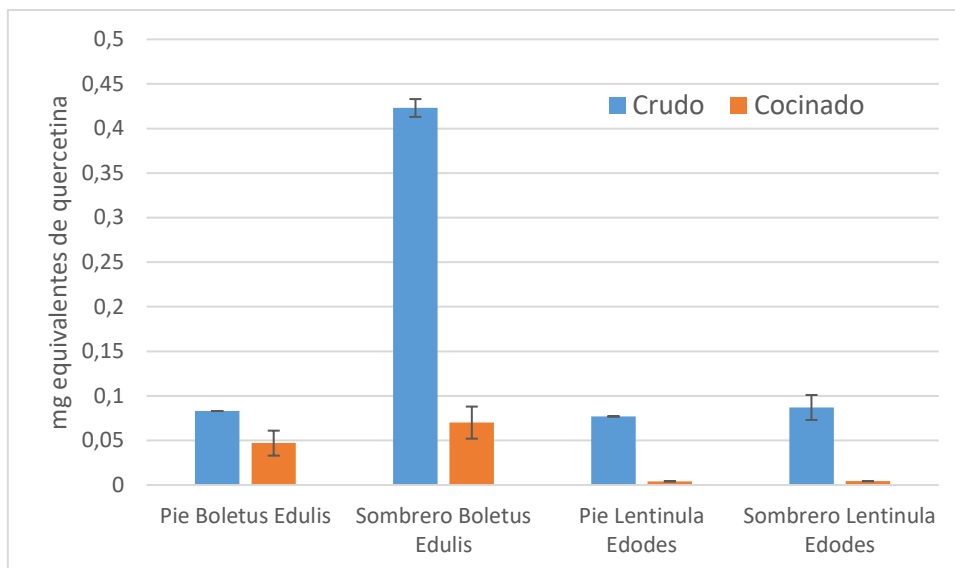


Figura 4.11 Contenido en flavonoides totales. Cantidades expresadas en mg equivalentes de quercetina por gramo de seta (pie o sombrero).

En la tabla se puede observar poca cantidad de flavonoides en las dos especies en crudo, salvo en el sombrero del *Boletus edulis*. Por otro lado, después del cocinado, se observa una pequeña pérdida en el pie del *Boletus edulis*, del 43,4%, mientras que la disminución es mucho mayor en el sombrero del mismo, del 83,4%, quedando valores cercanos en las dos partes de la misma especie. En cuanto al *Lentinula edodes*, después del cocinado se observa una pérdida prácticamente total de estas sustancias.

4.5 Determinación del poder reductor

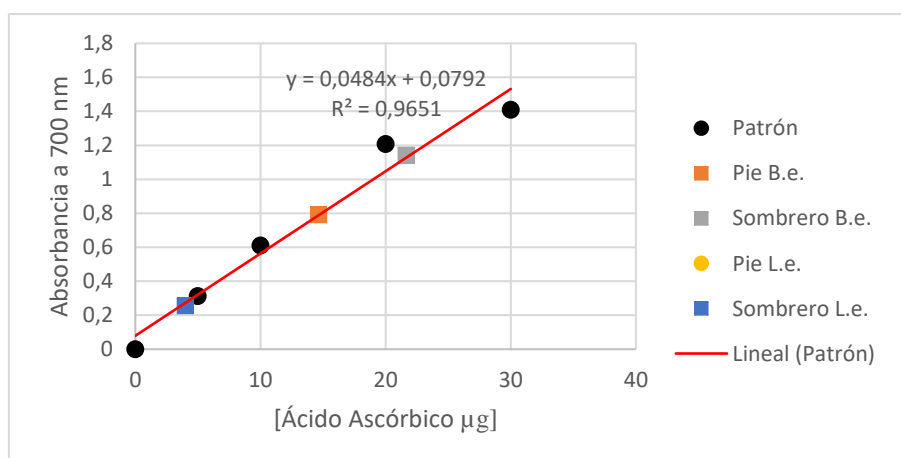


Figura 4.12 Recta patrón. Determinación del poder reductor con ferricianuro potásico. Extractos en crudo. B.e.: *Boletus edulis*; L.e.: *Lentinula edodes*.

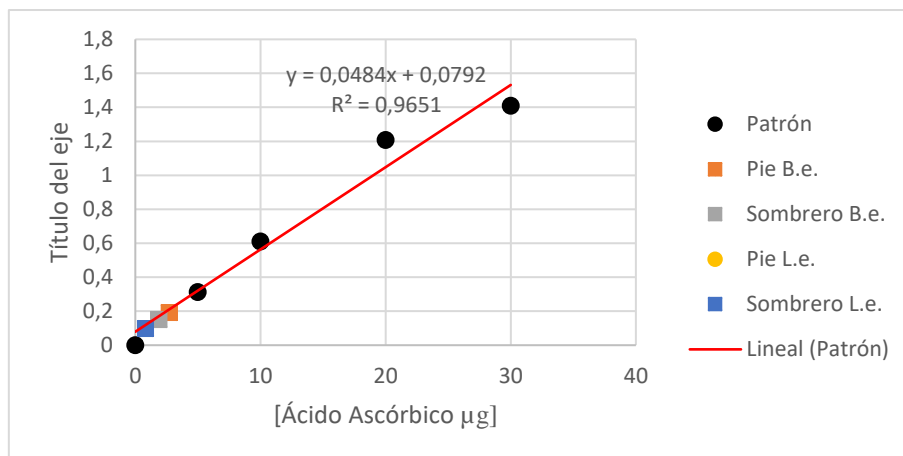


Figura 4.13 Recta patrón. Determinación del poder reductor con ferricianuro potásico. Extractos en cocinado. B.e: *Boletus edulis*; L.e: *Lentinula edodes*.

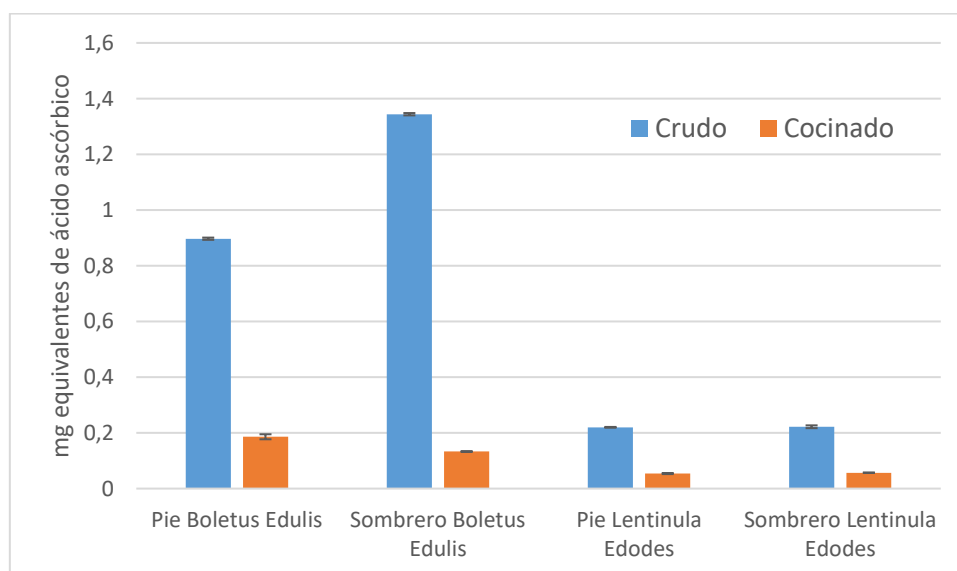


Figura 4.14 Poder reductor determinado con ferricianuro potásico. Cantidades expresadas en mg equivalentes de ácido ascórbico por gramo de seta (pie o sombrero).

En el caso del poder reductor, se obtienen valores mayores en la especie *Boletus edulis*, relativamente más alto en el sombrero, mientras que en *Lentinula edodes* el poder reductor es muy bajo. Después del cocinado los valores son muy bajos en las dos especies, pero la mayor pérdida se produce en *Boletus edulis*, con una disminución del 79,3% en el pie y 90,1% en el sombrero. La pérdida observada en *Lentinula edodes* es del 75,5% y 74,3% en pie y sombrero, respectivamente.

5. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se ha determinado el efecto del tratamiento térmico sobre las actividades antioxidantes y antirradicalarias de dos setas de amplio consumo como son: *Boletus edulis* y *Lentinula edodes*. Se han podido observar diferencias notables entre el material crudo y el cocinado en las distintas determinaciones.

Los fenoles aumentan con el cocinado en *Lentinula edodes*, ocurriendo lo contrario en *Boletus edulis*. Esto puede deberse a que la cantidad de polifenoles polimerizados en *Lentinula edodes* es muy inferior a los presentes en la otra especie estudiada. En este caso, la extracción acuosa de *Boletus edulis* puede haber liberado fenoles termosensibles, que no están presentes en *Lentinula edodes*, y se destruyen con el cocinado. Este efecto también se observa en otros alimentos vegetales estudiados anteriormente, como son el tomate o el cacao (Nicoli et al., 1997), o con tratamientos como la fumigación con aceites esenciales sobre algunas especies como *Lentinula edodes* (Jiang, Luo, & Ying, 2015).

Algunos autores apuntan a que un aumento en los compuestos antioxidantes puede deberse a los productos de la reacción de Maillard que aparecen como resultado del cocinado (Choi et al., 2006). Otros trabajos afirman que el tratamiento térmico podría romper la pared celular liberando compuestos antioxidantes de la porción insoluble de la seta, haciéndolos más accesibles (Peleg, Naim, Rouseff, & Zehavi, 1991).

En los anteriores estudios también se observa un aumento en otros de los parámetros estudiados, como la actividad antioxidante o la capacidad antirradicalaria. No obstante, puede deberse a que dichos autores realizan la extracción en medio alcohólico (metanol o etanol), el cual extrae más compuestos antioxidantes, ya que algunos de estos compuestos son hidrofóbicos. Además, el efecto térmico suele ser superior sobre las sustancias hidrofóbicas extractables con alcoholes, que sobre las extraídas con agua.

Por otra parte, en los trabajos anteriores se han estudiado efectos térmicos diferentes, como son el cocido, el microondas, el grill o la fritura profunda. En este caso, el *Lentinula edodes* ha sido salteado, lo cual completa los métodos anteriormente mencionados, encontrándose entre el grill y la fritura profunda, en cuanto a temperatura y tiempo de cocinado.

La razón por la cual se han realizado los extractos acuosos, así como la aplicación de un tratamiento térmico dentro de una receta culinaria para cada seta, es la de realizar el experimento en las condiciones más cercanas posibles a la realidad.

En cuanto a la capacidad antioxidante, se puede observar que la diferencia es bastante grande entre una especie y otra, en crudo, predominando sobre todo el sombrero de *Boletus edulis*. No obstante, tras el cocinado los niveles de actividad antioxidante disminuyen a valores muy bajos, probablemente debido al tratamiento energético del cocinado (salteado más cocción). En otros estudios similares respecto a *Boletus edulis* encontramos extractos metanólicos, por lo que la capacidad antioxidante revelada en su determinación es mucho mayor (Sun, Bai, & Zhuang, 2014). Sin embargo, se puede observar que en un cocido de 10 minutos se reduce a más de la mitad, y en este caso se ha sometido, además, a un salteado previo.

Respecto a la capacidad antirradicalaria, los resultados demuestran que las setas estudiadas poseen valores muy bajos, que prácticamente desaparecen con el cocinado, en comparación con otros vegetales, particularmente el té verde. Éste se estudió para comprobar que el procedimiento utilizado era el correcto, y los resultados obtenidos son similares a los observados previamente (Girbés, Jiménez, Córdoba, Córdoba, & Tejero, 2014). Aun así, en este mismo trabajo se observó una actividad antirradicalaria de 1,317 μg equivalentes de trolox en el brócoli crudo, lo cual también representa una gran diferencia con los resultados obtenidos para el té verde (85,5 mg equivalentes de trolox).

Por otro lado, recientemente se ha descrito en diversas setas comestibles que no existe correlación entre el poder antirradicalario y el poder reductor y antioxidante (Das, Borthakur, Saha, Joshi, & Das, 2017). Cada seta tiene sus propiedades características que pueden variar en función del procedimiento de extracción y el agente extractor utilizado, así como del procedimiento de cocción. Se ha demostrado también que la composición de las setas puede variar mucho dependiendo tanto del estado de maduración como de su cultivo y el suelo y las condiciones climatológicas en las que se ha desarrollado (Barros et al., 2008).

Respecto a los flavonoides, las setas no son especialmente ricas en estos compuestos, como ocurre con los vegetales. En los resultados de este estudio se puede observar que la cantidad en crudo es baja en las dos especies, a pesar de tener mucha más el sombrero del *Boletus edulis*. Tras el cocinado se observa que, mientras que en *Boletus edulis* disminuye

a niveles muy bajos, en *Lentinula edodes* prácticamente desaparece. Esto indica que los fenoles que se pueden encontrar en estas especies, sobre todo en el caso de *Boletus edulis* que presenta una mayor cantidad de los mismos, no son flavonoides, por lo que serían en su mayoría ácidos fenólicos. Algunos autores destacan también la cantidad de tocoferoles en esta especie (Ferreira et al., 2009).

Por último, el poder reductor se encuentra en unos niveles considerables en *Boletus edulis* crudo, sin embargo, disminuye a niveles muy bajos tras el cocinado. En *Lentinula edodes* los niveles son muy bajos en crudo también, aunque se observa un descenso igualmente en el cocinado.

El poder reductor se puede determinar también con el método de Folin-Ciocalteu debido a que depende de la cantidad total de fenoles, por lo que en el caso de *Boletus edulis* se puede decir que pierde gran parte de esta capacidad. No obstante, en el caso de *Lentinula edodes* se observa un aumento con este método. Según lo observado en algunos trabajos (Reis, Martins, Barros, & Ferreira, 2012), la diferencia entre un método y otro suele ser alta, siendo siempre mayor en el caso del método de Folin-Ciocalteu. Esto puede explicar la diferencia hallada en este estudio para la especie *Lentinula edodes*, que tras el cocinado se observa una mayor cantidad de sustancias fenólicas, las cuales no serían reactivas con el hierro, por lo que no se vería aumentado el poder reductor mediante el método del ferricianuro potásico.

6. CONCLUSIONES

- Todas las actividades medidas en *Boletus edulis* son mayores que en *Lentinula edodes*.
- En *Boletus edulis* las actividades son mucho mayores en el sombrero, mientras que en *Lentinula edodes* hay poca diferencia entre las dos partes de la seta.
- El tratamiento térmico disminuye todos los parámetros medidos en *Boletus edulis*.
- En *Lentinula edodes* el tratamiento térmico aumenta el contenido en fenoles, pero disminuye la actividad antioxidante, antirradicalaria, flavonoides totales y poder reductor.
- El aumento de los fenoles en *Lentinula edodes* cocinada puede deberse a la liberación de fenoles a partir de polímeros y agregados.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Agapito, M. T., Sanz-Alfayate, G., Gomez-Niño, A., Gonzalez, C., & Obeso, A. (2009). General redox environment and carotid body chemoreceptor function. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, 296(3), C620–C631.
- Barros, L., Baptista, P., Correia, D., Morais, J., & Ferreira, I. C. F. R. (2007). Effects of Conservation Treatment and Cooking on the Chemical Composition and Antioxidant Activity of Portuguese Wild Edible Mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 4781–4788.
- Barros, L., Cruz, T., Baptista, P., Estevinho, L. M., & Ferreira, I. C. F. R. (2008). Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food Chemistry*, 46, 2742–2747. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.04.030>
- Cardoso, R. V. C., Fernandes, Á., Oliveira, M. B. P. P., Calhelha, R. C., Barros, L., Martins, A., ... Cabrini, G. (2017). Development of nutraceutical formulations based on the mycelium of *Pleurotus ostreatus* and *Agaricus bisporus*. *Food Funct.*, 6, 1–12. <https://doi.org/10.1039/C7FO00515F>
- Choi, Y., Lee, S. M., Chun, J., Lee, H. B., & Lee, J. (2006). Food Chemistry Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. *Food Chemistry*, 99, 381–387. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.08.004>
- Das, A. R., Borthakur, M., Saha, A. K., Joshi, S. R., & Das, P. (2017). Molecular Characterization and Antioxidant Potential of Three Wild Culinary-Medicinal Mushrooms from Tripura, Northeast India. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 19(1), 55–63. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.v19.i1.60>
- Ferreira, I. C. F. R., Barros, L., & Abreu, R. M. V. (2009). Antioxidants in Wild Mushrooms. *Current Medicinal Chemistry*, 16, 1543–1560.
- Girbés, T., Jiménez, P., Córdoba, M., Córdoba, D., & Tejero, J. (2014). *Manual docente de métodos espectrofotométricos de análisis de polifenoles y de la actividad antioxidante en alimentos o medicamentos*. CERSA.
- Guo, C., Choi, M.-W., & Cheung, P. C. K. (2012). Mushroom and immunity. *Current*

Topics in Nutraceutical Research, 10, 31–41.

- Jiang, T., Luo, Z., & Ying, T. (2015). Fumigation with essential oils improves sensory quality and enhanced antioxidant ability of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*). *Food Chemistry*, 172, 692–698. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.130>
- Jimenez, P., Cabrero, P., Basterrechea, J. E., Tejero, J., Cordoba-Diaz, D., Cordoba-Diaz, M., & Girbes, T. (2014). Effects of Short-term Heating on Total Polyphenols, Anthocyanins, Antioxidant Activity and Lectins of Different Parts of Dwarf Elder (*Sambucus ebulus* L.). *Plant Foods for Human Nutrition*, 69(2), 168–174. <https://doi.org/10.1007/s11130-014-0417-x>
- Jiménez, P., Descalzo, V., & Girbés, T. (2017). Antioxidantes de origen vegetal y efecto sobre el envejecimiento - Pharmatech. *Pharmatech*, 27, 80–84.
- Kalač, P. (2012). A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(2), 209–218. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5960>
- Kirk, P. M., Cannon, P. F., Stalpers, J. A., & Minter, D. W. (2010). *Dictionary of the Fungi* (10th ed.). CABI.
- Liu, Y., Chen, D., You, Y., Zeng, S., Li, Y., Tang, Q., ... Chen, D. (2016). Nutritional Composition of Boletus Mushrooms from Southwest China and Their Antihyperglycemic and Antioxidant Activities. *Food Chemistry*, 211, 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.032>
- Martel, J., Ojcius, D. M., Chang, C., Lin, C., Lu, C., Ko, Y., ... Young, J. D. (2017). Anti-obesogenic and antidiabetic effects of plants and mushrooms. *Nature*, 13, 149–160. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.142>
- Meng, X., Liang, H., & Luo, L. (2016). Antitumor Polysaccharides from Mushrooms : a Review on the Structural Characteristics , Antitumor Mechanisms and Immunomodulating Activities. *Carbohydrate Research*, 424, 30–41. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2016.02.008>
- Money, N. P. (2016). Are mushrooms medicinal ? *Fungal Biology*, 120(4), 449–453. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2016.01.006>
- Nicoli, M. C., Anese, M., Parpinel, M. T., Franceschi, S., Lericci, C. R., Ferraroni, M., ...

- Franceschi, S. (1997). Loss and/or formation of antioxidants during food processing and storage. *Cancer Letters*, *114*(1–2), 71–74. [https://doi.org/10.1016/S0304-3835\(97\)04628-4](https://doi.org/10.1016/S0304-3835(97)04628-4)
- Peleg, H., Naim, M., Rouseff, R. L., & Zehavi, U. (1991). Distribution of bound and free phenolic acids in oranges (*Citrus sinensis*) and Grapefruits (*Citrus paradisi*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *57*(3), 417–426. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740570312>
- Reis, F. S., Barros, L., Martins, A., & Ferreira, I. C. F. R. (2012). Chemical composition and nutritional value of the most widely appreciated cultivated mushrooms : an inter-species comparative study. *Food and Chemical Toxicology*, *50*(2), 191–197.
- Reis, F. S., Martins, A., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2012). Antioxidant properties and phenolic profile of the most widely appreciated cultivated mushrooms : A comparative study between in vivo and in vitro samples. *Food and Chemical Toxicology*, *50*(5), 1201–1207. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.02.013>
- Roncero-Ramos, I., Mendiola-Lanao, M., Pérez-Clavijo, M., & Delgado-Andrade, C. (2017). Effect of different cooking methods on nutritional value and antioxidant activity of cultivated mushrooms. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, *68*(3), 287–297. <https://doi.org/10.1080/09637486.2016.1244662>
- Somoza, V. (2005). Review Five years of research on health risks and benefits of Maillard reaction products : An update. *Molecular Nutrition and Food Research*, *49*(0), 663–672. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200500034>
- Sun, L., Bai, X., & Zhuang, Y. (2014). Effect of different cooking methods on total phenolic contents and antioxidant activities of four *Boletus* mushrooms. *Journal of Food Science and Technology*, *51*(11), 3362–3368. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0827-4>
- UPOV, & Pegler, B. (2011). *Shiitake: Lentinula edodes*. Ginebra.
- Zhang, J., Li, Y., Zhou, T., Xu, D., Zhang, P., Li, S., & Li, H. (2016). Bioactivities and Health Benefits of Mushrooms. *Molecules*, *21*(7), 1–16. <https://doi.org/10.3390/molecules21070938>
- Zhang, M., Cui, S. W., Cheung, P. C. K., & Wang, Q. (2007). Antitumor polysaccharides

from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity. *Food Science and Technology*, 18(1), 4–19. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.07.013>

Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555–559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)

ANEXO I

I.I Equipos:

Agitador de tubos Raypa.

Agitador magnético ACS-160 J.Jimeno S.A.

Balanza de precisión KERN ABS.

Balanza KERN 572.

Baño de agua Velp Scientifica.

Centrífuga Digen-R ORTO ALRESA.

Equipo de agua Hellix Millipore.

Equipo pHmetro pH-meter basic 20 + CRISON.

Espectrofotómetro HELIOS α Thermo.

Frigorífico/congelador Fagor.

Pipetas automáticas Proline Plus de Biohit.

I.II Material fungible

Botellas de vidrio

Cazuela de acero inoxidable

Cubetas de espectrofotometría

Cuchara de madera

Cuchillos de acero inoxidable

Espátulas

Gradillas

Guantes de látex

Imanes agitadores
Mallas de Nylon
Mortero de cerámica
Pipetas de plástico
Probetas de vidrio
Puntas de pipeta automática
Sartén antiadherente
Tijeras de acero inoxidable
Tubos de ensayo de 5 ml
Tubos Falcon de plástico de 15 y 50 ml
Vasos de precipitados de vidrio y plástico

I.III Reactivos

Acetato de amonio “Sigma”
Ácido gálico “Sigma”
Carbonato de sodio “Sigma”
Cloruro de aluminio “Sigma”
Cloruro de cobre (II) “Aldrich”
Cloruro de hierro (III) “Sigma”
DPPH “Aldrich”
Ferricianuro potásico “Sigma”
Fosfato sódico Aldrich
Hidróxido de sodio “Sigma”
Metanol “Panreac”

Neocuproína “Sigma”

Nitrito de sodio “Panreac”

Quercetina “Sigma”

Reactivo de Folin-Ciocalteu “Fluka”

Tricloroacético “Sigma”

Trolox “Aldrich”

I.IV Ingredientes

Aceite de oliva virgen extra “Aliada”

Arroz bomba “Aliada”

Cebolla

Queso mozzarella “Hacendado”

Sal “Aliada”