

11º Encontro de Química dos Alimentos

Qualidade dos alimentos: novos desafios

Bragança, 2012
16-19 Setembro

Atas

ISBN
978-972-745-141-8



Perfil de triacilgliceróis de cogumelos comestíveis: diferenciação inter-específica por análise discriminante linear

João C.M. Barreira^{a,b,*}, Isabel C.F.R. Ferreira^b, M. Beatriz P.P. Oliveira^a

^aREQUIMTE, Dep. de Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto.

^bCIMO/Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança.

*jbarreira@ipb.pt

Palavras chave: Triacilgliceróis; Cogumelos; Diferenciação; Análise discriminante linear

RESUMO

Os cogumelos têm ganho importância como bens alimentares devido às suas propriedades nutricionais, gastronómicas e farmacológicas. No entanto, apesar de diversas espécies de cogumelos terem já sido caracterizadas quimicamente, a avaliação do seu perfil em triacilgliceróis (TAG) tem sido alvo de menos estudos. O perfil em TAG foi já utilizado para avaliar a autenticidade de óleos comerciais de elevado valor, pelo que também poderá atuar como um potencial marcador taxonómico. Para verificar esta possibilidade, foi feita uma análise discriminante linear (ADL), tentando também definir-se qual o nível taxonómico mais relacionado com o perfil em TAG. Os resultados indicaram que o poder discriminante do perfil em TAG aumenta para os níveis taxonómicos mais específicos, atingindo um máximo na separação entre espécies. Uma vez que existem cogumelos pertencentes ao mesmo género que apresentam elevada semelhança no seu aspecto, e considerando ainda que as técnicas de conservação aplicadas aos cogumelos alteram muitas vezes as suas características físicas, os resultados obtidos neste trabalho poderão ter importantes aplicações práticas.

1. INTRODUÇÃO

As condições climáticas e a biodiversidade existente no Nordeste de Portugal, fazem desta uma das regiões com maior número de cogumelos comestíveis, alguns com grande relevância gastronómica. Os cogumelos têm vindo a ter uma importância crescente na dieta devido às suas características organolépticas, nutricionais e propriedades bioativas [1].

Em relação à composição química, a fração lipídica de um produto natural tem um padrão característico de TAG, já que a distribuição de ácidos gordos na molécula de glicerol é sujeita a controlo genético [2]. A análise de TAG foi já utilizada para deteção de adulterações de óleos e gorduras, estudo de processos de cristalização e identificação da origem de óleos. O detetor de dispersão de luz por evaporação (ELSD) é uma escolha adequada para a deteção de TAG, pois dá resposta a qualquer analito menos volátil que a fase móvel, tem um sinal de fundo pouco intenso, é compatível com eluição em gradiente e vários solventes, sendo ainda independente do grau de saturação e tamanho da cadeia das moléculas [3].

Devido ao elevado valor comercial dos cogumelos, definir um parâmetro analítico que possa ser utilizado como um marcador químico é uma tarefa que assume carácter obrigatório.

Neste trabalho, o perfil em TAG de 30 espécies de cogumelos foi caracterizado de forma a identificar este parâmetro como marcador taxonómico.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Amostragem

Após identificação taxonómica dos esporocarpos das 30 espécies de cogumelos silvestres comestíveis, foram depositados espécimes comprovativos no Herbário da Escola Superior Agrária de Bragança. Todas as amostras foram liofilizadas (Ly-8-FM-ULE, Snijders, Holanda), reduzidas a um pó fino (20 mesh) e conservadas a -18 °C até posterior utilização.

2.2. Análise de triacilgliceróis

Cada amostra (~3 g) foi extraída por Soxhlet com éter de petróleo (40-60 °C) durante 1,5 h. As análises cromatográficas seguiram um procedimento previamente descrito [4]. A deteção foi feita por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) acoplada a um ELSD (modelo 75-Sedere, Alfortville, França). A quantificação foi feita através da normalização interna das áreas dos picos cromatográficos, e os resultados foram expressos em percentagem relativa, assumindo que a resposta do detetor foi a mesma para todos os compostos. Os dados foram analisados com o software Borwin-PDA Controller (JMBS, França).

2.3. Análise estatística

Foram utilizadas duas amostras de cada espécie, sendo cada amostra extraída duas vezes e cada extrato injetado também duas vezes no HPLC. Os dados foram expressos como média±desvio padrão. Todos os testes estatísticos foram feitos com um nível de significância de 5% utilizando o programa SPSS v. 18.0 (IBM Inc).

Nos casos em que se registou uma diferença estatística significativa, as variáveis dependentes foram comparadas através do teste de *Tukey's honestly significant difference* ou do teste de Tamhane's T2, caso se verificasse ou não a homoscedasticidade das variâncias.

A ADL foi utilizada para classificar as espécies de acordo com o seu perfil em TAG. Selecionou-se a técnica *stepwise* e o método do Λ de Wilks com as probabilidades normais para o valor de F (3,84 para entrar e 2,71 para remover), para a seleção de variáveis.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 são apresentados os valores médios para os perfis em TAG de cada espécie de cogumelo. O TAG OLLn foi também encontrado em *Laccaria amethystina*. As diferenças encontradas foram classificadas pelo teste de Tamhanes' T2 utilizando letras. Os perfis foram muito dissimilares. Por exemplo, os valores máximos para cada TAG foram exclusivos de um único cogumelo excepto no caso do PPO. Estas diferenças foram um bom indicador da capacidade dos TAG atuarem como marcador taxonómico. Esta hipótese foi verificada pela ADL. Apenas as variáveis significativas ($p < 0,05$) foram mantidas na análise.

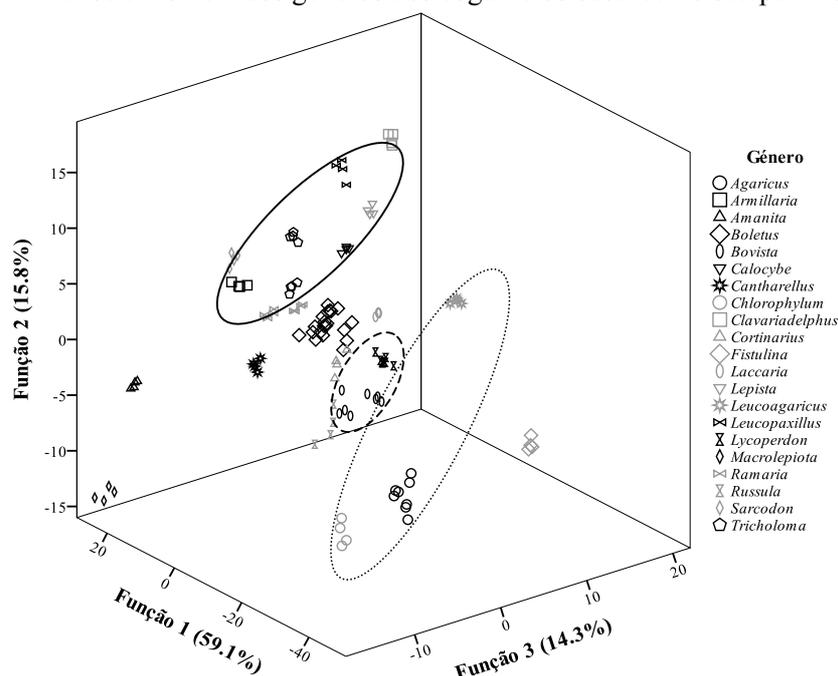
Tabela 1. Composição em triacilgliceróis (%). Os resultados são apresentados como média±SD.

Espécie	LLnLn	LLLn	LLL	OLL	PLL	OOL	POL	OOO	POO	PPO
<i>Agaricus silvaticus</i>	9.4±0.3 e	nd	29±1 f	12±1 ij	17±1 d	12±1 no	4.3±0.2 lmn	11.7±0.4 k	nd	4.2±0.2 de
<i>Agaricus silvicola</i>	1.2±0.1 jkl	0.4±0.1 gh	47±1 b	8±1 no	26±1 b	9±1 p	0.5±0.1 qr	2.8±0.3 no	1.7±0.3 i	3.2±0.3 efg
<i>Amanita caesarea</i>	nd	nd	3.2±0.1 qr	5.0±0.2 q	1.6±0.1 mno	23±1 gh	5.5±0.5 kl	24±1 f	33±1 a	4.3±0.2 de
<i>Armillaria mellea</i>	0.18±0.02 no	0.19±0.02 ghi	3.5±0.2 q	12±1 hi	2.4±0.3 jklmn	25±1 g	9±1 ef	30±1 e	16±1 d	1.3±0.1 ijkl
<i>Boletus edulis</i>	nd	nd	9.2±0.3 lm	11.0±0.3 ijk	3.1±0.1 jkl	21±1 ijk	22±1 b	15.2±0.5 ij	nd	18±1 a
<i>Boletus erythropus</i>	nd	nd	19.2±0.2 j	9.4±0.3 lm	7.3±0.3 h	32±2 d	9.5±0.2 ef	5.8±0.3 m	9±1 f	7±1 c
<i>Boletus fragrans</i>	1.2±0.3 jkl	2.0±0.2 e	34±1 d	11±1 jkl	8.8±0.4 g	16±1 m	8±1 fgh	4.9±0.3 m	6.8±0.5 g	8±1 c
<i>Boletus impolitus</i>	1.7±0.2 ij	0.41±0.04 gh	24±1 h	5.5±0.4 pq	5.9±0.5 i	15.8±0.5 m	7.0±0.3 ij	24.8±0.4 f	13.6±0.3 e	1.2±0.1 jkl
<i>Boletus reticulatus</i>	1.3±0.2 jkl	1.6±0.1 e	6.9±0.5 no	8.8±0.4 mn	0.13±0.01 p	39.4±0.5 b	2.5±0.3 op	36±1 c	nd	4.0±0.3 de
<i>Bovista aestivalis</i>	10.8±0.4 d	4.4±0.2 b	13.6±0.3 k	18±1 def	2.3±0.2 jklmn	19.3±0.5 kl	4.2±0.3 mn	20±1 h	nd	8±1 c
<i>Bovista nigrescens</i>	12.0±0.4 c	3.6±0.3 c	19±1 j	16.6±0.4 fg	2.0±0.3 klmn	18.2±0.5 l	5.2±0.2 kl	15.9±0.5 i	nd	7.7±0.3 c
<i>Calocybe gambosa</i>	nd	nd	32±1 e	17±1 efg	6.0±0.4 i	19±1 l	4.8±0.3 klm	13.7±0.4 j	6.2±0.4 g	2.2±0.3 ghij
<i>Cantharellus cibarius</i>	0.8±0.1 klmn	0.28±0.05 ghi	8±1 mno	6.8±0.5 op	3.4±0.3 j	20±1 jkl	5.1±0.4 klm	40±1 b	13.4±0.5 e	2.6±0.4 fgh
<i>Chlorophyllum rhacodes</i>	1.39±0.02 jk	0.06±0.01 hi	31±1 ef	19±1 d	35±1 a	11±1 op	1.4±0.1 pq	0.25±0.02 q	0.23±0.03 jk	0.36±0.02 l
<i>Clavariadelphus pistillaris</i>	1.6±0.2 j	nd	5.0±0.2 pq	18.3±0.4 de	7.8±0.3 gh	34±1 cd	28.9±0.4 a	2.0±0.2 op	1.6±0.3 ij	1.1±0.2 jkl
<i>Cortinarius violaceus</i>	0.6±0.2 mn	1.1±0.2 f	25.0±0.4 gh	22±1 c	21±1 c	10±1 op	11±1 d	5.1±0.4 m	nd	4.7±0.2 d
<i>Fistulina hepatica</i>	22±1 a	nd	43±1 c	13±1 hi	2.2±0.2 klmn	6.7±0.3 q	6.0±0.4 jk	4.2±0.2 mn	nd	3.5±0.2 def
<i>Laccaria amethystina</i>	7.2±0.2 f	nd	26±1 g	10.3±0.3 jklm	3.1±0.2 jk	15.8±0.4 m	8.4±0.5 fg	14.2±0.5 j	9.9±0.4 f	0.5±0.1 l
<i>Lepista nuda</i>	4.7±0.2 g	1.0±0.1 f	22.2±0.5 i	27±1 b	5.0±0.3 i	22±1 hi	10±1 de	5.1±0.2 m	nd	2.5±0.2 fghi
<i>Leucoagaricus leucothites</i>	nd	nd	57±1 a	10±1 klm	14.6±0.5 e	11±1 op	3.5±0.3 no	1.7±0.2 opq	nd	2.2±0.1 ghij
<i>Leucopaxillus giganteus</i>	0.4±0.1 no	nd	30±1 ef	36±1 a	11±1 f	14±1 mn	7.1±0.1 hij	0.42±0.04 pq	0.21±0.03 jk	nd
<i>Lycoperdon molle</i>	2.3±0.2 hi	0.39±0.02 ghi	30±1 f	3.1±0.3 r	1.6±0.2 mno	1.2±0.1 r	nd	60±1 a	1.1±0.2 ijk	0.8±0.2 kl
<i>Lycoperdon umbrinum</i>	13.8±0.5 b	27±1 a	34±1 d	4.9±0.5 q	5.1±0.4 i	3.2±0.2 r	1.2±0.2 qr	9.3±0.3 l	nd	1.9±0.3 hijk
<i>Macrolepiota procera</i>	0.9±0.1 klm	nd	1.6±0.3 r	8.7±0.4 mn	2.6±0.2 jklm	22±1 hi	8±1 ghi	9±1 l	28±1 b	19±1 a
<i>Ramaria aurea</i>	1.7±0.1 j	nd	6.0±0.2 op	11.1±0.4 ijkl	1.3±0.1 nop	29±1 e	3.9±0.1 mn	39.7±0.3 b	6.9±0.5 g	0.4±0.1 l
<i>Ramaria botrytis</i>	1.2±0.2 jkl	0.5±0.1 g	7.9±0.1 mn	13±1 h	1.8±0.2 lmn	25±1 fg	4.6±0.2 lmn	33±1 d	10±1 f	3.0±0.4 efg
<i>Russula cyanoxantha</i>	4.3±0.3 g	1.6±0.1 e	13±1 k	10.1±0.4 jklm	5.0±0.5 i	22±1 hij	8.9±0.5 fg	22±1 g	nd	14±1 b
<i>Sarcodon imbricatus</i>	2.4±0.2 h	2.7±0.2 d	1.5±0.2 r	7.8±0.4 no	1.8±0.3 lmn	42±1 a	13±1 c	4.2±0.4 mn	24.5±0.5 c	nd
<i>Tricholoma imbricatum</i>	0.4±0.1 mno	nd	9.8±0.2 l	15.8±0.5 g	1.4±0.1 mno	27±1 f	7.8±0.4 ghi	29±1 e	9±1 f	0.4±0.1 l
<i>Tricholoma portentosum</i>	0.19±0.05 no	1.7±0.2 e	4.0±0.4 q	11±1 ij	0.4±0.1 op	36±1 c	3.6±0.5 no	37±1 c	4.3±0.2 h	2.3±0.4 ghij

O potencial discriminante aumentou dos níveis taxonómicos superiores para os inferiores. Quando os cogumelos foram agrupados por espécie, 100.0% das amostras foram corretamente classificadas, embora o *output* apresentado (figura 1) seja o obtido para a classificação por género (para facilitar a de visualização). Para além dos *clusters* estarem bem individualizados, os géneros pertencentes à mesma família (*Armillaria*, *Calocybe*, *Lepista*, *Leucopaxillus* e *Tricholoma* - *Tricholomataceae*; *Agaricus*, *Chlorophyllum* e *Leucoagaricus* - *Agaricaceae*; *Bovista* e *Lycoperdon* - *Lycoperdaceae*) ficaram próximos.

Em resumo, os cogumelos estudados apresentam diferenças muito particulares nos seus perfis em TAG, o que pode ser muito útil para confirmar a sua espécie.

Figura 1. Análise canonical dos géneros dos cogumelos baseada no seu perfil em TAG.



4. CONCLUSÕES

O perfil em TAG está relacionado com os níveis taxonómicos mais específicos, comprovando o seu potencial como ferramenta para identificar uma espécie particular de cogumelo. Uma vez que as técnicas de conservação aplicadas aos cogumelos alteram muitas vezes as suas propriedades físicas, o perfil em TAG pode ser fundamental para a sua identificação.

Agradecimentos

FCT, COMPETE/QREN/UE (PTDC/AGR-ALI/110062/2009), CIMO (PEst-OE/AGR/UI0690/2011), REQUIMTE (PEst-C/EQB/LA0006/2011) e SFRH/BPD/72802/2010 (J.C.M. Barreira).

Referências

- [1] L Barros, P Baptista, DM Correia, S Casal, MBPP Oliveira, ICFR Ferreira, Food Chem, 2007, 105, 140-145.
- [2] M Buchgraber, F Ulberth, H Emons, E Anklam, Eur J Lipid Sci Tech 2004, 106, 621-648.
- [3] R Rombaut, N De Clercq, I Foubert, K Dewettinck, J Am Oil Chem Soc 2009, 86, 19-25.
- [4] JCM Barreira, S Casal, ICFR Ferreira, MBPP Oliveira, JA Pereira, J Agric Food Chem 2009, 57, 2836-2842.