

Alejandro R. López¹, Elena Ortega Caneda¹, Estrella Espada Bellido¹, Ceferino Carrera¹, José Gerardo López-Castillo², Gerardo F. Barbero¹
¹ Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz, Instituto de Investigación Vitivinícola y Agroalimentaria (IVAGRO), CP 11510 Puerto Real, Cádiz, España.
² Unidad de Protección de la Salud, Distrito Sanitario Granada-Metropolitano, Consejería de Salud y Familias, Junta de Andalucía, CP 18150 Gójar, Granada, España.

1 INTRODUCCIÓN

Las setas presentan **compuestos bioactivos** que aportan numerosas **propiedades beneficiosas** para el correcto funcionamiento del organismo¹⁻³.



Se ha determinado la concentración de **triptófano** y un derivado del **kaempferol** en 26 muestras de setas del género **Lactarius** y del orden de las **Boletales** de Andalucía y Marruecos.

2 INSTRUMENTACIÓN

La identificación de los compuestos se llevó a cabo mediante la **cromatografía líquida de ultra alta resolución acoplada a un espectrómetro de masas con cuadrupolo de tiempo de vuelo (UHPLC-QToF-MS)...**

Sonda de ultrasonidos

Para la extracción de los compuestos bioactivos se empleó la **extracción asistida por ultrasonidos (UAE)**.



UHPLC-QToF-MS



UHPLC-DAD-FLR

... y para la cuantificación se empleó la misma técnica acoplada a un **detector de diodos y otro de fluorescencia (UHPLC-DAD-FLR)**.

3 DISEÑO BOX-BEHNKEN

Se **optimizó** un método de **UAE** mediante un diseño de experimentos de superficie de respuesta tipo **Box-Behnken** con:

Cinco variables independientes

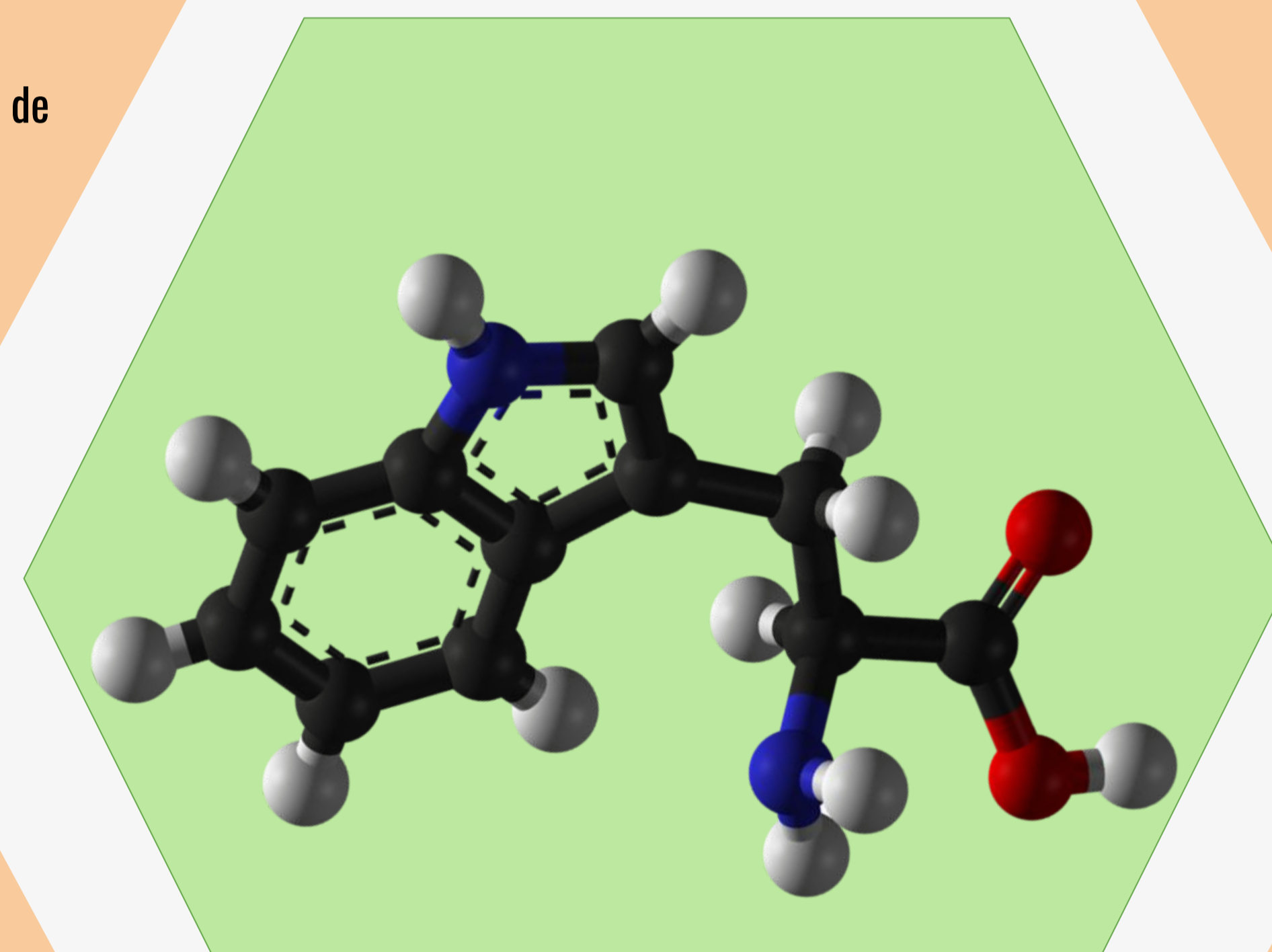
(Amplitud, Temperatura, Ciclo, %EtOH, Ratio)

Dos variables respuesta

(Triptófano, derivado de Kaempferol)

Mediante un **ensayo de deseabilidad** se obtuvieron las condiciones óptimas de extracción **simultáneas**, para ambos compuestos.

	Condiciones óptimas de extracción
%EtOH	60
Temperatura (°C)	54
Amplitud (%)	30
Ciclo (s ⁻¹)	0,7
Ratio (g muestra en 20 mL EtOH/H ₂ O)	0,1



Triptófano

- ❖ Aminoácido aromático **exógeno**,
- ❖ **No sintetizado** por el organismo.
- ❖ Debe ser **incorporado a través de la dieta**.
- ❖ Forma parte de numerosas **proteínas**.
- ❖ Precursor de metabolitos relacionados con procesos inmunológicos y la neurotransmisión como la **melatonina** o la **serotonina**.

4 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

La capacidad antioxidante se determinó mediante dos métodos espectrofotométricos (**ABTS** y **DPPH**), empleando un **espectrofotómetro de microplacas**.



Espectrofotómetro de microplacas

MÉTODO DPPH

17,7 – 71,6%

MÉTODO ABTS

7,2 – 24,9%

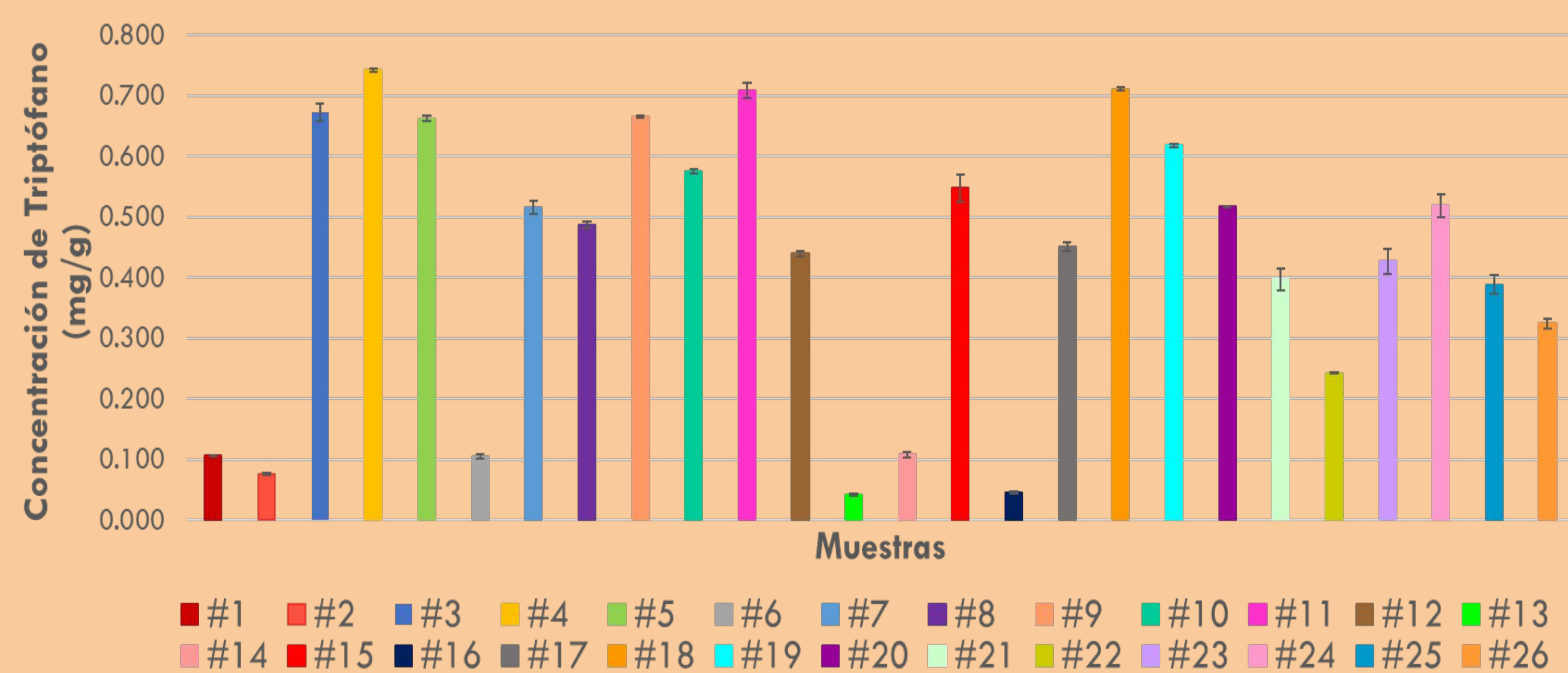
MÉTODOS COMPLEMENTARIOS Y RADICALARIOS

Las muestras analizadas presentan una **alta capacidad antioxidante** que oscila entre un **17,7-71,6%**, según el método del **DPPH**, y entre el **7,2-24,9%**, según el método del **ABTS**.

5 TRIPTÓFANO

Tras la optimización y aplicación del método, las muestras no presentaban **derivado de kaempferol**, pero la concentración de **triptófano** oscilaba entre **0,042-0,742 mg/g**:

0,042 – 0,742 mg/g

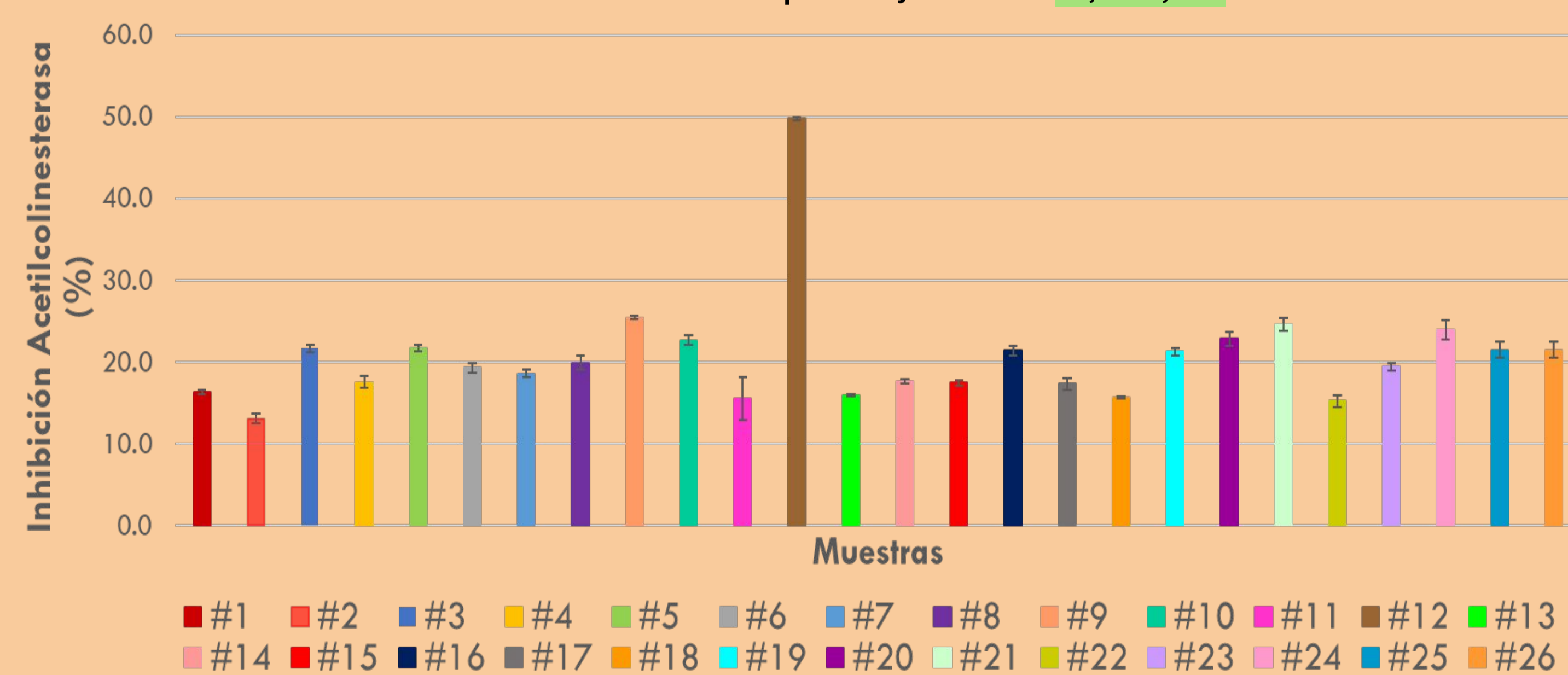


6 INHIBICIÓN AChE

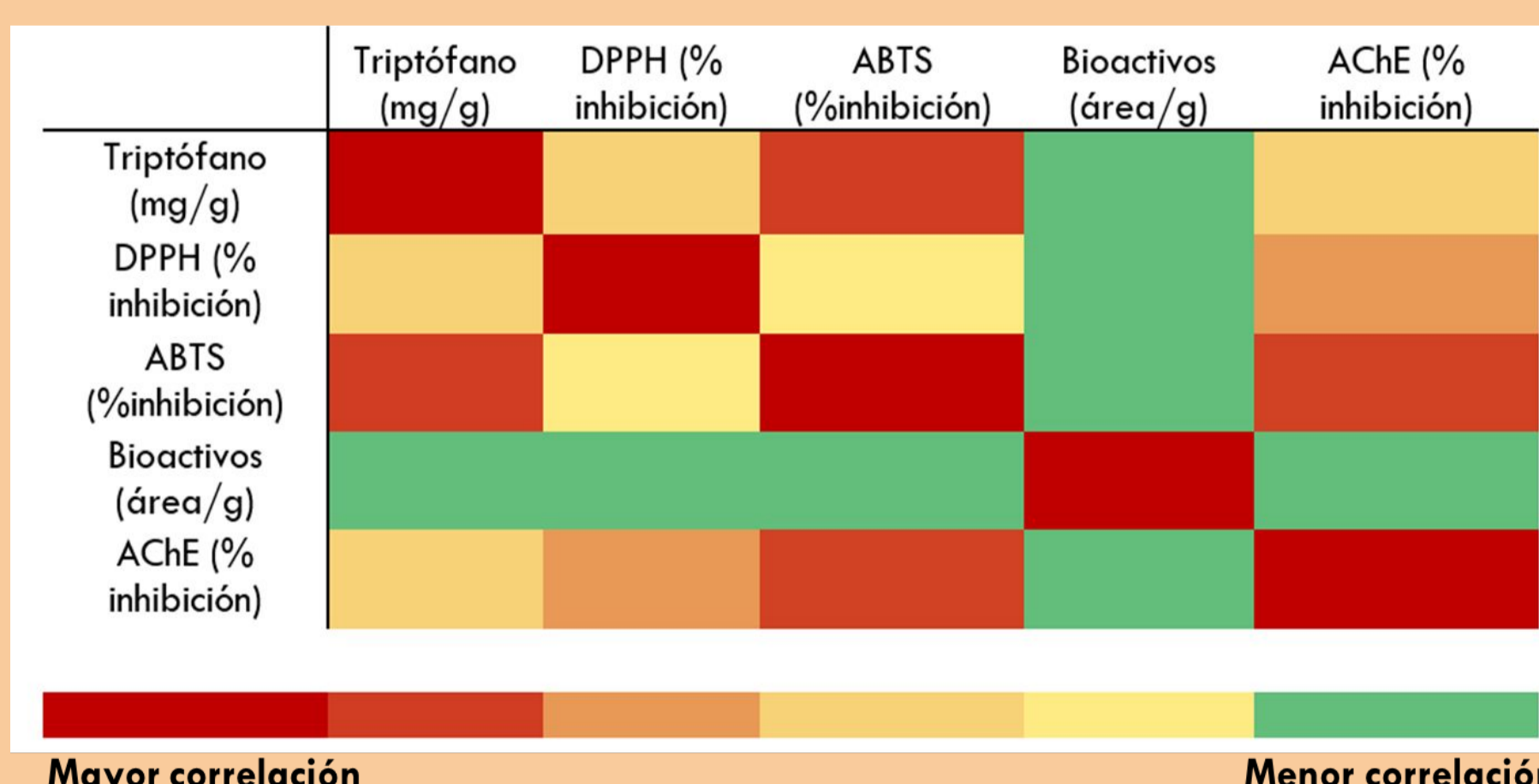
La disminución del **neurotransmisor acetilcolina** puede afectar a zonas del cerebro relacionadas con la **memoria**.

Por tanto, se realizó un bioensayo espectrofotométrico para determinar la **actividad inhibitoria** de la enzima **acetilcolinesterasa (AChE)**, obteniendo porcentajes entre el **13,1-49,8%**

13,1 – 49,8%



7 ANÁLISIS DE CLÚSTER JERÁRQUICO



Se empleó para **establecer correlaciones** entre las **propiedades observadas** y la concentración de los **compuestos extraídos**...

...concluyendo que el **triptófano**, uno de los compuestos mayoritarios de las setas analizadas, juega un **papel clave** en las principales **propiedades beneficiosas** para el organismo.

8 CONCLUSIONES

Se ha desarrollado de **manera exitosa** un método de **UAE** para la extracción **individual y simultánea** de compuestos bioactivos. Alta **repetibilidad y precisión intermedia**

Se ha observado **ausencia del derivado de kaempferol** y una **concentración de triptófano** entre **0,042-0,742 mg/g**

La **capacidad antioxidante** mediante el método de **DPPH** y **ABTS**, oscilaba entre **7,2-71,6%**

La **actividad inhibitoria** de la **AChE** de los extractos se encontraba en un rango de **13,1-49,8%**

Se ha realizado un **HCA** observándose **correlación** entre la concentración de **triptófano** con la **capacidad antioxidante** y el porcentaje de **inhibición** de la **AChE**

9 AGRADECIMIENTOS

Los autores de este trabajo agradecen a la Universidad de Cádiz y al Aula Universitaria del Estrecho por la financiación recibida a través de los proyectos en el marco de ayudas para proyectos de colaboración internacional (Ref.UCA/R62REC/2021): "Mapa del contenido metálico en setas silvestres comercializables del sur de Andalucía y norte de Marruecos" y "Profundización en el estudio y comparativa de compuestos bioactivos en setas", y (Ref. UCA/R6GREG/2018): "DOTIENE2019" y "002ENE2019". Un especial agradecimiento a la ayuda recibida del Plan Propio de la Universidad de Cádiz "INICIA-INV" al investigador ARL y a la Asociación Micológica del Estrecho Mairei por su colaboración.

10 REFERENCIAS

1. Dodouli, M., Fourtaka, K., Melanouri, E., Argyropoulos, D., Psallida, C., Diamantis, I., Papanikolaou, S. & Diamantopoulou, P. Detoxification of molluscs and production of mycelial mass and valuable metabolites by morchella species. *Appl. Sci.* 11, 9481 (2021) doi: 10.3390/app11209481.
 2. Çayan, F., Deveci, E., Tel-Çayan, G. & Duru, M. E. Identification and quantification of phenolic acid compounds of twenty-six mushrooms by HPLC-DAD. *J. Food Meas. Charact.* 14, 1690–1698 (2020) doi: 10.1007/s11694-020-00417-0.
 3. Bach, F., Zielinski, A.A.F., Helm, C.V., Maciel, G.M., Pedro, A.C., Stafussa, A.P., Ávila, S. & Haminiuk, C.W.J. Bio compounds of edible mushrooms: in vitro antioxidant and antimicrobial activities. *Letf. 107*, 214–220 (2019) doi: 10.1016/j.letf.2019.03.017.