



Universidad de Valladolid

Facultad de Medicina

Área de Nutrición y Bromatología

TRABAJO FIN DE GRADO:

**“ESTUDIO DE LOS COMPUESTOS
VOLÁTILES DE DIFERENTES ESPECIES
DE SETAS SILVESTRES”.**

Presentado por **Carolina Turiño Lucas**

Dirigido por: Dra. Irma Caro Canales

2016

1. RESUMEN

Las setas son hongos macroscópicos poseedores de un cuerpo fructífero productor de esporas; no poseen clorofila pero si quitina. Las diferentes estructuras que estas pueden adoptar hacen que exista una amplia diversidad en función de la lámina, sombrero y pie que manifiesten.

En el presente trabajo se han estudiado los compuestos orgánicos volátiles de seis especies de setas: *Leccinum quercinum*, *Boletus edulis*, *Boletus pinophilus*, *Amanita ovoidea* y *Amanita rubescens* recogidas en la Comunidad de Castilla y León. Su identificación se llevó a cabo mediante cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas.

El número total de compuestos orgánicos volátiles detectados en las setas fue de 142. Los volátiles fueron agrupados en once familias según su estructura química: aldehídos de cadena lineal, aldehídos de cadena metil ramificada, cetonas alifáticas, alcoholes alifáticos, hidrocarburos alifáticos, compuestos bencénicos, ácidos y ésteres alifáticos, compuestos furánicos y furfurales, compuestos azufrados, terpenoides y compuestos nitrogenados. En la categoría denominada “desconocidos” se incluyen aquellos compuestos orgánicos volátiles cuya identificación no fue posible debido a que eluían compuestos insuficientemente separados o su espectro de masas no estaba en la base de datos y no pudo ser interpretado. El compuesto más abundante en los *Boletus* fue el 1-octen-3-ol, siendo el *Leccinum quercinum* la seta que presentó mayor concentración de ese compuesto. En las *Amanitas* el volátil más característico fue el benzaldehído; siendo la *Amanita ovoidea* la seta que presentó mayor concentración de este volátil.

Debido a las elevadas concentraciones del 1-octen-3-ol y el benzaldehído en los *Boletus* y *Amanitas* respectivamente, podríamos concluir que esos compuestos podrían ser utilizados como posibles biomarcadores a la hora de diferenciar entre géneros y especies de setas, concretamente entre las especies de *Boletus* y de *Amanitas*.

Palabras claves: setas, *Amanita*, *Boletus*, compuestos volátiles orgánicos y 1-octen-3-ol.

ABSTRACT

Mushrooms are macroscopic fungus, which have a fruitful body that produces spores; they do not have chlorophyll but chitin. Different structures that they can adopt make possible a wide diversity depending of the sheet, hat and foot they have.

Throughout this project volatile organic components from six different mushroom species have been studied: *Leccinum quercinum*, *Boletus edulis*, *Boletus pinophilus*, *Amanita ovoidea* y *Amanita rubescens* that are present in the community of Castilla y León. Its identification was carried out by gas chromatography coupled to a mass spectrometer.

The total number of volatile organic components for each mushroom was 142. The volatiles were grouped in eleven kinds of families depending its chemical structure: aldehydes straight chain, branched chain methyl aldehydes, aliphatic ketones, aliphatic alcohols, aliphatic hydrocarbons, benzene compounds, acids and aliphatic esters, furan and furfural compounds, sulfur compounds, terpenoids and nitrogen compounds. In the category denominated “unknowns” are included those volatile organic components which identification was no possible due to peaks were insufficiently separated or the compounds were not included in the database. The compound most abundant in *Boletus* was 1-octen-3-ol, being *Leccinum quercinum* the mushroom that presented a bigger concentration of this compound. In *Amanitas* the most characteristic volatile was benzaldehyde, being *Amanita ovoidea* the mushroom that presented more concentration of this volatile.

Due to the high concentration of 1-octen-3-ol a benzaldehyde in *Boletus* and *Amanitas* respectively, we can conclude that these compounds could be used as possible biomarcadores when differentiate between genders and mushrooms species, specifically between *Boletus* species and *Amanitas* species.

Key words: mushrooms, *Amanita*, *Boletus*, volatile organic compounds and 1-octen-3-ol.

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	2
2. INTRODUCCIÓN.....	5
2.1 <i>Boletus</i> :	6
a) <i>Leccinum quercinum</i>	10
b) <i>Boletus edulis</i>	11
c) <i>Boletus pinophilus</i>	12
2.1 <i>Amanitas</i> :.....	14
a) <i>Amanita ovoidea</i>	15
b) <i>Amanita rubescens</i>	16
2.3 Composición y compuestos orgánicos volátiles de las setas:.....	17
3. OBJETIVOS	19
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	19
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
6. CONCLUSIONES.....	38
7. BIBLIOGRAFIA.....	39

2. INTRODUCCIÓN

Hasta hace poco tiempo se creía que las setas eran verduras y pertenecían al reino de los vegetales, como “plantas vasculares”. Fue Robert Whittaker en el año 1969, quien propuso la división de los seres vivos en cinco reinos diferenciados y consideró a los hongos como un reino aparte, con la denominación latina de hongo, *fungi* (1).

Los hongos se diferencian claramente del reino vegetal debido a que no poseen clorofila y sí quitina (principal polímero que aparece en las paredes celulares de los hongos), a la ausencia de celulosa y a la forma de alimentación, siendo este último un factor diferenciador determinante. Según se desprende de las últimas investigaciones, los hongos estarían más cercanos al reino animal que al vegetal, ya que los dos son heterótrofos: se alimentan por absorción de compuestos orgánicos ya sintetizados por otros seres vivos, como la lignina y la celulosa, los cuales son digeridos por la liberación de enzimas digestivas al exterior (2). Aunque no son organismos fotosintéticos necesitan luz para la formación del cuerpo fructífero o seta.

La asociación entre la seta y las raíces de las plantas también es otro aspecto importante en la taxonomía de las setas, tanto los *Boletus* como las *Amanitas* son considerados ectomicorrizas (setas que crecen sobre la raíz de la planta formando un manto envolvente ramificado que comunica a la planta con el suelo) (3).

El reino *fungi* tiene una gran diversidad y puede albergar más de 1,5 millones de organismos (4), entre los cuales podemos mencionar: setas, trufas, colmenillas, mohos, (incluyendo aquellos que causan problemas como la roya, el carbonillo) y levaduras. Específicamente, situamos a las setas dentro del subreino denominado Dikarya, en el *phylum Basidiomycota* (que alberga aproximadamente 30.000 especies) en el subphylum *Agaricomycotina*, en la clase *Agaricomycetes*, en la subclase *Agaricomycetidae* y en las órdenes *Agaricales*, *Atheliales* y *Boletales*. Finalmente, dentro de estas órdenes se encuentran las familias y las especies. La orden Boletales comprende 21 familias, una de ellas es la familia *Boletaceae*.

Como **seta** podemos definir a “aquellos hongos macroscópicos con un cuerpo fructífero productor de esporas, que puede encontrarse bien bajo tierra (hipogeo) o sobre la tierra (epigeo), y que es lo suficientemente grande como para poder ser observado a simple vista y recolectado a mano” (5). Por su parte, Eyssartier (6), indica que las “setas” son únicamente el carpóforo, o el esporóforo, es decir, los cuerpos

fructíferos temporales de los hogos, con formas diversas, que por lo general salen del suelo (rebozuelos, boletos, amanitas, etc.) o permanecen bajo la tierra (trufas).

Dependiendo del tipo de seta del que estemos hablando la estructura que la componen varía, tratándose el sombrero, la lámina y el pie de partes comunes en todas ellas. En la Figura 1, se muestran las características macroscópicas más relevantes de las setas.

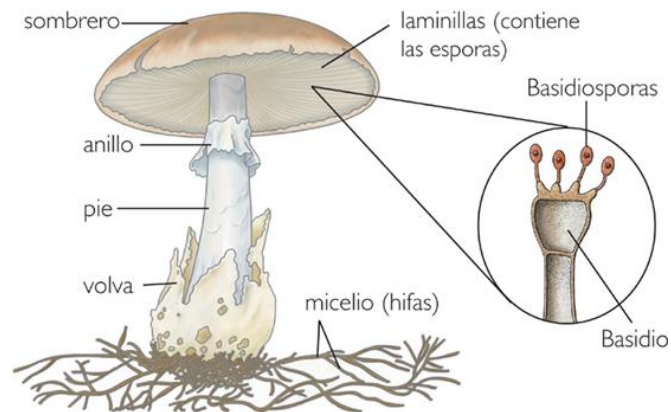


FIGURA 1: Partes generales de una seta. Imagen:

<http://setasyhongos21.blogspot.com.es/2015/01/morfologia-de-las-setas.html>

Dentro de las setas de mayor importancia gastronómica y económica como lo recoge Ríos (1), los géneros *Boletus* y *Amanitas* son unos de los más importantes. En los siguientes párrafos se describirán, por un lado, la clasificación de las especies de estos géneros desde el punto de vista gastronómico y, por otro lado, las características taxonómicas más importantes de las especies.

2.1 *Boletus*:

El término "*Boletus*" fue definido y descrito originalmente por el botánico Elias Magnus Fries en 1821 tratando de agrupar todos los hongos que presentan poros en el himenio (7). Los *Boletus* es la denominación que recibe un tipo de hongos pertenecientes al orden de los *Boletales* que incluye seis subórdenes; *Boletineae*, *Paxillineae*, *Sclerodermatineae*, *Suillineae*, *Coniophorineae*, y *Tapinellineae* (8). Dentro de la suborden Boletineae encontramos a la familia *Boletaceae*, que actualmente cuenta con 4 subfamilias; se encuentra la subfamilia *Boletoidae*, subfamilia *Suilloidae* y la subfamilia *Xerocomoideae* (9).

La diversidad de la familia *Boletaceae*, es uno de los intereses de estudio de los micólogos, un ejemplo de ello son los estudios filogenéticos que se han realizados los últimos años sobre esta familia de setas (3). En este estudio se ha incluido nuevas especies de esta familia, estableciendo un nuevo género denominado *Retiboletus* que alberga diversas especies que producen un tipo de pigmento denominado “retipolide” que sirve para diferenciar este género del resto de especies de la familia Boletacea, indicando la gran diversidad de esta familia (ver Figura 3).

El hábitat natural de los *Boletus* son: bosques de hayas, robles, castaños, abetos y pinos de montaña. Su época de recolección suele ser entre los meses de septiembre a noviembre.

La clasificación de las setas se hace principalmente por su morfología y más concretamente por el himenio,- aunque actualmente se utilizan técnicas moleculares bioquímicas que permiten su mejor clasificación (1)-. En el caso de los *Boletus*, el himenio es muy característico ya que presenta una forma esponjosa en vez de la clásica morfología laminar.

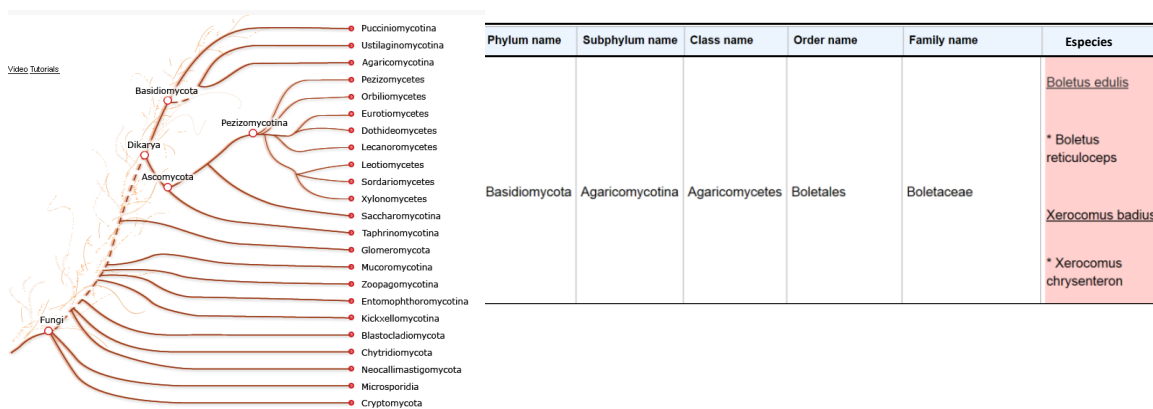


FIGURA 2: Árbol filogenéticos del reino Fungi, de la familia Boletaceae.

Imagen modificada utilizando la base de datos:

<http://genome.jgi.doe.gov/programs/fungi/index.jsf>

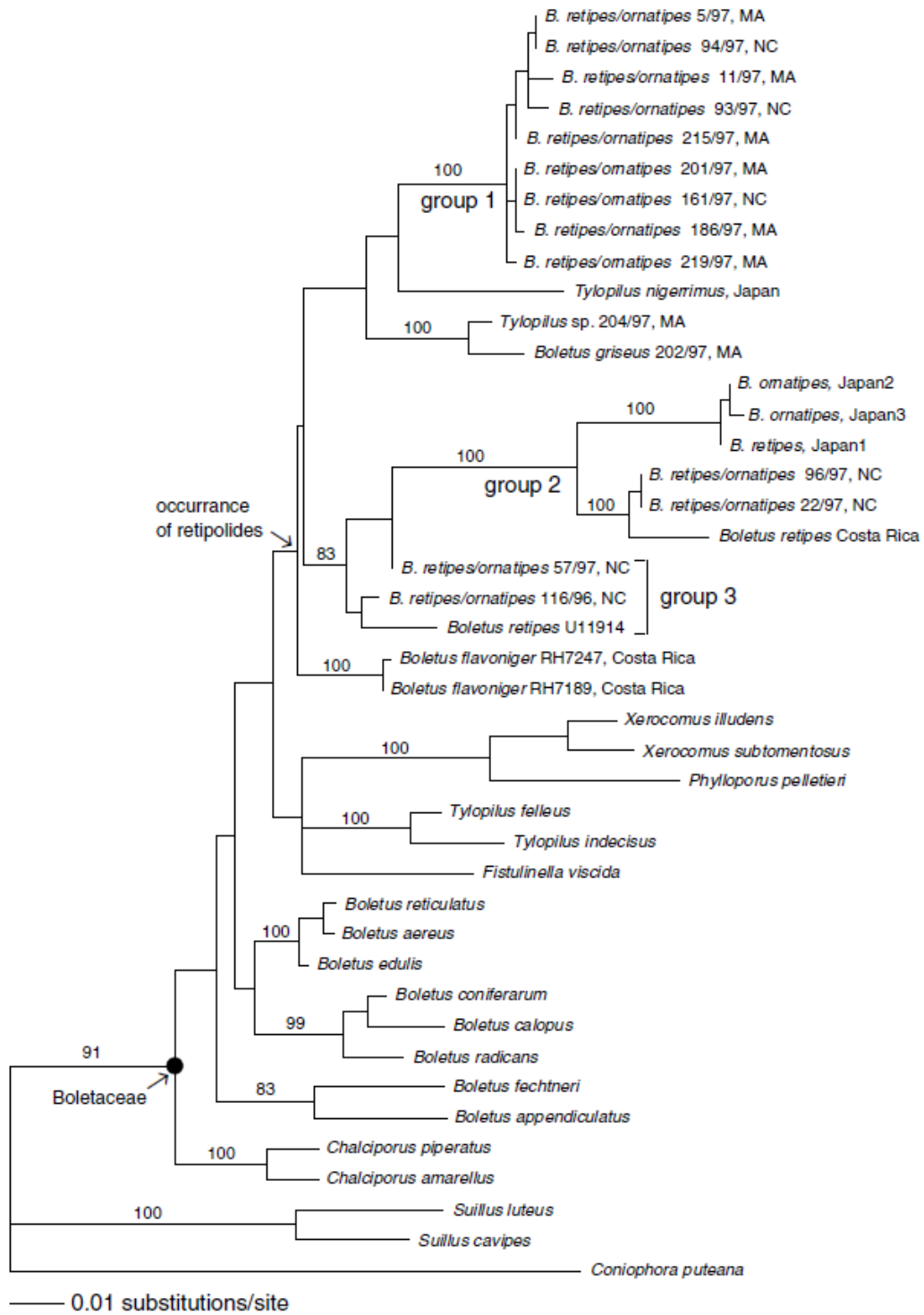


FIGURA 3: Relaciones filogenéticas de la familia *Boletaceae*.

Imagen extraída de Binder y Bresinsky (10)

Todos los carpóforos del género *Boletus* están formados por píleo (nombre técnico que se le da al sombrero), himenio y pie. El píleo está recubierto por una cutícula de

diferente consistencia que la carne del sombrero. La superficie fértil, himenio, está ubicada en la parte inferior del píleo y es tubulosa. Los tubos pueden ser cortos de pocos milímetros o largos de casi 2 cm; pero normalmente, en cualquiera de los casos, los tubos se pueden separar de la carne del píleo. El pie está dispuesto, generalmente, en la parte del píleo y es muy variable en la ornamentación, ya que encontramos especies con superficie lisa y especies con retículo o punteado. La carne generalmente dura y firme se altera con facilidad y, en muchos casos azulea (oxidada) en contacto con el aire.

En la Tabla 1 podemos encontrar la clasificación de los *Boletus* en función de grado de aceptación gastronómica en: excelentemente comestibles, aceptables, regulares/malos y tóxicos.

TABLA 1: Clasificación de los *Boletus* en función de su aceptación gastronómica.

Excelentemente comestibles	Aceptablemente	Regulares/malos	Tóxicos
<i>Boletus aereus</i> <i>Boletus edulis</i> <i>Boletus pinophilus</i>	<i>Boletus regius</i> <i>Boletus spretus</i> <i>Boletus impolitus</i> <i>Boletus appendiculatus</i> <i>Boletus fechtneri</i> <i>Boletus dupainii</i>	<i>Leccinum quercinum</i> <i>Boletus fragans</i> <i>Boletus calopus</i> <i>Boletus pulverulentus</i> <i>Boletus luridus</i>	<i>Boletus satanas</i> <i>Boletus rhodoxanthus</i>

Fuente: Elaboración propia.

Actualmente, no se conoce con exactitud el número de *Boletus* comestibles. Sin embargo, como podemos ver en la siguiente figura es uno de los géneros con mayor número de especies comestibles (ver Figura 4) e importancia económica (4).

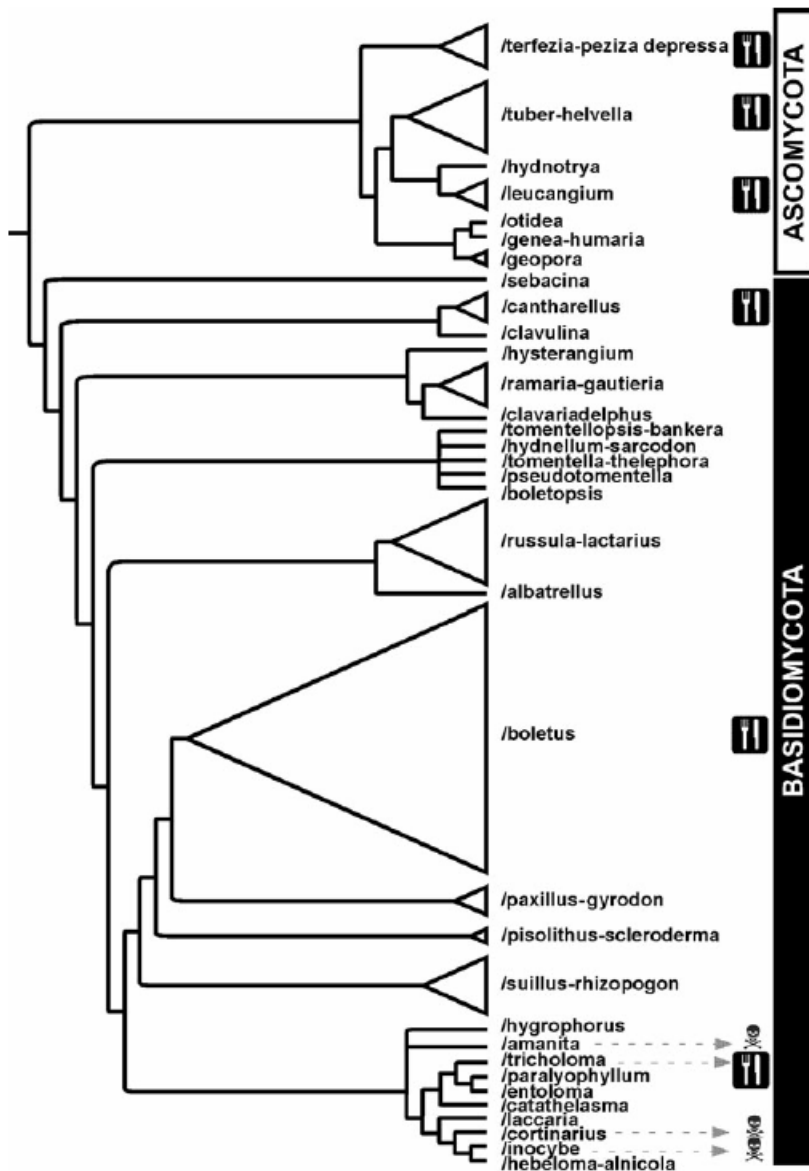


FIGURA 4: Cladograma que describe las relaciones entre las líneas de seta ectomicorrizas que contienen especies comestibles.

Imagen: extraída de Zambonelli y Bonito (4)

En los siguientes párrafos, se describen las principales características de los *Boletus* analizados en este trabajo de investigación.

a) *Leccinum quercinum*

Clase: *Basidiomycotina*

Subclase: *Agaricomycetes*

Orden: *Boletales*

Familia: *Boletaceae*

Características macroscópicas:

Sombrero de forma hemisférica, convexa y al final extendida con un diámetro que puede llegar de los 7 a 20 cm. Posee una superficie opaca y aterciopelada. El color es muy llamativo: rojo o rojo anaranjado.

Los tubos son largos, desiguales fácilmente separables, de color blancos, pero se vuelven grises con el tiempo.

El pie es duro, largo y cilíndrico, de color blanco con escamillas o granulaciones en forma horizontal que pasan a un color pardo.

La carne es blanda y delgada, de color blanca y que al ponerse en contacto con el aire se vuelve del mismo color que el sombrero.

Características microscópicas:

Las esporas son muy alargadas y fusiformes, lisas y amarillentas, de 13-17 x 4-5 μm (11,12).

Hábitat y ecología:

Fructifica a partir del verano con las primeras lluvias, aunque realmente su periodo de fructificación es de septiembre a octubre. Crece bajo robles, aunque a veces también bajo hayas, castaños o abedules.

Observaciones:

Olor débil y sabor agradable. Ennegrece la cocción. Se recomienda mezclarlo con especies más aromáticas ya que, por sí solo, resulta bastante soso. Comestible, pero con precauciones.

b) *Boletus edulis*

Clase: *Homocasiidiomycetes*

Subclase: *Agaricomycetidae*

Orden: *Boletales*

Familia: *Boletaceae*

Características macroscópicas:

Sombrero semiesférico con un diámetro que puede llegar a los 25 o 30 cm.

Cutícula de color pardo-ocráceo, lisa, ligeramente viscosa en tiempo húmedo. Margen excedente.

Los tubos son de color blanquecino, más tarde amarillentos y finalmente verde-oliva, son separables con facilidad del sombrero y no llegan al pie (libres).

La carne es blanca, rosa bajo cutícula e inmutable al corte.

Características microscópicas:

Las esporas son lisas, fusiformes, de 14-18 x 4-6 μm , y presenta una esporada ocre-olivácea. Prefiere suelos ácidos (11,12).

Hábitat y ecología:

Aparece desde finales de verano hasta final del otoño, bajo frondosas o coníferas y suele crecer en grupos de varios ejemplares más o menos dispersos.

Observaciones:

Excelente comestible, de olor y sabor agradable. Tiene un sabor bien definido, dulce como el de las avellanas.

c) *Boletus pinophilus*

Clase: *Homobasidiomycetes*

Subclase: *Agaricomycetidae*

Orden: *Boletales*

Familia: *Boletaceae*

Características macroscópicas:

Sombrero de gran porte pudiendo alcanzar los 25 cm, de forma hemisférica durante parte de su desarrollo, adoptando con posterioridad forma plano convexo. Está sujeto a una cierta variabilidad en su color, pero siempre tiene tonos rojizos o su característico tono caoba. Su superficie es lisa y seca y con la lluvia se vuelve algo brillante, aunque apenas viscosa.

Tubos alargados inicialmente de color blanco, después amarillentos y finalmente adoptan color oliváceo. Son bastante apretados y permanecen inmutables tanto al corte como al tacto.

Pie ventrudo cuando es joven, algo más alargado en los especímenes adultos, a veces puede llegar a tener más diámetro que el propio sombrero. Su color de fondo es el blanquecino o amarillento, pero está manchado o reticulado de rojo, a veces en su totalidad; de viejo suele ser algo más ocráceo. Destaca su apariencia carnosa.

Características microscópicas:

Las esporas son amarillentas, lisas, fusiformes y no amiloides de 13-17 x 4-5 μm (11,12).

Hábitat y ecología:

Aunque su nombre ligue exclusivamente a los pinos, también sale bajo hayas o robles, dando un primer brote en primavera y apareciendo de nuevo en otoño.

Es una especie muy extendida por toda la península ibérica.

Observaciones:

Se trata de un excelente comestible muy cotizado, que junto a los *Boletus edulis*, *aereus* y *reticulatus* constituyen el grupo de los grandes *Boletus* comestibles, los denominados hongos, ceps o migueles.

Sabor y aroma agradables.



Leccinum quercinum

Boletus edulis

Boletus pinophilus

FIGURA 5: Imágenes de las tres especies de *Boletus* estudiadas.

2.1 Amanitas:

El nombre científico del género *Amanita*, acuñado por Persoon puede derivar del griego *amanitai*, que significa “sin detalles” o de Amanus, monte de la antigua provincia romana de Cilicia, en el sur de la actual Turquía. El nombre específico *muscaria* procede del latín musca, que significa “mosca”, ya que antiguamente se utilizaba leche en la que se habían remojado estos hongos para matar las moscas. En la cuenca Mediterránea tiene diversos nombres populares cuyo sentido es por sí mismo significativo: la mayoría giran en torno del nombre “pájaro loco”, “sabia locura” o en referencia a su acción insecticida como matamoscas, incluso es conocido *fly agaric* (13).

Las *Amanitas* pertenecen al *phylum* de las *Basidiomycota*, al *subphylum* de los *Agaricomycotina*, a la clase de los *Agaricomycetes*, al orden de los *Agaricales* y a la familia de *Amanitaceae*. El género *Amanita* engloba tanto especies comestibles como tóxicas. La *Amanita cesarea* es una de las especies más importante desde el punto de vista económico (4), esto se debe principalmente a su delicado flavor.

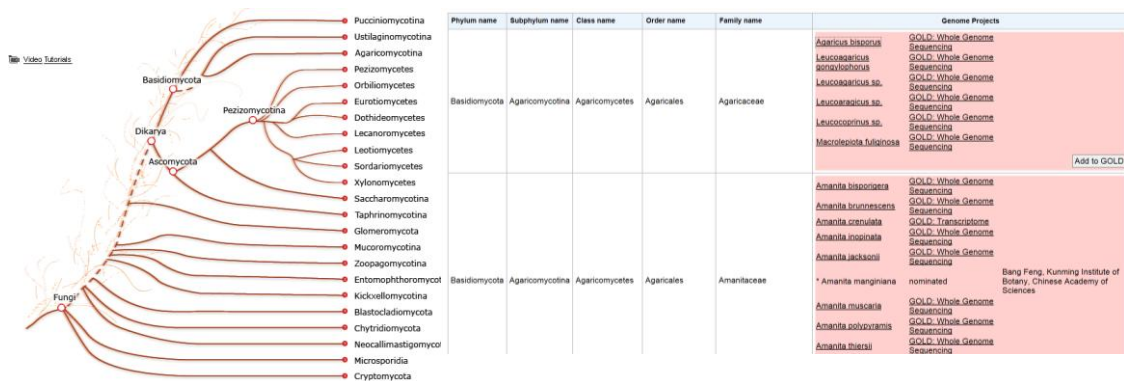


FIGURA 6: Árbol filogenético del reino *fungi*, de la familia *Amanitaceae*

Imagen modificada utilizando la base de datos

<http://genome.jgi.doe.gov/programs/fungi/index.jsf>

Las *Amanitas* comprenden un tipo de setas con unas características bastante uniformes y determinadas: sombrero y pie separables entre sí, esporas grandes, blancas o de color claro, láminas numerosas, libres, frágiles y blancas, y pie con anillo y volva de formas variables. Son ejemplares de gran belleza y espectacularidad, su tamaño, forma y color componen, por lo general, unas setas proporcionadas y bien estructuradas.

Viven en bosques y forman asociaciones micorrizicas con los árboles y arbustos de todo tipo, prefiriendo las especies ya adultas que hayan superado las fases iniciales de su desarrollo. Algunos de los hábitats naturales más destacados de las *Amanitas* son: claros de bosques en verano y otoño, bajo árboles como robles, castaños, encinas, alcornoques o en matorrales como jarales

De acuerdo al valor gastronómico de las *Amanitas* encontradas, se han clasificado en este trabajo en: excelentemente comestibles, regulares, tóxicas y mortales (ver Tabla 2). En el caso de las *Amanitas* regulares incluyo un género que crudo resulta tóxico pero que una vez cocinado es aceptable para su consumo.

TABLA 2: Clasificación de las *Amanitas* en función de su aceptación gastronómica.

<i>Amanitas</i> excelentemente comestibles	<i>Amanita</i> regulares	<i>Amanitas</i> tóxicas	<i>Amanitas</i> mortales
<i>Amanita caesarea</i> <i>Amanita ponderosa</i>	<i>Amanita rubescens</i> <i>Amanita ovoidea</i>	<i>Amanita muscaria</i>	<i>Amanita phalloides</i> <i>Amanita verna</i>

Fuente: Elaboración propia

a) *Amanita ovoidea*

Clase: *Homobasidiomycetes*

Subclase: *Agaricomycetidae*

Orden: *Agaricales*

Familia: *Amanitaceae*

Características macroscópicas:

Sombrero de grandes dimensiones que puede alcanzar los 20 cm de diámetro. Forma esférica para pasar después a convexa, no suele aplanarse hasta que el ejemplar ya es viejo. Su color es blanco puro, en ocasiones brillantes; su cutícula no acostumbra a presentar restos de volva, sin embargo, si tiene restos de pelo en el borde.

Las láminas de color blancas forman una especie de círculo alrededor del pie, son gruesas, muy apretadas y libres del pie.

El pie es central, cilíndrico y grueso, de color blanco y con escamas de consistencia harinosa del mismo color. Posee un anillo harinoso y poco consistente además de una amplia volva membranosa muy consistente que puede ser blanca u ocre amarillento.

Carne blanca, muy espesa y compacta, sin sabor y olor especial.

Características microscópicas:

Basidios tetraspóricos de 8 a 10 µm de diámetro. Esporas elipsoidales de paredes lisas e incoloras al microscopio, de 9-12 x 6-7 µm, se tiñen de grisáceo con el yodo, amiloides (11,12).

Hábitat y ecología:

Crece bajo planifolios diversos, sobre todo encinares y coníferas.

Especie otoñal (octubre-noviembre) poco frecuente.

Observaciones:

Es comestible pero no se recomienda su consumo por dos razones: posibilidad de confundirse con especies tóxicas (e incluso mortales) y calidad escasa.

Posee un sabor suave y un olor apenas perceptible.

b) *Amanita rubescens*

Clase: *Homobasidiomycetes*

Subclase: *Agaricomycetidae*

Orden: *Agaricales*

Familia: *Amanitaceae*

Características macroscópicas:

Sombrero de hasta 15 cm, al principio globoso y de color muy claro, después hemisférico y ocre, más tarde convexo o aplanado y de un tono más rojizo.

Laminas completamente blancas de joven que adoptan tonos rojizos en la vejez a modo de manchas. Suelen estar bastante apretadas.

Pie de color claro o rosado, adopta tonalidades rojo vinosas e a partir de la base. Contiene un anillo muy estriado, membranoso y persistente es de color blanco a rosa, Carne tierna, frágil, de color blanco que luego enrojece al tacto.

Características microscópicas:

Las esporas son de color blanco, ovoides, anchas, amiloides, lisas y de 8-11 x 6-7 μm . Basidios tetraspóricos. Cutícula filamentosa (11,12).

Hábitat y ecología:

Se trata de una especie que aparece tanto en primavera como en verano y otoño, indistintamente en bosques de caducifolios o coníferas.

Observaciones:

Excelente comestible, sin embargo, es tóxica en crudo, por lo que es necesaria su cocción. Olor nulo y sabor acre.



Amanita ovoidea



Amanita rubescens

FIGURA 7: Imágenes de las dos especies de *Amanitas* estudiadas.

2.3 Composición y compuestos orgánicos volátiles de las setas:

Desde el punto de vista alimenticio las setas destacan por su gran valor nutricional debido al alto contenido en agua (70-95%), son ricas en polisacáridos (α -D-glucanos, β -D-glucanos, y α/β -D-glucanos), antioxidantes y pobres en grasas (0,3-4%). En cuanto al contenido de proteínas oscila, por lo general, entre el 1-6% pudiendo llegar éste al 33-35% en especies como *Fomitopsis officinalis*, *Lentinus edodes* y *Pholiota nameko*; destacan por contener aminoácidos esenciales (alanina, ácido glutámico y glutamina). Así mismo, son una buena fuente de vitaminas y minerales (1,14).

Los aromas proporcionados por las setas son generados por los compuestos orgánicos volátiles (COVs). Estos son un gran conjunto de compuestos químicos basados en el carbono con un peso molecular inferior a 300 g/mol. Se evaporan fácilmente a temperatura ambiental y son capaces de difundirse a través del aire y el suelo (15). En los últimos años se han realizado diversos estudios que han llevado a la identificación de más de 10.000 compuestos orgánicos volátiles derivados de los alimentos (16). El número de volátiles está incrementando por el uso de la Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS), que permite la separación de dichos compuestos y la identificación de los mismos de forma eficiente en los alimentos y en este caso en las setas.

Los principales volátiles encontrados en las setas son compuestos que tienen entre 4 y 14 carbonos, predominando los compuestos de 8 carbonos (17). Estos autores estudiaron la seta *Fistulina hepática* y encontraron que los volátiles que presentaron mayor concentración pertenecieron a compuestos con 8 y 10 átomos de carbono, concretamente las siguientes familias: alcoholes alifáticos, aldehídos y cetonas. Según Shu-Yao et al (18), el olor tipo de las setas es atribuido a compuestos de ocho carbonos, especialmente 1-octen-3-ol. Dicho compuesto podría ser el responsable del olor a almendra y olor afrutado.

En otro estudio realizado en especies *Pleurotus florida*, *Agaricus bisporus* y *Calocybe* el volátil más relevante fue el 1-octen-3-ol (19). Por ese motivo se le considera como el encargado de proporcionar el aroma característico de las setas (16).

Finalmente, otros compuestos aromáticos identificados en las setas con alta presencia han sido: el 3-Octanol, 3-Octanona, benzaldehído, 1-octen-3-ona y 2-octen-1-ol. Los estudios de volátiles en las setas comestibles son relativamente escasos (17, 18 y 19).

Además de los compuestos presentes en la seta cruda, durante el tratamiento culinario de las setas, y según la técnica utilizada, puede haber formación de compuestos orgánicos volátiles. Estos compuestos se formarían por la degradación lipídica o por la reacción de Maillard. La química derivada de la reacción de Maillard es extremadamente compleja (20,21). En esencia, se produce una condensación entre un azúcar reductor, como la glucosa, y un compuesto poseedor de un grupo amino, como un aminoácido (21). Entre los COVs formados en la reacción de Maillard los más destacados son las furanonas, los pirroles y las pirazinas. La cantidad de estos compuestos está relacionada con la intensidad del calentamiento (22).

3. OBJETIVOS

El objetivo principal del trabajo ha sido obtener el perfil de compuestos orgánicos volátiles de setas silvestres obtenidas en la Comunidad de Castilla y León.

Para alcanzar el objetivo general se han concretado los siguientes objetivos específicos:

- a. Identificar el perfil de compuestos orgánicos volátiles de setas silvestres comestibles del género *Boletus* y del género *Amanita*.
- b. Explorar la posible presencia de compuestos orgánicos volátiles que puedan actuar como biomarcadores, que posibiliten la diferenciación entre géneros y/o especies de setas.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 Muestras

Se obtuvieron cinco tipos de setas de dos géneros distintos, de los cuales tres fueron del género *Boletus*: *Leccinum quercinum*, *Boletus edulis* y *Boletus pinophilus*, y dos del género *Amanita*: *Amanita ovoidea* y *Amanita rubescens*, durante los meses octubre-noviembre de 2014 provenientes de la Comunidad de Castilla y León y cedidas por Dr. Tomás Girbés. Las setas se limpiaron con un paño húmedo y se congelaron hasta sus análisis.

4.2 Análisis cromatográfico

Previamente al análisis cromatográfico, las setas fueron descongeladas durante 18 horas aproximadamente en una cámara frigorífica. Posteriormente, fueron cocinadas en un baño de agua a una temperatura de 70°C durante 30 min (ver Figura 8), dentro de una película plástica e impermeable al agua; a continuación se les mantuvo a 4°C durante 24 horas hasta su análisis. Seguidamente, las setas fueron troceadas en trozos de apropiadamente 5 cm. Se pesaron, por duplicado, 4 g de setas en un vial de 20 ml capacidad. Después el vial fue colocado en un baño de agua ultrasónico 200-W (jp Selecta, Barcelona, España) durante 20 min a 60°C para conseguir el equilibrio

químico (ver Figura 9). A continuación, los compuestos fueron adsorbidos por la fibra de micro-extracción en fase sólida (SPME), la fibra previamente se acondicionó a 260°C por 30 min, de 75 µm de sílice fundido carboxeno/polidimetilsilosano (Supelco, Bellefonte, PA, EEUU), manteniéndola expuesta durante 50 min a 60°C (ver Figura 10). Posteriormente, los compuestos adsorbidos por la fibra SPME fueron desorbidos en el puerto de inyección del cromatógrafo de gases durante 2 min a 260°C en modo sin división de flujo (splitless).

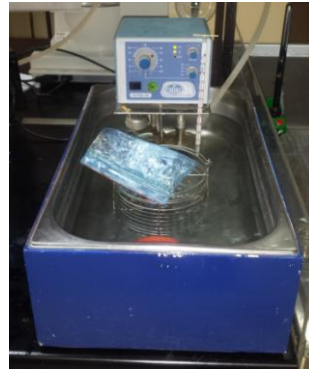


FIGURA 8: Muestra de una de las setas en el baño de agua.



FIGURA 9: Vial con 4 gramos de una muestra en el baño de agua con aplicación de ultrasonidos.



FIGURA 10: Fibra de micro-extracción introducida en el vial.

Los compuestos orgánicos volátiles se analizaron en un cromatógrafo de gases GC7890A, acoplado a un espectrómetro de masas MSD 5975C con un detector de masas de tipo cuádruplo (Agilent Technologies) (ver Figura 11). Los compuestos se separaron utilizando una columna DB-5MS (J&W Scientific, Folsom, CA, EEUU) con una longitud de 60 m, 0,25 mm de diámetro interno y 25 μm de espesor de relleno. El gas portador fue helio, fluyendo a velocidad constante de 1,5 ml/min. La programación del horno comenzó a 37°C con un mantenimiento de 1 minuto, la temperatura se incrementó hasta 50°C a una velocidad de 10°C/min, posteriormente la temperatura se incrementó hasta 146°C a 4°C/min, seguidamente se incrementó hasta 200°C a 20°C/min y finalmente se incrementó hasta 250°C a 50°C/min. Manteniendo la temperatura durante 11 minutos. La temperatura de la línea de transferencia fue de 280°C y la fuente de iones operó a 250°C. Los espectros de masas se obtuvieron utilizando el modo de impacto de electrones con una energía de 20eV. El voltaje relativo se mantuvo en 1235 V. Para el tratamiento de datos se utilizó el modo escaneo (scan) con un rango de masas de m/z.



FIGURA 11: Cromatógrafo de gases GC7890A acoplado a un espectrómetro de masas MSD 5975C con un detector de masas.

Los volátiles detectados fueron identificados comparando su espectro de masas del compuesto con los de los compuestos presentes en la base de datos NIST/EPA/NIH-08, a partir de su tiempo de retención relativo (TRR) y por interpretación espectral cuando fue necesario. Para calcular el TRR se utilizó una serie de n-alcenos de cadena lineal entre 5 y 20 átomos de carbono (Sigma Aldrich, ST. Lois, MO, EEUU). La mezcla de alcanos se preparó en un vial con 1 ml de n-hexano y 50 μl de cada uno de los siguientes alcanos n-pentano, n-octadecano, n-nodadecano. Se inyectó en el

cromatógrafo 1 µl de la mezcla bajo las mismas condiciones que las descritas para la muestra. Para el cálculo de los TRR experimentales se empleó la fórmula descrita por David et al (2002). Los análisis cromatográficos se llevaron a cabo en el Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de León, con el apoyo del Dr. Javier Mateo Oyagüe, Profesor Titular del Departamento de Tecnología de los Alimentos.

4.3 Análisis estadístico

Una vez obtenida la concentración de los diversos compuestos orgánicos volátiles, se llevó una estadística descriptiva, calculando la media y la desviación estándar de la concentración de cada uno de los compuestos volátiles orgánicos con ayuda de las hojas de cálculo de Excel, Windows 2010.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El número total de volátiles detectados en el presente estudio, incluyendo aquellos consideramos como “desconocidos”, fue de 142. En las siguientes Figuras 12 y 13 se muestran los cromatogramas de los perfiles de volátiles de las setas estudiadas. En la Figura 12 se encuentran los perfiles de volátiles de *Boletus* y en la Figura 13 *Amanitas*.

A partir de los cromatogramas de las setas *Leccinum quercinum*, *Boletus edulis*, *Boletus pinophilus*, *Amanita ovoidea* y *Amanita rubescens* se obtuvo el tiempo de retención, el porcentaje de identificación y la concentración de cada uno de los volátiles.

En la Tabla 3 se encuentran recogidos los compuestos orgánicos volátiles encontrados en cada una especie estudiadas. Los volátiles encontrados en las diferentes especies de setas, se agruparon en once familias químicas: aldehídos de cadena lineal, aldehídos de cadena metil ramificada, cetonas alifáticas, alcoholes alifáticos, hidrocarburos alifáticos, compuestos bencénicos, ácidos y ésteres alifáticos, compuestos furánicos y furfurales, compuestos azufrados, terpenoides y compuestos nitrogenados. Además, el grupo denominado como “desconocidos” incluyo ocho volátiles cuya identificación no ha sido posible. Algunos de estos compuestos podrían estar asociados al tipo de seta, ya que sólo se encontraron e identificaron en un tipo de estas.

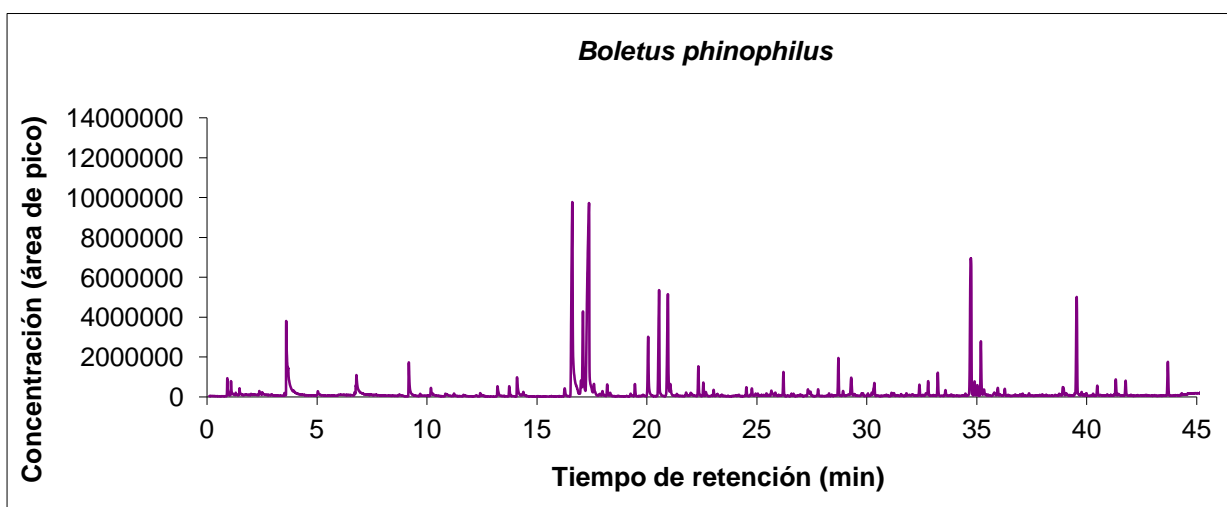
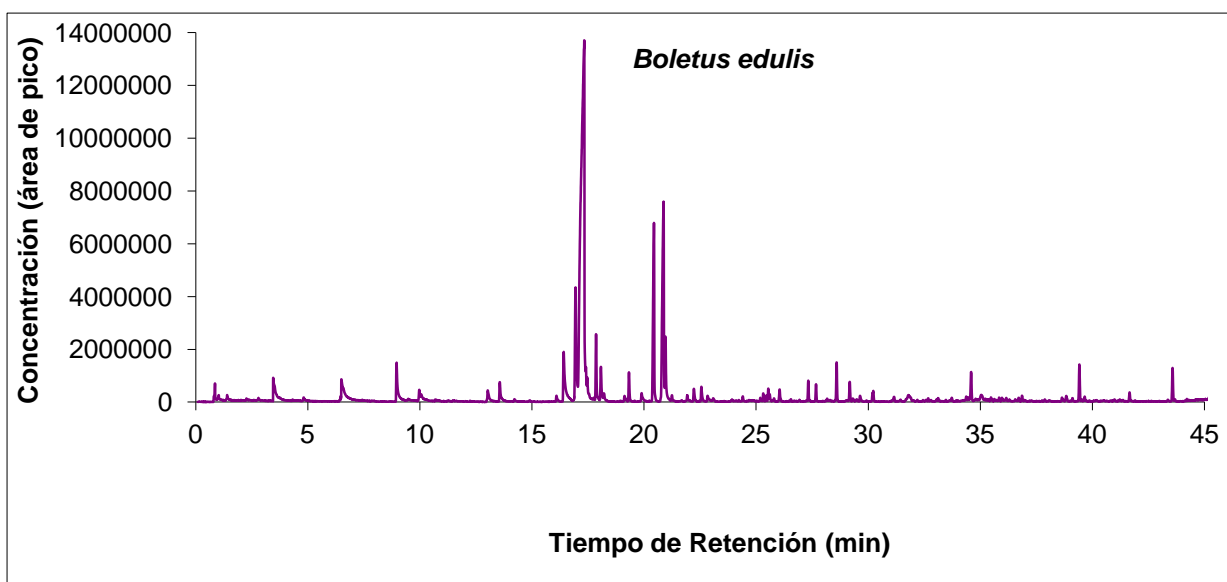
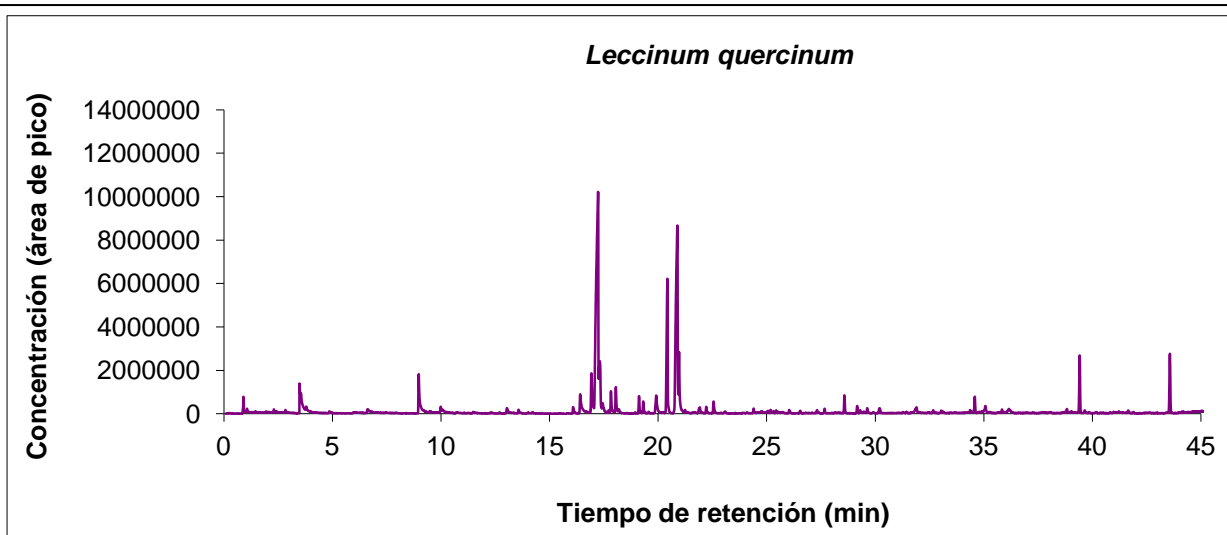


FIGURA 12. Perfiles de volátiles de las tres especies de *Boletus*.

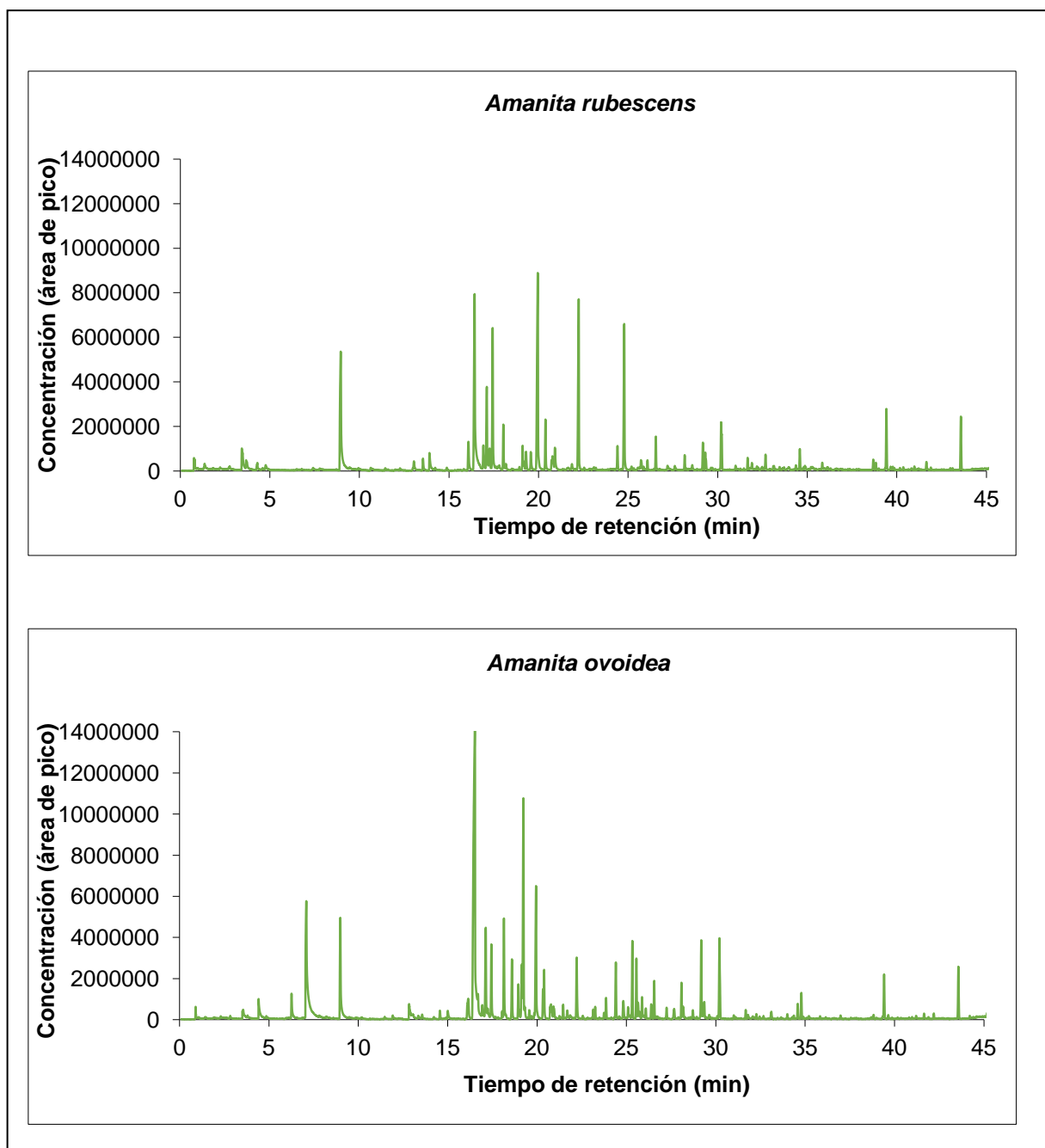


FIGURA 13. Perfiles de volátiles de las especies de *Amanitas* estudiadas

A continuación, en la Tabla 4 se recogen el sumatorio del contenido de compuestos orgánicos volátiles de los diversos tipos de setas, agrupados en las once familias químicas antes mencionadas. Los aldehídos de cadena lineal, los alcoholes alifáticos, los compuestos bencénicos y las cetonas alifáticas fueron las familias más abundantes en las setas estudiados en este trabajo de investigación. Cabe desatacar que la cantidad de compuestos bencénicos y furánicos fue superior en las especies del

género amanitas que las de *Boletus*. Por otra parte, los alcoholes alifáticos estuvieron en mayor cantidad en los *Boletus* que en las *Amanitas*. Finalmente, el contenido de compuestos terpenoides fue superior en las dos amanitas estudiadas, pero especialmente en *A. ovoidea*.

En los alimentos se han descrito más de 10.000 COVs y esta cantidad va en aumento debido a las diversas investigaciones que realizan en la investigación de los volátiles. Respecto a las setas, son múltiples los factores que pueden influir en el patrón de los compuestos orgánicos volátiles como el desarrollo del hongo, las condiciones de crecimiento o el genotipo. Es posible que el característico sabor y olor de las setas pueda deberse a una mezcla de COVs con diferentes características físicas y químicas; no obstante, podría haber COVs individuales que sean reconocidos por los receptores de olores en la cavidad nasal (16).

Teniendo en cuenta las 5 variedades de setas estudiadas (*Leccinum quercinum*, *Boletus edulis*, *Boletus pinophilus*, *Amanita ovoidea* y *Amanita rubescens*), los principales COVs son los siguientes:

- 1-octen-3-ol, alcoholes alifáticos.
- Benzaldehído, compuestos bencénicos.
- 2-octen-1-ol, alcoholes alifáticos.
- 2-octenal, aldehído de cadena lineal.
- Benceno acetaldehído, compuestos bencénicos.
- Hexanal, aldehído de cadena lineal.
- 1-octen-3-ona, cetona alifática.
- 2-undecanone, cetona alifática.
- Benceno acetaldehído, compuestos bencénicos.
- 2-heptenal, aldehídos de cadena lineal.

En la Figura 14 se recogen los cinco compuestos volátiles orgánicos mayoritarios en las cinco setas estudiadas. El 1-octen-3-ol, 2-octen-1-ol, bencenoacetaldehído y benzaldehído, fueron identificados en todas las especies de setas estudiadas. Sin embargo, el 2-pentilfurano, abundante en *A. rubescens*, no se encontró en *B. edulis*.

Por otra parte, el 1-octen-3-ol y el benzaldehído fueron los volátiles mayoritarios, el primero fue superior en los *Boletus* y el segundo en las *Amanitas*. El 2-octen-1-ol también fue superior en el género *Boletus*.

El volátil más destacado en los *Boletus* fue el 1-octen-3-ol cuyo rango de concentración fue de 109 a 136 ng de undecano para *B.phinophilus* y *L. quercinum*, respectivamente. Así mismo, se han observado otros volátiles importantes en estas setas. Estos resultados son similares a los encontrados por diferentes autores (17,19) quienes han encontrado que ese volátil es el más importante en diversos tipos de setas como *Agaricus bispours*, *Pleurotus florida*, *Calocybe indica*, *Fistulina hepática* (15). Por ende, concuerdan con Pyysalo (23), quien indica que el 1-octen-3-ol fue el principal compuesto volátil en *Boletus edulis*.

En el *Boletus edulis*, además del 1-octen-3-ol, se encontraron otros COVs que fueron abundantes o específicos de esta seta, entre ellos encontramos: 2-octen-1-ol, 2-octenal, 1-octen-3-ona, benzaldehído, butenal y 3-penten-2-ona. Estos resultados coinciden parcialmente con los observados por diversos autores (23,24), quienes indican que el 1-octen-3-ol, 1-octen-3-ona, benzaldehído y butenal fueron los compuestos volátiles mayoritarios presentes en *B. edulis*. Sin embargo, en este estudio los compuestos orgánicos volátiles 2-octenal, 2-octen-1-ol y 3-penten-2-ona fueron también identificados en las diversas especies del género *Boletus* en cantidades importantes. En el caso de 2-octenal las concentraciones estuvieron en un rango de 36,39 a 53,82 ng de undecano y en el caso del 2-octen-1-ol las concentraciones fueron entre 34 a 95,5 ng de undecano para *B.phinophilus* y *L. quercinum*, respectivamente. Finalmente, cabe resaltar que la 3-penten-2-ona fue abundante solo en *Boletus edulis* (13,11 ng de undecano) y que este compuesto no fue encontrado en las setas del género *Amanita*.

Así mismo, en el *Boletus phinophilus* los compuestos orgánicos volátiles más relevantes pertenecieron a los aldehídos de cadena lineal (butenal y 2-octenal), cetonas alifáticas (1-octen-3-ona), alcoholes alifáticos (2-octen-1-ol) y compuestos bencénicos (benzaldehído y bencenoacetaldehído). En el caso *Leccinum quercinum* los principales COVs fueron: 1-octen-3-ol, el 2-octen-1-ol-, 2-octenal, 3-octanona, 1-octanol, butenal y 1-octen-3-ona. Estos resultados no pueden ser contrastados debido a que, según la búsqueda bibliográfica realizada, no hay estudios de volátiles estas especies.

Respecto a las *Amanitas*, a diferencia de las setas anteriores, los compuestos volátiles orgánicos más importantes a destacar son el benzaldehído y el bencenoacetaldehído.

Dichos compuestos representan una elevada concentración, siendo esta superior a 100 y 38,6 ng de undecano respectivamente, en ambas especies. Por otro lado, otros COVs hallados de forma importante, aunque en menor proporción, en ambas especies fueron el 2-pentilfurano, el hexanal y el 1-octen-3-ol. El 2-pentilfurano fue el volátil encontrado en mayor cantidad en el *Boleptosis leucomelas* (25). El 2-pentilfurano y el hexanal fueron más abundantes en las amanitas que en el resto de las setas.

En la *Amanita ovoidea*, es de destacar la presencia de compuestos volátiles como los terpenoides: D-limoneno y α -felandreno; aldehídos de cadena lineal como es el caso del 2-heptenal y cetonas como la 2-undecanone. Es de resaltar que el α -felandreno fue encontrado sólo en este tipo de seta en concentraciones 24,63 ng de undecano.

En relación a la *Amanita rubescens* los compuestos volátiles orgánicos más destacables, con respecto a las otras setas, fueron los aldehídos de cadena lineal como el nonanal y el 2,4-decadienal y los compuestos bencénicos como el 1,3-dimetoxi-bencenopropanal.

Comparando ambas *Amanitas* es de destacar que la concentración de algunos volátiles encontrados fue diferente. Por ejemplo, el 2-heptenal aunque estuvo presente en los dos tipos de setas, la concentración de este compuesto fue superior en *Amanita ovoidea* que en *Amanita rubescens* (18,06 frente a 4,04 ng). Lo mismo ocurrió con los compuestos D-limoneno y 2-undecanone cuyas concentraciones fueron superiores en *Amanita ovoidea* (14,26 para el primer volátil y de 19 ng para el segundo).

La diferencia de los perfiles de los compuestos orgánicos volátiles en las setas podría dar lugar a la búsqueda de compuestos volátiles susceptibles de ser considerados como biomarcadores a la hora de la diferenciación entre tipos de setas. Aunque algunos autores como Malheiro et al (26) sugieren que el 2-octen-1-ol podría ser utilizado como un biomarcador potencial en setas salvajes, la cantidad de ese compuesto encontrado en las amanitas, podría ser un inconveniente. Se necesitan estudios más amplios que consideren mayores variedades de setas y mayor número de setas por variedad para obtener biomarcadores volátiles.

TABLA 3. Contenido de los compuestos orgánicos volátiles las setas de las especies *Boletus* y *Amanita*.

Compuestos Volátiles orgánicos	TRR ¹	<i>L.</i> <i>quercinum</i>	<i>B.</i> <i>edulis</i>	<i>B.</i> <i>phinophilus</i>	<i>A.</i> <i>ovoidea</i>	<i>A.</i> <i>rubescens</i>
<i>Aldehídos de cadena lineal</i>						
Acetaldehído		0,66	0,80	1,98	0,55	0,03
Butenal	654	18,03	13,16	29,25	1,34	nd ²
Pentanal	704	0,81	1,07	1,33	0,76	1,89
Hexanal	803	15,81	11,81	9,82	35,92	51,88
2-Hexenal	855	0,37	nd	0,61	1,14	0,28
Heptanal	899	1,57	5,03	2,61	1,03	2,71
2-Heptenal	960	2,41	2,00	2,68	18,69	4,04
Octanal	1007	7,85	6,55	2,05	1,73	9,11
2-Octenal	1063	48,14	53,82	36,39	10,34	11,73
Octadienal isomero	1099	1,63	1,45	0,33	nd	nd
Nonanal	1107	2,77	2,44	6,21	17,52	58,06
2,4-Octadienal	1115	4,35	3,70	1,24	1,13	0,37
2-Nonenal	1165	1,48	0,83	2,26	13,77	6,32
2,4-Nonadienal	1201	0,27	nd	nd	2,13	nd
Decanal	1210	0,32	0,42	6,27	2,72	1,99
2,4-Nonadienal	1223	0,77	0,60	0,85	8,40	8,75
2-Decenal	1268	0,25	0,48	0,82	4,41	3,28
2,4-Decadienal	1304	0,48	nd	0,18	0,62	0,78
Undecanal	1312	nd	nd	0,67	0,50	0,75
2,4-Decadienal	1326	1,60	1,01	nd	19,35	15,71
2-Undecenal	1368	0,13	0,34	nd	1,89	2,85
Dodecanal	1411	0,07	0,74	6,58	2,37	0,27
Tetradecanal	1619	nd	nd	0,49	0,70	nd
		109,76	106,2	112,63	147,01	180,81
			6			

Continuación tabla

<i>Aldehídos de cadena metil ramificada</i>						
2-Metilpropanal		0,14	0,05	0,06	0,13	0,08
3-Metilbutanal	651	nd	nd	nd	3,69	10,23
2-Metilbutanal	662	2,50	0,14	nd	0,89	4,94
2-Metil-2-butenal	752	nd	nd	11,70	nd	nd
2-Metil-2-hexenal	875	nd	nd	0,66	nd	nd
		2,64	0,19	12,42	4,71	15,25
<i>Cetonas alifáticas</i>						
Acetona		0,06	0,56	0,63	0,20	2,04
Butanodiona	600	0,61	0,40	0,38	0,44	0,09
3-Penten-2-ona	745	2,45	13,11	nd	nd	nd
2-Ciclopentene-1,4-diona	884	0,25	nd	nd	7,90	nd
2-heptanona	892	2,11	3,75	3,27	nd	nd
1-Octen-3-ona	980	13,87	34,35	23,85	3,56	4,92
2,3-Octanodiona	988	nd	nd	nd	1,68	2,44
3-Octanona	989	24,58	nd	nd	nd	4,26
3-Octen-2-one	1043	0,52	nd	nd	2,24	3,32
2-Nonanone	1095	nd	nd	0,91	nd	nd
3-Nonen-2-ona	1143	nd	0,11	0,12	nd	nd
2-Decen-2-ona	1192	0,51	1,59	0,74	nd	nd
2-Decanona	1195	0,33	2,07	nd	nd	nd
3-Decen-2-one	1248	0,30	1,47	1,22	nd	nd
2-Undecanone	1296	2,31	3,45	5,53	19,00	7,54
6,10-dimetil-5,9-Undecadien-2-ona	1452	0,78	0,72	0,82	0,82	1,13
		48,69	61,57	37,48	35,82	25,73

Continuación tabla

<i>Alcoholes</i>						
<i>alifáticos</i>						
1-Pentanol	776	nd	nd	nd	0,77	1,37
1-Hexanol	872	nd	nd	0,70	nd	0,40
1-Heptenol	975	1,35	nd	nd	nd	nd
1-Octen-3-ol	985	136,47	120,5	109,11	27,34	18,50
			0			
3-Octanol	1002	6,33	nd	nd	nd	1,18
2-Octen-1-ol	1072	95,48	68,40	34,30	2,62	1,68
1-Octanol	1075	18,46	15,50	4,32	1,66	4,52
1-Nonanol	1176	nd	0,10	0,89	5,66	nd
1-Dodecanol	1480	nd	0,48	2,64	0,68	0,47
		258,10	204,9	151,96	38,72	28,12
<i>Hidrocarburos</i>						
<i>alifáticos</i>						
Heptano	701	nd	nd	0,31	nd	0,38
1-3-Octadieno	824	2,57	2,34	0,67	nd	0,62
1,3-Octadieno	828	1,06	2,83	1,05	0,49	nd
iso						
Dodecano	1200	nd	0,09	0,66	nd	3,79
Tridecano	1300	1,21	0,43	0,36	5,12	8,10
Tetradecano	1397	0,54	0,57	3,34	0,78	5,02
Pentadecano	1500	1,11	0,62	2,23	0,59	2,33
Hexadecano	1600	1,39	1,67	2,39	1,26	1,80
Hidrocarburo no identificado	1764	0,20	0,23	0,17	0,59	0,09
		8,08	0,23	11,17	8,81	22,13
<i>Compuestos</i>						
<i>bencénicos</i>						
Tolueno	767	0,25	nd	nd	nd	1,02
Estireno	889	0,69	nd	nd	3,10	3,17
Metoxibenceno	915	nd	nd	nd	nd	1,04
Propil-benceno	954	nd	nd	nd	0,45	0,16

Continuación tabla

Benzaldehído	968	11,77	18,76	82,60	178,66	100,70
Trimetilbenceno	997	0,10	nd	nd	nd	3,37
1,4-diclorobenceno	1011	nd	1,93	nd	nd	2,27
Benzenoacetald ehído	1052	10,39	3,83	18,31	38,67	71,21
1-Metil-4-(1- metiletil)- Benceno (paracimeno)	1093	0,33	nd	nd	1,71	nd
Fenitalcohol	1123	nd	1,85	0,08	0,47	0,20
Bencenopropan al	1162	0,22	nd	2,48	nd	nd
1,3-dimetoxi- bencenopropan al	1175	nd	nd	nd	nd	50,63
1-etil-1-propenil- benceno	1280	nd	nd	0,21	0,29	nd
α- etilideno.bence noacetaldhído	1280	4,49	7,81	10,57	2,73	1,16
3-fenil-2- propenal	1289	nd	nd	1,87	nd	nd
Acetato de α,α- dimetil- bencenoetanol	1326	nd	nd	0,75	nd	nd
2-(1- metilpropil)- fenol	1327	0,60	1,50	5,07	4,02	2,78
1,4-dietoxi- benceno	1352	nd	nd	1,01	0,56	nd
Difenil eter	1412	0,12	nd	nd	nd	1,48
5-Metil-2-fenil-2- hexenal	1498	nd	0,06	1,71	nd	nd

Continuación tabla

1-butihexil-benceno	1538	nd	0,20	0,57	nd	0,11
1-propylheptyl-benceno	1548	nd	nd	0,88	nd	0,09
2-hidroxi-4-metoxi-6-metilbenzoato de metilo	1595	0,00	0,00	0,47	0,00	3,16
1-metil-nonil-benceno	1606	0,09	nd	0,15	0,63	0,44
1-pentilhexil-benceno	1633	0,04	nd	0,41	nd	nd
1-butyl-heptil-benceno	1637	0,29	0,16	0,82	0,35	0,24
1-propilooctil-benceno	1648	0,59	0,33	0,75	0,34	0,24
1-etilnonil-benceno	1671	0,24	0,14	0,35	0,21	0,32
1-metildecil-benceno	1706	0,24	0,20	0,20	0,49	0,41
1-metilundecil-benceno	1769	nd	nd	nd	0,13	0,04
1-pentilooctil-benceno	1775	0,14	0,05	nd	nd	nd
Ácido 1,2-bencenodicarboxílico, bis (2-metilpropil) éster	1788	0,16	0,21	0,52	1,18	0,10
		30,76	37,03	129,82	233,99	244,32
<i>Ácidos y ésteres alifáticos</i>						
Ácido acético	688	nd	0,14	1,10	nd	1,20

Continuación tabla

Metil éster del ácido octanoico	1125	nd	0,20	1,38	nd	0,19
Vinil caprilato	1186	1,05	0,76	nd	nd	nd
Metil éster del ácido dodecanoico	1527	nd	0,03	0,26	nd	0,13
		1,05	1,13	2,74	nd	1,52
<i>Compuestos furánicos y furfúricos</i>						
Furfural	838	nd	0,25	1,09	nd	0,93
2-butilfurano	887	nd	nd	nd	nd	0,70
2-pentilfurano	993	4,56	0,93	2,38	20,09	48,92
2,2a,3a,4,6a,6b-Hexahidro-3a-metil-1,2,4-meteno-1H-ciclobuta[b]ciclo penta[d]furano	1389	nd	nd	3,13	nd	nd
		4,56	1,38	6,60	20,09	50,54
<i>Compuestos azufrados</i>						
3-metiltio-propanal	908	0,19	nd	4,45	nd	5,76
Benzotiazol	1241	0,87	nd	2,65	nd	1,43
2-isobutil-5-propil-tiofeno	1504	0,11	0,50	nd	nd	nd
		1,17	0,50	7,10	-	7,19
<i>Terpenoides</i>						
C10H16	931	nd	nd	nd	2,16	0,90
α-Pineno	932	nd	0,32	nd	0,34	nd
C10H16	975	nd	nd	nd	7,29	nd
a-Felandreno	1010	nd	nd	nd	24,63	nd

Continuación tabla

1-Metil-3-(1-metiletil)-benceno (cimeno)	1028	0,43	nd	nd	9,96	0,41
D-Limoneno	1033	6,65	1,60	0,54	14,26	6,43
C₁₀H₁₆	1034	0,23	0,12	nd	60,06	2,66
3-Etil-2-metil-1,3-hexadieno	1037	3,64	5,22	2,64	2,93	4,31
1-Adamantanol	1085	0,97	1,28	0,56	nd	nd
C₁₀H₁₈O	1183	nd	nd	0,27	2,34	nd
α-Terpineol	1204	nd	nd	0,11	4,18	0,41
C₁₀H₁₆O	1254	nd	3,21	1,19	nd	1,50
C₁₀H₁₆O	1257	1,60	nd	0,93	nd	nd
C₁₅H₂₄	1383	nd	0,28	nd	nd	0,44
β-Elemeno	1395	nd	0,49	nd	nd	0,30
C₁₅H₂₄						
Longifoleno	1422	0,15	0,34	1,55	0,37	0,77
C₁₅H₂₄						
Cariofileno o isómero C₁₅H₂₄	1430	nd	0,94	nd	0,42	0,44
C₁₅H₂₄	1455	0,20	0,65	nd	nd	nd
C₁₅H₂₄	1466	0,19	0,27	nd	6,32	0,52
α-Isometilionone	1482	nd	0,15	0,37	nd	0,51
C₁₅H₂₄	1493	nd	0,34	0,08	nd	nd
1-Metil-4-(5-metil-1-metilene-4-hexenil)-, (S)-ciclohexeno (Bisaboleno)	1515	nd	0,32	nd	nd	0,50

Continuación tabla

1,2,3,4-Tetrahydro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-, (1S-cis)-naftaleno, C₁₅H₂₂	1535	nd	1,18	0,55	nd	0,16
Metil-β-ionona	1676	nd	nd	nd	0,48	0,63
		14,06	16,71	8,79	135,76	20,88
<i>Compuestos nitrogenados</i>						
N,N-Dibutilformamida	1309	1,50	1,09	nd	1,19	0,36
3-Metil-N-(3-metilbutilideno)-1-butanamine	1372	1,81	3,03	nd	nd	nd
3-Metil-N-(2-feniletilidene)-1-butanamina	1390	0,17	0,49	nd	nd	nd
		3,48	4,61	nd	1,19	0,36

¹TRR: Tiempo de retención relativo (min).

²nd: no detectado.

*Las concentraciones de los volátiles que se recogen la tabla se encuentran expresadas en nanogramos de undecano.

Compuestos Volátiles orgánicos	TRR ¹	<i>L. quercinum</i>	<i>B. edulis</i>	<i>B. phinophilus</i>	<i>A. ovoidea</i>	<i>A. rubescens</i>
Desconocidos [#]						
Desconocido 1	915	0,36	nd	0,37	nd	nd
Desconocido 2	999	0,70	0,29	nd	nd	nd
Desconocido 3	1193	0,91	0,53	nd	nd	nd
Desconocido 4	1318	0,24	0,25	0,46	nd	nd
Desconocido 5	1361	0,44	0,49	nd	nd	nd
Desconocido 6	1409	0,44	1,00	nd	nd	nd
Desconocido 7	1676	0,36	0,43	0,29	nd	nd
Desconocido 8	1733	nd	0,05	0,00	1,47	0,47

¹TRR: Tiempo de retención relativo (min).

²nd: no detectado.

*Las concentraciones de los volátiles que se recogen la tabla se encuentran expresadas en nanogramos de undecano.

[#]Desconocidos, fragmentos más abundantes (% sobre el principal): 1 = 70, 41(52), 43(42), 69(40), 81(18), 56(16), 97(15); 2 = 55, 84(45), 41(40), 83(36), 67(22), 82(22), 56(17), 98(10); 3 = 43, 91(52), 69(23), 119(18), 55(17), 41(17), 96(15), 97(6); 4 = 99, 71(99), 43(87), 114(75), 55(13), 73(13), 147(9), 94(9); 5 = 43, 123(88), 109(47), 81(35), 95(33), 79(24), 67(22), 124(15), 55(14); 6 = 94, 95(61), 193(29), 108(26), 150(17), 80(16), 136(11), 122(9); 7 = 191, 43(57), 57(51), 119(45), 121(42), 71(37), 105(32), 109(31), 95(28), 69(20); 8 = 84, 55(56), 43(50), 125(41), 83(27), 41(23), 99(19), 71(18), 97(17)

TABLA 4: Concentración total de volátiles junto con sus desviaciones agrupadas por familias y especie de setas

	<i>L. quercinum</i>	<i>B. edulis</i>	<i>B. pinophilus</i>	<i>A. ovoidea</i>	<i>A. rubescens</i>
Aldehídos de cadena lineal	109,76±10,6	106,26±11,9	112,63±9,2	147,01±9,1	180,81±15,5
Aldehídos de cadena metil ramificada	2,64±0,24	0,19±0,02	12,42±2,4	4,71±0,61	15,25±3,25
Cetonas alifáticas	48,69±5,8	61,57±7,6	38,48±5,5	35,82±4,3	25,73±2,9
Alcoholes alifáticos	258,10±50,9	204,98±45,9	151,96±36,3	38,72±8,8	28,12±5,9
Hidrocarburos alifáticos	8,08±0,9	0,23±1,0	11,17±1,1	8,81±1,6	22,13±2,7
Compuestos bencénicos	30,76±2,8	37,03±3,6	129,82±14,8	233,99±3	244,32±22,7
Ácidos y ésteres alifáticos	1,05±0,5	1,13±0,3	2,74±0,7	Nd	1,52±0,6
Compuestos furánicos y furfurales	4,56±1,6	1,38±0,3	6,60±1,7	20,09±7,1	50,54±17,0
Compuestos azufrados	1,17±0,01	0,50±0,01	7,10±0,12	-	7,19±0,22
Terpenoides	14,06±1,5	16,71±1,2	8,79±0,6	135,76±13,0	20,88±1,5
Compuestos nitrogenados	3,48±0,9	4,61±1,3	nd	1,19±0,7	0,36±0,2

¹nd: no detectado.

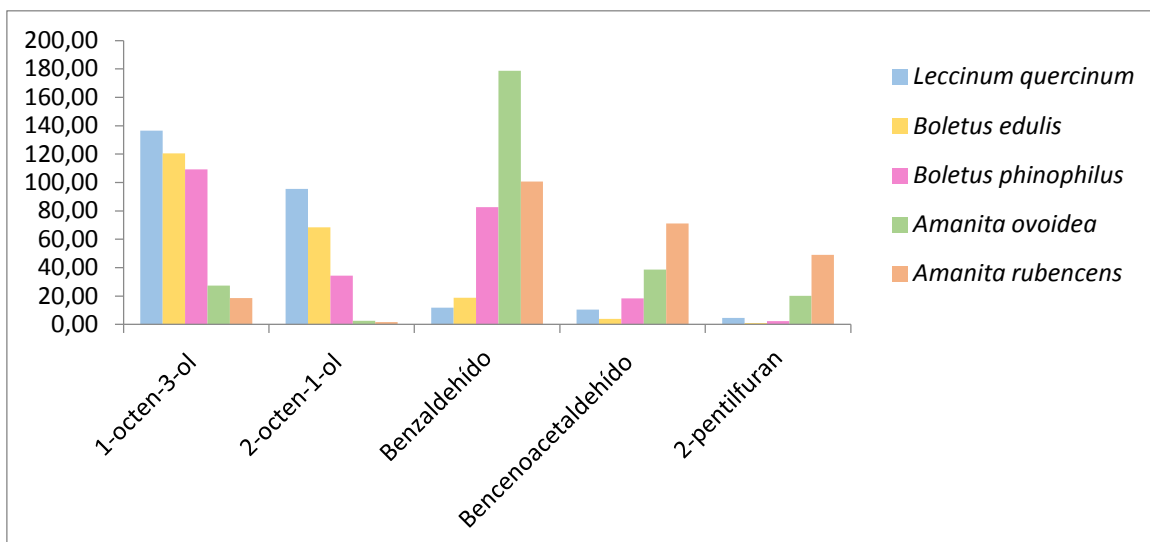


Figura 14: Proporción de los 5 compuestos volátiles orgánicos más característicos de las cinco especies de setas estudiadas (ng de undecano).

6. CONCLUSIONES

En este estudio se han descrito los compuestos de cinco especies de setas obtenidas en la región y se ha encontrado que los compuestos orgánicos volátiles más representativos de las tres especies de *Boletus* estudiados, fueron el 1-octen-3-ol, el 2-octen-1-ol, 2-octenal y butenal, ya que aparecen en todas ellas y en cantidades considerables.

Las familias químicas que prevalecen en los *Boletus* son principalmente: alcoholes alifáticos, aldehídos de cadena lineal, cetonas alifáticas y compuestos bencénicos. Por el contrario, en las *Amanitas* como familia química a recalcar es la de los compuestos bencénicos, seguidos por los aldehídos de cadena línea, cetonas y alcoholes alifáticos y compuestos furánicos y furfurales.

Existen diferencias notables entre setas, lo que lleva a la posibilidad de buscar compuestos que actúen como biomarcadores a la hora de la discriminación entre especies. Concretando más y de acuerdo con nuestros resultados, los COVs predominantes en el género *Boletus* fueron el 1-octen-3-ol y el 2-octen-1-ol y en el género las *Amanitas* los volátiles más importantes fueron: benzaldehído, bencenoacetaldehído y el 2-pentilfurano. Otros ejemplos son algunos de los aldehídos de cadena lineal y saturada como el hexanal y nonanal, más abundantes en las *Amanitas* que en los *Boletus* o la 1-octen-3-ona, más abundante en *Boletus*.

7. **BIBLIOGRAFIA**

1. Ríos Y. Características nutricionales y gastronómicas de diversas setas de Castilla y León [trabajo de fin de grado]. Valladolid. Universidad de Valladolid; 2015.
2. Campos Casabón JC, Arregui Álava A. Manual de buenas prácticas y Guía de Setas de Guadalajara. 4ª ed. Guadalajara: Diputación de Guadalajara; 2014.
3. Binder M, Hibbett DS. Molecular systematics and biological diversification of Boletales. *Mycologia*. 2006;98(6):971-981.
4. Zambonelli A, Bonito GM. Edible Ectomycorrhizal Mushrooms. Editorial: Springer. Italia: Bolonia; 2012.
5. Hawksworth DL. The magnitude of fungal diversity: the 1,5 million species estimate revisited. *Mycol Res*. 2001;105:1422-1432.
6. Chang ST, Miles PG. Mushroom biology-a new discipline. *The Mycologist*. 1992;6:64-65.
7. Eyssantier G, Trimaille G. Las Setas. Barcelona: Larousse Editorial, S.L.;2011.
8. Radillo Cotes A, Rodríguez Novoa J, Mercedes Amaya A Martínez Verdecia J. Basidiomicotas. Universidad Popular del Cesar;2011.
9. Deemy.de. An Information System for Characterization and Determination of EctoMycorrhizae [página principal en Internet]. Universität München: Dept Biologie; [actualizada 9 junio 2016; citado 11 de junio 2016]. Disponible en: <http://www.deemy.de/>
10. Binder M, Bresinsky A. Retiboletus, a new genus for a species-complex in the Boletaceae producing retipolides. *Feddes Repertorium*. 2002;1-2,30-40.
11. García Bona L. Setas y Hongos de la Península Ibérica. Editorial: Gráficas Morvedre. España: Valencia;1989.

12. Ibáñez de Aldecoa E, Menes I, Arias J, Alvarez-Baños, S. Las setas en Asturias. Editorial: Cibensa. España: Vitoria;1989.
13. Micheleot D, Melendez Howell LM. Amanita muscaria: chemistry, biology, toxicology and ethnomycology. Mycol Res. 2003 Feb;107(2):131-146.
14. Stamets P. Notes on Nutritional Properties of Culinary-Medicinal Mushrooms. Int J Med Mushrooms. 2005;103-110.
15. Morath SU, Hung R, Bennett JW. Fungal volatile organic compounds: A review with emphasis on their biotechnological potential. Fungal Biol Rev. 2012; 26:73-83.
16. Czemy M, Christlabauer M, Christlabauer M, Fisher A, Granvolg M, Hammer M, Hartl C, Moran Hernandez N, Schieberle P. Re-investigation on odour threshold of key food aroma compounds and development of an aroma language based on odour qualities of defined aqueous odorant solutions. Eur Food Res Technol. 2008;228:265-273.
17. Wu S, Krings U, Zorn H, Berger RG. Volatile compounds from the fruiting bodies of beefsteak fungus *Fistulina hepatica* (Schaeffer: Fr). Food Chem. 2004 Jul;92:221-226.
18. Shu-Yao T, Shih-Jeng H, Sheng-Hua L, Tsai-Ping W, Pei-Ying L, Jeng-Leun M. Flavour components and antioxidant properties of several cultivated mushrooms. Food Chem. 2009;113: 578-584.
19. Venkateswarlu G, Chandradavana MV, Tewari RP. Volatile flavour components of some edible mushrooms (Basidiomycetes). Flavour Fragr. J. 1999;14:191-194.
20. Ledl F, Schleicher E. New Aspects of the Maillard Reaction in Food and in the Human Body. A Journal of the Gesellschaft Deutscher Chemiker. 1990 Jun; 565-594.

21. Ames JM. Applications of the Maillard reaction in the food industry. *Food Chem.* 1998 Feb;62:431-439.
22. Farmer JL, Mottram S D, Whitfield B F. Volatiles compounds in Maillard reactions involving cysteine, ribose and phospholip. *J. Sci. Food Agr.*1989; 49: 347-368.
23. Pyysalo H. Identification of Volatile Compounds in Seven Edible Fresh Mushrooms. *Acta Chemica Scandinavica B.* 1976;30:235-244.
24. Palacios Romero I. Extracción y caracterización de polisacáridos y estudio del perfil de compuestos volátiles en hongos comestibles [tesis doctoral]. Valladolid. Universidad de Valladolid; 2015.
25. Nosaka S, Miyazawa M. Characterization of volatile components and odor active compounds in the oil of edible mushrooms *Boletopsis Leucomelas*. *J of Oleo Sci.* 2014;63,(6)577-583.
26. Malheiro R, Guedes P, Soares S, Silva AC, Baptista P. Volatile biomarkers for wild mushrooms species discrimination. *Food Research International.* 2013;54:189-194.
27. Macías-Rodríguez L et al. Recent Advancements in the role of volatile organic compounds from fungi, in *Fungal Biomolecules: Sources, Applications and Recent Developments*. V.K. Gupta, R.L. Mach, and S. Sreenivasaprasad, Editors. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, UK; 2015.
28. Mau JL, Lin Y-P, Chen P-T, Wu Y-H, Peng J-T. Flavour Compounds in King Oyster Mushrooms *Pleurotus eryngii*. *J. Agric. Food Chem.* 1998; 46:4587-4591.
29. Combet E, Henderson J, Eastwood DC, Burton KS. Eight-carbon volatiles in mushrooms and fungi: properties, analysis and biosynthesis. *Mycoscience.* 2006 August; 47: 317-326.

30. Tsai S-Y, Huang S-J, Lo S-H, Wu T-P, Lian P-Y, Mau J-L. Flavour components and antioxidant properties of several cultivated mushrooms. *Food Chem.* 2009; 113: 578-584.
31. Pennerman KK, Yin G, Bennett JW. Health Effects of Small Compounds from East Asian Medicinal Mushrooms. *Mycobiology.* 2015 Mar;43(1):9-13.
32. Sciencedirect.com. Science, health and medical journals... [página principal en Internet] Elsevier; [actualizada 28 de mayo 2016; citado 11 de junio 2016]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/>
33. Pubmed.gov. [página principal en Internet] USA: National Center for Biotechnology Information. [actualizada 28 de mayo 2016; citado 11 de junio 2016]. Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed