

**UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO, COMPOSIÇÃO QUÍMICA,  
COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE  
LINHAGENS AUTÓCTONES DE *Pleurotus* spp.**

**GABRIELA CHILANTI**

**Caxias do Sul**

**2016**

**GABRIELA CHILANTI**

**AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO, COMPOSIÇÃO QUÍMICA,  
COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE  
LINHAGENS AUTÓCTONES DE *Pleurotus* spp.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, visando à obtenção de grau de Mestre em Biotecnologia.

**Orientador:** Prof. Dr. Aldo José Pinheiro Dillon

**Co-orientador:** Dr<sup>a</sup>. Roselei Claudete Fontana

**Caxias do Sul**

**2016**

C535a Chilanti, Gabriela

Avaliação da produção, composição química, compostos bioativos e atividades antioxidante de linhagens autóctones de *Pleurotus spp* / Gabriela Chilanti. – 2016.

110 f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2016.

Orientação: Aldo José Pinheiro Dillon.

Coorientação: Roselei Claudete Fontana.

1. Basidiomicetos. 2. Compostos fenólicos. 3. Cogumelos comestíveis. 4. Ergotioneína. 5. Lovastatina. I. Dillon, Aldo José Pinheiro, orient. II. Fontana, Roselei Claudete, coorient. III. Título.

**GABRIELA CHILANTI**

**AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO, COMPOSIÇÃO QUÍMICA,  
COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE  
LINHAGENS AUTÓCTONES DE *Pleurotus* spp.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, visando à obtenção do título de Mestra em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Aldo José Pinheiro Dillon

Co-orientadora: Dra. Roselei Claudete Fontana

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 28 DE JULHO DE 2016.

---

Orientador: Prof. Dr. Aldo José Pinheiro Dillon

---

Co-orientadora: Dra. Roselei Claudete Fontana

---

Profa. Dra. Lorena Benathar Ballod Tavares

---

Profa. Dra. Ivana Greice Sandri

---

Prof. Dr. Leandro Tasso

*Dedico este trabalho, com todo meu amor e carinho, ao meu pai, Jorge Chilanti, à minha mãe, Hilda Renosto Chilanti in memoriam, que mesmo ausente deste mundo continua me ajudando nas dificuldades e à minha co-orientadora Roselei Claudete Fontana, um exemplo a ser seguido.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus por me guiar sempre e por colocar pessoas especiais em meu caminho.

Ao meu orientador Aldo José Pinheiro Dillon, pela orientação, conselhos e por acreditar na minha capacidade.

À minha co-orientadora, Roselei Claudete Fontana, pela orientação, pelas palavras amigas, pelo incentivo, pela paciência e por acreditar em mim. Muito obrigada de coração.

Às professoras Marli Camassola e Mirian Salvador, pelo apoio dado a este trabalho e pela disponibilidade em ajudar.

Aos professores Leandro Tasso e Mauricio Moura da Silveira, pelo acompanhamento e sugestões a este trabalho.

À professora Elizete Maria Pesamosca Facco, pelas palavras amigas e pela disponibilidade em ensinar durante a realização dos estágios de docência.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em especial à Lucimara Serafini Rech por todo auxílio e conselhos durante estes anos e a Luciana B. Andrade pela disponibilidade em ajudar.

Às minhas amigas Gina G. S. Cunha, Giovana Rech, Andréia Toscan, Anaméli Lipreri, Daiane Menegol, Sheila Montipó, Caroline Hartmman, Fernanda Rech, Kelly Todescato, Letícia Osório da Rosa e Gabriela Gambato pela amizade sincera, carinho, cumplicidade e momentos de descontração. Levarei vocês sempre em meu coração.

A todos os colegas do Laboratório de Enzimas e Biomassa pelo companheirismo e troca de experiências.

À minha mãe Hilda Renosto Chilanti (*in memoriam*), por ser tão importante na minha vida, por estar sempre ao meu lado me guiando e incentivando mesmo não estando mais entre nós.

Ao meu pai Jorge Chilanti e ao meu namorado Douglas Carra pela compreensão e incentivo e às minhas irmãs, Rafaela e Daiane, pela amizade e carinho.

À minha avó Nilva Polli Chilanti, pelas orações e torcida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Universidade de Caxias do Sul (UCS) pelo suporte financeiro.

## ÍNDICE

LISTA DE TABELAS .....	VII
LISTA DE FIGURAS.....	VIII
NOMENCLATURA .....	IX
RESUMO.....	X
ABSTRACT .....	XII
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
2.1 Cultivo de cogumelos comestíveis .....	3
2.2 O gênero <i>Pleurotus</i> .....	5
2.3 Composição nutricional de cogumelos comestíveis .....	7
2.4 Radicais livres, estresse oxidativo e atividade antioxidante .....	13
2.5 Compostos bioativos presentes em cogumelos .....	18
2.5.1 Compostos fenólicos .....	18
2.5.1.1 Ácidos fenólicos.....	19
2.5.1.2 Catequina .....	20
2.5.2 Ergotioneína .....	21
2.5.3 Lovastatina .....	23
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	25
3.1 Artigo 1: Avaliação da produção e caracterização nutricional de linhagens de <i>Pleurotus</i> spp. cultivadas em diferentes substratos .....	26

<b>3.2 Artigo 2: Compostos fenólicos e atividade antioxidante do micélio e basidioma de diferentes linhagens de <i>Pleurotus</i> spp.</b> .....	<b>48</b>
<b>3.3 Artigo 3: Ergotioneína e lovastatina: agentes bioativos produzidos por linhagens de <i>Pleurotus</i> spp.</b> .....	<b>72</b>
<b>4. CONCLUSÕES GERAIS</b> .....	<b>95</b>
<b>5. PERSPECTIVAS</b> .....	<b>97</b>
<b>6. REFERÊNCIAS COMPLEMENTARES</b> .....	<b>98</b>
<b>7. ANEXOS</b> .....	<b>110</b>
<b>7.1 Cogumelos cultivados</b> .....	<b>110</b>



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Teor de vitaminas determinado em amostra de <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	9
<b>Tabela 2.</b> Composição mineral do cogumelo <i>Pleurotus ostreatus</i> cultivado nos diferentes resíduos madeireiros e agroindustriais da região amazônica.....	10
<b>Tabela 3.</b> Composição nutricional e calórica de espécies do gênero <i>Pleurotus</i> . ....	12
<b>Tabela 4.</b> Principais atividades biológicas relatadas para cogumelos do gênero <i>Pleurotus</i> . ...	17

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Etapas de um processo de cultivo de cogumelos comestíveis. ....	5
<b>Figura 2.</b> Funções desempenhadas pelas principais enzimas produzidas durante o cultivo de cogumelos. ....	6
<b>Figura 3.</b> Principais espécies cultivadas do gênero <i>Pleurotus</i> . ....	7
<b>Figura 4.</b> Alvos dos radicais livres. ....	14
<b>Figura 5.</b> Antioxidantes naturais separados por classe. ....	15
<b>Figura 6.</b> Estrutura química dos ácidos hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos . ....	20
<b>Figura 7.</b> Estrutura química da Ergotioneína. ....	21
<b>Figura 8.</b> Macrofungos do gênero <i>Pleurotus</i> cultivados em meio serragem. ....	110

## NOMENCLATURA

MCS	Meio de cultivo serragem
MCSC	Meio de cultivo serragem e borra de café
MCSU	Meio de cultivo serragem e bagaço de uva
MS	Meio agar serragem
CBDY	Meio caldo batata dextrose
MPS	Meio placa serragem
MPSU	Meio placa serragem e bagaço de uva
MPSC	Meio placa serragem e borra de café
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DPPH*	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
GAE	Equivalente de ácido gálico

## RESUMO

Os cogumelos do gênero *Pleurotus* podem ser utilizados em diferentes preparações, apresentando características gastronômicas bastante aceitas pelos consumidores. Além do seu valor nutricional, atualmente tem sido relatada a sua importância como alimento funcional. Na produção de cogumelos comestíveis do gênero *Pleurotus* podem ser utilizados resíduos agroindustriais encontrados abundantemente como, por exemplo, a serragem, o bagaço de uva e a borra de café. Entretanto, ainda não há dados sobre a produção e o valor nutricional e terapêutico de cogumelos comestíveis autóctones do Rio Grande do Sul/Brasil. Neste trabalho, foi avaliada a produção de nove linhagens de *Pleurotus* spp. isoladas no estado do Rio Grande do Sul com relação à produtividade, rendimento, eficiência biológica, composição química, presença de compostos bioativos e atividade antioxidante. A composição do substrato tem influência direta na produtividade, rendimento e eficiência biológica dos cogumelos. As linhagens produzidas em meio de cultivo serragem e borra de café (MCSC) e meio de cultivo serragem e bagaço de uva (MCSU) apresentaram os melhores resultados. A composição dos cogumelos avaliados variou conforme o meio de cultivo utilizado. Quando utilizado o meio MCSC para cultivo, a proteína ( $46,60 \pm 0,09$  g/100g) é o principal macronutriente presente nos cogumelos. Além disso, os cogumelos avaliados apresentaram teores significativos de fibra alimentar. O teor de compostos fenólicos totais variou de  $31,30 \pm 0,26$  mg de equivalente de ácido gálico/g (GAE/g) (88F.13) a  $47,00 \pm 0,12$  mg GAE/g (82F.7) entre as linhagens cultivadas em MCS (meio de cultivo serragem), que por sua vez apresentaram relação direta com a atividade antioxidante. O  $IC_{50}$  (mg/mL de extrato necessária para reduzir 50 % do radical DPPH•) dos basidiomas variou de  $5,36 \pm 0,27$  mg/mL (88F.13) a  $10,68 \pm 0,22$  mg/mL (189H.3). A análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) permitiu a identificação e quantificação de seis compostos fenólicos (ácido

gálico, catequina, ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido  $\rho$ -cumárico e ácido ferúlico) e cafeína. A ergotioneína foi quantificada nos basidiomas, no micélio crescido em placa de Petri, no caldo e no micélio de cultivo submerso das nove linhagens. O basidioma da linhagem 41D cultivado em (MCSC) apresentou o maior teor de ergotioneína ( $116,27 \pm 8,02$  mg/100g). Para o micélio cultivado em placa, a linhagem que apresentou maior teor de ergotioneína foi a 122H.5 ( $293,44 \pm 1,96$  mg/100g), valor este superior ao detectado no basidioma. A lovastatina foi avaliada nos basidiomas das diferentes linhagens e a extração deste composto foi realizada com acetonitrila, metanol e acetato de etila, sendo que para todas as linhagens avaliadas, a extração com acetonitrila apresentou maior teor ( $10,02 \pm 0,1$  mg/100g). Diante dos resultados, observa-se que é possível aumentar o rendimento e a produtividade de cogumelos comestíveis de acordo com o meio de cultivo utilizado, bem como melhorar a composição nutricional. Embora mais estudos sejam necessários, estes dados mostram, pela primeira vez, as propriedades nutricionais de cogumelos comestíveis do gênero *Pleurotus* autóctones do sul do Brasil. Além disso, os dados do presente trabalho indicam a possibilidade de melhorar a produtividade e o rendimento com baixo custo de produção, visto que são utilizados resíduos gerados na agroindústria.

**Palavras-chave:** cogumelos comestíveis, basidiomicetos, compostos fenólicos, ergotioneína, lovastatina

## ABSTRACT

*Pleurotus* mushrooms can be used in different preparations presenting gastronomical features well accepted by consumers. Besides the nutritional value, it currently has been reported their importance as a functional food. Agribusiness residues can be abundantly found in the production of edible mushrooms of the genus *Pleurotus*, for example, sawdust, grape bagasse and coffee draff. However, there is still no data on production, nutritional and therapeutic value about native edible mushrooms from Rio Grande do Sul/Brazil. In this work nine strains of *Pleurotus* spp. isolated in Rio Grande do Sul were evaluated, taking into consideration productivity, yield, biological efficiency, chemical composition, the presence of bioactive compounds and antioxidant activity. The substrate composition has a direct influence on productivity, yield and biological efficiency of mushrooms. The strains grown on sawdust and coffee draff (MCSC) and sawdust and grape bagasse culture medium (MCSU) showed the best results. The composition of the evaluated mushrooms varied depending on the culture medium used. When used MCSC as culture medium, protein ( $46.60 \pm 0.09$  g / 100g) is the main macronutrients present in mushrooms. In addition, the mushroom evaluated has shown to be rich sources of dietary fiber. The content of phenolic compounds varied from  $31.30 \pm 0.26$  mg of gallic acid equivalents/g (GAE/g) (88F.13) to  $47.00 \pm 0.12$  mg GAE/g (82F.7) between grown strains in MCS (sawdust culture medium). On the other hand that have a direct relation with the antioxidant activity. The  $IC_{50}$  (mg mL<sup>-1</sup> of extract needed to scavenge 50 % of the radical DPPH•) of the basidioma varied from  $5.36 \pm 0.27$  mg/mL (88F.13) to  $10.68 \pm 0.22$  mg/mL (189H.3). The liquid chromatography analysis (HPLC) allowed the identification and quantification of six phenolics compounds (gallic acid, catechin, chlorogenic acid, caffeic acid, p-cumaric acid and ferulic acid) and caffeine. The ergothioneine was quantified in the basidioma, in the mycelium growing in Petri dishes, in the

broth and in submerged cultures of nine strains mycelium. The 41D strain basidioma grown (MCSC) showed the highest ergothioneine content ( $116.27 \pm 8.02$  mg / 100g). For the mycelium grown in the Petri dishes, the strain that showed more ergothioneine content was 122H.5 ( $293.44 \pm 1.96$  mg / 100 g), a much higher value than the one detected in basidioma. The lovastatin was measured in basidioma of different strains and the extraction this compound was conducted with acetonitrile, methanol and ethyl acetate, being that, for all evaluated strains, the extraction with acetonitrile presented a higher level ( $10.02 \pm 0.1$  mg/100g). With these results, it is observed that it is possible to increase the yield and productivity of edible mushrooms according to the medium used as well as improve the nutritional composition. Although more studies are needed, these data show, for the first time, the nutritional properties of edible mushrooms from native *Pleurotus* of southern Brazil. In addition, the data of this work indicate the possibility to improve the productivity and performance with low production cost as waste generated in agribusiness is used.

**Keywords:** edible mushrooms, basidiomycetes, phenolic compounds, ergothioneine, lovastatin

## 1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento sócio-econômico, juntamente com a industrialização e a modernização da agricultura, ocasionou um considerável aumento na geração de resíduos. Dentre esses resíduos, estão os lignocelulósicos, que podem ser utilizados como complemento na alimentação animal, produção de adubo e para a produção de cogumelos comestíveis, utilizando a capacidade natural dos fungos de crescer nesse tipo de substrato. As mudanças nos hábitos da sociedade e alternativas de vida aumentaram o consumo de cogumelos comestíveis nos últimos anos. Mesmo assim, no Brasil, o consumo ainda é muito pequeno, quando comparado com países da Europa e do Oriente.

Os cogumelos são conhecidos por apresentarem excelente valor nutricional devido ao seu alto teor de proteínas, carboidratos, fibras, vitaminas e minerais, bem como, baixa quantidade de lipídeos e calorias. Além das características nutricionais, os cogumelos são descritos como tendo propriedades terapêuticas capazes de prevenir e/ou tratar diversas patologias. Entre os compostos bioativos encontrados nos cogumelos com propriedade terapêutica estão os compostos fenólicos, a ergotioneína e a lovastatina.

Entre os cogumelos comestíveis estão os do gênero *Pleurotus* que vêm ganhando destaque nos últimos anos devido às suas características como aroma, sabor e cor, bem como pela sua facilidade e baixo custo de cultivo. Embora vários estudos evidenciem os fatores que têm influência direta na produção e composição química das diferentes espécies de cogumelos, no Brasil faltam dados que expressem realmente a produtividade e as características nutricionais destes cogumelos.

Tendo em vista o aumento do interesse comercial e científico sobre os cogumelos comestíveis e a falta de informações referentes às espécies autóctones do Rio Grande do Sul, a escassez de dados referente à produção e composição dos cogumelos comestíveis, tornam-se necessários mais estudos sobre a produtividade, o rendimento, a composição centesimal, a



atividade antioxidante, o perfil fenólico e o teor de ergotioneína e lovastatina presentes nestes cogumelos.

Nesse contexto, o objetivo geral do presente trabalho foi avaliar a produção, a composição nutricional, a presença de compostos bioativos e a capacidade antioxidante de linhagens autóctones de *Pleurotus* spp. Para atingir o objetivo geral, os objetivos específicos foram:

- avaliar a produtividade, o rendimento e a eficiência biológica de linhagens de *Pleurotus* spp. cultivadas em diferentes formulações de meio de cultivo;
- caracterizar nutricionalmente as linhagens de *Pleurotus* sp. cultivadas em diferentes formulações de meio de cultivo;
- caracterizar o teor de compostos fenólicos totais e avaliar a capacidade antioxidante *in vitro* do micélio e do basidioma de linhagens de *Pleurotus* spp. obtidos de diferentes meios de cultivo;
- avaliar o conteúdo de ergotioneína do basidioma, micélio cultivado em placa, micélio e caldo cultivado em meio líquido de diferentes linhagens de *Pleurotus* spp.;
- avaliar o conteúdo de lovastatina do basidioma de diferentes linhagens de *Pleurotus* spp.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Cultivo de cogumelos comestíveis

No Brasil, o consumo *per capita* de cogumelo ainda é baixo, cerca de 160 g/ano, enquanto que em alguns países da Europa e da Ásia esse número varia de 2 a 10 kg/ano, sendo na França 2 kg/ano e chegando a 10 kg/ano na China (EMBRAPA, 2013). Porém, mesmo apresentando um baixo consumo, estes valores têm aumentado no Brasil, principalmente pela divulgação do valor nutritivo e medicinal, além do preço ter se tornado mais acessível aos consumidores (Furlani & Godoy, 2007).

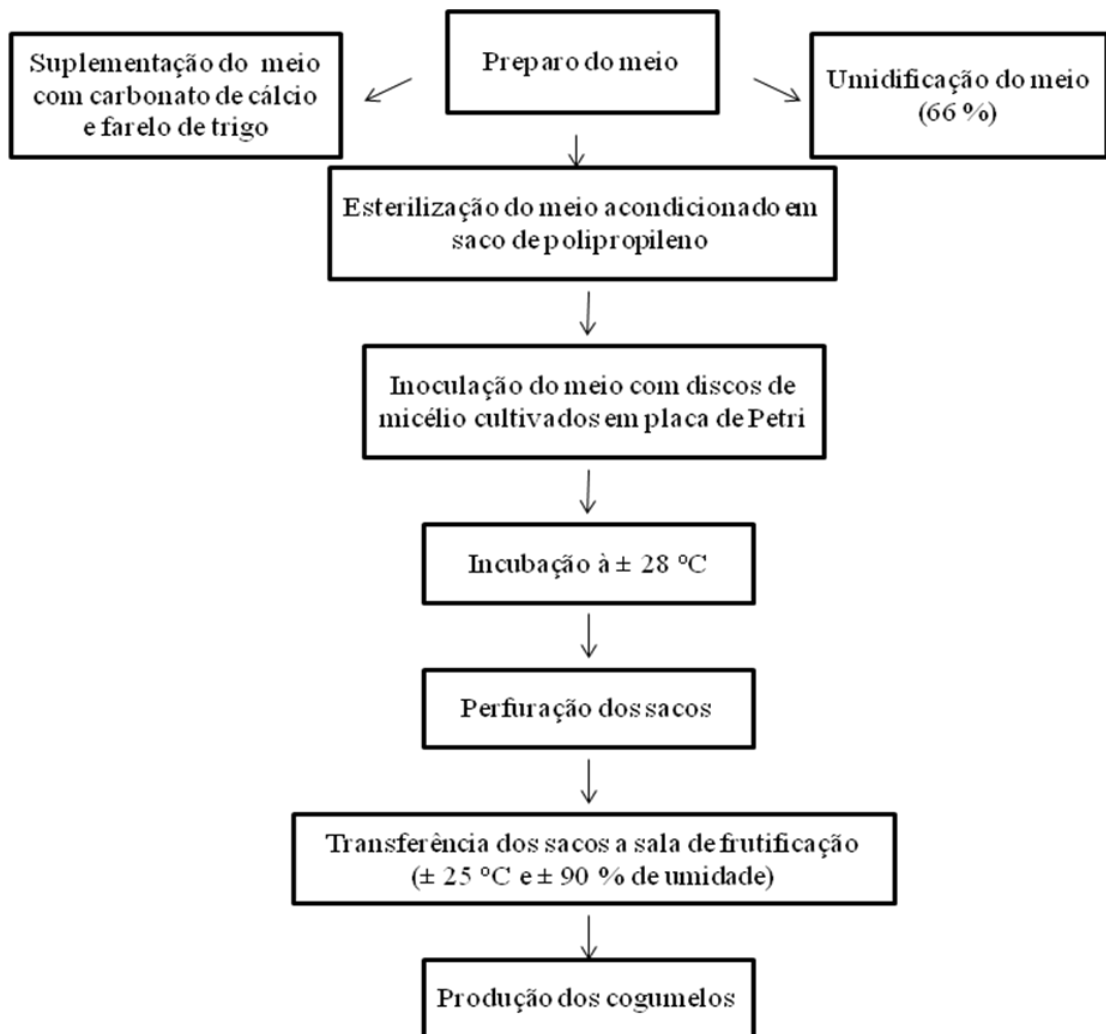
O cultivo de cogumelos comestíveis vem apresentando maior relevância nos últimos tempos, sendo uma atividade de importância econômica, em especial, a produção de espécies dos gêneros *Agaricus*, *Pleurotus* e *Lentinula*. As espécies mais comumente cultivadas e consumidas no Brasil são: *Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach, *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler, *Kavaka*, *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quéle e *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm (Dias *et al.*, 2003; Oliveira *et al.*, 2007; Sales-Campos *et al.*, 2011; Sales-Campos & Andrade, 2011). Embora exista uma grande diversidade de cogumelos, um número muito pequeno destes tem sido cultivado comercialmente, pois mesmo sendo conhecidas cerca de 2.000 espécies potencialmente comestíveis, apenas 25 delas são normalmente utilizadas na alimentação humana (Coutinho, 2009).

Na natureza, os fungos se desenvolvem em substratos sólidos, tais como resíduos de vegetais e animais ou no próprio solo (Zied *et al.*, 2011). O cultivo de cogumelos comestíveis representa uma alternativa viável de aproveitamento de resíduos lignocelulósicos para a conversão em produtos de elevado valor agregado, como consequência de sua capacidade de degradar facilmente a lignina e a celulose da madeira, bem como outros constituintes vegetais utilizados para o seu cultivo (Sales-Campos, 2008). Alguns resíduos agrícolas e

agroindustriais que podem ser aproveitados para o cultivo de macrofungos comestíveis são: cana-de-açúcar, palha de trigo, palha de arroz, gramíneas, serragens, polpa e casca de frutas, folhas de bananeira, etc. (Eira, 2003). Conforme apresentado no estudo realizado por Scariot (2000), após o cultivo de cogumelos, ainda é possível encontrar alto teor de proteína, fibras e minerais no resíduo do substrato utilizado, podendo-se utilizar estes resíduos como complemento na alimentação para animais.

A implantação e a eficiência de um cultivo comercial de cogumelos dependem de diversos fatores como: características genéticas das linhagens, tipo do substrato, controle de umidade, temperatura, luz, composição do ar, especialmente os teores de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> e conhecimento das condições de desenvolvimento das linhagens selecionadas (Andrade, 2007; Zied *et al.*, 2011). Um aspecto importante a ser estabelecido é a escolha do substrato adequado, este é fonte de nutriente para o metabolismo do macrofungo, proporcionando, assim, a multiplicação e a obtenção de crescimento micelial suficiente para dar sequência às etapas seguintes da produção (Figueiró & Graciolli, 2011).

A produtividade dos macrofungos é diretamente influenciada pelo pH (Potencial Hidrogeniônico) ( $\pm 6$ ) e o clima (umidade geralmente superior a 70 % e temperatura entre 10 a 25 °C), que são limitantes para o seu desenvolvimento. Porém, algumas espécies podem se desenvolver em meios mais básicos ou mais ácidos e em temperaturas extremas entre 0 e 35 °C (Rodríguez, 1990; Putzke & Putzke, 1998). Na Figura 1 estão apresentadas as diferentes etapas de um tipo de cultivo de cogumelos comestíveis.



**Figura 1.** Etapas de um processo de cultivo de cogumelos comestíveis.

Fonte: adaptado de Bonatti, 2001.

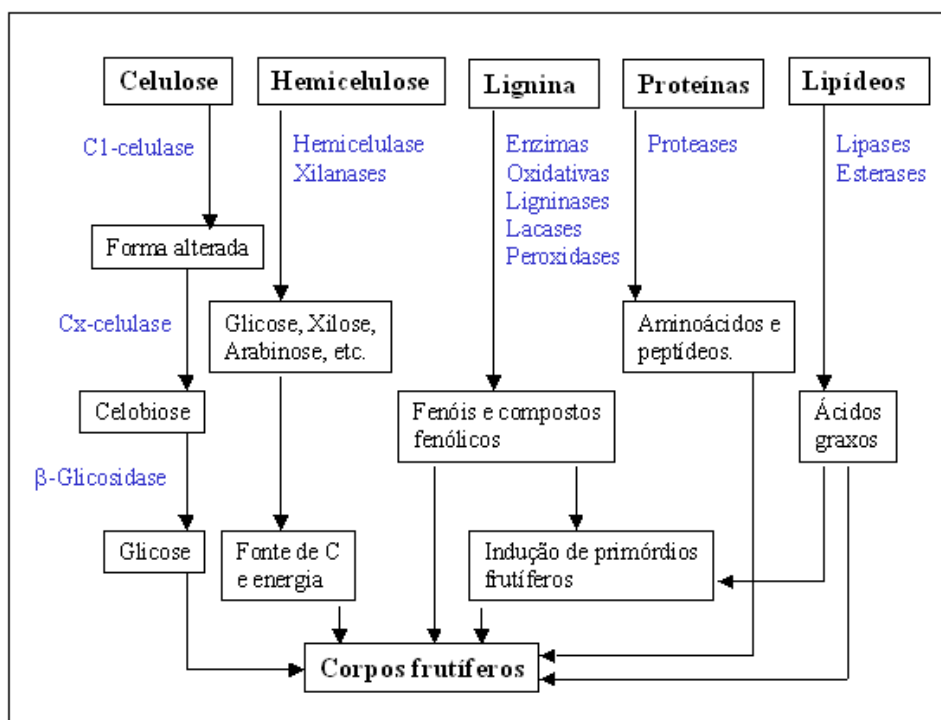
## 2.2 O gênero *Pleurotus*

Entre os fungos comestíveis estão incluídos os do gênero *Pleurotus*, que pertence ao filo Basidiomycota, subfilo Agaricomycotina, classe Agaricomycetes, ordem Agaricales e família Pleurotaceae (Hibbett *et al.*, 2007; Webster & Weber, 2007; Kirk *et al.*, 2008).

O gênero *Pleurotus* também é conhecido como “cogumelo ostra” devido ao formato do píleo ser semelhante a uma concha e por apresentar estipe excêntrico ou lateral (Dias, 2010). Urban (2004) relatou trinta e oito espécies do gênero *Pleurotus* adaptadas para cultivo em

regiões subtropicais e tropicais, em uma ampla variedade de substratos. O Brasil é considerado um local propício para o cultivo deste gênero (Santos, 2000).

O gênero *Pleurotus* é conhecido por produzir basidiomas comestíveis e representa um grupo de cogumelo que apresenta grande potencial de cultivo, é amplamente conhecido em razão de sua rusticidade, rápido ciclo de vida, baixo custo e facilidade de cultivo que dispensa tratamento químico ou biológico (Sánchez *et al.*, 2002; Eira, 2004; Furlani & Godoy, 2005; Mandeel *et al.*, 2005). Devido ao seu complexo enzimático lignocelulolítico composto por enzimas como celulases, ligninases, celobiasas, lacases e hemicelulases, estes fungos são capazes de degradar compostos aromáticos da estrutura da lignina e são cultivados em resíduos lignocelulósicos (Peralta, 2008). Na Figura 2 estão apresentadas as diferentes formas de ação das enzimas que podem ser produzidas durante o processo de obtenção dos cogumelos.



**Figura 2.** Funções desempenhadas pelas principais enzimas produzidas durante o cultivo de cogumelos.

Fonte: Rajarathnam *et al.*, 1992.

Por possuírem aromas e cores diferenciadas, a produção das espécies do gênero *Pleurotus* vem ganhando espaço e destaque, chamando a atenção de consumidores e produtores (Sturion & Ranzani, 2000; Furlani & Godoy, 2005). Quando cultivado, apresenta um ciclo de produção curto, com menos de 30 dias desde o início da colonização do substrato até a primeira colheita, num total de três ou quatro ciclos de produção (Stamets, 2000). O cultivo de *Pleurotus* spp. é realizado, normalmente, em sacos de polipropileno, principalmente pela facilidade de controle do aparecimento de primórdios e contaminantes (Bononi *et al.*, 1985).

As principais espécies comestíveis produzidas e consumidas do gênero *Pleurotus* são (Figura 3): *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pulmonarius* e *Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn (Furlani & Godoy, 2005; Franco, 2006; Sales-Campos, 2011).



**Figura 3.** Principais espécies cultivadas do gênero *Pleurotus*. (a) *Pleurotus ostreatus*, (b) *Pleurotus pulmonarius*, (c) *Pleurotus djamor*.

Fonte: [www.mycobank.org](http://www.mycobank.org)

### 2.3 Composição nutricional de cogumelos comestíveis

Os cogumelos comestíveis são ricos em proteínas, fibras, carboidratos, vitaminas e minerais, além de baixa quantidade de lipídeos (Zahid *et al.*, 2012). Mattila *et al.* (2001)

relataram a presença de ~60 % de carboidrato, ~34 % de fibras, ~23 % de proteína e ~5 % de gordura, em amostra seca de cogumelos comestíveis, além de vitaminas e minerais.

A umidade representa 90 % da composição total dos cogumelos comestíveis (Mattila *et al.*, 2001). Bano & Rajarathnam (1988) relatam que o período pós-colheita, a temperatura, a umidade relativa do ar durante o crescimento, o tempo e a forma de estocagem tem influência direta no teor de umidade dos cogumelos. Fernandes *et al.* (2015) ao avaliar a possibilidade de reaproveitamento de papel impresso e branco para a produção de cogumelos comestíveis, relataram 84,3 % de umidade na amostra de *P. ostreatus* cultivada em palha de arroz (amostra controle), 90,3 % na amostra cultivada em papel branco e 91 % em amostra cultivada em papel impresso.

Os carboidratos representam a maior parte da composição centesimal da massa seca dos cogumelos. Furlani & Godoy (2007) relataram 65,82 % de carboidrato em base seca de amostra de *Pleurotus* spp. Dentre os carboidratos, a trealose e o manitol são os majoritários (Reis *et al.*, 2012).

Cogumelos comestíveis podem ser considerados uma excelente fonte de proteína quando comparados à maioria dos vegetais (Bano & Rajarathnam, 1988). De acordo com Mattila *et al.* (2001), os cogumelos apresentam de 19 a 35 % de proteínas, incluindo todos os aminoácidos essenciais. Os aminoácidos mais abundantemente encontrados na composição das espécies de *Pleurotus* são a leucina, valina, glutamina, metionina, cistina, fenilalanina, tirosina e ácido glutâmico e aspártico (Scariot *et al.*, 2000; Reis *et al.*, 2012). A concentração de proteína na composição dos cogumelos pode ser influenciada, principalmente, pelo meio de cultivo utilizado (Furlani, 2004).

A gordura é encontrada em concentrações muito baixas em cogumelos, este teor é representado apenas por 2 a 8 % da composição total, sendo que 70 % do teor de gordura são ácidos graxos insaturados (Sturion & Oetterer, 1995; Bernas *et al.*, 2006). Barros *et al.* (2007)

verificaram que os ácidos graxos mais abundantes são o ácido linoleico (C18:2) e o ácido oleico (C18:1), seguido pelo ácido palmítico (C16:0). O ácido *cis*-linoleico representa 65,29 % no total de ácidos graxos para espécie *P. ostreatus* (Ergönül *et al.*, 2013).

Os cogumelos apresentam também um conteúdo nutricional significativo de vitaminas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>12</sub>, C, D e E (Mattila *et al.*, 2001). Furlani & Godoy (2008) ao quantificar o teor de vitamina B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> presente em três espécies de cogumelos comestíveis, relataram que, mesmo não sendo considerados alimentos fontes de B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>, o consumo destes pode contribuir na soma total das vitaminas. Na Tabela 1 podem-se observar as vitaminas presentes em amostra de *P. ostreatus*.

**Tabela 1.** Teor de vitaminas determinado em amostra de *Pleurotus ostreatus* (mg/100g de amostra seca).

<b>Vitamina</b>	<b>(mg/100g de massa seca)</b>
Ácido ascórbico (Vit. C)	20
Tiamina (Vit. B <sub>1</sub> )	0,9
Riboflavina (Vit. B <sub>2</sub> )	2,5
Ácido fólico (Vit. B <sub>9</sub> )	0,64
Niacina (Vit. B <sub>3</sub> )	65
Cobalamina (Vit. B <sub>12</sub> )	0,0006
Calciferol (Vit. D)	0,0003

Fonte: Adaptado de Mattila *et al.*, 2001.

Os cogumelos comestíveis são compostos por cerca de 10 % de elementos minerais (Bano & Rajarathnam, 1988). Os elementos minerais são nutrientes inorgânicos classificados em macroelementos como cálcio, fósforo, magnésio, sódio, potássio, cloro e enxofre ou



microelementos como zinco, ferro, manganês, cobre, flúor, selênio, molibdênio, iodo, cromo, boro e cobalto. São considerados macroelementos os minerais com indicação de ingestão mínima de 100 mg/dia para um adulto (Costa & Peluzio, 2008). Segundo Scariot (2000) e Chang (1981), o potássio, o magnésio e o fósforo aparecem nos basidiomas em maior quantidade, já o cálcio e o ferro aparecem em concentrações menores. Na Tabela 2 está apresentada a composição mineral de uma amostra de *P. ostreatus*.

**Tabela 2.** Composição mineral do cogumelo *Pleurotus ostreatus* cultivado nos diferentes resíduos madeireiros e agroindustriais da região amazônica.

Substrato	Macroelementos					Microelementos			
	Ca	Mg	P	K	Na	Fe	Zn	Mn	Cu
	(mg/kg)					(mg/kg)			
Serragem de marupá	0,47	2,50	7,40	39,68	154,00	151,00	118,00	23,00	11,69
Serragem de pau de balsa	0,34	2,12	10,60	36,84	172,67	131,33	124,00	20,33	10,97
Estipe de pupunheira	0,57	1,57	9,74	42,18	181,90	115,67	82,00	16,00	9,10
Bagaço de cana	0,60	2,12	6,95	41,52	194,40	123,00	96,00	20,67	10,39

Fonte: Sales-Campos *et al.*, 2009.

As fibras estão presentes de 3 a 32 % em base seca na composição dos cogumelos comestíveis (Breene, 1990). São encontradas tanto na forma solúvel como insolúvel, sendo as principais fibras insolúveis a celulose e a lignina e, dentre as solúveis, a mais conhecida é o polissacarídeo  $\beta$ -glucana, constituída por ligações glicosídicas  $\beta(1\rightarrow3)$  e  $\beta(1\rightarrow6)$  e com ação potencializadora do sistema imunológico (Manzi, 2000).

A composição química dos cogumelos pode ser influenciada por inúmeras variáveis, entre elas a espécie, a idade, o estágio de desenvolvimento, o método de cultivo, a composição química do substrato e as condições ambientais. Todas elas influenciam

diretamente no crescimento micelial e na qualidade dos cogumelos e são de extrema importância, já que este vai utilizar vários compostos orgânicos para fornecer energia ao seu metabolismo. Com isso, podem ocorrer variações na composição química dos cogumelos, principalmente, em relação a minerais e à qualidade proteica (Crisan & Sands, 1978; Scariot *et al.*, 2000; Andrade, 2007).

Sendo assim, os basidiomas são uma alternativa para incrementar a oferta de proteínas, vitaminas e aminoácidos. Na Tabela 3 estão apresentados teores de carboidrato, proteína, gordura, energia e fibra de algumas espécies do gênero *Pleurotus*.

**Tabela 3.** Composição nutricional e calórica de espécies do gênero *Pleurotus*.

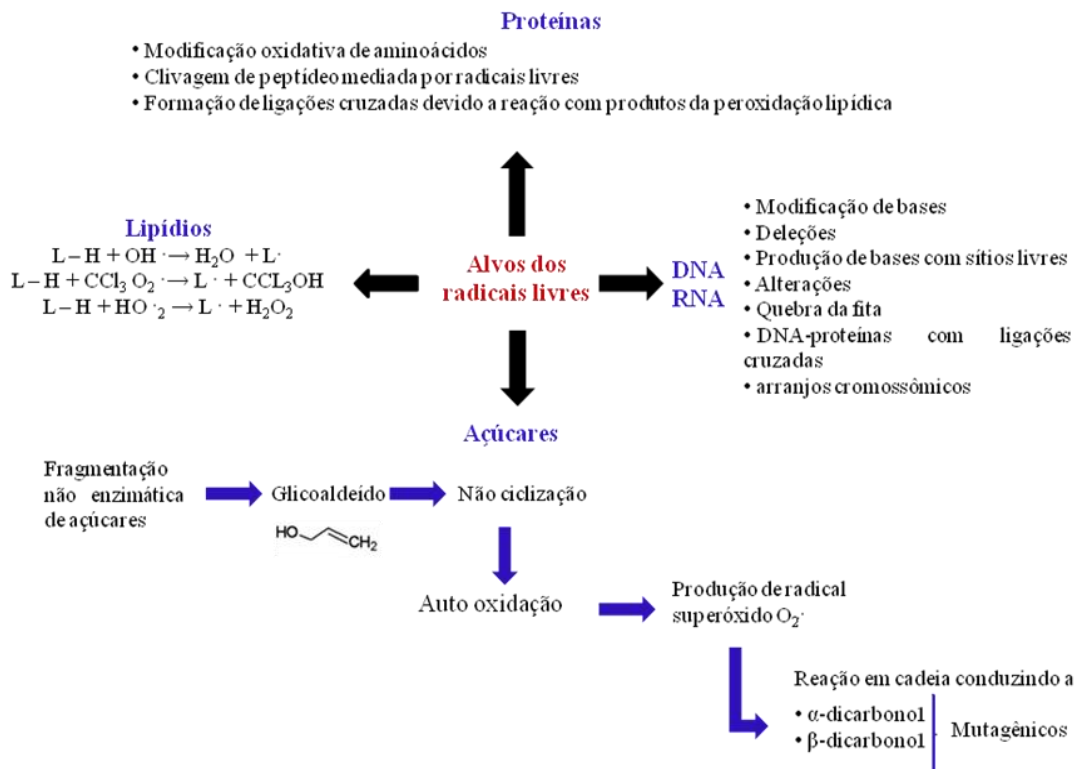
Espécie	Meio cultivo	Amostra	Carboidrato (g/100g)	Proteína (g/100g)	Gordura (g/100g)	Energia (Kcal/100g)	Fibra (g/100g)	Referências
<i>P. ostreatus</i>	-	Úmida	9,30	0,76	0,15	39,27	-	Reis <i>et al.</i> , 2012
<i>P. ostreatus</i>	Palha de arroz	Seca	78,1	14,7	1,53	385	-	Fernades <i>et al.</i> , 2015
<i>P. eryngii</i>	-	Úmida	8,95	1,21	0,16	39,84	-	Reis <i>et al.</i> , 2012
<i>P. ostreatoroseus</i>	Resíduo de algodão	Seca	-	19,7	5,48	-	33,67	Scariot <i>et al.</i> , 2000
<i>P. ostreatus</i>	Resíduo de algodão	Seca	-	14,96	8,13	-	31,67	Scariot <i>et al.</i> , 2000
<i>P. ostreatus</i>	Palha de cereais	Seca	40,96	20,56	2,2	-	12,08	Aguilar-Rivera <i>et al.</i> , 2012
<i>P. high-king</i>	-	Seca	29,2	28	4,1	-	23,6	Ahmed <i>et al.</i> , 2013
<i>P. ostreatus</i>	-	Seca	29,6	28,4	3,8	-	27,4	Ahmed <i>et al.</i> , 2013
<i>P. geesteranu</i>	-	Seca	33,4	31,8	3,6	-	22,6	Ahmed <i>et al.</i> , 2013
<i>P. ostreatus</i>	Bagaço de cana-de-açúcar	Seca	41,2	19,68	1,79	-	12,39	Aguilar-Rivera <i>et al.</i> , 2012
<i>P. sajor-caju</i>	Palha	Seca	50,7	26,6	2,0	300	13,3	Chang <i>et al.</i> , 1981
<i>P. sajor-caju</i>	Resíduo de algodão	Seca	45,5	30,2	1,7	284	14,1	Chang <i>et al.</i> , 1981
<i>P. ostreatus</i>	Bagaço de usinas	Seca	45,14	15,81	1,94	-	12,89	Aguilar-Rivera <i>et al.</i> , 2012

## 2.4 Radicais livres, estresse oxidativo e atividade antioxidante

Moléculas ou íons com elétrons desemparelhados são chamados de radicais livres e considerados altamente instáveis. Os radicais livres derivam de três elementos: oxigênio, nitrogênio e enxofre. A partir desses, são formadas as espécies reativas de oxigênio (ROS), espécies reativas de nitrogênio (RNS) e espécies reativas de enxofre (RSS) (Lü *et al.*, 2010). Dentre as espécies reativas, pode-se tomar como exemplo o ânion superóxido ( $\cdot\text{O}_2^-$ ), o radical hidroxila ( $\cdot\text{OH}$ ), oxigênio singlete ( $\text{O}_2^1$ ), óxido nítrico ( $\cdot\text{NO}$ ) e o peroxinitrito ( $\text{ONOO}^-$ ) (Bandeira *et al.*, 2013).

A formação de radicais livres é de ocorrência natural participando de processos metabólicos essenciais à vida. Danos oxidativos são consequências da produção desequilibrada entre estas espécies e os antioxidantes. Estudos têm demonstrado que esses radicais oxidam vários compostos, como proteínas, ácidos nucleicos, DNA e lipídeos, podendo levar à formação de doenças degenerativas como Alzheimer e aterosclerose (Willet, 2001; Prakash, 2009) (Figura 4).

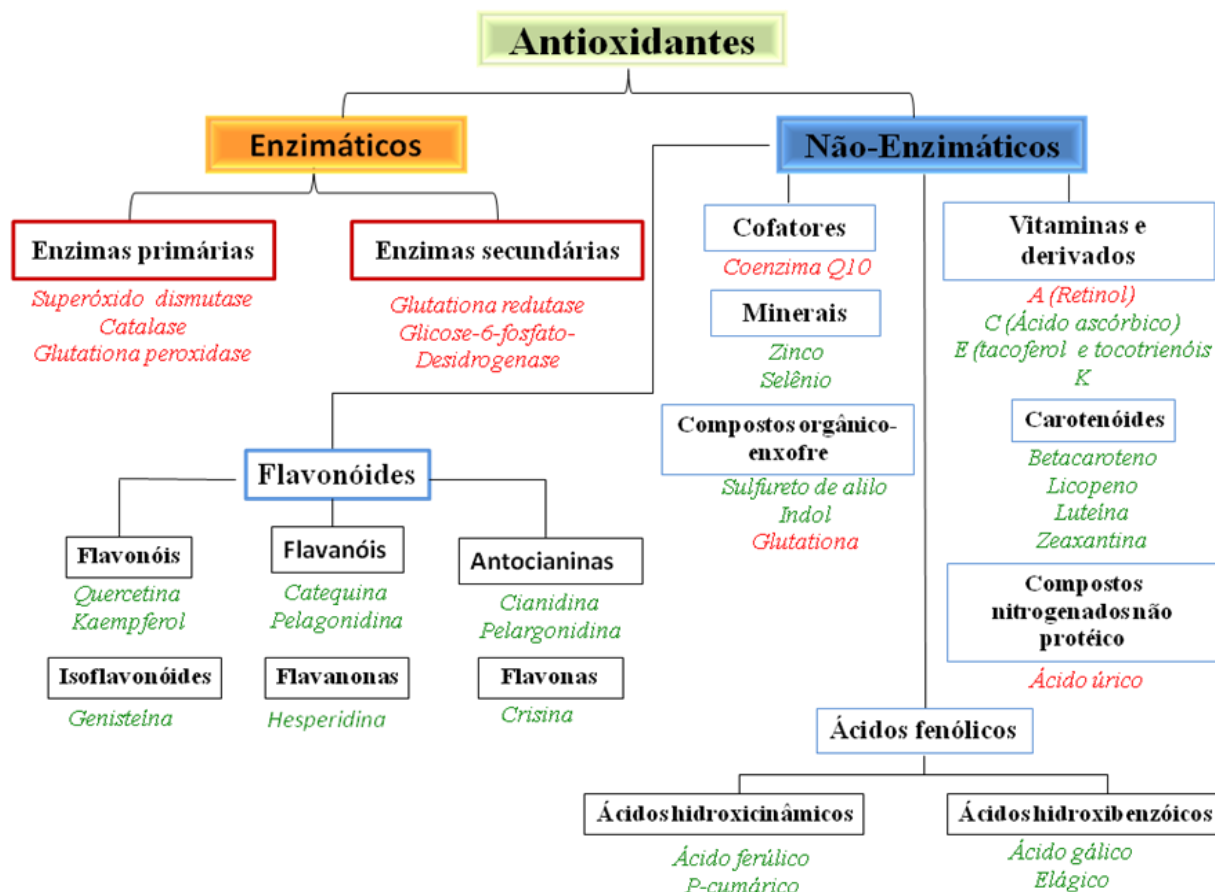
Antioxidantes são definidos como qualquer substância que, quando presentes em baixas concentrações, em comparação com a de um substrato oxidável, inibe ou atrasa significativamente a oxidação. Os antioxidantes são compostos que funcionam como bloqueadores dos processos óxido-redutivos desencadeados pelos radicais livres (Halliwell, 2007).



**Figura 4.** Alvos dos radicais livres.

Fonte: adaptado de Carocho & Ferreira, 2013.

O sistema antioxidante humano é dividido em dois grupos: antioxidantes enzimáticos, representados pelas enzimas superóxido dismutase (Sod), catalase (Cat), glutathiona-peroxidase (GPx) e glutathiona redutase (GR) e os antioxidantes não-enzimáticos, que são representados principalmente pelas vitaminas, compostos fenólicos e moléculas de baixo peso molecular encontradas principalmente em frutas e vegetais (Rahman, 2007). O sistema antioxidante humano é representado na Figura 5.



**Figura 5.** Antioxidantes naturais separados por classe. Em verde, estão representados os antioxidantes exógenos, enquanto que as palavras em vermelho representam os antioxidantes endógenos.

Fonte: adaptado de Carocho & Ferreira, 2013.

Os antioxidantes naturais encontrados nos alimentos mais conhecidos são as vitaminas A, C e E, os flavonóides, os fenólicos e os carotenóides. Estes possuem capacidade de quelar metais e inibir a lipoxigenase e os radicais livres (Duprat, 2012; Silva, *et al.*, 2009; Pauli, 2010). Estudos têm demonstrado efeitos benéficos referentes ao consumo de frutas e vegetais ricos em antioxidantes, perante a ocorrência de doenças como câncer, Alzheimer, aterosclerose, etc. (Willet, 2001).

Os cogumelos do gênero *Pleurotus* têm estimulado estudos científicos devido aos seus inúmeros metabólitos bioativos e as suas propriedades biológicas. Entre elas, destaca-se a ação antitumoral (Wolff *et al.*, 2008; Dalonso *et al.*, 2010), anti-inflamatória (Smiderle *et al.*, 2008) e antioxidante (Jayakumar *et al.*, 2009). Na Tabela 4 estão apresentadas as principais atividades biológicas dos metabólitos bioativos de diferentes espécies do gênero *Pleurotus*.

**Tabela 4.** Principais atividades biológicas relatadas para cogumelos do gênero *Pleurotus*.

<b>Atividade biológica</b>	<b>Espécie</b>	<b>Modelo de estudo</b>	<b>Referências</b>
Antitumoral	<i>P. citrinopileatus</i>	<i>In vitro</i>	Wang <i>et al.</i> , 2005
	<i>P. sajor-caju</i>		Finimundy <i>et al.</i> , 2013; Dalonso <i>et al.</i> , 2010
Antidiabética	<i>P. ostreatus</i>	<i>In vivo</i>	Choudhury & Rahman, 2013
Antioxidante	<i>P. florida</i>	<i>In vitro</i>	Im <i>et al.</i> , 2014
	<i>P. ostreatus</i>		Dubost <i>et al.</i> , 2007; Jayakumar <i>et al.</i> , 2009
	<i>P. ostreatoroseus</i>		Corrêa <i>et al.</i> , 2015
	<i>P. sajor-caju</i>		Finimundy <i>et al.</i> , 2013
Anti-hipertensiva	<i>P. tuber-regium</i>	<i>In vivo</i>	Ikewuchi <i>et al.</i> , 2013
	<i>P. ostreatus</i>		Choudhury & Rahman, 2013
Anti-inflamatória	<i>P. pulmonarius</i>	<i>In vivo</i>	Smiderle <i>et al.</i> , 2008
	<i>P. florida</i>		Im <i>et al.</i> , 2014
Analgésica	<i>P. pulmonarius</i>	<i>In vivo</i>	Smiderle <i>et al.</i> , 2008
Hepatoprotetora	<i>P. eryngii</i>	<i>In vivo</i>	Chen <i>et al.</i> , 2012
Hipolipidêmica	<i>P. eryngii</i>	<i>In vivo</i>	Chen <i>et al.</i> , 2012



## **2.5 Compostos bioativos presentes em cogumelos**

### **2.5.1 Compostos fenólicos**

Os compostos fenólicos são estruturas que possuem no mínimo um anel aromático, em que pelo menos um hidrogênio é substituído por um grupo hidroxila (Lee *et al.*, 2005). Estes são metabólitos secundários produzidos principalmente por plantas e fungos (Tsao, 2010). São sintetizados em resposta ao estresse ambiental e fisiológico como a ação de agentes patogênicos, ataque de insetos e radiação ultravioleta, participam também de processos germinativos de sementes, desenvolvimento e reprodução das plantas (Treutter, 2006).

Dreosti (2000) reportou a existência de 8000 compostos fenólicos, sendo possível dividi-los em dois grandes grupos: os flavonóides e não flavonóides. No grupo dos flavonóides estão as flavonas, flavanóis, flavonóis, flavanonas, isoflavonas e antocianinas. Entre os compostos denominados não flavonóides estão os ácidos fenólicos, lignanas e estilbenos (Li *et al.*, 2009).

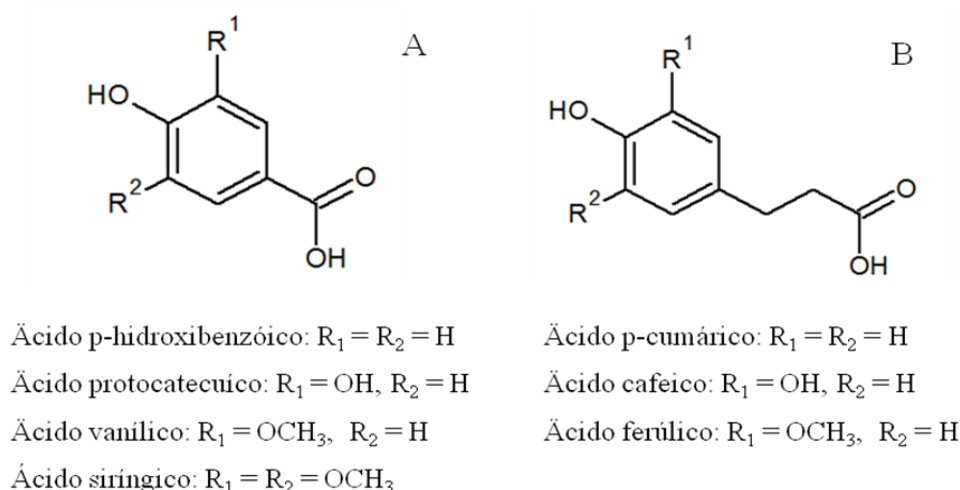
Os compostos fenólicos possuem moléculas simples ou com alto grau de polimerização que se apresentam livres ou ligadas a açúcares e proteínas. Devido à presença destas moléculas e a interação das mesmas com os radicais livres, os compostos fenólicos são conhecidos como excelentes antioxidantes (Rice-Evans *et al.*, 1996; Angelo & Jorge, 2007). Além disso, possuem também, capacidade de quelar metais e inibir a lipoxigenase (Decker, 1997). Diversas propriedades biológicas dos compostos fenólicos já foram descritas, tais como atividades antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e cardioprotetora. Além disso, estão associados à redução de riscos de doenças crônicas, incluindo câncer e doenças cardiovasculares (Bouayed & Bohn, 2010; Boeing *et al.*, 2012).

Estudos têm relatado a presença de compostos fenólicos em espécies de cogumelos comestíveis e selvagens como: *Cantharellus cibarius* (Valentão *et al.*, 2005), *A. bisporus*, *Lentinula deliciosus* (Barros *et al.*, 2009), *P. ostreatus*, *L. edodes*, *P. eryngii*, *Agaricus blazei* (Kim *et al.*, 2008), *P. djamour*, *Lentinus sajor-caju* e *P. sajor-caju* (Puttaraju *et al.*, 2006). Entre os compostos fenólicos detectados em espécies de cogumelos, pode-se citar os ácidos fenólicos (Puttaraju *et al.*, 2006) e as catequinas (Kim *et al.*, 2008).

### **2.5.1.1 Ácidos fenólicos**

Os ácidos fenólicos caracterizam-se por terem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula (Soares, 2002). São divididos em dois subgrupos, os ácidos hidroxibenzóicos que apresentam uma estrutura C6-C1, destacando-se os ácidos gálico,  $\rho$ -hidroxibenzóico, protocatecuico, vanílico e siríngico e os ácidos hidroxicinâmicos que são compostos aromáticos com uma cadeia lateral de três carbonos (C6-C3), como ácidos cafeico, ferúlico,  $\rho$ -cumárico e sinápico (Balasundram *et al.*, 2006; Russell & Duthie, 2011) (Figura 6).

Balasundram *et al.* (2006) relatou que, devido à dupla ligação presente na molécula dos derivados do ácido cinâmico, os ácidos sinápticos, ferúlico e  $\rho$ -cumárico são antioxidantes mais ativos do que os derivados do ácido benzóico.



**Figura 6.** Estrutura química dos ácidos hidroxibenzoicos (a) e hidroxicinâmicos (b).

O ácido cafeico é o maior representante do grupo dos ácidos fenólicos, estando presente nos alimentos, principalmente como ácido clorogênico, que é um éster do ácido químico com o ácido cafeico. O ácido cafeico é produzido pelo metabolismo das plantas (Olthof, 2001). Estudo realizado por Oke & Aslim (2011) mostrou que a catequina, o ácido cafeico e o ácido gálico são os componentes fenólicos mais comumente encontrados nos extratos de cogumelos. Reis *et al.* (2012), detectaram nas espécies de *P. eryngii* e *P. ostreatus* ácido cinâmico, ácido hidroxibenzoico e ácido cumárico. Woldegiorgis *et al.*, (2014) também avaliaram uma amostra de *P. ostreatus* e detectaram o ácido cafeico, ácido gálico e o ácido p-hidroxibenzoico.

### 2.5.1.2 Catequina

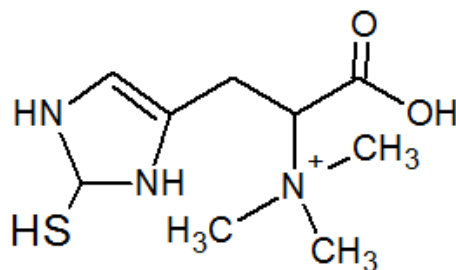
As catequinas são flavonóides pertencentes ao grupo dos polifenóis que apresentam um ou mais grupos de hidroxilas fenólicas, ligadas por no mínimo um anel aromático. Esse composto é encontrado em alguns alimentos e bebidas como frutas, verduras, café e vinho (Fine, 2000). As catequinas apresentam propriedades biológicas benéficas à saúde. Estudos

mostraram efeito anti-inflamatório, inibidor de células cancerígenas, antiarterosclerótico e antiobesidade (Kao *et al.*, 2000; Miura *et al.*, 2001; Kampa *et al.*, 2004).

Já foi reportada a presença de catequina em algumas espécies de cogumelos comestíveis. Lin *et al.*, (2014) ao analisarem amostras secas de basidiomas de *P. eryngii* coletadas no 10º, 12º e 15º dia, detectaram teores consideráveis de catequina ( $0,38 \pm 0,02$  mg/g,  $0,36 \pm 0,03$  mg/g e  $0,33 \pm 0,02$  mg/g, respectivamente) e, ao comparar os teores de compostos fenólicos totais nos diferentes tempos de coleta, observaram que as amostras coletadas no 10º dia apresentaram concentração superior. Kim *et al.* (2008) detectaram catequina nas amostras de *L. edodes*, *A. blazei* e *Ganoderma lucidum* ( $3 \mu\text{g/g}$ ,  $22 \mu\text{g/g}$  e  $14 \mu\text{g/g}$ , respectivamente). Segundo os mesmos autores, o conteúdo fenólico presente nos cogumelos contribui para a capacidade antioxidante.

### 2.5.2 Ergotioneína

A ergotioneína é um derivado de aminoácido que apresenta um átomo de enxofre no anel imidazol (Figura 7). Este tiol com solubilidade elevada em água é sintetizado principalmente por fungos, algumas cianobactérias e micobactérias, apresentando concentração maior em fungos (Beelman *et al.*, 2007; Pfeiffer *et al.*, 2011).



**Figura 7.** Estrutura química da Ergotioneína.

A ergotioneína é encontrada em quantidades pequenas em diversos alimentos, porém as maiores concentrações são encontradas em algumas espécies de cogumelo (onde é sintetizada), feijão preto e vermelho, carne vermelha e alguns órgãos como o fígado e rim (Ey *et al.*, 2007). Num estudo realizado por Dubost (2006) para determinar os níveis de ergotioneína em diferentes cogumelos, foi observado que tanto os cogumelos de podridão branca como os marrons podem ser ricos em ergotioneína e que mesmo submetendo os cogumelos a altas temperaturas (cozimento), o teor de ergotioneína não se alterava.

Estudos mostraram que a ergotioneína acumula-se em concentrações elevadas em várias células e tecidos nos seres humanos como eritrócitos, medula óssea, fígado, rim, fluido seminal e nas córneas (Leone *et al.*, 1951; Melville *et al.*, 1954; Shires *et al.*, 1997). Estudo realizado por Lamhonwah (2006) mostrou que este aminoácido pode ser transportado principalmente pelo transportador da carnitina, mais especificamente o transportador cátion orgânico (OCTN1).

A ergotioneína é considerada um poderoso antioxidante *in vivo* devido ao seu efeito protetor contra o dano oxidativo celular, capacidade de varrer radicais livres, efeito protetor contra UV, proteção contra lesão neuronal e prevenção e/ou tratamento para doenças inflamatórias crônicas (Jang *et al.*, 2004; Dubost *et al.*, 2007; Laurenza *et al.*, 2008; Botta *et al.*, 2008). Kato *et al.* (2010) observaram que ratos completamente deficientes de ergotioneína eram mais suscetíveis ao estresse oxidativo. Como o organismo humano não é capaz de sintetizar este aminoácido, a melhor forma para obtenção dele é através da ingestão alimentar de alimentos fontes.

Estudos já reportaram a presença desse composto bioativo em diferentes espécies de cogumelos. Chen *et al.* (2012) avaliaram e detectaram teores de ergotioneína em vinte espécies de cogumelos, destas vinte amostras avaliadas nove eram espécies de *Pleurotus*. Segundo os mesmos autores, os valores detectados para as amostras de *Pleurotus* variaram de

258,9 ± 12,4 mg/kg (*Pleurotus cystidiosus*) a 2850,7 ± 10,6 mg/kg (*Pleurotus citrinopileatus*) e, ao comparar três espécies de *P. ostreatus* de diferentes regiões, observaram diferença na concentração deste composto (*P. ostreatus* (Japão) – 944,1 ± 43,1 mg/kg; *P. ostreatus* (Coreia) – 1829,4 ± 49,9 mg/kg; *P. ostreatus* (Taiwan) – 1458,4 ± 35,3 mg/kg).

### 2.5.3 Lovastatina

Estatinas são substâncias com estrutura esteróide que agem inibindo a enzima hidroximetilglutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase, a primeira enzima da via da biossíntese do colesterol. As estatinas são a classe de medicamentos mais utilizados para o tratamento de hipercolesterolemia, podendo prevenir, também, a formação da placa de ateroma (Barrios-González & Miranda, 2010).

As estatinas vêm sendo estudadas, pois apresentam propriedades anti-inflamatória e antioxidante, bem como pro-fibrinolíticas, podendo colaborar na prevenção de síndromes coronárias agudas e doença aterosclerótica (Aarons *et al.*, 2007). A mevastatina, primeira estatina descoberta, foi isolada a partir de culturas de *Penicillium* sp., já a lovastatina foi isolada do fungo *Aspergillus terreus* e foi a primeira estatina aprovada para uso em humanos (Endo *et al.*, 1976; Alberts *et al.*, 1980). Desde a descoberta de estatinas naturais, extratos de fungos vêm sendo utilizados como aditivos alimentares para auxiliar no controle do colesterol (Hajjaj *et al.*, 2003; Hong *et al.*, 2003).

A produção de lovastatina tem sido relatada em diversas espécies de fungos, tais como *Monascus* spp. (Kimura *et al.*, 1990), *Penicillium citrinium* (Endo *et al.*, 1976), *Paecilomyces viridis* (Kimura *et al.*, 1990), *Penicillium purpurogenum*, *Pleurotus* sp. e *Trichoderma viride* (Javiel & Marimuthu, 2010). Chen *et al.* (2012), ao analisarem o teor de lovastatina presente no basidioma e micélio de diferentes espécies de cogumelos, conseguiram detectar quantidades consideráveis em quase todas amostras avaliadas. Também

é descrito neste estudo que as espécies de *Pleurotus* apresentaram teores representativos de lovastatina no basidioma (*P. ostreatus* –  $606,5 \pm 5,6$  mg/kg de peso seco). Bobek & Galbavy (1999) ao avaliarem o efeito hipocolesterolêmico de *P. ostreatus*, observaram redução de 10 % na ocorrência e no tamanho de placas ateroscleróticas em coelhos.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados da dissertação estão apresentados na forma de três artigos científicos, os quais serão submetidos a revistas internacionais.

**Artigo 1:** Avaliação da produção e caracterização nutricional de linhagens de *Pleurotus* spp. cultivadas em diferentes substratos

**Artigo 2:** Determinação dos compostos fenólicos e atividade antioxidante do micélio e basidioma de diferentes linhagens de *Pleurotus* spp.

**Artigo 3:** Ergotioneína e lovastatina: agentes bioativos produzidos por linhagens de *Pleurotus* spp.



**3.1 Artigo 1:** Avaliação da produção e caracterização nutricional de linhagens de *Pleurotus* spp. cultivadas em diferentes substratos

**Avaliação da produção e caracterização nutricional de linhagens de *Pleurotus* spp.  
cultivadas em diferentes substratos**

Gabriela Chilanti<sup>a</sup>, Letícia Osório da Rosa<sup>a</sup>, Liliane Poletto<sup>a</sup>, Marli Camassola<sup>a</sup>, Roselei C. Fontana<sup>a</sup>, Aldo J. P. Dillon<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratório de Enzimas e Biomassas, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul (UCS), 95070-560, Caxias do Sul – RS, Brasil

**Resumo**

O aumento do consumo e o conceito de que são alimentos ricos em nutrientes com diversas atividades biológicas, aponta para a necessidade de ampliar os conhecimentos sobre a composição e a diversidade dos cogumelos comestíveis. Um dos gêneros de cogumelos que apresenta grande consumo mundial é o *Pleurotus*. Neste contexto, o objetivo deste trabalho, em uma primeira etapa, foi avaliar a produção de nove linhagens de *Pleurotus* spp., coletadas no Rio Grande do Sul/RS, utilizando serragem de *Pinus* sp. (MCS) e, posteriormente, avaliar a produção de três linhagens utilizando meio contendo bagaço de uva orgânica (MCSU) e borra de café (MCSC). As nove linhagens cultivadas em meio MCS apresentaram valores semelhantes de rendimento, eficiência biológica e produtividade, já as linhagens cultivadas nos diferentes meios apresentaram resultados superiores para estes parâmetros. Foi possível observar que as linhagens cultivadas em meio MCSC apresentaram maior teor de proteína (41D -  $46,60 \pm 0,09$  g/100g). O açúcar mais abundante detectado nas linhagens cultivadas em MCS foi a maltose, sendo a linhagem PS-2001 a apresentar o maior teor ( $17,51 \pm 0,12$  g/100g). As linhagens cultivadas em MCS apresentaram maior teor de fibra alimentar. Diante dos resultados obtidos, sugere-se que a composição do substrato influencia na composição e

produção dos cogumelos, salientando que é possível obter cogumelos comestíveis com elevado valor nutricional.

**Palavras-chave:** bagaço de uva, borra de café, proteínas, fibra alimentar.

## 1. Introdução

Para a produção comercial de cogumelos saprófitas, como os do gênero *Pleurotus*, são utilizados resíduos gerados em abundância pela agroindústria. Entre os resíduos estão: bagaço de uva, palhas de trigo e arroz, gramíneas, serragens de madeira, polpa e casca de frutas, folhas de bananeira, polpa de café, bagaço de cana-de-açúcar, entre outros (Moda *et al.*, 2005; Moura, 2008; Gambato *et al.*, 2016). Estudos têm mostrado que a adição de suplementos, como farelo de arroz e resíduos de maçã ao meio de cultivo, altera os parâmetros produtivos e aumenta a produção de cogumelos (Mane *et al.*, 2007; Gambato *et al.*, 2016).

São conhecidas mais de duas mil espécies de cogumelos comestíveis, porém menos de vinte e cinco são comercializadas (Lindequist *et al.*, 2005). Devido à facilidade de cultivo, baixo custo e menor tempo de crescimento, *Agaricus bisporus*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus* spp. e *Flammulina velutipes* são as espécies mais cultivadas no mundo (Bonatti *et al.*, 2004; Miles & Chang, 2004; Aida *et al.*, 2009). Os cogumelos do gênero *Pleurotus* são muito conhecidos e utilizados por apresentarem características gastronômicas, propriedades medicinais e crescerem em diferentes substratos (Puttaraju *et al.*, 2006; Lechner & Albertó, 2011).

Os cogumelos comestíveis devido ao seu alto teor de proteína, carboidrato, fibras, vitaminas e minerais e baixo teor de gordura são considerados alimentos de alto valor nutricional. Além disso, são fontes de compostos fenólicos com atividade antioxidante, podendo colaborar na prevenção de diversas doenças como diabetes, hipertensão,

hipercolesterolemia e câncer (Chang, 1996; Wasser & Weis, 1999; Mattila *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2007; Heleno *et al.*, 2010). A composição química, bem como o valor nutricional dos cogumelos comestíveis, pode variar conforme a espécie, condições de cultivo e estágio de maturação (Miles & Chang, 1988).

Já foi reportada a produção de cogumelos do gênero *Pleurotus*, utilizando serragens e bagaço de uva, sendo que o bagaço de uva destaca-se pela sua composição rica em compostos fenólicos (Camassola *et al.*, 2013; Gambato *et al.*, 2016). A borra de café ainda é pouco utilizada, porém o seu uso indica a produção de cogumelos com maior teor de proteína e compostos fenólicos. Desta forma, o uso de substratos variados pode resultar em cogumelos com diferentes composições. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a produção e o valor nutricional de linhagens de *Pleurotus* spp. isoladas no Estado do Rio Grande do Sul/Brasil, quando cultivadas em meio serragem (MCS), bagaço de uva (MCSU) e borra de café (MCSC).

## **2. Materiais e métodos**

### **2.1 Microrganismos**

Foram utilizadas nove linhagens de cogumelos do gênero *Pleurotus* isoladas no Estado do Rio Grande do Sul/Brasil (Tabela 1), pertencentes à coleção de microrganismos do Laboratório de Enzimas e Biomassas da Universidade de Caxias do Sul/RS. As linhagens utilizadas estão depositadas na seção micológica do Herbário da Universidade de Caxias do Sul (UCS/MUSIC) com duplicatas depositadas no herbário Alarich Schultz (HAS), Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul (FZB/RS). Estas linhagens são resultantes de trabalho de seleção e isolamento de fungos autóctones (Rosa, 2016).

**Tabela 1.** Linhagens de *Pleurotus* spp. utilizadas neste trabalho.

<b>Código de coleta</b>	<b>Espécie</b>	<b>Código Herbário/UCS</b>	<b>Localização</b>	<b>Data/Estação</b>	<b>Número de acesso</b>	<b>Identidade</b>
38D	<i>P. pulmonarius</i> (Fr.) P. Kumm	MIUCS 330	Nova Petrópolis (RS) <sup>2</sup>	13/05/2010 (outono)	GU722282.1	99 %
122H.5	<i>P. pulmonarius</i> (Fr.) P. Kumm	MIUCS 1143	São Francisco de Paula (RS) <sup>3</sup>	23/04/2011 (outono)	KF280340.1	99 %
88F.13	<i>P. albidus</i> (Berk.) Pegler	MIUCS 1586	São Francisco de Paula (RS) <sup>3</sup>	13/11/2011 (primavera)	KF280332.1	99 %
93F.18	<i>P. albidus</i> (Berk.) Pegler	MIUCS 1591	São Francisco de Paula (RS) <sup>3</sup>	13/11/2011 (primavera)	KF280332.1	99 %
26C	<i>P. pulmonarius</i> (Fr.)P. Kumm	MIUCS 230	Nova Petrópolis (RS) <sup>1</sup>	13/05/2010 (outono)	KP026252.1	97 %
PS – 2001	<i>P. pulmonarius</i> (Fr.) Quél	MIUCS 1215	Cultivado - Caxias do Sul (RS) <sup>5</sup>	-	-	-
82F.7	<i>P. albidus</i> (Berk.) Pegler	MIUCS 1580	São Francisco de Paula (RS) <sup>3</sup>	13/11/2011 (primavera)	KF280332.1	100 %
41D	<i>P. cf. pulmonarius</i> (Fr.) P. Kumm	MIUCS 333	Nova Petrópolis (RS) <sup>1</sup>	28/08/2011 (inverno)	-	-
189H.3	<i>P. pulmonarius</i> (Fr.) Quél	MIUCS 1206	São Francisco de Paula (RS) <sup>4</sup>	29/05/2010 (outono)	GU722282.1	99 %

1- Pinheiro Multissecular; 2 - Parque Aldeia do Imigrante; 3 - Fazenda dos Novilhos - Família Osório; 4 - Fazenda dos Novilhos /Faxinal dos Pelúcios - Família Rosa; 5 - Cultivado - RS - Caxias do Sul - UCS - Bloco 57.

## 2.2. Meios de cultivo e manutenção

As linhagens foram mantidas em meio agar serragem (MS) de *Pinus* sp., composto por (g/L): *Pinus* sp., 20; farelo de trigo, 20; CaCO<sub>3</sub>, 2,0; agar-agar, 20. O meio foi autoclavado a 1 atm por 20 minutos.

Para a obtenção dos basidiomas das nove linhagens foi utilizado o meio de cultivo (MCS) com a composição (g/100 g de meio): serragem de *Pinus* sp. 94; farelo de trigo, 5; CaCO<sub>3</sub>, 1,0 e água destilada para a obtenção de 66 % de umidade, como descrito por Tan & Wahab (1997). Posteriormente, os basidiomas (122H.5, 41D e 26C) foram produzidos com duas formulações de meio, onde 50 % da serragem foi substituída por bagaço de uva orgânica (MCSU) ou 50 % de borra de café (MCSC). O bagaço de uva (*Vitis labrusca* L.) (91 % de casca, 8,5 % de talos e 0,5 % de sementes) foi gentilmente doado pela empresa Econatura Produtos Ecológicos e Naturais Ltda, localizada na Serra Gaúcha (Brasil). Os meios foram mantidos em autoclave a 1 atm por 3 horas.

## 2.3. Condições de Cultivo

A produção dos cogumelos foi realizada em sacos de polipropileno, contendo 2 kg de meio. O inóculo consistiu de dez discos de 1,5 cm de diâmetro. Os sacos foram mantidos em 28 °C. Após o meio de cultivo estar completamente colonizado e ser observada a presença dos primórdios, os sacos foram perfurados com bisturi e transferidos para uma estufa com temperatura ambiente (20 e 30 °C) e umidade relativa do ar (70 a 90 %). A produção dos basidiomas foi realizada em triplicata.

## 2.4. Parâmetros produtivos

O rendimento foi determinado de acordo com Baysal *et al.* (2003), segundo a relação: Rendimento = massa fresca dos cogumelos / massa fresca do substrato × 100 e os

resultados expressos em percentual. Para a determinação da eficiência biológica, utilizou-se a relação: Eficiência Biológica (%) = massa fresca dos cogumelos / massa seca do substrato × 100 (Kurt & Buyukalaca, 2010). A determinação da produtividade foi realizada utilizando a relação proposta por Yildiz *et al.* (2002) (Produtividade (g/dia) = Eficiência Biológica / número total de dias de cultivo).

## **2.5. Preparo das amostras e extratos**

Os basidiomas foram coletados em ± 45 dias de cultivo. Os basidiomas resultantes das diferentes coletas foram homogeneizados. Posteriormente, estes foram desidratados durante ± 24 horas a 50 - 60 °C, triturados em moedor (Cadence®) e armazenados em recipientes fechados (protegidos da claridade).

Para a determinação de açúcares livres, realizou-se extração através da agitação de 1 g de cogumelos em pó e 10 mL de água fervente (100 °C), durante 15 minutos. A suspensão resultante foi centrifugada a 3220 g por 15 minutos e o sobrenadante armazenado para posteriores análises (Puttaraju *et al.*, 2006).

## **2.6. Determinação da composição**

### **2.6.1. Valor nutricional**

Foram realizadas as determinações de cinza, umidade, gordura, proteína e fibra alimentar. A determinação de proteína e fibra alimentar foi realizada conforme método AOAC (1995) e gordura seguindo método de IAL (2008), sendo as análises realizadas pelo Laboratório de Análises e Pesquisas em Alimentos (LAPA/UCS). Para transformar o número de g de nitrogênio em número em g de proteínas foi utilizado o fator de correção 6,25. Os carboidratos foram calculados por diferença (carboidrato = 100 - teor proteína - teor gordura - teor de umidade - teor de cinzas - teor de fibra dietética).

Para a determinação da umidade, as amostras foram mantidas em estufa (105 °C), durante 3 h. Enquanto que a determinação das cinzas foi realizada por incineração em mufla (575 °C), por 2 h (IAL, 2008). O cálculo da energia deu-se de acordo com a equação: energia (kcal) = 4 × (g proteína + g carboidrato) + 9 × g gordura.

### 2.6.2. Açúcares livres e Polióis

Foi avaliada a presença de maltose, glicose, manitol, xilitol, arabinose, galactose, xilose, ramnose e frutose. Os açúcares e os polióis foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Para a determinação dos açúcares e polióis foi empregado um sistema (Shimadzu, Quioto, Japão) equipado com uma bomba quaternária LC-20AD, degaseificador DGU-20A<sub>3</sub>, forno para coluna CTO-20<sup>a</sup> e detector de índice de refração RID-10<sup>a</sup>. As condições cromatográficas utilizadas foram: coluna Aminex HPX-87H (300 mm x 7,8 mm), temperatura 60 °C, fluxo 0,6 mL/min, volume de injeção 20 µL e o ácido sulfúrico (5 mMol/L) foi utilizado como fase móvel. Os resultados foram expressos em mg/100g de peso seco e a identificação foi feita com base no tempo de retenção dos picos dos padrões (maltose -7min84s, glicose - 9min44s, manitol - 10min48s, xilitol - 11min57s). A quantificação foi determinada utilizando uma curva padrão com concentrações conhecidas (maltose - 1,8 - 30 mg/mL, glicose - 0,18 - 3 mg/mL, manitol - 0,3 - 5 mg/mL, xilitol - 0,18 - 3 mg/mL).

### 2.7. Análise estatística

Os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados expressos em média ± desvio padrão. Os dados foram analisados por variância (*one-way* ANOVA) e pós-teste de Tukey, considerando nível de probabilidade inferior a 5 % (p<0,05), utilizando o *software* PrismGraphPad<sup>®</sup> (versão 5.0.1.334).



### 3. Resultados e discussão

#### 3.1. Produção dos cogumelos do gênero *Pleurotus*

Na Tabela 2 estão os resultados de rendimento, a eficiência biológica e a produtividade das linhagens de *Pleurotus* spp. produzidas em meio MCS, MCSU e MCSC.

Foi possível observar que as linhagens 189H.3, PS-2001, 93F.18 e 82F.7 apresentaram resultados superiores para o rendimento, eficiência biológica e produtividade, quando comparadas com as demais linhagens em meio MCS. Para as linhagens 189H.3, PS-2001, 93F.18 e 82F.7, o rendimento foi de  $12,65 \pm 0,19$  %,  $12,46 \pm 0,35$  %,  $11,83 \pm 0,81$  % e de  $11,80 \pm 0,09$  %, respectivamente, sendo que o menor rendimento foi apresentado pelas linhagens 122H.5, 26C e 41D. Quando comparada a eficiência biológica e a produtividade das linhagens avaliadas, os valores obtidos ficaram entre  $14,47 \pm 0,23$  -  $23,91 \pm 0,09$  % e  $0,25 \pm 0,01$  -  $0,43 \pm 0,01$  g/dia, respectivamente (Tabela 2). Gambato *et al.* (2016), em cultivo de *Pleurotus albidus*, obtiveram  $11,42 \pm 2,45$  % de rendimento quando cultivado em serragem de *Pinus* sp.

As linhagens 122H.5, 26C e 41D apresentaram baixo rendimento, eficiência biológica e produtividade quando produzidas em meio MCS. A fim de verificar a influência do meio de cultivo, estas linhagens foram cultivadas em meio MCSC e MCSU. Pode-se observar na Tabela 2 que a alteração na composição do meio de cultivo resultou em incremento do rendimento, eficiência biológica e produtividade. Quando os cogumelos foram produzidos em meio MCSU, o rendimento aumentou e foi semelhante entre todas as linhagens. A eficiência biológica e a produtividade também aumentaram, porém os valores foram variados entre as linhagens avaliadas nos diferentes meios. Os valores de eficiência biológica apresentados no presente estudo foram semelhantes aos apresentados pelo *Pleurotus sajor-caju* cultivado em folha de bananeira e suplementado com farelo de arroz ( $38,37 \pm 1,08$  %) em estudo de Pokhrel *et al.* (2013).

**Tabela 2.** Rendimento, eficiência biológica e produtividade de linhagens de *Pleurotus* spp. em meio serragem (MCS), serragem/borra de café (MCSC) e serragem/bagaço de uva (MCSU).

<b>Fungos</b>	<b>Rendimento (%)</b>	<b>Eficiência Biológica (%)</b>	<b>Produtividade (g/dia)</b>
<b>MCS</b>			
<b>38D</b>	10,0 ± 0,44 <sup>g</sup>	18,98 ± 1,05 <sup>ghi</sup>	0,34 ± 0,01 <sup>hi</sup>
<b>122H.5</b>	7,90 ± 0,15 <sup>h</sup>	14,93 ± 0,44 <sup>ij</sup>	0,27 ± 0,0 <sup>j</sup>
<b>88F.13</b>	9,69 ± 0,29 <sup>gh</sup>	18,30 ± 0,34 <sup>hi</sup>	0,37 ± 0,01 <sup>gh</sup>
<b>93F.18</b>	11,83 ± 0,81 <sup>fg</sup>	22,35 ± 1,27 <sup>fg</sup>	0,43 ± 0,01 <sup>f</sup>
<b>26C</b>	7,69 ± 0,05 <sup>h</sup>	14,53 ± 0,07 <sup>j</sup>	0,29 ± 0,0 <sup>ij</sup>
<b>PS – 2001</b>	12,46 ± 0,35 <sup>f</sup>	23,55 ± 0,93 <sup>f</sup>	0,43 ± 0,01 <sup>f</sup>
<b>82F.7</b>	11,80 ± 0,09 <sup>fg</sup>	22,30 ± 0,43 <sup>fg</sup>	0,41 ± 0,01 <sup>fg</sup>
<b>41D</b>	7,66 ± 0,03 <sup>h</sup>	14,47 ± 0,23 <sup>j</sup>	0,25 ± 0,01 <sup>j</sup>
<b>189H.3</b>	12,65 ± 0,19 <sup>f</sup>	23,91 ± 0,09 <sup>f</sup>	0,43 ± 0,0 <sup>f</sup>
<b>MCSC</b>			
<b>41D</b>	33,97 ± 0,57 <sup>b</sup>	53,08 ± 0,88 <sup>b</sup>	1,05 ± 0,02 <sup>b</sup>
<b>26C</b>	41,84 ± 1,66 <sup>a</sup>	65,38 ± 2,58 <sup>a</sup>	1,09 ± 0,04 <sup>a</sup>
<b>122H.5</b>	31,37 ± 0,35 <sup>c</sup>	49,02 ± 0,54 <sup>c</sup>	0,98 ± 0,01 <sup>c</sup>
<b>MCSU</b>			
<b>41D</b>	23,25 ± 0,50 <sup>d</sup>	36,33 ± 0,78 <sup>d</sup>	0,73 ± 0,01 <sup>d</sup>
<b>26C</b>	20,19 ± 0,37 <sup>e</sup>	31,55 ± 0,57 <sup>e</sup>	0,61 ± 0,01 <sup>e</sup>
<b>122H.5</b>	24,57 ± 0,11 <sup>d</sup>	38,40 ± 0,16 <sup>d</sup>	0,64 ± 0,00 <sup>e</sup>

Os valores apresentados são resultantes da média de dois experimentos. Em cada coluna, valores com letras iguais não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ). Meio serragem (MCS); serragem/bagaço de uva (MCSU) e serragem/borra de café (MCSC).

Ao se avaliar as linhagens produzidas em meio MCSC, observou-se que os valores de rendimento, eficiência biológica e produtividade foram superiores aos valores obtidos nas mesmas linhagens cultivadas em MCS e MCSU. Destaca-se que a linhagem 26C apresentou

rendimento ( $41,84 \pm 1,66$  %), eficiência biológica ( $65,38 \pm 2,58$  %) e produtividade ( $1,09 \pm 0,04$  g/dia) superiores quando comparado com as demais linhagens avaliadas, sendo superior também aos valores apresentados pela mesma linhagem quando produzidas em MCS e MCSU. Fan *et al.* (2000) avaliaram a produção de *Pleurotus ostreatus* em casca de café e obtiveram de 72,5 % a 95,6 % de eficiência biológica. Lechner e Albertó (2011) cultivaram *Pleurotus albidus* em palha de trigo e mostraram um nível de eficácia biológica de 171,3 %. Estudo realizado por Patil (2012), que determinou rendimento e eficiência biológica de *P. sajor-caju* cultivados em diferentes substratos, obteve 84,56 % de eficiência biológica para o cultivado em palha de soja.

Desta forma, destaca-se que a variação da composição do meio de cultivo influencia no rendimento, eficiência biológica e produtividade, sendo que os resultados superiores foram obtidos em meios formulados com borra de café e bagaço de uva. O bagaço de uva é um resíduo com elevado teor de fibra dietética (beta-glucana, celulose e pectina) e altos níveis de polifenóis, sendo que estes compostos podem influenciar na composição dos cogumelos (Llobera & Cañellas, 2007).

### **3.2. Valor nutricional**

Os resultados da composição nutricional de nove linhagens cultivadas em meio serragem, serragem/bagaço de uva e serragem/borra de café estão apresentados na Tabela 3. Foi possível obter diferenças significativas em todos os parâmetros avaliados. O teor de umidade obtido nas amostras de cogumelos secos produzidos em meio serragem variou de  $9,92 \pm 0,02$  g/100g (122H.5) a  $7,56 \pm 0,22$  g/100g (26C). As três linhagens (122H.5, 41D e 26C) cultivadas em MCSU apresentaram teor de umidade superior ( $12,30 \pm 0,14$  g/100g;  $12,43 \pm 0,46$  g/100g;  $12,49 \pm 0,16$  g/100g, respectivamente), quando comparado com as mesmas linhagens cultivadas em MCS e MCSC. Para cinzas, as linhagens 88F.13 e 93F.18

cultivadas em MCS apresentaram o maior teor ( $7,77 \pm 0,01$  g/100g;  $7,28 \pm 0,21$  g/100g), enquanto que a linhagem 122H.5 apresentou o menor teor ( $4,27 \pm 0,02$  g/100g). Valores semelhantes foram apresentados em estudo de Fernandes *et al.* (2015) que obtiveram  $5,69 \pm 0,64$  g/100g de cinzas na amostra controle de *P. ostreatus*. O teor de cinzas foi maior nos basidiomas produzidos em MSCS e MCSU, quando comparado com o meio MCS (Tabela 3).

Foi possível observar diferenças no teor de proteínas entre as linhagens avaliadas e que a linhagem PS-2001 apresentou teor superior às demais linhagens ( $24,26 \pm 0,06$  g/100g) em meio de cultivo MCS (Tabela 3). Quando comparado o teor de proteína das três linhagens, nos diferentes meios, foi possível observar que as linhagens 122H.5 e 41D obtiveram um teor superior quando produzidas em meio MCSC ( $30,18 \pm 0,09$  g/100g;  $46,60 \pm 0,09$  g/100g, respectivamente), sendo que se comparados os teores de proteína da linhagem 41D produzida em MCSC e MCS, o valor obtido no meio MCSC foi o dobro do teor obtido no MCS ( $21,16 \pm 0,13$  g/100g) e quase 50 % da composição nutricional total do cogumelo. Já a linhagem 26C apresentou valores semelhantes nos basidiomas produzidos em MCSC e MCSU ( $27,87 \pm 0,02$  g/100g e  $27,85 \pm 0,02$  g/100g, respectivamente) e superiores aos produzidos em MCS ( $22,90 \pm 0,04$  g/100g).

Fernandes *et al.* (2015) obtiveram teores de proteínas inferiores,  $14,7 \pm 0,4$  g/100g (amostra controle),  $9,71 \pm 0,02$  g/100g (amostra cultivada em papel branco) e  $9,29 \pm 0,08$  g/100g (amostra cultivada em papel impresso). O teor de proteína também foi superior ao obtido em *P. sajor-caju* (13,0 g/100g) e *P. ostreatus* (13,1 g/100g) cultivados em palha de arroz e *P. sajor-caju* (18,4 g/100g) e *P. ostreatus* (16,9 g/100g) cultivados em palha de bananeira (Bonatti *et al.* 2004). Quando comparado o teor de proteína obtido em 100g de massa seca de cogumelo com outros alimentos, o valor encontrado é superior ao obtido em um bife bovino cru (21,2 g/100g) e peito de frango cru (21,5 g/100g), superior também a

muitos alimentos de origem vegetal como brócolis (3,6 g/100g) e feijão preto cru (21,3 g/100g), podendo ser considerado uma alternativa proteica para uma alimentação vegetariana.

O teor de gordura identificado foi diferente entre as linhagens, sendo que os valores variaram entre  $1,53 \pm 0,03$  g/100g (38D) e  $2,25 \pm 0,04$  g/100g (88F.13). Para as linhagens cultivadas em meio MCSU e MCSC, os teores de gordura foram inferiores, com exceção da linhagem 122H.5 (Tabela 3). Os valores obtidos no trabalho são semelhantes aos citados em estudo realizado por Fernandes *et al.* (2015) em que foi analisada amostra de *P. ostreatus*, produzido em palha de aveia e obtiveram teor de gordura de  $1,53 \pm 0,25$  g/100g e inferior ao apresentado em estudo de Bonatti *et al.* (2004), onde o teor de gordura em *P. ostreatus*, cultivado em palha de arroz foi de 6,32 g/100g.

Como o carboidrato foi quantificado por diferença, a linhagem PS-2001 que apresentou o maior teor proteico, menor teor de fibra alimentar, também foi à linhagem que apresentou o maior teor de carboidrato ( $19,67 \pm 0,57$  g/100g) e o maior valor calórico (Tabela 3). Os teores de carboidrato e energia dos basidiomas cultivados em MCSC e MCSU foram diferentes as mesmas linhagens cultivadas em MCS. Destaca-se a linhagem 41D, que devido ao seu alto teor de proteína quando cultivado em MCSC apresentou o menor teor de carboidrato ( $10,28 \pm 0,38$  g/100g). Patil (2012) avaliou o teor de carboidrato em *P. sajor-caju* (palha de trigo) e obteve 56 g/100g. Bonatti *et al.* (2004) apresentaram valores superiores de carboidrato para *P. ostreatus* e *P. sajor-caju* cultivados em palha de bananeira (47 g/100g e 43 g/100g, respectivamente).

**Tabela 3.** Composição centesimal (g/100g) e calórica (kcal/100g) dos basidiomas secos de linhagens do gênero *Pleurotus* spp. em meio serragem (MCS), serragem/borra de café (MCSC) e serragem/bagaço de uva (MCSU).

Fungos	Umidade	Cinzas	Proteína	Gordura	Carboidrato	Fibra Dietética	Energia (kcal)
<b>MCS</b>							
<b>38D</b>	9,62±0,11 <sup>cd</sup>	4,66±0,04 <sup>ef</sup>	18,38±0,11 <sup>k</sup>	1,53±0,03 <sup>e</sup>	12,47±1,51 <sup>d</sup>	53,34±1,45 <sup>cd</sup>	137,17±5,35 <sup>d</sup>
<b>122H.5</b>	9,92±0,02 <sup>cd</sup>	4,27±0,02 <sup>ef</sup>	18,18±0,06 <sup>k</sup>	1,69±0,01 <sup>cde</sup>	15,46±0,40 <sup>bc</sup>	50,48±0,45 <sup>cd</sup>	149,76±1,77 <sup>cd</sup>
<b>88F.13</b>	8,49±0,11 <sup>ef</sup>	7,77±0,01 <sup>a</sup>	20,57±0,06 <sup>i</sup>	2,25±0,04 <sup>ab</sup>	16,79±2,26 <sup>bc</sup>	44,13±2,27 <sup>de</sup>	169,73±8,41 <sup>c</sup>
<b>93F.18</b>	9,47±0,06 <sup>cd</sup>	7,28±0,21 <sup>b</sup>	20,13±0,00 <sup>i</sup>	2,17±0,18 <sup>abc</sup>	15,35±1,79 <sup>bc</sup>	45,60±1,70 <sup>de</sup>	161,47±8,81 <sup>c</sup>
<b>26C</b>	7,56±0,22 <sup>g</sup>	4,79±0,00 <sup>e</sup>	22,90±0,04 <sup>g</sup>	1,98±0,01 <sup>bc</sup>	8,32±1,87 <sup>d</sup>	54,45±1,61 <sup>c</sup>	142,67±7,35 <sup>d</sup>
<b>PS – 2001</b>	8,57±0,17 <sup>ef</sup>	6,94±0,34 <sup>b</sup>	24,27±0,06 <sup>e</sup>	1,88±0,01 <sup>cd</sup>	19,67±0,57 <sup>b</sup>	38,67±1,69 <sup>f</sup>	192,65±6,09 <sup>b</sup>
<b>82F.7</b>	9,73±0,23 <sup>cd</sup>	5,80±0,11 <sup>cd</sup>	20,20±0,15 <sup>i</sup>	2,32±0,02 <sup>a</sup>	13,70±3,39 <sup>cd</sup>	48,25±3,17 <sup>d</sup>	156,49±13,97 <sup>c</sup>
<b>41D</b>	9,37±0,19 <sup>cd</sup>	5,31±0,10 <sup>d</sup>	21,15±0,13 <sup>h</sup>	2,04±0,02 <sup>bc</sup>	11,56±0,77 <sup>d</sup>	50,57±0,71 <sup>cd</sup>	149,18±2,33 <sup>d</sup>
<b>189H.3</b>	9,21±0,04 <sup>cde</sup>	5,29±0,08 <sup>d</sup>	19,54±0,16 <sup>j</sup>	1,90±0,08 <sup>cd</sup>	16,31±1,21 <sup>bc</sup>	47,75±1,41 <sup>de</sup>	160,44±4,80 <sup>c</sup>
<b>MCSU</b>							
<b>122H.5</b>	12,39±0,14 <sup>a</sup>	6,08±0,02 <sup>c</sup>	25,52±0,08 <sup>d</sup>	1,50±0,01 <sup>e</sup>	11,39±0,67 <sup>d</sup>	43,12±0,88 <sup>def</sup>	161,14±3,13 <sup>c</sup>
<b>41D</b>	12,43±0,46 <sup>a</sup>	7,26±0,01 <sup>b</sup>	23,52±0,26 <sup>f</sup>	1,29±0,01 <sup>f</sup>	15,9±1,37 <sup>bc</sup>	39,60±2,02 <sup>f</sup>	169,32±6,47 <sup>c</sup>
<b>26C</b>	12,48±0,16 <sup>a</sup>	6,68±0,04 <sup>b</sup>	27,85±0,02 <sup>c</sup>	1,46±0,08 <sup>e</sup>	15,20±0,77 <sup>bc</sup>	36,33±0,64 <sup>f</sup>	185,34±3,76 <sup>b</sup>
<b>MCSC</b>							
<b>122H.5</b>	9,90±0,12 <sup>c</sup>	6,64±0,06 <sup>b</sup>	30,18±0,09 <sup>b</sup>	1,98±0,02 <sup>c</sup>	14,98±0,31 <sup>bc</sup>	36,32±0,64 <sup>f</sup>	198,40±1,42 <sup>b</sup>
<b>41D</b>	11,23±0,04 <sup>b</sup>	6,85±0,14 <sup>b</sup>	46,60±0,09 <sup>a</sup>	1,38±0,01 <sup>ef</sup>	10,28±0,38 <sup>d</sup>	23,66±0,29 <sup>g</sup>	239,95±1,80 <sup>a</sup>
<b>26C</b>	11,6±0,11 <sup>b</sup>	5,75±0,04 <sup>cd</sup>	27,87±0,02 <sup>c</sup>	1,66±0,02 <sup>d</sup>	17,47±1,04 <sup>bc</sup>	35,66±1,19 <sup>f</sup>	196,26±4,05 <sup>b</sup>
<b>Meios de cultivo</b>							
<b>MCS</b>	4,87±0,04 <sup>d</sup>	0,17±0,00 <sup>i</sup>	7,53±0,12 <sup>l</sup>	0,82±0,03 <sup>g</sup>	10,53±0,59 <sup>d</sup>	76,08±0,00 <sup>a</sup>	79,67±0,26 <sup>e</sup>
<b>MCSC</b>	3,86±0,07 <sup>e</sup>	1,06±0,01 <sup>h</sup>	6,84±0,12 <sup>m</sup>	6,17±0,03 <sup>a</sup>	19,01±0,00 <sup>bc</sup>	63,06±0,01 <sup>b</sup>	158,94±0,16 <sup>c</sup>
<b>MCSU</b>	3,19±0,23 <sup>e</sup>	1,70±0,10 <sup>g</sup>	6,22±0,00 <sup>m</sup>	3,52±0,01 <sup>b</sup>	29,28±0,35 <sup>a</sup>	56,09±0,00 <sup>c</sup>	173,70±1,26 <sup>c</sup>

Os valores apresentados são resultantes da média de três repetições. Em cada coluna, valores com letras iguais não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ). Serragem/bagaço de uva (MCSU), serragem/borra de café (MCSC) e serragem (MCS).

Os teores de fibra alimentar presentes nos basidiomas das linhagens de *Pleurotus* spp. estão apresentados na Tabela 3. O maior teor de fibra foi detectado no meio MCS e os basidiomas produzidos neste meio foram os que apresentaram maior teor de fibra, sendo que a linhagem 26C apresentou o maior teor ( $54,45 \pm 1,61$  g/100g). Para o meio MCSU, foi observado maior teor de fibras no basidioma da linhagem 122H.5 ( $43,13 \pm 0,89$  g/100g) e, no meio MCSC, o menor teor de fibra foi detectado na linhagem 41D ( $23,66 \pm 0,29$  g/100g). Os valores observados de fibras para as linhagens estudadas foram muito superiores as descritas por Bonatti *et al.* (2004) que, ao avaliarem o teor de fibra em *P. ostreatus in natura* cultivados em palha de bananeira e *P. ostreatus* cultivado em palha de arroz, obtiveram 9,41 g/100g e 9,86 g/100g de fibra total, respectivamente. Já para o *P. sajor-caju* cultivado em palha de bananeira e palha de arroz, os valores de fibras totais obtidos foram 7,60 g/100g e 9,60 g/100g, respectivamente. Agrahar-Murugkar & Subbulakshmi (2005) obtiveram valores inferiores, 12,8 g/100g de fibra para *Cantharellus cibarius*, 22 g/100g para *Calvatia gigantea* e 6,4 g/100g para *Russula integra*.

De acordo com resolução da ANVISA são considerados alimentos fontes de fibra os que apresentam no mínimo 3 g de fibra em 100 g e alimentos com alto conteúdo de fibras os que apresentam no mínimo 6 g de fibra em 100 g do alimento. Portanto, os cogumelos analisados neste estudo se enquadram como alimento com alto conteúdo de fibra.

### **3.3. Teores de açúcares livres e polióis**

Estão apresentados na Tabela 4 os teores de açúcares livres e polióis das linhagens cultivadas em meio serragem, serragem/bagaço de uva e serragem/borra de café. Foram analisados os açúcares arabinose, galactose, xilose, ramnose, frutose, maltose e glicose e os polióis manitol e xilitol, mas foi possível identificar e quantificar somente maltose, glicose, manitol e xilitol.

A maltose foi o açúcar detectado em maior quantidade nas amostras. Em MCS, as linhagens apresentaram valores de  $7,06 \pm 0,09$  g/100g (93F.18) até  $17,51 \pm 0,12$  g/100g (PS-2001) de maltose em sua composição. Quando analisado o teor de açúcares nas três linhagens cultivadas em diferentes meios, foi observado que a maltose continuou prevalecendo nos cogumelos, sendo que linhagem 122H.5 apresentou valores semelhantes nos basidiomas cultivados em MCSC, MCSU e MCS. A linhagem 41D apresentou teor menor quando cultivada em MCSC ( $4,16 \pm 0,2$  g/100g) e o teor de maltose na linhagem 26C foi superior quando cultivada em MCS ( $14,61 \pm 0,07$  g/100g) (Tabela 4). Estudo realizado por Barros *et al.* (2008) obtiveram valores inferiores de maltose, sendo que foram avaliadas oito espécies e, apenas, *Agaricus silvaticus* e *Agaricus silvicola* apresentaram maltose em sua composição ( $0,44 \pm 0,02$  g/100g e  $0,57 \pm 0,03$  g/100g, respectivamente).

Os teores de manitol foram variados entre as amostras estudadas. As linhagens 38D e 122H.5 apresentaram valores inferiores ( $0,59 \pm 0,04$  g/100g e  $0,52 \pm 0,03$  g/100g) em meio serragem, já as linhagens 88F.13 e 82F.7 apresentaram os maiores valores ( $4,43 \pm 0,36$  g/100g e  $3,21 \pm 0,05$  g/100g) (Tabela 4). Barros *et al.* (2008) também apresentaram valores variados de manitol, entre  $19,59 \pm 0,07$  g/100g (*Agaricus bisporus*) e  $0,27 \pm 0,00$  g/100g (*Calocybe gambosa*). Os teores de manitol obtidos foram semelhantes aos apresentados em estudo de Fernandes *et al.* (2015) onde o cogumelo *P. ostreatus* cultivado em palha de aveia apresentou  $2,73 \pm 0,01$  g/100g e semelhante também ao estudo de Reis *et al.* (2012) que detectou  $4,01 \pm 0,20$  g/100g no *Agaricus bisporus* e  $0,54 \pm 0,04$  g/100g no *P. ostreatus*.



**Tabela 4.** Teor de açúcares (maltose e glicose) e polióis (manitol e xilitol) presentes nas linhagens de gênero *Pleurotus* cultivadas em diferentes composições de meio.

<b>Fungos</b>	<b>Maltose (g/100g)</b>	<b>Glicose (g/100g)</b>	<b>Manitol (g/100g)</b>	<b>Xilitol (g/100g)</b>
<b>MCS</b>				
<b>38D</b>	10,10 ± 0,13 <sup>e</sup>	0,36 ± 0,04 <sup>cde</sup>	0,59 ± 0,04 <sup>e</sup>	0,52 ± 0,00 <sup>c</sup>
<b>122H.5</b>	8,21 ± 0,43 <sup>gh</sup>	0,45 ± 0,02 <sup>c</sup>	0,52 ± 0,03 <sup>e</sup>	0,27 ± 0,01 <sup>ef</sup>
<b>88F.13</b>	7,94 ± 0,65 <sup>ghi</sup>	0,45 ± 0,02 <sup>c</sup>	4,43 ± 0,36 <sup>a</sup>	0,18 ± 0,01 <sup>fg</sup>
<b>93F.18</b>	7,06 ± 0,09 <sup>hi</sup>	0,43 ± 0,01 <sup>c</sup>	2,96 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,15 ± 0,00 <sup>fg</sup>
<b>26C</b>	14,61 ± 0,07 <sup>b</sup>	0,33 ± 0,01 <sup>cde</sup>	1,00 ± 0,01 <sup>cd</sup>	0,26 ± 0,02 <sup>ef</sup>
<b>PS – 2001</b>	17,51 ± 0,12 <sup>a</sup>	1,51 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,25 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,57 ± 0,01 <sup>bc</sup>
<b>82F.7</b>	7,93 ± 0,14 <sup>gh</sup>	0,53 ± 0,02 <sup>bc</sup>	3,21 ± 0,05 <sup>b</sup>	0,22 ± 0,00 <sup>fg</sup>
<b>41D</b>	8,51 ± 0,63 <sup>fg</sup>	0,42 ± 0,05 <sup>cd</sup>	1,04 ± 0,17 <sup>cd</sup>	0,26 ± 0,01 <sup>ef</sup>
<b>189H.3</b>	11,24 ± 0,08 <sup>d</sup>	0,65 ± 0,03 <sup>b</sup>	1,10 ± 0,03 <sup>cd</sup>	0,61 ± 0,02 <sup>ab</sup>
<b>MCSU</b>				
<b>122H.5</b>	7,70 ± 0,01 <sup>hi</sup>	0,42 ± 0,00 <sup>cd</sup>	0,84 ± 0,01 <sup>de</sup>	0,23 ± 0,00 <sup>fg</sup>
<b>41D</b>	7,24 ± 0,15 <sup>hi</sup>	0,54 ± 0,00 <sup>bc</sup>	0,88 ± 0,01 <sup>cde</sup>	0,40 ± 0,01 <sup>d</sup>
<b>26C</b>	9,52 ± 0,02 <sup>ef</sup>	0,61 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,16 ± 0,01 <sup>cd</sup>	0,68 ± 0,00 <sup>a</sup>
<b>MCSC</b>				
<b>122H.5</b>	8,83 ± 0,08 <sup>fg</sup>	0,28 ± 0,01 <sup>ef</sup>	0,74 ± 0,04 <sup>de</sup>	0,64 ± 0,05 <sup>ab</sup>
<b>41D</b>	4,16 ± 0,20 <sup>j</sup>	0,40 ± 0,09 <sup>cd</sup>	0,74 ± 0,01 <sup>de</sup>	0,56 ± 0,06 <sup>bc</sup>
<b>26C</b>	12,90 ± 0,16 <sup>c</sup>	0,13 ± 0,00 <sup>f</sup>	0,65 ± 0,00 <sup>de</sup>	0,33 ± 0,00 <sup>de</sup>

Valores apresentados são resultantes da média de três repetições. Em cada coluna, valores com letras iguais não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ). Meio serragem (MCS); serragem/bagaço de uva (MCSU) e serragem/borra de café (MCSC).

A glicose e o xilitol foram encontrados em menor quantidade. Para glicose, a linhagem PS-2001 apresentou valor superior ( $1,51 \pm 0,02$  g/100g) em meio serragem, já as

linhagens 122H.5 e 26C ( $0,28 \pm 0,01$  g/100g e  $0,13 \pm 0,00$  g/100g, respectivamente) apresentaram valores inferiores, quando produzidos em meio MCSC. Para o xilitol, os valores foram  $0,15 \pm 0,00$  g/100g (93F.18) até  $0,68 \pm 0,00$  g/100g (26C), nos diferentes meios. Foi possível observar diferença no total de açúcares e polióis entre as linhagens estudadas. A linhagem PS-2001 foi a que apresentou a maior quantidade de açúcares livres (20,8 g/100g), já a linhagem 41D foi a que apresentou a menor quantidade ( $5,9 \pm 0,49$  g/100g) (Tabela 4). Os açúcares e polióis, também foram avaliados nos meios de cultivo, sendo que não foi possível detectar maltose e xilitol em nenhum dos meios, a glicose, por sua vez, foi detectada apenas no meio MCSU ( $1,9 \pm 0,1$  g/100g), já o manitol foi detectado em todos os meios de cultivo ( $0,10 \pm 00$  g/100g (MCS),  $0,20 \pm 0,02$  g/100g (MCSC) e  $3,45 \pm 0,17$  g/100g (MCSU)).

#### **4. Conclusão**

As linhagens cultivadas em MCSU e MCSC apresentaram melhor rendimento, produtividade e eficiência biológica, destacando-se os valores obtidos em meio MCSC. As linhagens estudadas são importantes fontes de proteínas e fibras, sendo que os valores encontrados podem aumentar de acordo com o substrato utilizado. Além disso, observou-se que os basidiomas produzidos em meio MCSC apresentaram maior teor de proteína e, quando produzidas em MCS, apresentaram maior teor de fibra alimentar. Desta forma, destaca-se que a composição do meio de cultivo influencia na composição dos cogumelos, que são fontes de proteínas e fibras, além de compostos benéficos para a saúde, indicando sua importância na alimentação.

## 5. Referências

- Agrahar-Murugkar, D.; Subbulakshmi, G. (2005). Nutritional value of edible wild mushrooms collected from the Khasi hills of Meghalaya. **Food Chem.** 89: 599-603.
- Aida, F.M.N.A.; Shuhaimi, M.; Yazid, M., Maaruf, A.G. (2009). Mushroom as a potential source of prebiotics: a review. **Trend Food Sci. Technol.** 20: 567-575.
- AOAC (2011). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists (18th ed.). Washington: AOAC.
- Barros, L.; Cruz, T.; Baptista, P.; Estevinho, L.M.; Ferreira, I.C. (2008). Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. **Food Chem. Toxicol.** 46: 2742-2747.
- Baysal, E.; Peker, H.; Yalinkiliç, M.K.; Temiz, A. (2003). Cultivation of oyster mushroom on waste paper with some added supplementary materials. **Bioresour. Technol.** 89: 95-97.
- Bonatti, M.; Karnopp, P.; Soares, H.; Furlan, S. (2004). Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. **Food Chem.** 88: 425-428.
- Camassola, M.; Rosa, L.O.; Calloni, R.; Gaio, T.A.; Dillon, A.J.P. (2013). Secretion of laccase and manganese peroxidase by *Pleurotus strains* cultivate in solid-state using *Pinus* spp. sawdust. **Braz. J. Microbiol.** 213: 207-213.
- Chang, S.T.; Miles, P.G. (2004). Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Environmental Impact. 2 ed. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. 451p.
- Chang, R. (1996). Functional properties of edible mushrooms. **Nutr. Rev.** 54: 91-93.
- Fan, L.; Soccol, C. R.; Pandey, A. (2000). Produção de cogumelo comestível *Pleurotus* em casca de café e avaliação do grau de detoxificação do substrato. In Symposium Search of Coffee from Brazil. **Anais.** pp. 687-670. Minas Gerais, Brasil, 2000.

- Fernandes, Â.; Barros, L.; Martins, A.; Herbert, P.; Ferreira, I.C. (2015). Nutritional characterisation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) P. Kumm. produced using paper scraps as substrate. **Food Chem.**169: 396-400.
- Gambato, G.; Todescato, K.; Pavão, E.M.; Scortegagna, A.; Fontana, R.C.; Salvador, M.; Camassola, M. (2016). Evaluation of productivity and antioxidant profile of solid-state cultivated macrofungi *Pleurotus albidus* and *Pycnoporus sanguineus*. **Bioresour. Technol.** 207: 46-51.
- Heleno, S.A.; Barros, L.; Sousa, M.J.; Martins, A.; Ferreira, I.C.F.R.(2010). Tocopherols composition of Portuguese wild mushrooms with antioxidant capacity. **Food Chem.** 119: 1443-1450.
- IAL - Instituto Adolfo Lutz. (2008). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** ed. digital. pp 672-673.
- Kurt, S.; Buyukalaca, S. (2010). Yield performances and changes in enzyme activities of *Pleurotus* spp. (*P. ostreatus* and *P. sajor-caju*) cultivated on different agricultural wastes. **Bioresour. Technol.** 101: 3164-3169.
- Lechner, B.E.; Albertó, E.; (2011). Search for new naturally occurring strains of *Pleurotus* to improve yields: *Pleurotus albidus* as a novel proposed species for mushroom production. **Rev. Iberoam. Micol.** 28: 148-154.
- Lee, Y.L.; Ming-Tsung, Y.; Mau, J.L. (2007). Antioxidant properties of various extracts from *Hypsizigus marmoreus*. **Food Chem.** 104: 1-9.
- Lindequist, U.; Niedermeyer, T. H. J.; Jülich, W. D. (2005). The pharmacological potential of mushrooms. **J. Eviden. Based Complementary Altern. Med.** 2: 285-299.
- Llobera, A.; Cañellas, J. (2007). Dietary fibre content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (*Vitis vinifera*): pomace and stem. **Food Chem.** 101: 659-666.

- Mane, V.P.; Patil, S.S.; Syed, A.A.; Baig, M.M.V. (2007). Bioconversion of low quality lignocellulosic agricultural waste into edible protein by *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) **Singer**. **J. Zhejiang Univ. Sci. B.** 8:745-751.
- Mattila, P.; Konko, K.; Euroala, M.; Pihlava, J. M.; Astola, J.; Vahteristo, L.; Hietaniemi, V.; Kumpulainen, J.; Valtonen, M.; Piironen, V.(2001). Contents of vitamins, mineral elements, and some phenolic compounds in cultivated mushrooms. **J. Agric. Food Chem.** 49: 2343-2348.
- Miles, P. G.; Chang, S. T. (1997). **Mushroom Biology: Concise Basics and Current Developments**. World Scientific: Singapore.
- Moda, E.M.; Horii, J.; Spoto, M.H.F. (2005). Edible mushroom *Pleurotus sajor-caju* production on washed and supplemented sugarcane bagasse. **Sc. Agric.** 62: 127-132.
- Moura, P. (2008). Determinação de elementos essenciais e tóxicos em cogumelos comestíveis por análise por ativação de nêutrons. **Tese de doutorado**. Universidade de São Paulo. São Paulo, Brasil.
- Patil, S. (2012). Cultivation of *Pleurotus sajor-caju* on different agro wastes. **Sci. Res. Report.** 2: 225-228.
- Pokhrel, C.P.; Kalyan, N.; Budathoki, U.; Yadav, R.K.P. (2013). Cultivation of *Pleurotus sajor-caju* using different agricultural residues. **IJAPR.** 1: 19-23.
- Puttaraju, N.G.; Venkateshaiah, S.U.; Mallaiah, S.; Mysore, S.; Urs, N.; Somasundaram, R. (2006). Antioxidant activity of indigenous edible mushrooms. **J. Agric. Food Chem.** 54: 9764–9772.
- 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 Chem. Toxicol.** 50: 191–197.

- Rosa, L.O.; Wasum, R.A.; Dillon, A.J.P. (2016). Macrofungos (Filo Basidiomicota) do Sul do Brasil – levantamento e verificação da capacidade de secreção de enzimas ligninolíticas. 1 ed. Saarbrucken, Deutschland: Novas edições acadêmicas. 273p.
- Tan, Y.H.; Wahab, M.N. (1997). Extracellular enzyme production during anamorphic growth in the edible mushroom *Pleurotus sajor-caju*. **World J. Microbiol. Biotechnol.** 13: 613-617.
- Wasser, S.P.; Weis, A.L. (1999). Medicinal properties of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms: current perspectives (review). **Int. J. Med. Mushrooms.** 1: 31-62.
- Yildiz, S.; Yildiz, U.C.; Gezer, E.D.; Temiz, A. (2002). Some lignocellulosic wastes used as raw material in cultivation of the *Pleurotus ostreatus* culture mushroom. **Process. Biochem.** 38: 301-306.

**3.2 Artigo 2:** Determinação dos compostos fenólicos e atividade antioxidante do micélio e basidioma de diferentes linhagens de *Pleurotus* spp.

**Determinação dos compostos fenólicos e atividade antioxidante do micélio e basidioma  
de diferentes linhagens de *Pleurotus* spp.**

Gabriela Chilanti<sup>a</sup>, Kelly Todescatto<sup>b</sup>, Luciana B. Andrade<sup>b</sup>, Marli Camassola<sup>a</sup>, Mirian Salvador<sup>b</sup>, Roselei C. Fontana<sup>a</sup>, Aldo J. P. Dillon<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratório de Enzimas e Biomassas, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul (UCS), 95070-560, Caxias do Sul – RS, Brasil

<sup>b</sup> Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul (UCS), 95070-560, Caxias do Sul – RS, Brasil

**Resumo**

A capacidade antioxidante, o teor de compostos fenólicos totais e o perfil fenólico de nove linhagens de *Pleurotus* spp. isoladas no sul do Brasil foram avaliadas neste trabalho. Os basidiomas foram obtidos a partir de cultivo em estado sólido em meio contendo serragem de *Pinus* sp. (MCS), borra de café (MCSC) e bagaço de uva orgânica (MCSU) e os micélios em cultivo submerso (CBDY). Os basidiomas apresentaram os maiores teores de fenólicos totais – entre  $31,30 \pm 0,26$  mg GAE/g a  $47,00 \pm 0,12$  mg GAE/g, enquanto a concentração nos micélios variou entre  $8,15 \pm 0,26$  mg de equivalentes de ácido gálico/g (GAE/g) e  $15,96 \pm 0,82$  mg GAE/g. A concentração de fenólicos totais apresentou relação direta com a atividade antioxidante destes, o IC<sub>50</sub> (mg/mL de extrato necessária para reduzir 50 % do radical DPPH •) dos basidiomas variou de  $5,36 \pm 0,27$  mg/mL (88F.13) a  $10,68 \pm 0,22$  mg/mL (189H.3). Os cogumelos produzidos em meio MCSU e MCSC apresentaram maior teor de fenólicos totais que as linhagens produzidas em meio MCS. Constatou-se que as linhagens analisadas



apresentam uma quantidade considerável de compostos fenólicos, sendo possível aumentar esse teor com a variação da composição do meio de cultivo.

**Palavras-chave:** compostos fenólicos, antioxidantes, *Pleurotus* spp., bagaço de uva, borra de café.

## 1. Introdução

O consumo e o número de variedades de cogumelos comestíveis têm aumentado significativamente, principalmente, entre a população que busca opções mais saudáveis para sua dieta (Kalogeropoulos *et al.*, 2013). Os cogumelos do gênero *Pleurotus* podem ser utilizados em diferentes preparações, apresentando características gastronômicas bem aceitas pelos consumidores, sendo ricos em proteínas, carboidratos, fibras, vitaminas e minerais, com um baixo teor de gordura (Mattila *et al.*, 2001; Yang *et al.*, 2009).

Os cogumelos comestíveis vêm sendo relatados como excelentes fontes de antioxidantes, devido a sua capacidade de varredura de radicais livres. Outros efeitos benéficos apresentados pelos cogumelos têm sido descritos como efeito antibacteriano, anti-inflamatório, antialérgico, hepatoprotetor, antitrombótico, antiviral, anticarcinogênico e vasodilatador (Soobrattee *et al.*, 2005; Ferreira *et al.*, 2009). Essas características podem estar relacionadas ao fato de os cogumelos serem fontes de diversos metabólitos secundários, entre eles os compostos fenólicos (Barros *et al.*, 2008). Entre os compostos fenólicos comumente encontrados nos cogumelos estão o ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido ferúlico, ácido gentísico e naringenina (Li & Shah, 2013).

Grande parte dos compostos fenólicos apresenta capacidade antioxidante e podem promover a redução dos radicais livres, minimizando o dano oxidativo (Woldegiorgis, 2014). Já foi descrito a atividade antioxidante nos gêneros *Pleurotus*, *Lentinus*, *Boletus*, *Auricularia*,

*Agaricus*, *Flammulina*, *Ganoderma* (Puttaraju *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2008; Woldegiorgis *et al.*, 2014).

No entanto, até o presente não se tem estudos a respeito de identificação de compostos fenólicos em espécies de cogumelos brasileiros. Em vista disso, o objetivo desse trabalho foi avaliar diferentes linhagens de *Pleurotus* spp. isoladas no sul do Brasil. Foi avaliado o teor de compostos fenólicos totais, a presença de ácido gálico, catequina, ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido  $p$ -cumárico, ácido ferúlico e cafeína. Também foi avaliada a capacidade antioxidante *in vitro*, o teor de compostos fenólicos totais e o perfil fenólico do basidioma de três linhagens *Pleurotus* sp. cultivadas em meio serragem/bagaço de uva (MCSU) e serragem/borra de café (MCSC). Adicionalmente, foram analisados os compostos fenólicos e capacidade antioxidante de micélios cultivados em meio caldo batata dextrose (CBDY).

## **2. Materiais e métodos**

### **2.1. Microrganismo**

No estudo foram utilizadas nove linhagens de *Pleurotus* spp. (*Pleurotus pulmonarius* - 26C (MIUCS 230), *Pleurotus pulmonarius* - 38D (MIUCS 330), *Pleurotus* cf. *pulmonarius* - 41D (MIUCS 333), *Pleurotus pulmonarius* - 122H.5 (MIUCS 1143), *Pleurotus pulmonarius* - 189H.3 (MIUCS 1206), *Pleurotus albidus* - 82F.7 (MIUCS 1580), *Pleurotus albidus* - 88F.13 (MIUCS 1586), *Pleurotus albidus* 93F.18 (MIUCS 1591) e *Pleurotus pulmonarius* PS-2001 (MIUCS 1215)). Estas pertencem à coleção de microrganismos do Laboratório de Enzimas e Biomassas da Universidade de Caxias do Sul/RS e estão depositadas na seção micológica do Herbário da Universidade de Caxias do Sul (UCS/MUSIC) com duplicatas depositadas no herbário Alarich Schultz (HAS), Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul (FZB/RS).

Estas linhagens são resultantes de um trabalho de seleção e isolamento de fungos (Rosa *et al.*, 2016).

## 2.2. Meios de cultivo e manutenção

Para a manutenção das linhagens, foi utilizado o meio agar serragem (MS) de *Pinus* sp., composto por (g/L): *Pinus* sp., 20; farelo de trigo, 20; CaCO<sub>3</sub>, 2,0; agar-agar, 20. Este meio foi autoclavado a 1 atm durante 20 minutos.

O meio de cultivo descrito por Tan & Wahab (1997) foi utilizado para a produção dos basidiomas (MCS). Este meio constituiu-se de serragem de *Pinus* sp. 94 %; farelo de trigo, 5 %; CaCO<sub>3</sub>, 1,0 % e água destilada para a obtenção de 66 % de umidade. Posteriormente, três linhagens de *Pleurotus* sp. (41D, 26C, 122H.5) foram cultivadas com duas diferentes formulações de meio, onde 50 % da serragem foi substituída por bagaço de uva orgânica (MCSU) ou 50 % de borra de café (MCSC). O bagaço de uva (*Vitis labrusca* L.) (91 % de casca, 8,5 % de talos e 0,5 % de sementes) foi doado por uma empresa localizada na Serra Gaúcha (Brasil). Os meios foram autoclavados a 1 atm por 3 horas.

O micélio das diferentes linhagens foi obtido a partir do cultivo líquido, onde foi utilizado o meio caldo batata dextrose (CBDY) segundo Kirk *et al.*, (2008), com modificações. O meio consiste de caldo de batata extraído de 200 g/L de batata cozida, 20 g/L de glicose e 50 mL/L de solução de sais. A solução de sais continha (g/L): KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 20; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 14; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 3,0; ureia, 3,0; CaCl<sub>2</sub>, 4,0; MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O, 0,0156; FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,05; ZnSO<sub>4</sub> 0,014; e CoCl<sub>2</sub>, 0,02 (Mandels & Reese, 1957). O meio foi autoclavado a 1 atm por 15 minutos.

### **2.3. Condições de cultivo**

Os basidiomas foram cultivados em sacos de polipropileno, contendo 2 kg de meio. Primeiramente, os sacos foram inoculados com dez discos de 1,5 cm de diâmetro e posteriormente estes foram armazenados em local com temperatura controlada (28 °C). Quando foi observado que o meio de cultivo estava totalmente colonizado e com presença de primórdios, os sacos foram perfurados com bisturi e posteriormente levados para estufa com temperatura ambiente (entre 20 e 30 °C) e umidade relativa do ar (70 a 90 %). A produção do basidioma foi realizada em triplicata.

Para a obtenção do micélio, foram utilizados frascos Erlenmeyer de 500 mL, contendo 100 mL de meio CBDY, cobertos com uma fina manta de algodão e gaze. Os meios foram autoclavados a 1 atm 20 minutos. O inóculo consistiu de 1 disco de 1,5 cm de diâmetro. As amostras foram coletadas no 10º dia (período de maior crescimento), centrifugadas por 15 minutos a 3220 g, e liofilizadas.

### **2.4. Preparo dos extratos**

Os basidiomas foram secos em desidratador (Funkitchen®) durante 8 horas, a 50 °C, triturados (pó) em moedor (Cadence®) e armazenados. Os micélios obtidos no cultivo foram liofilizados em liofilizador (Labconco®), triturados em moedor (Cadence®) e armazenados. Posteriormente, 1 g de basidioma ou 1 g de micélio de cada amostra foi mantido em agitação por 30 minutos com 10 mL de água fervente (100 °C). As suspensões resultantes foram centrifugadas a 3220 g durante 15 minutos a 4 °C. Logo após as amostras foram utilizadas para a determinação do teor de fenólicos totais e atividade antioxidante. Para a identificação e quantificação do perfil fenólico, as amostras foram filtradas em membranas de 0,25 µm e armazenadas a -20 °C para posteriores análises.

## **2.5. Teor de fenólicos totais**

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado de acordo com o método colorimétrico de Folin-Ciocalteu com modificações (Singleton & Rossi, 1965). Foi misturado 200 µL de extrato aquoso, 800 µL de carbonato de sódio (7,5 %) e 100 µL de reagente de Folin-Ciocalteu. A reação foi mantida no escuro durante 30 minutos e após a absorbância foi lida a 725 nm em espectrofotômetro (espectrofotômetro de UV-1700, Shimadzu, Quioto, Japão) (Singleton & Rossi, 1965). Os resultados foram expressos em equivalentes de ácido gálico (GAE mg/g amostra).

## **2.6. Atividade antioxidante *in vitro***

A atividade antioxidante *in vitro* foi determinada através da capacidade de varredura do radical DPPH • (2,2-difenil-1-picrilhidrazil). O extrato aquoso foi diluído em diferentes concentrações, adicionado tampão Tris-HCl (100 mmol/L, pH = 7,0) contendo 250 µmol de DPPH • dissolvido em etanol. As amostras foram mantidas no escuro durante 20 minutos, posteriormente a absorbância foi lida a 517 nm em espectrofotômetro (espectrofotômetro de UV-1700, Shimadzu, Quioto, Japão) e os resultados expressos como IC<sub>50</sub> (mg/mL de extrato necessária para reduzir 50 % do radical DPPH •) (Yamaguchi *et al.*, 1998).

## **2.7. Identificação e quantificação de compostos fenólicos**

A identificação e a quantificação dos compostos fenólicos no extrato aquoso foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), em detector ultravioleta. A separação prosseguiu empregando sistema (Shimadzu, Quioto, Japão) constituído por bomba quaternária LC-20AD, degaseificador DGU-20A<sub>3</sub>, forno para coluna CTO-20A e o *software* LC Solution®. A coluna utilizada foi a Discovery® C18 de 15 cm × 4,6 mm e tamanho de partícula de 5 µm. A fase móvel foi constituída de água/ácido acético/metanol (80:5:15),

fluxo de 0,4 mL/minuto, temperatura de 30 °C, volume de injeção de 20 µL e 280 nm. A identificação dos compostos foi baseada no tempo de retenção obtido do padrão (ác. gálico - 7min1s, catequina - 8min7s, ác. clorogênico - 9min8s, ác. cafeico - 11min30s, cafeína - 12min97s, ác. p-cumárico - 15min50s, ác. ferúlico - 20min05s. A quantificação foi determinada utilizando uma curva padrão dos compostos fenólicos e cafeína com concentrações conhecidas (ácido gálico - 0,015 - 0,25 mg/mL, catequina - 0,015 - 0,25 mg/mL, ácido clorogênico - 0,015 - 0,25 mg/mL, ácido cafeico - 0,015 - 0,25 mg/mL, ácido p-cumárico 0,015 - 0,25 mg/mL, ácido ferúlico - 0,015 - 0,25 mg/mL e cafeína - 0,0039 - 0,0625 mg/mL) (Wulf & Nagel, 1976). Os resultados foram expressos em mg/100g de basidioma ou micélio desidratado.

## **2.8. Análise estatística**

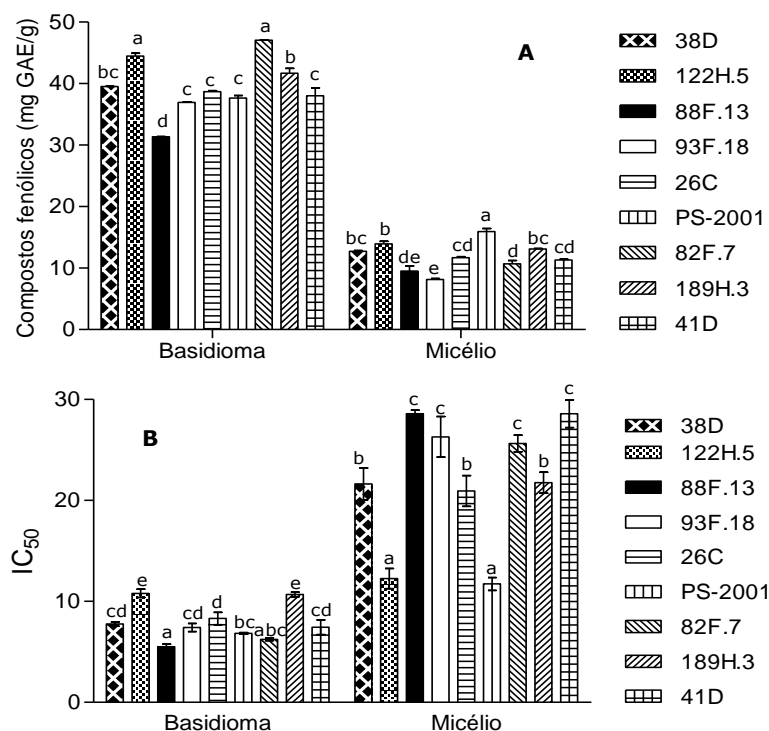
Os testes foram realizados em triplicata e os resultados expressos em média ± desvio padrão. Os dados foram analisados por variância (*one-way* ANOVA) e pós-teste de Tukey, considerando nível de probabilidade inferior a 5 % ( $p < 0,05$ ), utilizando o *software* PrismGraphPad® (versão 5.0.1.334).

## **3. Resultados e Discussão**

### **3.1. Teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante em basidioma e micélio de *Pleurotus* spp.**

Foram avaliados os teores de fenólicos totais e atividade antioxidante em micélio (cultivo líquido) e no basidioma. Os teores de fenólicos totais e atividades antioxidantes obtidos estão apresentados na Figura 1. O valor encontrado nos basidiomas foi superior ao encontrado no micélio para as nove linhagens cultivadas, sendo que a concentração variou de  $31,30 \pm 0,26$  mg GAE/g (88F.13) a  $47,00 \pm 0,12$  mg GAE/g (82F.7) para o basidioma e para o micélio a concentração variou entre  $8,15 \pm 0,26$  mg GAE/g (93F.18) e  $15,96 \pm 0,82$  mg

GAE/g (PS-2001) (Figura 1A). Os valores encontrados foram maiores do que os descritos na literatura, como os de Liang *et al.* (2013) que, ao avaliarem o teor de fenólicos totais em basidioma e micélio de *Pleurotus eryngii* utilizando água quente na extração, verificaram  $5,24 \pm 0,02$  mg GAE/g e  $17,26 \pm 0,66$  mg GAE/g no basidioma e micélio, respectivamente. Woldegiorgis *et al.* (2014) reportou valores de  $4,47 \pm 0,22$  mg GAE/g para o *Pleurotus ostreatus* e  $14,6 \pm 0,82$  mg GAE/g para *Agaricus campestris*. Puttaraju *et al.* (2006), ao realizarem um estudo com 23 espécies de cogumelos, onde foram comparados o extrato aquoso e o extrato metanólico, verificaram concentração superior de fenólicos totais no extrato aquoso, sendo 37 mg GAE/g para *Termitomyces heimii*, enquanto o valor máximo obtido no extrato metanólico foi de 14,3 mg GAE/g para *Pleurotus sajor-caju*.



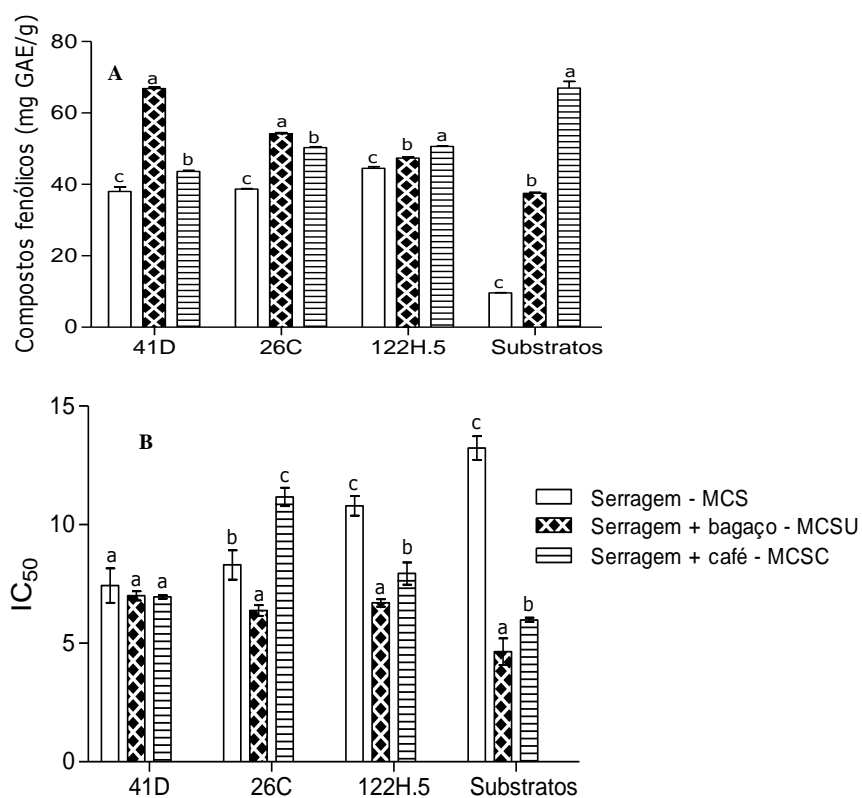
**Figura 1.** Concentração de compostos fenólicos totais (A) e atividade antioxidante (B) do basidioma e micélio de nove linhagens de *Pleurotus* spp., produzidas em meio serragem e cultivo submerso. Letras iguais não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) para basidioma e micélio. IC<sub>50</sub> (mg/mL de extrato necessária para reduzir 50 % do radical DPPH •).

A capacidade antioxidante das linhagens foi maior nos extratos de maior teor fenólico. O IC<sub>50</sub> dos basidiomas variou de 5,36 ± 0,27 mg/mL (88F.13) a 10,68 ± 0,22 mg/mL (189H.3), já o IC<sub>50</sub> do micélio das nove linhagens variou de 11,49 ± 0,64 mg/mL (PS-2001) a 28,64 ± 1,37 mg/mL (41D), mostrando menor capacidade antioxidante em relação ao basidioma (Figura 1B). Estes dados corroboram os de Liang *et al.* (2013) que relataram IC<sub>50</sub> do extrato aquoso de *Pleurotus eryngii* maior no micélio (19,06 ± 1,64 mg/mL) quando comparado ao do basidioma (6,86 ± 0,11 mg/mL). Estes dados são relevantes visto que, devido à capacidade de varredura dos radicais livres, os compostos fenólicos vêm sendo relatados como poderosos antioxidantes, apresentando, assim, capacidade de minimizar os danos oxidativos associados a diversas doenças (Gutteridge & Halliwell, 2010).

A concentração dos compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante podem estar relacionadas com a espécie, a idade, composição do meio de cultivo do cogumelo, entre outros parâmetros que podem estar envolvidos. Para verificar uma possível variação referente ao meio de cultivo, as linhagens 41D, 26C, 122H.5 foram cultivadas em meios contendo bagaço de uva (MCSU) e borra de café (MCSC).

Na Figura 2 estão apresentadas as concentrações de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante presentes nos cogumelos e nos meios MCSU e MCSC. As linhagens apresentaram os menores valores de fenólicos totais e menor capacidade antioxidante, quando crescidas no meio MCS. Na Figura 2A pode-se observar que o crescimento no meio MCSC resultou as maiores quantidades de fenólicos totais, seguido pelo meio MCSU. O teor de fenólicos totais da linhagem 122H.5 cultivada em MCS, MSCU e MCSC está diretamente relacionado com o teor de fenólicos obtidos nos meios de cultivo. Já o teor de fenólicos totais apresentado pelas linhagens 41D e 26C produzidas em MCSU e MCSC não se mostraram relacionados ao meio de cultivo (Figura 2 A).





**Figura 2.** Concentração de compostos fenólicos totais (A) e atividade antioxidante (B) do basidioma de 3 linhagens de *Pleurotus* sp, produzidas em meios diferentes. Letras iguais não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ). IC<sub>50</sub> (mg/mL de extrato necessária para reduzir 50 % do radical DPPH •. MCS – meio de cultivo serragem; MCSU – meio de cultivo serragem/bagaço de uva; MCSC – meio de cultivo serragem/borra de café.

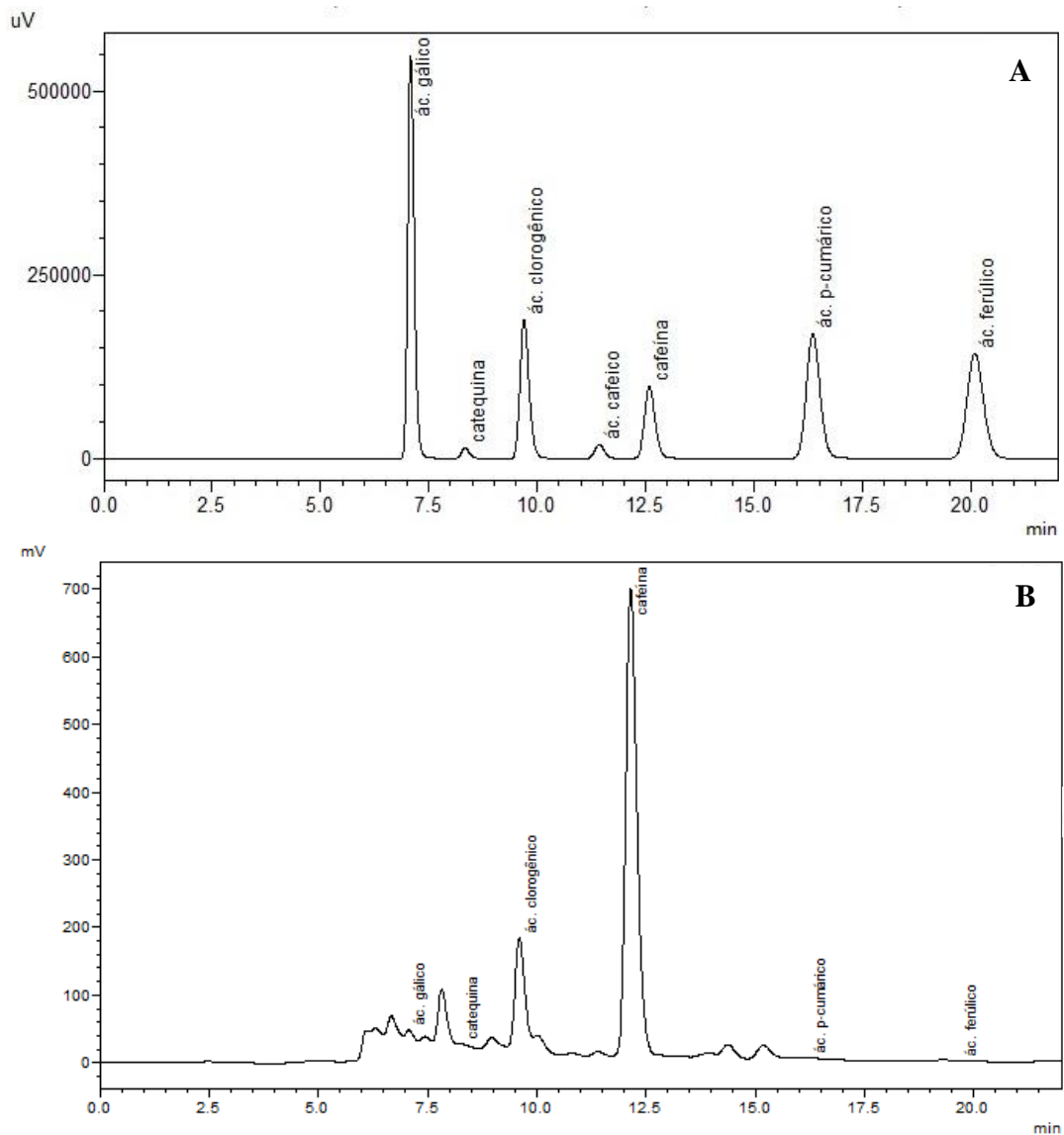
As linhagens 122H.5, 41D e 26C, ao serem cultivadas em MCSU, apresentaram aumento na capacidade antioxidante, estando este resultado diretamente relacionado com o meio de cultivo MCSU que também apresentou maior capacidade antioxidante perante aos demais meios (Figura 2B). A análise dos dados permite sugerir que a concentração dos compostos fenólicos totais tem relação com a composição do meio, visto que concentrações superiores de compostos fenólicos foram obtidas em cogumelos cultivados em meios contendo bagaço de uva e borra de café. Para a atividade antioxidante, o meio contendo

bagaço de uva apresentou os resultados mais promissores, assim como os cogumelos produzidos neste meio, destacando que o bagaço de uva é um resíduo promissor para a produção de cogumelos com elevada capacidade antioxidante. Devido à extração incompleta durante o processamento da uva, os subprodutos derivados da uva como o bagaço, a semente e as cascas apresentam alto teor de compostos fenólicos (catequina, epicatequina, quercetina, rutina e resveratrol) e podem ser utilizados como antioxidantes naturais (Negro *et al.*, 2003; Iacopini *et al.*, 2008). Segundo Gambato *et al.*, (2016), a composição química do meio de cultivo pode influenciar no teor de fenólico total e atividade antioxidante de cogumelos.

Diante da diversidade de compostos fenólicos totais existentes, a identificação torna-se importante, a fim de avaliar a importância destes compostos. Desta forma, os compostos foram identificados e quantificados nos diferentes meios de cultivo, nos basidiomas e no micélio.

### **3.2. Compostos fenólicos e cafeína presentes no basidioma e no micélio de linhagens de *Pleurotus* spp.**

Foram identificados seis compostos fenólicos (ácido gálico, catequina, ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido p-cumárico e ácido ferúlico) e a cafeína no basidioma e micélio das diferentes linhagens de *Pleurotus* spp. Na Figura 3 está apresentado um cromatograma com os compostos identificados e quantificados.



**Figura 3.** Cromatograma da análise do perfil fenólico e de cafeína por CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência). (A) mistura-padrão dos compostos. (B) Amostra de basidioma cultivado em meio serragem.

Na Tabela 1 estão apresentadas as concentrações dos compostos fenólicos detectados no basidioma e no micélio das nove linhagens de *Pleurotus* spp. O ácido gálico foi o composto que apresentou maior concentração nas amostras de micélio, sendo também superior ao valor encontrado no basidioma. Para o micélio, a linhagem 38D com 151,2 mg/100g apresentou concentração superior, quando comparado com os demais valores

observados. No basidioma, valores máximos foram em torno de 33 mg/100g, sendo valores iguais ou semelhantes às demais linhagens avaliadas. Quando comparadas as concentrações máximas de catequina no basidioma e no micélio, valores superiores foram obtidos no micélio, a linhagem 93F.18 apresentou 84,1 mg/100g de catequina, sendo que no basidioma, o valor máximo chegou em 33,3 mg/100g para o isolado 41D (Tabela 1). Desta forma, destaca-se que o micélio das diferentes linhagens é uma fonte rica em ácido gálico e catequina, sendo que, o processo de obtenção de compostos fenólicos em micélio é relativamente rápido, quando comparado com o do basidioma. A catequina e o ácido gálico provaram ser potentes antioxidantes com diversas funções biológicas como redução da lipoproteína humana de baixa densidade (LDL) e atividade antimicrobiana (Meyer *et al.*, 1997; Shukla *et al.*, 1999; Yilmaz & Toledo, 2004; Fontana *et al.*, 2013). Tal como mostrado no presente trabalho, o ácido gálico em estudo realizado por Reis *et al.* (2012) com extratos metanólicos de micélio de cinco espécies foi o composto identificado em maior quantidade (*Agaricus bisporus* branco –  $62,76 \pm 12,55 \mu\text{g/g}$ ; *Pleurotus eryngii* –  $50,91 \pm 6,01 \mu\text{g/g}$ ). Entretanto, o ácido gálico não foi detectado na amostra de *Pleurotus ostreatus*.

O ácido clorogênico foi o composto detectado em maior concentração no basidioma, destacando-se a linhagem PS-2001 com  $64,27 \pm 4,76 \text{ mg/100g}$ . No micélio, a concentração de ácido clorogênico foi semelhante nas diferentes linhagens, sendo que os valores variaram entre  $18,1 \text{ mg/100g}$  e  $19 \text{ mg/100g}$  (Tabela 1). Kim *et al.* (2008) detectaram  $23 \mu\text{g/g}$  de ácido clorogênico no cogumelo *Phelinus linteus*, mas não detectaram esta substância na amostra de *P. eryngii*, sendo o composto encontrado em maior concentração na amostra de *P. eryngii* o ácido protocatequínico ( $14 \mu\text{g/g}$ ).

O basidioma da linhagem 82F.7 apresentou concentração superior de ácido cafeico, atingindo  $53,7 \text{ mg/100g}$ , enquanto que para o micélio, valores inferiores foram obtidos, com valor máximo de  $8,1 \text{ mg/100g}$ , também para a linhagem 82F.7. A cafeína foi o composto em

menor concentração no basidioma e também no micélio, apresentando valores semelhantes, sendo que no micélio, os valores variaram entre 4,85 mg/100g e 5,7 mg/100g e para o basidioma, os valores ficaram entre 4,7 mg/100g e 5,15 mg/100g (Tabela 1). Estudo realizado por Puttaraju *et al.* (2006) não detectou ácido cafeico no extrato aquoso no basidioma de *Pleurotus sajor-caju*.

As concentrações máximas de  $\rho$ -cumárico foram semelhantes no basidioma e no micélio, onde os valores variaram entre 7,85 mg/100g e 8,3 mg/100g e 0 mg/100g e 7,9 mg/100g, respectivamente. As concentrações de ácido ferúlico também foram semelhantes no basidioma e no micélio, onde os valores variaram entre 11,7 mg/100g e 14,9 mg/100g (cogumelos) e entre 11,8 mg/100g e 12,6 mg/100g (micélio) (Tabela 1). Barros *et al.* (2009) analisaram amostras de dezesseis espécies de cogumelos, onde a extração dos compostos foi realizada com acetona e água e o ácido  $\rho$ -hidroxibenzoico foi encontrado em maior concentração e o ácido  $\rho$ -cumárico foi detectado em três espécies sendo o *Agaricus arvensis* com maior quantidade ( $48,67 \pm 3,40$  mg/kg). Woldegiorgis *et al.* (2014) avaliaram a presença de ácido ferúlico em sete diferentes espécies e não detectaram este ácido no extrato metanólico de *P. ostreatus* analisado.

**Tabela 1.** Concentração de compostos fenólicos e cafeína (mg/100g de pó de cogumelo) dos basidiomas cultivados em serragem de *Pinus* sp. e micélio cultivado em caldo batata dextrose.

Fungos	Ácido Gálico		Catequina		Ácido Clorogênico		Ácido Cafeico		Cafeína		Ácido $\rho$ -cumárico		Ácido Ferúlico	
	BA	MI	BA	MI	BA	MI	BA	MI	BA	MI	BA	MI	BA	MI
<b>PS-2001</b>	24,1 $\pm$ 2,4 <sup>a</sup>	93,1 $\pm$ 6,1 <sup>bcd</sup>	n.d.	43,2 $\pm$ 9,2 <sup>bc</sup>	64,3 $\pm$ 4,8 <sup>a</sup>	18,4 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	7,4 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	20,8 $\pm$ 2,7 <sup>ab</sup>	5,0 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	5,1 $\pm$ 0,1 <sup>cd</sup>	8,1 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	n.d.	11,8 $\pm$ 0,0 <sup>b</sup>	11,9 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>
<b>82F.7</b>	33,1 $\pm$ 1,8 <sup>ab</sup>	96,8 $\pm$ 0,4 <sup>bcd</sup>	18,4 $\pm$ 0,1 <sup>cde</sup>	n.d.	n.d.	18,6 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	8,1 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	53,7 $\pm$ 3,3 <sup>a</sup>	5,0 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	5,0 $\pm$ 0,1 <sup>ce</sup>	8,0 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	n.d.	11,8 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	11,8 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>
<b>41D</b>	33,6 $\pm$ 3,6 <sup>ab</sup>	119,3 $\pm$ 4,2 <sup>bc</sup>	33,3 $\pm$ 4,6 <sup>a</sup>	49,9 $\pm$ 8,8 <sup>b</sup>	33,6 $\pm$ 0,1 <sup>cde</sup>	18,2 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	n.d.	31,4 $\pm$ 8,2 <sup>b</sup>	5,2 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	5,2 $\pm$ 0,1 <sup>bc</sup>	8,1 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	7,7 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	11,8 $\pm$ 0,0 <sup>b</sup>	12,0 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>
<b>122H.5</b>	31,2 $\pm$ 1,9 <sup>a</sup>	113,5 $\pm$ 38,3 <sup>bcd</sup>	28,8 $\pm$ 0,2 <sup>ab</sup>	17,5 $\pm$ 0,1 <sup>cde</sup>	44,5 $\pm$ 3,2 <sup>bc</sup>	18,6 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	n.d.	10,3 $\pm$ 0,1 <sup>cd</sup>	4,8 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	5,7 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	8,4 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	7,8 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	11,9 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	12,2 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>
<b>26C</b>	22,7 $\pm$ 3,0 <sup>abc</sup>	67,9 $\pm$ 1,2 <sup>e</sup>	n.d.	21,4 $\pm$ 0,5 <sup>cd</sup>	32,2 $\pm$ 0,4 <sup>cde</sup>	19,0 $\pm$ 0,1 <sup>ab</sup>	4,0 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	13,3 $\pm$ 0,6 <sup>c</sup>	n.d.	5,3 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	7,8 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	7,7 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	11,8 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	11,9 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>
<b>88F.13</b>	27,7 $\pm$ 1,7 <sup>a</sup>	109,4 $\pm$ 4,1 <sup>bcd</sup>	18,6 $\pm$ 0,1 <sup>cde</sup>	56,4 $\pm$ 2,2 <sup>b</sup>	39,8 $\pm$ 1,1 <sup>bcd</sup>	18,4 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	6,6 $\pm$ 1,9 <sup>a</sup>	4,3 $\pm$ 0,9 <sup>d</sup>	4,7 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	5,1 $\pm$ 0,1 <sup>cd</sup>	8,0 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	7,8 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	14,9 $\pm$ 4,4 <sup>a</sup>	12,4 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>
<b>38D</b>	26,2 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	151,2 $\pm$ 7,9 <sup>a</sup>	20,2 $\pm$ 1,0 <sup>bcd</sup>	24,3 $\pm$ 6,6 <sup>cd</sup>	29,8 $\pm$ 1,4 <sup>bcd</sup>	19,2 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	2,6 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>	3,4 $\pm$ 0,1 <sup>d</sup>	4,9 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	5,3 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	8,1 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	7,7 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	11,8 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	12,9 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>
<b>189H.3</b>	28,0 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	87,1 $\pm$ 14,3 <sup>cde</sup>	15,9 $\pm$ 1,0 <sup>def</sup>	17,0 $\pm$ 0,1 <sup>cde</sup>	23,4 $\pm$ 3,0 <sup>de</sup>	19,0 $\pm$ 0,2 <sup>ab</sup>	3,5 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>	3,5 $\pm$ 0,3 <sup>d</sup>	4,9 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	5,0 $\pm$ 0,1 <sup>def</sup>	8,0 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	n.d.	11,8 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	11,9 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>
<b>93F.18</b>	28,2 $\pm$ 4,8 <sup>a</sup>	102,2 $\pm$ 3,5 <sup>bcd</sup>	24,8 $\pm$ 2,1 <sup>bc</sup>	84,1 $\pm$ 7,1 <sup>a</sup>	n.d.	18,4 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	3,8 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>	8,9 $\pm$ 2,3 <sup>cd</sup>	5,1 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	4,8 $\pm$ 0,1 <sup>f</sup>	8,1 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>	7,9 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	11,8 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	12,6 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>

Resultados expressos em mg por 100g de cogumelo seco em pó. Os valores apresentados são resultantes da média de duas repetições. Em cada coluna, valores com letras iguais não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ). BA - extrato basidioma (cogumelo pó), MI - extrato micélio (cultivo líquido), n.d. - não detectado.

### **3.3. Compostos fenólicos e cafeína presente no basidioma de linhagens *Pleurotus* sp. cultivadas em diferentes meios**

A fim de relacionar a presença de compostos fenólicos do meio de cultivo com os teores presentes nos basidiomas, foi avaliada a presença destes compostos no meio de cultivo e nos basidiomas produzidos nestes meios. Na Tabela 2 estão apresentados os resultados dos compostos fenólicos e cafeína presentes nos meios de cultivo (MCS, MCSC e MCSU) e nos basidiomas produzidos nestes meios.

Quando comparado os compostos fenólicos presentes no meio de cultivo com os compostos nos basidiomas, as quantidades foram inferiores ou iguais, exceto para o teor de catequina que foi elevado no meio composto por bagaço de uva e serragem. Desta forma, a quantidade de catequina presente no meio não está diretamente relacionada com a concentração presente no cogumelo, mas pode estar relacionada com a linhagem utilizada, visto que a linhagem 41D apresentou teores superiores de catequina nos dois tipos de meio: MCSU (41,9 mg/100g) e MCSC (39,2 mg/100g) (Tabela 2). O ácido gálico e a catequina são os principais compostos fenólicos encontrados em semente de uva e casca de uva (Palma & Taylor, 1999). A uva está entre os alimentos com maior teor de compostos fenólicos, estes presentes na casca, polpa e sementes. Entre os compostos fenólicos encontrados na casca da uva estão a catequina, epicatequina e quercetina (Revilla & Ryan, 2000; Yilmaz & Toledo, 2004).

O teor de cafeína nos basidiomas produzidos em MCS e MCSU foi semelhante (Tabela 1 e Tabela 2). Os basidiomas cultivados em MCSC apresentaram valores superiores de cafeína (41D– 27,6 mg/100g; 26C – 29,1 mg/100g; 122H.5 – 38,8 mg/100g) (Tabela 2).

**Tabela 2.** Concentração de compostos fenólicos e cafeína (mg/100g de cogumelo) do basidioma e dos diferentes meios de cultivo.

Fungos	Ácido Gálico	Catequina	Ácido Clorogênico	Ácido Cafeico	Cafeína	Ácido p-cumárico	Ácido Ferúlico
<b>Serragem e bagaço de uva</b>							
<b>41D</b>	26,6 ± 2,1 <sup>a</sup>	n.d.	47,0 ± 1,9	3,15 ± 0,1 <sup>d</sup>	4,83 ± 0,00 <sup>c</sup>	8,1 ± 0,2 <sup>c</sup>	11,8 ± 0,0 <sup>a</sup>
<b>26C</b>	25,9 ± 2,4 <sup>a</sup>	17,9 ± 0,1 <sup>b</sup>	43,6 ± 4,9 <sup>ab</sup>	2,65 ± 0,44 <sup>d</sup>	4,90 ± 0,037 <sup>c</sup>	8,1 ± 0,4 <sup>c</sup>	11,8 ± 0,1 <sup>a</sup>
<b>122H.5</b>	26,4 ± 1,5 <sup>a</sup>	16,6 ± 0,11 <sup>b</sup>	39,26 ± 0,8 <sup>abc</sup>	3,03 ± 0,16 <sup>d</sup>	4,81 ± 0,02 <sup>c</sup>	8,2 ± 0,2 <sup>c</sup>	11,8 ± 0,0 <sup>a</sup>
<b>Serragem e borra de café</b>							
<b>41D</b>	19,7 ± 0,1 <sup>bc</sup>	23,2 ± 0,1 <sup>b</sup>	27,0 ± 0,4 <sup>d</sup>	n.d.	27,6 ± 0,7 <sup>b</sup>	9,7 ± 0,8 <sup>ab</sup>	n.d.
<b>26C</b>	23,8 ± 0,3 <sup>ab</sup>	20,3 ± 0,4 <sup>b</sup>	34,6 ± 3,6 <sup>cd</sup>	n.d.	29,1 ± 1,4 <sup>b</sup>	8,0 ± 0,1 <sup>c</sup>	11,9 ± 0,1 <sup>a</sup>
<b>122H.5</b>	23,4 ± 0,1 <sup>abc</sup>	33,4 ± 0,5 <sup>b</sup>	35,8 ± 0,7 <sup>bcd</sup>	n.d.	38,8 ± 2,1 <sup>a</sup>	8,5 ± 0,4 <sup>bc</sup>	11,8 ± 0,0 <sup>a</sup>
<b>Meios de cultivo</b>							
<b>C + S</b>	18,9 ± 0,1 <sup>bc</sup>	8,3 ± 0,1 <sup>b</sup>	30,7 ± 1,1 <sup>cd</sup>	10,3 ± 0,1 <sup>a</sup>	30,1 ± 0,6 <sup>b</sup>	7,9 ± 0,1 <sup>c</sup>	11,8 ± 0,0 <sup>a</sup>
<b>U + S</b>	19,5 ± 0,1 <sup>bc</sup>	2784,3 ± 52,7 <sup>a</sup>	19,3 ± 0,1 <sup>e</sup>	5,5 ± 0,5 <sup>c</sup>	5,2 ± 0,1 <sup>c</sup>	9,9 ± 0,0 <sup>a</sup>	11,8 ± 0,0 <sup>a</sup>
<b>S</b>	19,0 ± 0,1 <sup>bc</sup>	19,6 ± 0,2 <sup>b</sup>	18,2 ± 0,1 <sup>e</sup>	7,5 ± 0,4 <sup>b</sup>	4,8 ± 0,1 <sup>c</sup>	7,9 ± 0,0 <sup>c</sup>	12,0 ± 0,0 <sup>a</sup>

Resultados expressos em mg por 100g de cogumelo seco em pó. Os valores apresentados são resultantes da média de duas repetições. Em cada coluna, valores com letras iguais não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ). EA - extrato aquoso, n.d. - não detectado, C+S - Café + Serragem, B+S - Bagaço +Serragem, S - Serragem.



Para a concentração de ácido cafeico, valores superiores foram obtidos nas linhagens cultivadas em meio contendo borra de café, sendo superior na linhagem 122H.5 (307,4 mg/100g), na extração com metanol, porém, o valor presente no meio foi inferior (Tabela 2). Estudo realizado por Yen *et al.* (2005) que avaliou a atividade antioxidante de resíduos de café torrado, detectou diversos compostos fenólicos que possivelmente participam na capacidade antioxidante do resíduo de café torrado, entre eles ácido clorogênico, ácido cafeico e cafeína.

Não foi verificada uma relação direta entre as linhagens que apresentaram maior concentração de compostos fenólicos totais e os compostos fenólicos identificados e quantificados em CLAE, destacando que os compostos podem apresentar potencial diferente quando encontrados de forma isolada ou associada. Estudos têm demonstrado que o consumo diário de substâncias antioxidantes pode resultar em uma ação protetora efetiva contra os processos oxidativos que naturalmente ocorrem no organismo (Tebib *et al.*, 1997; Sato *et al.*, 2001, Bimla & Punita, 2006). Desta forma, pode ser observado que os isolados do gênero *Pleurotus*, que são de fácil produção, apresentam diferentes compostos fenólicos com propriedades antioxidantes, sugerindo que o consumo destes cogumelos possa trazer benefícios para a saúde. Além disso, foi possível observar diferenças nos teores de compostos em isolados da mesma espécie, e também quanto ao meio de cultivo.

#### **4. Conclusão**

Os extratos dos basidiomas obtidos das linhagens de *Pleurotus* spp. apresentaram maior teor de fenólicos totais e também maior capacidade antioxidante quando comparado aos extratos obtidos de micélio. Os basidiomas cultivados em MCSU e MCSC apresentaram maior teor de fenólicos totais, demonstrando que o meio pode influenciar na concentração de fenólicos totais presentes no cogumelo. Sugere-se então, que durante a formação dos

basidiomas estes podem absorver diretamente compostos fenólicos do meio de cultivo. Verificou-se que o ácido gálico, ácido clorogênico e catequina são os principais contribuintes para o teor fenólico total dos cogumelos analisados. As linhagens do gênero *Pleurotus* avaliadas são de fácil produção e apresentam diferentes compostos fenólicos com capacidade antioxidante, evidenciando que o consumo destes cogumelos pode levar a benefícios para a saúde. Além disto, foi possível observar diferenças nos teores de compostos fenólicos entre linhagens do mesmo gênero.

## 5. Referências

- Barros, L.; Venturini, B.; Baptista, P.; Estevinho, L.; Ferreira, I.C.F.R. (2008). Chemical composition and biological properties of Portuguese wild mushrooms: a comprehensive study. **J. Agric. Food Chem.** 56(10): 3856-3862.
- Barros, L.; Dueñas, M., Ferreira, I.C.; Baptista, P.; Santos-Buelga, C. (2009). Phenolic acids determination by HPLC–DAD–ESI/MS in sixteen different Portuguese wild mushrooms species. **Food Chem. Toxicol.** 47(6): 1076-1079.
- Bimla, N.; Punita, B. (2006). Aluminium-induced imbalance in oxidant and antioxidant determinants in brain regions of female rats: protection by centrophenoxine. **Toxicol. Mech. Methods.** 16(1): 21-25.
- Ferreira, I.C.F.R.; Barros, L.; Abreu, R. (2009). Antioxidants in wild mushrooms. **Curr. Med. Chem.** 16(12): 1543-1560.
- Fontana, A. R.; Antonioli, A.; Bottini, R. N. (2013). Grape pomace as a sustainable source of bioactive compounds: extraction, characterization, and biotechnological applications of phenolics. **J. Agr. Food Chem.** 61(38): 8987-9003.
- Gambato, G.; Todescato, K.; Pavão, E.M.; Scortegagna, A.; Fontana, R.C.; Salvador, M.; Camassola, M. (2016). Evaluation of productivity and antioxidant profile of solid-state

- cultivated macrofungi *Pleurotus albidus* and *Pycnoporus sanguineus*. **Bioresour. Technol.** 207: 46-51.
- Gutteridge, J.M.C.; Halliwell, B. (2010). Antioxidants: Molecules, medicines, and myths. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 393(4): 561-564.
- Iacopini, P.; Baldi, M.; Storchi, P.; Sebastiani, L. (2008). Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, in vitro antioxidant activity and interactions. **J. Food Comp. Anal.** 21(8): 589-598.
- Kalogeropoulos, N.; Yanni, A. E.; Koutrotsios, G.; Aloupi, M. (2013). Bioactive microconstituents and antioxidant properties of wild edible mushrooms from the island of Lesbos, Greece. **Food Chem. Toxicol.** 55: 378-385.
- Kim, M.-Y.; Seguin, P.; Ahn, J.-K.; Kim, J.-J.; Chun, S.-C.; Kim, E.-H.; Seo, S.-H.; Kang, E.-Y.; Kim, S.-L.; Park, Y.-J. (2008). Phenolic compound concentration and antioxidant activities of edible and medicinal mushrooms from Korea. **J. Agr. Food Chem.** 56(16): 7265-7270.
- Kirk, P., Cannon, P., Minter, D., Stalpers, J. (2008). **Dictionary of the Fungi.** 10 ed. Wallingford, UK: CABI. 784p.
- Liang, C.-H.; Ho, K.-J.; Huang, L.-Y.; Tsai, C.-H.; Lin, S.-Y.; Mau, J.-L. (2013). Antioxidant properties of fruiting bodies, mycelia, and fermented products of the culinary-medicinal king oyster mushroom, *Pleurotus eryngii* (higher Basidiomycetes), with high ergothioneine content. **Int. J. Med. Mushrooms.** 15(3): 267-276.
- Li, S.D.; Shah, N.P. (2013). Effects of Various Heat Treatments on Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of *Pleurotus eryngii* Extracts. **Food Chem.** 78(8): 1122-1129.
- Mandels, M.; Reese, E. T. (1957). Induction of cellulase in *Trichoderma viride* as influenced by carbon source and metals. **J. Bacteriol.** 73(2): 269-278.

- Mattila, P.; Könkö, K.; Eurola, M.; Pihlava, J. M.; Astola, J.; Vahteristo, L.; Hietaniemi, V.; Kumpulainen, J.; Valtonen, M.; Piironen, V. (2001). Contents of vitamins, mineral elements, and some phenolic compounds in cultivated mushrooms. **J. Agric. FoodChem.** 49(5): 2343-2348.
- Meyer, A.; Yi, O.; Pearson, D.; Waterhouse, A.L.; Frankel, E. (1997). Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation in relation to phenolic antioxidants in grapes. **J. Agric. Foods Chem.** 45(5): 1638-1643.
- Negro, C.; Tommasi, L.; Miceli, A. (2003). Phenolic compounds and antioxidant activity from red grape marc extracts. **Bioresour. Technol.** 87(1): 41-44.
- Palma, M.; Taylor, L. R. (1999). Extraction of polyphenolic compounds from grape seeds with near critical carbon dioxide. **J. Chromatogr. A.** 849(1): 117-124.
- Puttaraju, N. G.; Venkateshaiah, S. U.; Dharmesh, S. M.; Urs, S. M. N.; Somasundaram, R. (2006). Antioxidant activity of indigenous edible mushrooms. **J. Agric. FoodChem.** 54(26): 9764-9772.
- Reis, F. S.; Martins, A.; Barros, L.; Ferreira, I. C. (2012). Antioxidant properties and phenolic profile of the most widely appreciated cultivated mushrooms: a comparative study between in vivo and in vitro samples. **Food Chem. Toxicol.** 50(5): 1201-1207.
- Revilla, E.; Ryan, J.M.; 2000. Analysis of several phenolic compounds with potential antioxidant properties in grape extracts and wines by high-performance liquid chromatography—photodiode array detection without sample preparation. **J. Chromatogr. A.** 881(1): 461-469.
- Rosa, L.O.; Wasum, R.A.; Dillon, A.J.P. (2016). Macrofungos (Filo Basidiomicota) do Sul do Brasil – levantamento e verificação da capacidade de secreção de enzimas ligninolíticas. 1 ed. Saarbrücken, Deutschland: Novas edições acadêmicas. 273p.

- Sato, M.; Bagchi, D.; Tosaki, A.; Das, D. K. (2001). Grape seed proanthocyanidin reduces cardiomyocyte apoptosis by inhibiting ischemia/reperfusion-induced activation of JNK-1 and C-JUN. **Free Radical Biol. Med.** 31(6): 729-737.
- Singleton, V.L.; Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **Am. J. Enol. Vitic.** 16(3): 144-158.
- Soobrattee, M.A.; Neergheen, V.S.; Luximon-Ramma, A.; Aruoma, O. I.; Bahorun, T. (2005). Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions. **Mutat. Res.** 579(1): 200-213.
- Shukla, Y.N.; Srivastava, A.; Kumar, S.; Kumar, S. (1999). Phytotoxic and antimicrobial constituents of *Argyrea speciosa* and *Oenotherabiennis*. **J. Ethnopharmacol.** 67(2): 241-245.
- Tebib, K.; Rouanet, J. M.; Besancon, P. (1997). Antioxidant effects of dietary polymeric grape seed tannins in tissues of rats fed a high cholesterol-vitamin E-deficient diet. **Food Chem.** 59(1): 135-141.
- Woldegiorgis, A.Z.; Abate, D.; Haki, G.D.; Ziegler, G.R. (2014). Antioxidant property of edible mushrooms collected from Ethiopia. **Food Chem.** 157: 30-36.
- Wulf, L.; Nagel, C. W. (1976). Analysis of phenolic acids and flavonoids by HPLC. **J. Chromatogr. A.** 116(2): 271-279.
- Yang, B.; Liu, Z.G.; Liu, D.D.; Hu, J.J. (2009). Chemical constituent and antimicrobial activity of essential oil from the cultured mycelia of *Pleurotus abalones*. **Edible Fungi China.** 28: 40-42.
- Yamaguchi, T.; Takamura, H.; Matoba, T.; Terao, J. (1998). HPLC Method for Evaluation of the free radical scavenging activity of foods by using 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl.pdf. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 62(6): 1201-1204.

- Yen, W.J.; Wang, B.S.; Chang, L.W.; Duh, P.-D. (2005). Antioxidant properties of roasted coffee residues. **J. Agric. FoodChem.** 53(7): 2658-2663.
- Yilmaz, Y.; Toledo, R.T. (2004). Major flavonoids in grape seeds and skins: antioxidant capacity of catechin, epicatechin and gallic acid. **J. Agric. FoodChem.** 52(2): 255-260.

**3.3 Artigo 3:** Ergotioneína e lovastatina: agentes bioativos produzidos por linhagens de *Pleurotus* spp.

## **Ergotioneína e lovastatina: agentes bioativos produzidos por linhagens de *Pleurotus* spp.**

Gabriela Chilanti<sup>a</sup>, Marli Camassola<sup>a</sup>, Roselei C. Fontana<sup>a</sup>, Aldo J. P. Dillon<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratório de Enzimas e Biomassas, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul (UCS), 95070-560, Caxias do Sul – RS, Brasil

### **Resumo**

Os cogumelos são fontes de compostos com efeitos benéficos à saúde e, por isso, são considerados alimentos funcionais. A ergotioneína e lovastatina, que são compostos bioativos de relevância tecnológica, tiveram no presente trabalho o seu conteúdo determinado em nove linhagens de *Pleurotus* spp. (26C, 38D, 41D, 122H.5, 189H.3, 82F.7, 88F.13, 93F.18 e PS-2001). A ergotioneína foi quantificada nos basidiomas, no micélio crescido em placa de Petri, no caldo e no micélio de cultivo submerso das nove linhagens. Já a lovastatina foi avaliada apenas nos basidiomas das nove linhagens. Para a obtenção de basidiomas, os fungos foram crescidos em meios constituídos de serragem, serragem/bagaço de uva e serragem/borra de café. O basidioma da linhagem 41D cultivada em meio contendo serragem e borra de café apresentou o maior teor de ergotioneína ( $116,27 \pm 8,02$  mg/100g). Para o micélio cultivado em placa, a linhagem que apresentou maior teor de ergotioneína foi a 122H.5 ( $293,44 \pm 1,96$  mg/100g), valor este superior ao detectado no basidioma. No caldo e micélio do cultivo submerso, o maior teor de ergotioneína foi obtido na linhagem PS-2001 ( $13,9 \pm 2,4$  mg/100g) e 26C ( $4,13 \pm 0,30$  mg/100g), respectivamente. A extração da lovastatina foi realizada com acetonitrila, metanol e acetato de etila, sendo que para todas as linhagens avaliadas, a extração com acetonitrila apresentou maior teor de lovastatina ( $10,2 \pm 0,1$  mg/100g). Assim, conclui-se que os cogumelos do gênero *Pleurotus* são fontes para obtenção de ergotioneína e lovastatina.



As matérias-primas utilizadas nos meios de produção e a forma de condução do processo de cultivo destes fungos apresenta impacto direto na produção destes metabólitos.

**Palavras-chave:** *Pleurotus* spp., lovastatina, ergotioneína, micélio, basidioma.

## 1. Introdução

Os cogumelos, por serem considerados alimentos de alto valor nutricional, devido ao baixo valor calórico, altos teores de proteína, vitaminas e minerais, vêm ganhando cada vez mais espaço na dieta humana (Mattila *et al.*, 2001; Kalac *et al.*, 2012). Os cogumelos também são reportados como excelentes fontes de substâncias antioxidantes, descritas para a prevenção de várias doenças, entre elas o câncer e doenças cardiovasculares (Halliwell & Gutteridge, 1984; Halliwell, 2007). Por serem fontes de ácido gama-aminobutírico, os cogumelos também são citados como anti-hipertensivos (Tanak *et al.*, 2009). Entre os compostos com potenciais benefícios para a saúde pode-se citar a ergotioneína (Dubost *et al.*, 2007) e a lovastatina (Aarons *et al.*, 2007).

As doenças cardiovasculares são as principais causas de morte no mundo segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), sendo a hipercolesterolemia um dos fatores de risco. A lovastatina é uma das estatinas com função de reduzir os níveis de colesterol total e LDL (*low-density lipoprotein*), reduzindo assim o risco para doenças cardiovasculares (Chen & Hu, 2005; Aarons *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2012). Estudos também já mostraram que a lovastatina apresenta atividade anti-inflamatória, fibrinolítica e antioxidante (Rosenson, 2004; Schonbeck *et al.*, 2004; Aarons *et al.*, 2007). A lovastatina é um dos metabólitos secundários produzidos pelos fungos, sendo reportada sua presença em diversas espécies, como *Monascus ruber* (Endo, 1979), *Penicillium citrinum* (Endo *et al.*, 1976) e em algumas espécies do gênero *Pleurotus* (Gunde-Cimerman *et al.*, 1993).

A ergotioneína é um derivado de aminoácido que apresenta um átomo de enxofre em sua estrutura, presente em fungos e micobactérias, considerado um poderoso antioxidante *in vivo*, eliminando radicais livres, com capacidade de prevenir danos celulares (Hartman 1990; Colognato *et al.*, 2006; Beelman *et al.*, 2007). A presença de ergotioneína no sangue humano é dependente da dieta, pois os seres humanos não são capazes de sintetizar este aminoácido (Melville *et al.*, 1954). Entretanto, a ergotioneína pode ser obtida na alimentação, a partir do feijão vermelho, farelo de aveia, em órgãos como o fígado e o rim. Cogumelos também são fontes alimentares de ergotioneína, destacando-se como principais fontes deste (Dubost *et al.*, 2006; Ey *et al.*, 2007).

Diversos estudos mostram efeitos benéficos à saúde associado ao consumo de ergotioneína. Segundo Paul & Snyder (2010), a maior concentração de ergotioneína é encontrada nas mitocôndrias de mamífero, sugerindo um papel funcional na proteção do dano oxidativo causado pela alta geração de radical superóxido nesta organela. Segundo Ey *et al.* (2007), a ergotioneína é um aminoácido com potencial antioxidante e, ao avaliar o teor em *Boletus edulis*, detectaram 528 mg/kg de cogumelo. Conforme os mesmos autores, este teor é superior ao apresentado por outros alimentos considerados fonte de ergotioneína.

Embora a ergotioneína já tenha sido detectada e identificada em diferentes gêneros de cogumelos, destaca-se a importância de comparar os teores deste composto entre linhagens da mesma espécie ou de diferentes gêneros. Destaca-se, ainda, que não existem informações sobre a presença da ergotioneína em cogumelos isolados da região sul do Brasil. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi identificar e quantificar os teores de ergotioneína presentes no basidioma, no micélio cultivado em placa, no caldo e micélio de cultivo submerso de linhagens de *Pleurotus* spp. Adicionalmente, foi determinado o teor de lovastatina presente em basidiomas.

## **2. Materiais e métodos**

### **2.1. Microrganismo**

Nove linhagens de *Pleurotus* spp. foram utilizadas neste estudo: (*Pleurotus pulmonarius* - 26C (MIUCS 230), *Pleurotus pulmonarius* - 38D (MIUCS 330), *Pleurotus* cf. *pulmonarius* - 41D (MIUCS 333), *Pleurotus pulmonarius* - 122H.5 (MIUCS 1143), *Pleurotus pulmonarius* - 189H.3 (MIUCS 1206), *Pleurotus albidus* - 82F.7 (MIUCS 1580), *Pleurotus albidus* - 88F.13 (MIUCS 1586), *Pleurotus albidus* 93F.18 (MIUCS 1591) e *Pleurotus pulmonarius* PS-2001 (MIUCS 1215)). Estas linhagens pertencem à coleção de microrganismos do Laboratório de Enzimas e Biomassas da Universidade de Caxias do Sul/RS e estão depositadas na seção micológica do Herbário da Universidade de Caxias do Sul (UCS/MUSIC) com duplicatas depositadas no herbário Alarich Schultz (HAS), Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul (FZB/RS). Estas linhagens são resultantes de um trabalho de seleção e isolamento de fungos (Rosa *et al.*, 2016).

### **2.2. Meios de cultivo e manutenção**

O meio utilizado para a manutenção das linhagens foi o meio agar serragem (MS) de *Pinus* sp., composto por (g/L): *Pinus* sp., 20; farelo de trigo, 20; CaCO<sub>3</sub>, 2,0; agar-agar, 20. Este meio foi autoclavado a 1 atm durante 20 minutos.

O meio de cultivo constituído de serragem de *Pinus* sp. 94 %; farelo de trigo, 5 %; CaCO<sub>3</sub>, 1,0 % e água destilada para a obtenção de 66 % de umidade foi utilizado para a produção dos basidioma (MCS) (Tan & Wahab, 1997). Posteriormente, foi realizada a produção dos cogumelos de três linhagens de *Pleurotus* sp. (41D, 26C, 122H.5) cultivadas em meio bagaço de uva e serragem (MCSU) e borra de café e serragem (MCSC) com diferentes formulações de meio, onde 50 % da serragem foi substituída por bagaço de uva orgânica (MCSU) ou 50 % de borra de café (MCSC). O bagaço de uva (*Vitis labrusca* L.) (91 % de

casca, 8,5 % de talos e 0,5 % de sementes) foi doado por uma empresa localizada na Serra Gaúcha (Brasil). Os meios foram autoclavados a 1 atm por 3 horas.

Para a obtenção do micélio das diferentes linhagens, foi utilizado o meio caldo batata dextrose (CBDY) proposto por Kirk *et al.*, (2008), com modificações. O meio constituiu-se de caldo de batata extraído de 200 g/L de batata cozida, 20 g/L de glicose e 50 mL/L de solução de sais. A solução de sais continha (g/L):  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 20;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 14;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 3,0; ureia, 3,0;  $\text{CaCl}_2$ , 4,0;  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 0,0156;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,05;  $\text{ZnSO}_4$  0,014; e  $\text{CoCl}_2$ , 0,02 (Mandels & Reese, 1957). Este foi autoclavado a 1 atm por 15 minutos.

### **2.3. Obtenção das amostras**

A ergotioneína foi extraída de basidioma, caldo e micélio de cultivo submerso e micélio de placa de Petri. A lovastatina foi extraída do basidioma.

Os cogumelos foram cultivados em sacos de polipropileno contendo 2 kg de meio. Primeiramente os sacos foram inoculados com dez discos de 1,5 cm de diâmetro e, posteriormente, estes foram armazenados em local com temperatura controlada (28 °C). Quando foi observado que o meio de cultivo estava totalmente colonizado e com presença de primórdios, os sacos foram perfurados com bisturi e, posteriormente, levados para estufa com temperatura ambiente (entre 20 e 30 °C) e umidade relativa do ar (70 a 90 %). Os sacos para a produção dos basidiomas foram realizados em triplicata.

Para a obtenção do micélio, foram utilizados frascos Erlenmeyer de 500 mL, contendo 100 mL de meio CBDY, cobertos com uma fina manta de algodão e gaze. Os meios foram autoclavados a 1 atm 20 minutos. O inóculo consistiu-se de 1 disco de 1,5 cm de diâmetro. As amostras foram coletadas no 10º dia (período de maior crescimento), centrifugadas por 15 minutos, a 3220 g e liofilizadas.

O micélio (placa) foi obtido em placas de Petri contendo meio agar serragem (MPS) de *Pinus* sp., composto por (g/L): *Pinus* sp., 20; farelo de trigo, 20; CaCO<sub>3</sub>, 2,0; agar-agar, 20. Posteriormente, três linhagens (122H.5, 41D e 26C) foram cultivadas em placas de Petri, com diferentes formulações de meio, onde 50 % da serragem foi substituída por bagaço de uva orgânica (triturada) (MPSU) ou 50 % de borra de café (MPSC). O meio foi autoclavado a 1atm por 15 minutos.

#### **2.4. Preparo das amostras**

A amostra seca do basidioma foi obtida a partir da desidratação, utilizando um desidratador (Funkitchen®) durante 24 horas, a 50 – 60 °C e triturados em moedor (Cadence®). O micélio (placa), micélio (cultivo submerso) e caldo (cultivo submerso) foram liofilizados. As amostras foram armazenadas em frascos âmbar para posteriores análises.

#### **2.5. Determinação de ergotioneína**

A ergotioneína foi extraída utilizando o método proposto por Dubost *et al.* (2007a) em que 0,5 g de um segmento do cogumelo foi adicionado a 7 mL de solução etanólica fria (10 mMol/L de ditioneitol (DTT) em etanol 70 %, 100 μMol/L betaína em etanol, 100 μMol/L de 2-Mercapto-1-metilimidazol (MMI) em etanol 70 %) e mais 3 mL de água deionizada, sendo a mistura mantida sob agitação por 10 segundos. Após, foi adicionado 2 mL de dodecil sulfato de sódio (SDS) 1 % (m/v) em etanol e agitado por 10 segundos. As amostras foram centrifugadas por 20 min, 3220 g, em 5 °C. O sobrenadante (500 μL) foi liofilizado e ressuspenso em 500 μL de água deionizada (pH 7,3), centrifugado por 1 min a 8900 g, filtrado em membrana com poros de 0,22 μm e o permeado mantido a -20 °C.

A identificação e quantificação da ergotioneína foram realizadas em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A separação prosseguiu empregando um sistema

(Shimadzu, Quioto, Japão) constituído por uma bomba quaternária LC-20AD, desgaseificador DGU-20A<sub>3</sub>, forno para coluna CTO-20A e o *software* LC Solution®, acoplado a um detector ultra-violeta (CLAE-UV). Foi utilizada a coluna Discovery® C18 de 15 cm × 4,6 mm e tamanho de partícula de 5 µm. A fase móvel foi constituída de 0,7 % de fosfato de sódio dibásico (m/v), 3 % de acetonitrila (v/v) e 0,1 % de trietilamina (v/v), em pH 7,3, fluxo de 0,4 mL por minuto, detecção em 254 nm e 30 °C. A identificação da ergotioneína foi baseada no tempo de retenção obtido do padrão (5min4s) e a quantificação foi determinada utilizando uma curva padrão com concentrações conhecidas (0,008 - 0,125 mg/mL).

## **2.6. Determinação de lovastatina**

Para a quantificação de lovastatina foram realizadas três extrações, utilizando acetonitrila, acetato de etila e metanol, como solventes. A extração com acetonitrila foi realizada de acordo com Yang *et al.* (2006) com modificações, onde, 1,5 g do basidioma foi mantido em agitação durante 24 horas a 28 °C com 15 mL de acetonitrila. Para a extração com acetato de etila, foi utilizado 0,5 g de amostra e 2,5 mL de acetato de etila, a mistura foi mantida em agitação durante 90 minutos, a 70 °C, conforme metodologia de Su *et al.* (2010), com modificações. A extração com metanol foi realizada conforme metodologia proposta por Sorrentino *et al.* (2010), com modificação, onde 0,5 g de amostra foi mantido em agitação com 2,5 mL de metanol, durante 2 horas. Ao final das extrações, as amostras foram centrifugadas por 20 min, 3220 g e 5 °C, filtradas em membranas com poros de 0,22 µm e mantidas a -20 °C, para análise em CLAE. Para a identificação e quantificação da lovastatina, foi utilizado um sistema (Shimadzu, Quioto, Japão) constituído por uma bomba quaternária LC-20AD, desgaseificador DGU-20A<sub>3</sub>, forno para coluna CTO-20A e o *software* LC Solution®, acoplado a um detector ultra-violeta (CLAE-UV), com coluna Discovery® C18 de 15 cm × 4,6 mm e tamanho de partícula de 5 µm. A fase móvel foi constituída de

acetonitrila/água (70:30 v/v), 0,5 % ácido acético, fluxo de 0,4 mL por minuto, detecção em 254 nm e temperatura de 30 °C (Shen *et al.* 1996). A identificação da lovastatina foi baseada no tempo de retenção obtido do padrão (12min10s) e a quantificação foi determinada utilizando uma curva padrão com concentrações conhecidas (0,001 - 0,019 mg/mL).

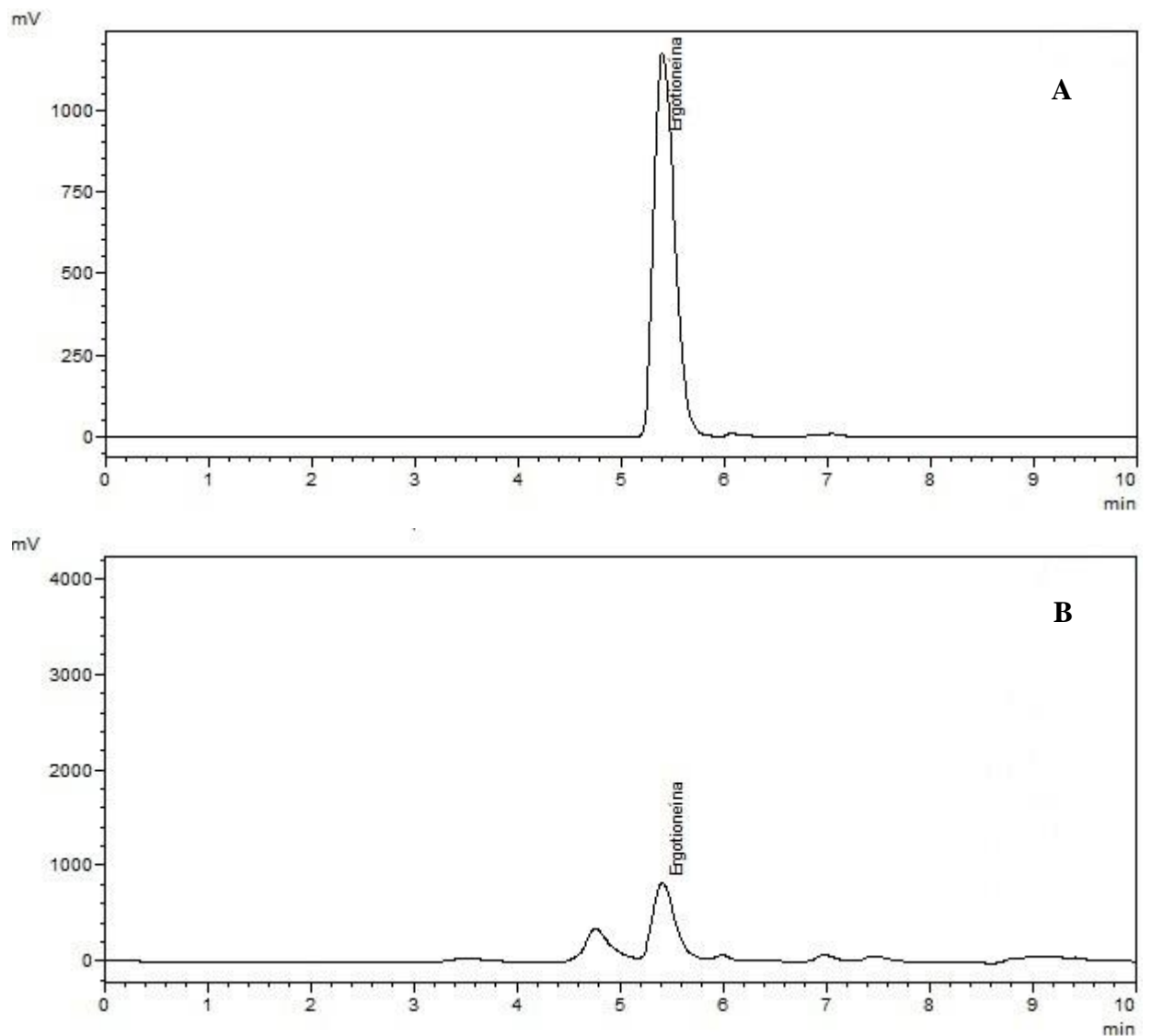
## **2.7. Análise estatística**

Os testes para a avaliação e quantificação de ergotioneína e lovastatina foram realizados em triplicata e os resultados expressos em média  $\pm$  desvio padrão e analisados por análise da variância (*one-way* ANOVA) e pós-teste de Tukey, utilizando o *software* PrismGraphPad (versão 5.0.1.334). Foi considerado significativo o nível de probabilidade inferior a 5 % ( $p < 0,05$ ).

## **3. Resultados e Discussão**

### **3.1. Conteúdo de ergotioneína em basidioma, no caldo e micélio de cultivo submerso e micélio proveniente de placa de Petri em linhagens de *Pleurotus* spp.**

Foi avaliada a presença de ergotioneína em linhagens de *Pleurotus* spp. isoladas no Estado do Rio Grande do Sul/Brasil. Este aminoácido foi detectado em todas as amostras avaliadas. Na Figura 1 estão apresentados como exemplo os cromatogramas do padrão de ergotioneína e deste composto presente em uma amostra de basidioma.



**Figura 1.** Cromatograma de ergotioneína por CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência). (A) Padrão de ergotioneína (B) Amostra de cogumelo comestível.

Na Tabela 1 estão apresentados os teores de ergotioneína do basidioma, micélio (placa), micélio (cultivo submerso) e no caldo (cultivo submerso) de linhagens do gênero *Pleurotus*. Quando comparadas todas as amostras, verifica-se que valores superiores de ergotioneína foram obtidos de micélio crescido em placa de Petri. A linhagem 122H.5 de *Pleurotus* sp. apresentou a maior concentração desta substância ( $293,44 \pm 1,96$  mg/100g), seguido da linhagem 189H.5 ( $199,3 \pm 10,1$  mg/100g). Os valores são superiores aos



encontrados por Chen *et al.* (2012) que avaliaram o teor de ergotioneína em micélio de cogumelos e verificaram valores entre  $7,6 \pm 0,05$  mg/kg (*Antrodia salmonea*) e  $1514,6 \pm 15,7$  mg/kg (*Pleurotus eryngii*), sendo que o teor obtido para *Pleurotus eryngii* é semelhante ao obtido na linhagem 26C e inferior as linhagens 122H.5, 189H.3 do presente trabalho.

**Tabela 1.** Conteúdo de ergotioneína presente no basidioma, no micélio crescido em placa de Petri, no micélio e caldo de cultivo submerso em linhagens de *Pleurotus* spp.

	Ergotioneína (mg/100g)			
	Basidioma	Micélio (placa)	Micélio (cultivo submerso)	Caldo (cultivo submerso)
<b>93F.18</b>	$52,0 \pm 4,5^b$	$114,9 \pm 5,7^{de}$	$12,8 \pm 1,3^{ab}$	$1,3 \pm 0,1^{cd}$
<b>88F.13</b>	$29,8 \pm 4,3^{cd}$	$67,2 \pm 3,9^g$	$9,4 \pm 1,3^c$	$2,3 \pm 0,4^{bc}$
<b>82F.7</b>	$50,6 \pm 2,9^b$	$106,6 \pm 3,4^{ef}$	$12,9 \pm 0,7^{ab}$	$1,1 \pm 0,2^d$
<b>122H.5</b>	$36,5 \pm 2,3^c$	$293,4 \pm 1,9^a$	$9,4 \pm 1,5^c$	$2,3 \pm 0,2^{bc}$
<b>189H.3</b>	$35,0 \pm 2,7^c$	$199,3 \pm 10,1^b$	$5,9 \pm 0,7^d$	$1,8 \pm 0,1^c$
<b>41D</b>	$27,5 \pm 6,5^{cd}$	$33,2 \pm 0,9^h$	$5,5 \pm 0,4^d$	$2,9 \pm 0,3^b$
<b>PS-2001</b>	$63,8 \pm 7,0^a$	$91,1 \pm 3,5^f$	$13,9 \pm 2,4^a$	$2,6 \pm 0,1^b$
<b>38D</b>	$27,6 \pm 3,2^d$	$118,3 \pm 5,9^{cd}$	$9,9 \pm 0,4^{bc}$	$2,4 \pm 0,1^{bc}$
<b>26C</b>	$36,7 \pm 2,3^c$	$145,8 \pm 16,1^c$	$3,7 \pm 0,2^d$	$4,1 \pm 0,3^a$

Os valores apresentados são resultantes da média de triplicatas. Em cada coluna, valores com letras iguais não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ).

Entre as amostras proveniente de basidiomas, as linhagens PS–2001, 93F.18 e 82F.7 foram as que apresentaram os maiores teores de ergotioneína,  $63,8 \pm 7,0$ ;  $52,0 \pm 4,5$  e  $50,6 \pm 2,9$  mg/100g, respectivamente. Estudo realizado por Woldegiorgis *et al.* (2014) avaliaram o

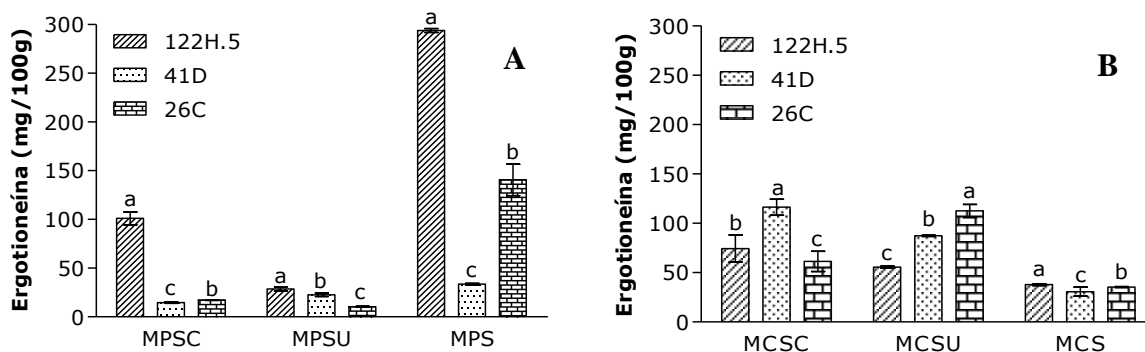
teor de ergotioneína em sete diferentes espécies de cogumelos e a concentração superior foi verificada em *Pleurotus ostreatus* ( $3,78 \pm 0,05$  mg/g) (Tabela 1). Chen *et al.* (2012) também avaliaram o teor de ergotioneína em basidioma de diferentes espécies e para as espécies de *Pleurotus* os valores variaram entre  $2850,7 \pm 10,6$  mg/kg (*Pleurotus citrinopileatus*) e  $258,9 \pm 12,4$  mg/kg (*Pleurotus cystidiosus*).

Chen *et al.* (2012) avaliaram o teor de ergotioneína em basidioma de vinte e nove espécies e em micélio de dezessete espécies, sendo que em apenas quatro espécies foram avaliados os teores, ao mesmo tempo, em micélio e basidioma. Segundo os autores, foi possível observar que duas espécies atingiram concentrações superiores no micélio (*Grifola frondosa* -  $553,2 \pm 1,3$  mg/kg; *Hypsizigus mormoreus* -  $409,5 \pm 15$  mg/kg) e duas apresentaram valores superiores nos basidiomas (*Pleurotus eringii* -  $1514,6 \pm 15,7$  mg/kg; *Inonotus obliquus* -  $252,1 \pm 5,5$  mg/kg).

Tanto para as amostras de caldo como de micélio em cultivo submerso, os valores obtidos foram inferiores quando comparados com os de basidiomas e o micélio em placa de Petri. Para as amostras de micélio (cultivo submerso) valores entre  $3,7 \pm 0,2$  mg/100g e  $13,9 \pm 2,4$  mg/100g foram verificados. Para o caldo (cultivo submerso) os valores foram inferiores, entre  $1,1 \pm 0,2$  mg/100g e  $4,1 \pm 0,3$  mg/100g (Tabela 1). Existem poucos relatos de ergotioneína no caldo e no micélio de cultivo submerso, destacando-se a importância destes dados que foram semelhantes aos de Liang *et al.* (2013) que avaliou o conteúdo em basidioma, micélio e caldo em cultivo submerso e os menores teores de ergotioneína foram apresentados no caldo.

Diante dos resultados, embora possa haver variabilidade quanto ao teor de ergotioneína nas espécies de fungos, é possível afirmar que o tipo de processo de crescimento do fungo também influencia na produção, visto que na mesma linhagem, amostras obtidas diferentemente variaram as concentrações desta substância.

Valores superiores de ergotioneína foram obtidos no basidioma e no micélio (placa). Desta forma três linhagens (122H.5, 41D e 26C) foram utilizadas em cultivo com diferentes formulações de meios. A escolha das três linhagens foi aleatória, com o objetivo de avaliar a influência da composição do meio de cultivo sobre o teor de ergotioneína. Na Figura 2 estão apresentados os teores de ergotioneína do basidioma originados de cultivos em meio serragem (MCS), serragem + bagaço de uva (MCSU) e serragem + borra de café (MCSC) e também os teores detectados em micélio (placa) obtidos em meio serragem (MPS), serragem + bagaço de uva (MPSU) e serragem + borra de café (MPSC).



**Figura 2.** Conteúdo de ergotioneína nas linhagens 122H.5, 41D e 26 C de *Pleurotus* sp. Valores presente no micélio das três linhagens cultivadas em placas de Petri como diferentes meios (A). Valores presentes nos basidiomas das três linhagens cultivadas em diferentes meios (B). Os valores apresentados são resultantes da média de triplicatas. Barras com letras iguais não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ). MCSC/MPSC - meio de cultivo com serragem e borra de café; MCSU/MPSU - meio de cultivo com serragem e bagaço de uva; MCS/MPS - meio cultivo com serragem.

Quando comparadas as amostras de basidioma e de micélio (placa) nos diferentes meios, verifica-se valores superiores obtidos no micélio (placa) cultivado em MPS. Porém, para o basidioma, foram observados valores superiores nos meios MCSC e MSCU,

destacando que a composição do meio de cultivo interfere fortemente na concentração de ergotioneína (Figura 2). Para o micélio (placa), a linhagem 122H.5 apresentou valores superiores nas três composições de meio utilizadas, porém, valor superior foi obtido no meio MPS ( $293,4 \pm 1,9$  mg/100g), quando comparado com o meio MPSU ( $27,6 \pm 2,2$  mg/100g) e com o meio MPSC ( $97,2 \pm 0,2$  mg/100g) (Figura 2A). A linhagem cultivada em MCSC que apresentou maior teor de ergotioneína no basidioma foi a linhagem 41D ( $116,3 \pm 8,02$  mg/100g) e a linhagem cultivada em MCSU que apresentou o maior teor foi a 26C ( $112,6 \pm 6,7$  mg/100g) (Figura 2B).

Estudo realizado por Tepwong *et al.* (2012) ao avaliar a produção de ergotioneína em cultivo submerso por *Lentinula edodes*, observou que a morfologia do micélio pode estar relacionada com a produção de ergotioneína. Segundo os mesmos autores, estudos dos *pellets* indicaram que o aumento do tamanho resultou em incremento da concentração de ergotioneína. Estrada *et al.*, (2009) observaram em seu estudo que os basidiomas cultivados em menor umidade (55 %) apresentaram maior teor de ergotioneína (3 mg/g) quando comparados com os produzidos com 60 % de umidade (2,2 mg/g).

Dubost *et al.* (2007b) avaliaram a suplementação de proteínas no meio de produção dos cogumelos e constataram que não houve aumento do teor de ergotioneína presente no basidioma e que a adição de histidina aumentou a concentração de ergotioneína, porém suprimiu a produção dos basidiomas. Neste mesmo estudo, também observaram que o aumento na colonização micelial aumentava a concentração da ergotioneína e sugeriram que este aminoácido pode ser um metabólito relacionado com condições de estresse, pois ao quebrar a rede micelial houve um aumento do composto. De acordo com os mesmos autores, o teor de ergotioneína aumenta a cada ciclo de cultivo e diminui significativamente após a coleta (6 dias a 12 °C).

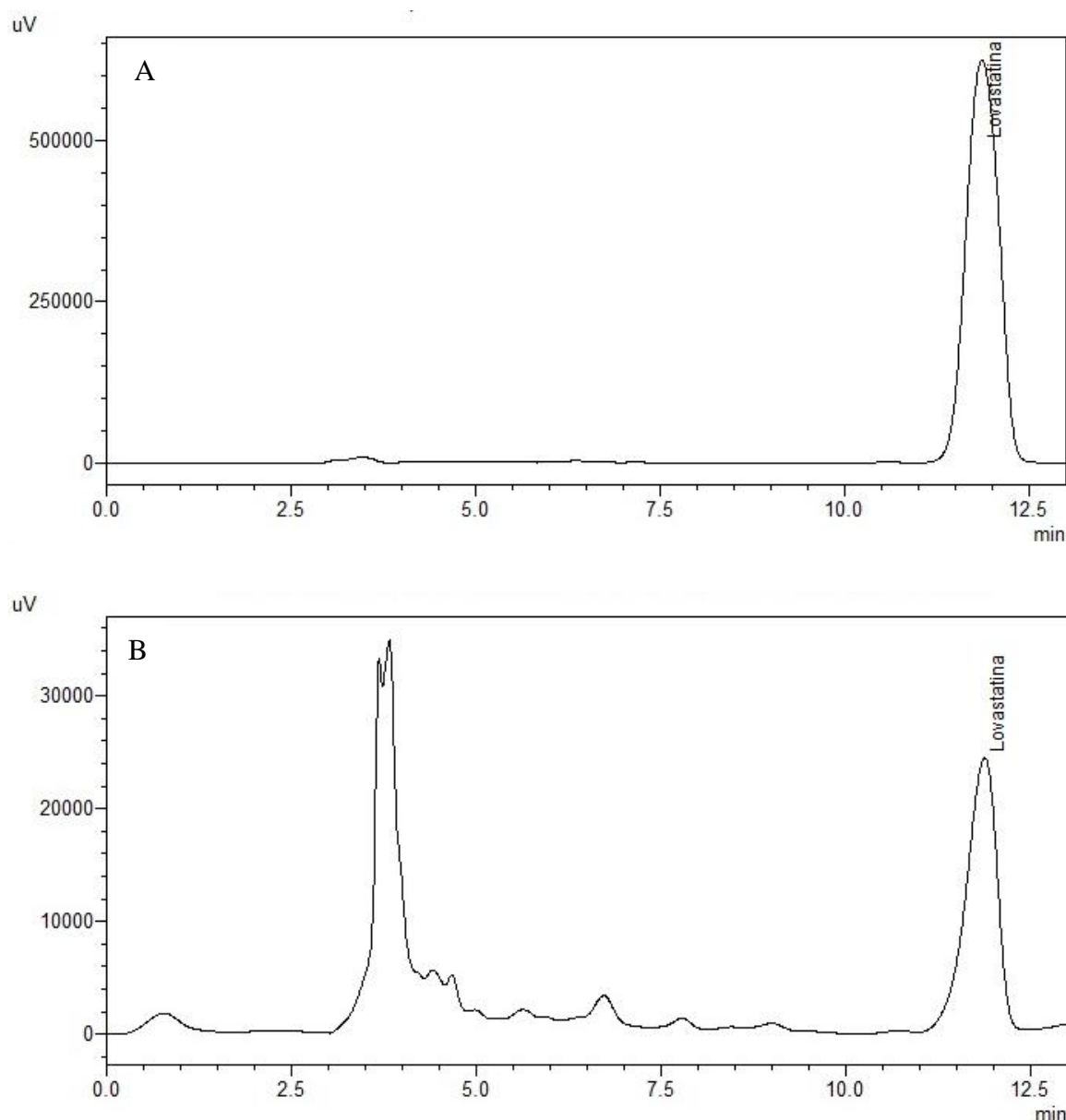
Neste estudo foi possível observar que o conteúdo de ergotioneína pode estar associado ao meio de cultivo, pois maiores concentrações foram obtidas no basidioma em meio contendo bagaço de uva e borra de café, porém este resultado não se repete para o micélio. Quanto ao fato da concentração de ergotioneína ser superior no micélio cultivado em placa, pode-se sugerir que este resultado pode estar relacionado com o tempo de prateleira, pois a análise do teor no micélio foi realizada logo após a obtenção das amostras, enquanto que o basidioma passou por processamento antes da análise (desidratação e moagem). Sugere-se também, que as concentrações de ergotioneína podem estar relacionadas com o tempo de cultivo, tendo em vista que o micélio em placa foi obtido em 12 dias, enquanto que o cogumelo foi obtido em um período maior (45 dias).

### **3.2. Conteúdo de lovastatina em basidioma de linhagens de *Pleurotus* spp.**

A lovastatina é responsável pela redução do colesterol sanguíneo, sendo que alguns estudos apontam os cogumelos do gênero *Pleurotus* como produtores deste composto (Gunde-Cimerman *et al.*, 1993; Gunde-Cimerman & Cimerman, 1995), o que resulta na relevância de avaliar o potencial de produção deste composto por diferentes espécies. Neste contexto, foi avaliada a presença de lovastatina em linhagens do gênero *Pleurotus*, sendo detectado e quantificado o composto em todas as amostras avaliadas. Na Figura 3 estão apresentados os cromatogramas do padrão de lovastatina e do composto em uma amostra de basidioma.

Os teores de lovastatina presente no basidioma das linhagens de *Pleurotus* spp. estão apresentados na Tabela 2. Foram realizadas três formas de extração, sendo que valores superiores de lovastatina foram obtidos na extração com acetonitrila, em todas as amostras avaliadas (Tabela 2). Para a extração realizada com acetonitrila, a amostra de basidioma da linhagem 41D apresentou concentração superior ( $10,2 \pm 0,1$  mg/100g), em meio com

serragem e bagaço de uva, seguido pelo PS-2001 ( $4,5 \pm 0,3$  mg/100g), em meio com serragem. Na extração realizada com acetato de etila foi detectado maior teor de lovastatina na linhagem 122H.5 ( $1,5 \pm 0,1$  mg/100g), em meio com serragem. No extrato com metanol, as linhagens com maior concentração de lovastatina foram 88F.13 ( $1,3 \pm 0,1$  mg/100g), 82F.7 ( $1,1 \pm 0,1$  mg/100g) e 93F.18 ( $1,1 \pm 0,1$  mg/100g), em meio serragem (Tabela 2).



**Figura 3.** Cromatograma de análise de lovastatina por CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência). (A) Padrão de lovastatina; (B) Amostra de cogumelo comestível.

**Tabela 2.** Conteúdo de lovastatina no basidioma de linhagens de *Pleurotus* spp. cultivadas em serragem (MCS), serragem/bagaço de uva (MCSU) e serragem/borra de café (MCSC) utilizando três solventes.

	<b>Lovastatina (mg/100g)</b>		
	<b>Acetato de etila</b>	<b>Acetonitrila</b>	<b>Metanol</b>
<b>Serragem (MCS)</b>			
<b>93F.18</b>	1,3 ± 0,1 <sup>b</sup>	2,9 ± 0,1 <sup>a</sup>	1,1 ± 0,1 <sup>b</sup>
<b>88F.13</b>	1,1 ± 0,1 <sup>c</sup>	2,5 ± 0,1 <sup>a</sup>	1,3 ± 0,1 <sup>b</sup>
<b>82F.7</b>	0,7 ± 0,1 <sup>b</sup>	1,5 ± 0,1 <sup>a</sup>	1,1 ± 0,1 <sup>ab</sup>
<b>122H.5</b>	1,5 ± 0,1 <sup>b</sup>	2,0 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,5 ± 0,1 <sup>c</sup>
<b>189H.3</b>	0,9 ± 0,1 <sup>b</sup>	2,3 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,6 ± 0,1 <sup>c</sup>
<b>41D</b>	1,4 ± 0,2 <sup>b</sup>	2,3 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,7 ± 0,1 <sup>c</sup>
<b>PS-2001</b>	0,8 ± 0,1 <sup>b</sup>	4,5 ± 0,3 <sup>a</sup>	0,6 ± 0,0 <sup>b</sup>
<b>38D</b>	1,1 ± 0,1 <sup>a</sup>	1,2 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,8 ± 0,1 <sup>b</sup>
<b>26C</b>	0,6 ± 0,1 <sup>b</sup>	1,6 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,1 <sup>b</sup>
<b>Serragem/Bagaço de uva (MCSU)</b>			
<b>122H.5</b>	0,9 ± 0,1 <sup>b</sup>	2,6 ± 0,3 <sup>a</sup>	0,4 ± 0,1 <sup>b</sup>
<b>41D</b>	1,1 ± 0,1 <sup>b</sup>	10,2 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,6 ± 0,1 <sup>c</sup>
<b>26C</b>	0,7 ± 0,1 <sup>b</sup>	2,4 ± 0,3 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,1 <sup>b</sup>
<b>Serragem/Borra de café (MCSC)</b>			
<b>122H.5</b>	0,5 ± 0,1 <sup>b</sup>	2,3 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,0 <sup>b</sup>
<b>41D</b>	0,3 ± 0,0 <sup>c</sup>	3,6 ± 0,1 <sup>a</sup>	1,1 ± 0,1 <sup>b</sup>
<b>26C</b>	0,5 ± 0,0 <sup>c</sup>	3,7 ± 0,1 <sup>a</sup>	1,1 ± 0,1 <sup>b</sup>

Os valores apresentados são resultantes da média de triplicatas. Em cada linha, valores com letras iguais não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ).

Quando comparadas as linhagens cultivadas em serragem, o PS-2001 destacou-se diante das demais, com relação à extração realizada com acetonitrila, porém na extração realizada com metanol e acetato de etila foi uma das linhagens com menor teor de lovastatina. Diante destes resultados, destaca-se a importância do tipo de solvente para o processo de extração no que se refere aos teores desta substância.

Em um estudo realizado por Chen *et al.* (2012), foi analisado o extrato de 29 espécies de basidioma, utilizando acetonitrila como solvente, sendo que para o basidioma, a maior quantidade de lovastatina encontrada foi no cogumelo *Pleurotus ostreatus* (Japão) ( $606,5 \pm 5,6$  mg/kg). Além disto, avaliaram três linhagens de *P. ostreatus*, de lugares diferentes e obtiveram valores bastante diferentes entre elas (*P. ostreatus* (Japão) -  $606,5 \pm 5,6$  mg/kg; *P. ostreatus* (Korea) -  $165,3 \pm 3,8$  mg/kg; *P. ostreatus* (Korea) -  $216,4 \pm 9,9$  mg/kg). Também foram analisadas amostras de *Pleurotus citrinopileatus* ( $118 \pm 2,71$  mg/kg), *Pleurotus cystidiosus* ( $101,1 \pm 1,5$  mg/kg), entre outras, sendo que na amostra de *Pleurotus salmoneos tramineus* não foi detectado lovastatina.

Quando realizada a produção com diferentes formulações meios (MCSC e MCSU), valores semelhantes foram obtidos para as três linhagens, com exceção da linhagem 41D cultivada no meio MCSU que apresentou o maior teor de lovastatina ( $10,17 \pm 0,04$  mg/100g). Pode ser observado que, ao adicionar um complemento no meio de cultivo (bagaço de uva) o teor de lovastatina aumenta, quando comparado ao meio contendo apenas serragem ou serragem com borra de café (Tabela 2). Atli *et al.* (2015) ao realizar estudos de otimização de parâmetros para aumentar a produção de lovastatina por *Omphalotus olearius* OBCC 2002, observou que este fungo tem potencial para a produção de lovastatina e a concentração deste composto pode ser melhorada com a adição de cevada no substrato ( $139,47$  mg/g de substrato). Arlacon *et al.*, (2003) constataram que o meio de cultivo influencia no teor de lovastatina, quando avaliado o teor em *P. ostreatus* obtidos em ambiente natural obteve  $2,80$  g



de lovastatina /100g, enquanto o cultivado em palha de trigo como substrato apresentou 2,07 g/100g.

Neste contexto, destaca-se a importância de avaliar e identificar diferentes compostos relacionados com benefícios para a saúde humana. A lovastatina é frequentemente utilizada no tratamento da hipercolesterolemia, devido a sua capacidade de inibição da HMG-CoA redutase (3-hidroxi-3-methyl-glutaril-CoA redutase), a primeira enzima da via metabólica do colesterol (Barrios-González & Miranda, 2010). Lindequist *et al.* (2005) detectaram lovastatina na amostra de *Pleurotus* sp. e ao analisarem o efeito hipocolesterolêmico da dieta com *Pleurotus* sp. em ratos e coelhos. Observaram decréscimo na formação e tamanho da placa de ateroma em coelhos, sugerindo então ser a lovastatina o responsável pelos efeitos observados. Lee *et al.* (2006) avaliaram extratos obtidos de basidioma e micélio de cultivo submerso de *P. ostreatus* que produziram 0,98 mg/g e 21,90 mg/L, respectivamente de lovastatina. Os mesmos autores avaliaram a taxa de inibição da 3-hidroxi 3-metilglutaril-CoA-(HMG-CoA) redutase, sendo que o extrato do basidioma de *Pleurotus ostreatus* apresentou 67,8 % de inibição e o do micélio apresentou 37,2 %.

Diante dos resultados, é possível observar que diferentes fatores podem influenciar nas concentrações de ergotioneína e lovastatina. Entre os fatores, destaca-se a espécie utilizada, o tempo de obtenção das amostras e a composição do meio de cultivo. Além disso, destaca-se que as linhagens utilizadas no presente trabalho são comestíveis, de fácil produção e são fontes de compostos benéficos para a saúde humana.

#### **4. Conclusão**

As linhagens de cogumelos comestíveis avaliadas são fontes de ergotioneína e lovastatina, dois compostos reconhecidos como agentes naturais para prevenção de doenças ou mesmo na terapêutica. O basidioma e o micélio crescido em placa apresentaram o maior

teor de ergotioneína em relação ao caldo e micélio provenientes do cultivo submerso. Os teores de ergotioneína e lovastatina presentes nos basidiomas podem ainda ser aumentados conforme o meio de cultivo e a forma de condução do cultivo. Desta forma, o conhecimento de novas linhagens de cogumelos e a presença de compostos com atividades benéficas para a hipercolesterolemia, hipertensão e com propriedades antioxidantes, contribuem para incentivar o consumo de cogumelos e também como alternativa para tratamentos convencionais.

## 5. Referências

- Aarons, C.B.; Cohen, P.A.; Gower, A.; Reed, K.L.; Leeman, S.E.; Stucchi, A.F.; Becker, J.M. (2007). Statins (HMG-CoA reductase inhibitors) decrease postoperative adhesions by increasing peritoneal fibrinolytic activity. **Ann. Surg.** 245(2): 176-184.
- Alarcon, J.; Aguila, S.; Arancibia-Avila, P.; Fuentes, O.; Zamorano-Ponce, E.; Hernández, M. (2003). Production and purification of statins from *Pleurotus ostreatus* (Basidiomycetes) strains. **Z. Naturforsch. C Bio. Sci.** 58 (1-2): 62-64.
- Barrios-González J.; Miranda R. U. (2010). Biotechnological production and applications of statins. **Appl Microbiol Biotechnol.** 85(4): 869-83.
- Beelman, R.B.; Dubost, N.J.; Peterson, D.J.; Hausman, M. (2007). Phytonutrient compositions from mushrooms or filamentous fungi and methods of use. The Penn State Research Foundation Patent. **United States Patent** 0244175. pp.1-19.
- Chen, S.Y.; Ho, K.J.; Hsieh, Y.J.; Wang, L.T.; Mau, J.L. (2012). Contents of lovastatin,  $\gamma$ -aminobutyric acid and ergothioneine in mushroom fruiting bodies and mycelia. **LWT.** 47(2): 274-278.
- Chen, F.; Hu, X. (2005). Study on red fermented rice with high concentration of monacolin K and low concentration of citrinin. **Int. J. Food Microbiol.** 103(3): 331-337.

- Colognato, R.; Laurenza, I.; Fontana, I.; Coppede, F.; Siciliano, G.; Coecke, S.; Aruoma, O. I.; Benzi, L.; Migliore, L. (2006). Modulation of hydrogen peroxide-induced DNA damage, MAPKs activation and cell death in PC12 by ergothioneine. **Clin. Nutr.** 25(1): 135-145.
- Dubost, N.J.; Beelman, R.B.; Peterson, D.; Royse, D.J. (2006). Identification and quantification of ergothioneine in cultivated mushrooms by liquid chromatography-mass spectroscopy. **Int. J. Med. Mushrooms.** 8(3): 215-222.
- Dubost, N.J.; Ou, B.; Beelman, R.B. (2007a). Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity. **Food Chem.** 105(2): 727-735.
- Dubost, N.J.; Beelman, R.B.; Royse, D.J. (2007b). Influence of selected cultural factors and postharvest storage on ergothioneine content of common button mushroom *Agaricus bisporus* (J. Lge) Imbach (Agaricomycetidae). **Int. J. Med. Mushrooms.** 9(2): 163-176.
- Endo, A. (1979). Monacolin K, a new hypocholesterolemic agent produced by a *Monascus* species. **J. Antibiot.** 32(8): 852-854.
- Endo A.; Kuroda M.; Tsujita Y. (1976) ML-23A, ML-236B and ML-236C, new inhibitors of cholesterologenesis produced by *Penicillium citrinum*. **J Antibiot.** 29:1346-8.
- Estrada, A.E.R.; Lee, H.J.; Beelman, R.B.; del Mar Jimenez-Gasco, M.; Royse, D.J. (2009). Enhancement of the antioxidants ergothioneine and selenium in *Pleurotus eryngii* var. *eryngii* basidiomata through cultural practices. **World J. Microbiol. Biotechnol.** 25(9): 1597-1607.
- Ey, J.; Schömig, E.; Taubert, D. (2007). Dietary sources and antioxidant effects of ergothioneine. **J. Agric. Food Chem.** 55(16): 6466-6474.

- Gunde-Cimerman, N.; Friedrich, J.; Cimerman, A.; Benički, N. (1993). Screening fungi for the production of an inhibitor of HMG CoA reductase: Production of mevinolin by the fungi of the genus *Pleurotus*. **FEMS Microbiol. Lett.** 111(2), 203-206.
- Gunde-Cimerman N.; Cimerman A. (1995). *Pleurotus* fruiting bodies contain the inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase—lovastatin. **Exp Mycol.** 19: 1-6.
- Genghof, D. S. (1970). Biosynthesis of ergothioneine and hercynine by fungi and Actinomycetales. **J. Bacteriol.** 103(2): 475-478.
- Halliwell, B.; Gutteridge, J. M. C. (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. **J. Biochem.** 219(1): 219-224.
- Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. **Biochem. Soc. Trans.** 35(5):1147-1150.
- Hartman, P. E. (1990). Ergothioneine as an antioxidant. **Method. Enzymol.** 86: 310-318.
- Kalač, P. (2009). Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. **Food Chem.** 113(1): 9-16.
- Kirk, P., Cannon, P., Minter, D., Stalpers, J. 2008. **Dictionary of the Fungi.** 10 ed. Wallingford, UK: CABI. 784p.
- Lee, J.-W., Lee, S.-M., Gwak, K.-S., Lee, J.-Y., Choi, I.-G. (2006). Screening of edible mushrooms for the production of Lovastatin and its HMG-CoA reductase inhibitory activity. **Korean J. Microbiol.** 42(2): 83-88.
- Lindequist, U.; Niedermeyer, T. H. J.; Jülich, W. D. (2005). The pharmacological potential of mushrooms. **Evid. Based. Complement. Alternat. Med.** 2(3): 285-299.
- Mattila, P.; Könkö, K.; Euroala, M.; Pihlava, J.-M.; Astola, J.; Vahteristo, L; Hietaniemi, V.; Kumpulainen, J.; Valtonen, M.; Piironen, V. (2001). Contents of vitamins, mineral elements, and some phenolic compounds in cultivated mushrooms. **J. Agric. Food Chem.** 49(5): 2343-2348.

- Melville, D.B.; Horner, W.H.; Otken, C.C.; Ludwig, M.L. (1955). Studies on the origin of ergothioneine in animals. **J. Biol. Chem.** 213(1): 61-68.
- Paul, B.D.; Snyder, S.H. (2010). The unusual amino acid L-ergothioneine is a physiologic cytoprotectant. **Cell Death Differ.** 17: 1134-1140.
- Rosa, L.O.; Wasum, R.A.; Dillon, A.J.P. (2016). Macrofungos (Filo Basidiomycota) do Sul do Brasil – levantamento e verificação da capacidade de secreção de enzimas ligninolíticas. 1 ed. Saarbrücken, Deutschland: Novas edições acadêmicas. 273p.
- Rosenson, R.S. (2004). Statins in atherosclerosis: lipid-lowering agents with antioxidant capabilities. **Atherosclerosis.** 173(1): 1-12.
- Schönbeck, U.; Libby, P. (2004). Inflammation, immunity, and HMG-CoA reductase inhibitors statins as antiinflammatory agents? **Circulation.** 109(21 suppl 1): II-18-II-26.
- Shen, P.M.; Shiao, M.S.; Chung, H.R.; Lee, K.R.; Chao, Y.S.; Hunt, V.M. (1996). Liquid Chromatographic Determination of 3-Hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A Reductase Inhibitors. **J. Chin. Chem. Soc-Taip.** 43(5): 451-457.
- Sorrentino, F.; Roy, I.; Keshavarz, T. (2010). Impact of linoleic acid supplementation on lovastatin production in *Aspergillus terreus* cultures. **Appl Microbiol Biotechnol.** 88(1): 65-73.
- Su, Y.C.; Wang, J.J.; Lin, T.T.; Pan, T.M. (2003). Production of the secondary metabolites gammaaminobutyric acid and monacolin K by *Monascus*. **J Ind Microbiol Biotechnol.** 30: 41-6.
- Woldegiorgis, A.Z.; Abate, D.; Haki, G.D.; Ziegler, G.R. (2014). Antioxidant property of edible mushrooms collected from Ethiopia. **Food Chem.** 157: 30-36.
- Yang, D.J.; Hwang L.S. (2006). Study on the conversion of three natural statins from lactone forms to their corresponding hydroxy acid forms and their determination in Pu-Erh tea. **J Chromatogr.** 1119(1): 277-84.

#### 4. CONCLUSÕES GERAIS

As “novas” linhagens de *Pleurotus* spp. mostraram-se capazes de produzir basidiomas. Entre os meios de cultivo avaliados, as linhagens cultivadas em MCSU (serragem/bagaço de uva) e MCSC (serragem/borra de café) atingiram maior rendimento, produtividade e eficiência biológica, destacando-se o meio MCSC. Os teores de proteínas e fibras alteraram de acordo com o meio de cultivo utilizado, sendo que os basidiomas produzidos em meio MCSC apresentaram maior teor de proteína e, quando produzidas em MCS (serragem), apresentaram maior teor de fibra alimentar.

Os teores de fenólicos totais e a capacidade antioxidante foram superiores nos extratos dos basidiomas, quando comparado aos extratos obtidos de micélio. Quando os basidiomas foram cultivados nos meios MCSU e MCSC, apresentaram maior teor de fenólicos totais, demonstrando que a composição do meio altera a concentração de fenólicos totais presentes no cogumelo.

As linhagens do gênero *Pleurotus* avaliadas são de fácil produção e apresentam diferentes compostos fenólicos com capacidade antioxidante, evidenciando que o consumo destes cogumelos pode levar a benefícios para a saúde. Além disto, foi possível observar diferenças nos teores de compostos fenólicos entre linhagens do mesmo gênero e que o ácido gálico, ácido clorogênico e catequina são os principais contribuintes para o teor fenólico total dos cogumelos analisados.

As linhagens de cogumelos comestíveis avaliadas são fontes de ergotioneína e lovastatina, dois compostos reconhecidos como agentes naturais para prevenção de doenças ou mesmo na terapêutica. O basidioma e o micélio crescido em placa apresentaram o maior teor de ergotioneína em relação ao caldo e micélio provenientes do cultivo submerso. Os teores de ergotioneína e lovastatina presentes nos basidiomas alteram conforme o meio de cultivo.

O conhecimento sobre novas linhagens de cogumelos e a presença de compostos com atividades benéficas contribuem para incentivar o consumo de cogumelos e também são alternativas para tratamentos convencionais de saúde.

## 5. PERSPECTIVAS

- ✓ Determinar o conteúdo de vitaminas, aminoácidos e minerais das diferentes linhagens de *Pleurotus* spp.
- ✓ Avaliar a atividade antioxidante *in vivo* das diferentes linhagens de *Pleurotus* spp.
- ✓ Avaliar a atividade biológica da ergotioneína detectada nas linhagens de *Pleurotus* spp. *in vitro* e *in vivo*.
- ✓ Avaliar a capacidade de regulação do perfil lipídico *in vivo*, utilizando as amostras das diferentes linhagens de *Pleurotus* spp. como fontes de lovastatina.
- ✓ Otimizar a produção de ergotioneína, lovastatina e compostos fenólicos das diferentes linhagens de *Pleurotus* spp.



## 6. REFERÊNCIAS COMPLEMENTARES

- Aarons, C.B.; Cohen, P.A.; Gower, A.; Reed, K.L.; Leeman, S.E.; Stucchi, A.F.; Becker, J.M. (2007). Statins (HMG-CoA reductase inhibitors) decrease postoperative adhesions by increasing peritoneal fibrinolytic activity. **Ann. Surg.** 245(2): 176-184.
- Andrade, M.C.N.; Calonego, F.W.; Minhoni, M.T.A.; Severo, E.T.D.; Kopytowski Filho, J. (2007). Avaliação do crescimento micelial de linhagens de shiitake, da produção em toras de eucalipto e de alterações físicas da madeira. **Acta Scientiarum. Agronomy.** 29(1): 23-27.
- Angelo, P.M.; Jorge, N. (2007). Phenolic compounds in foods-a brief review. **Rev. Inst. Adolfo Lutz.** 66(1): 01-09.
- Balasundram, N.; Sundram, K.; Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agricultural by-products: Antioxidant activity occurrence, and potential uses. **Food Chem.** 99: 191-203.
- Bandeira, S.D.M.; Fonseca, J.L.S.; Guedes, G.S.; Rabelo, L.A.; Goulart, M.O.F.; Vasconcelos, S.M.L. (2013). Oxidative Stress as an Underlying Contributor in the Development of Chronic Complications in Diabetes Mellitus. **Int J Mol Sci.** 14: 3265-3284.
- Bano, Z.; Rajarathnam, S.; Steinkraus, K.H. (1988). *Pleurotus* mushrooms. Part II. Chemical composition, nutritional value, post-harvest physiology, preservation, and role as human food. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** 27(2): 87-158.
- Barrios-González J.; Miranda R. U. (2010). Biotechnological production and applications of statins. **Appl Microbiol Biotechnol.** 85(4): 869-83.
- Barros, L.; Baptista, P.; Correia, D.M.; Casal, S.; Oliveira, B.; Ferreira, I.C.F.R. (2007) Fatty acid and sugar compositions, and nutritional value of five wild edible mushrooms from Northeast Portugal. **Food Chem.** 105: 140–145.

- Barros, L., Dueñas, M., Ferreira, I.C., Baptista, P., Santos-Buelga, C. (2009). Phenolic acids determination by HPLC–DAD–ESI/MS in sixteen different Portuguese wild mushrooms species. **Food Chem. Toxicol.** 47(6): 1076-1079.
- Beelman, R.B.; Dubost, N.J.; Peterson, D.J.; Hausman, M. (2007). Phytonutrient compositions from mushrooms or filamentous fungi and methods of use. The Penn State Research Foundation Patent. **United States Patent** 0244175. pp.1-19.
- Breene, W.M. (1990). Nutritional and medicinal value of specialty mushrooms. **J. Food Prot.** 53(10): 883–894.
- Bernás, E.; Jaworska, G.; Lisiewska, Z. (2006). Edible mushrooms as a source of valuable nutritive constituents. **Acta Aliment.** 5(1): 5-20.
- Boeing, H.; Bechthold, A.; Bub, A.; Ellinger, S.; Haller, D.; Kroke, A.; Leschik-Bonnet, E.; Müller, M. J.; Oberritter, H.; Schulze, M.; Stehle, P.; Watzl, B. (2012). Critical review: vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. **Eur. J. Nutr.** 51: 637–663.
- Bonatti, M.; Karnopp, P.; Soares, H.; Furlan, S. (2003). Estudo da composição de cogumelos das espécies *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju* cultivados em palha de bananeira. **J. Health Environ.** 4: 31-35.
- Bononi, V. L. R.; Trufem, S. F. B. (1985) **Cogumelos comestíveis.** 2 ed. São Paulo: Editora Ícone. 83p.
- Botta, C.; Di Giorgio, A.S.; Sabatier, M.D.M. (2008). Genotoxicity of visible light (400-800 nm) and photoprotection assessment of ectoin, L-ergothioneine and mannitol and four sunscreens. **J. Photochem. Photobiol.** 91: 24-34.
- Bouayed, J.; Bohn, T. (2010). Exogenous antioxidants—Double-edged swords in cellular redox state. Health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. **Oxid. Med. Cell Longev.** 3 (4): 228-37.

- Carocho, M., Ferreira, I.C. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food Chem. Toxicol.** 51: 15-25.
- Chang, S.T.; Lau, O.W.; Cho, K.Y. (1981). The cultivation and nutritional value of *Pleurotus sajor-caju*. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 12: 58-62.
- Cheah, I.K., Halliwell, B. (2012). Ergothioneine; antioxidant potential, physiological function and role in disease. **Biochim. Biophys. Acta.** 1822(5): 784-793.
- Chen, S.Y.; Ho, K.J.; Hsieh, Y.J.; Wang, L.T.; Mau, J.-L. (2012). Contents of lovastatin,  $\gamma$ -aminobutyric acid and ergothioneine in mushroom fruiting bodies and mycelia. **LWT.** 47(2): 274-278.
- Choudhury, M., & Rahman, T. (2013). Effects of *Pleurotus ostreatus* on blood pressure and glycemic status of hypertensive diabetic male volunteers. **Bangladesh J Med Biochem.** 6(1), 5–10.
- Corrêa, R. C. G., de Souza, A. H. P., Calhelha, R. C., Barros, L., Glamoclija, J., Sokovic, M., ... Ferreira, I. C. F. R. (2015). Bioactive formulations prepared from fruiting bodies and submerged culture mycelia of the Brazilian edible mushroom *Pleurotus ostreatoroseus* Singer. **Food Funct.** 6 (7), 2155–2164.
- Costa, N.M.B.; Peluzio, M.C.G. (2008). **Nutrição básica e metabolismo.** Viçosa: UFV, 400p.
- Coutinho, L.N. (2009). Cultivo de espécies de cogumelo comestíveis. **Disponível (online)** <http://www.geocities.com/esabio.geo/cogumelo/agaricus.htm> (6 de maio).
- Crisan, E. V., & Sands A. (1978). **The biology and cultivation of edible mushroom.** 6 ed. London: Academic Press.
- Dalonso, N.; Souza, R.; Silveira, M.L.L.; Ruzza, A.A.; Wagner, T.M.; Wisbeck, E.; Furlan, S.A. (2010). Characterization and antineoplastic effect of extracts obtained from *Pleurotus sajor-caju* fruiting bodies. **Appl. Biochem. Biotechnol.** 160: 2265- 2274.

- Decker, E. A. (1997). Phenolics: prooxidants or antioxidants? **Nutr. Rev.** 55: 396-407.
- Dias, E.S., Koshikumo, E., Schwan, R.F., Silva, R.d. 2003. Cultivo do cogumelo *Pleurotus sajor-caju* em diferentes resíduos agrícolas. **Ciênc. Agrotec.** 27(6): 1363-1369.
- Dias, E. S. (2010). Mushroom cultivation in Brazil: challenges and potential for growth. **Cienc. Agrotec.** 34: 795-803.
- Dreosti, I.E. (2000). Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. **Nutrition.** 16(7): 692-694.
- Dubost, N.J.; Beelman, R.B.; Peterson, D.; Royse, D.J. (2006). Identification and quantification of ergothioneine in cultivated mushrooms by liquid chromatography-mass spectroscopy. **Int. J. Med. Mushrooms.** 8(3): 215-222.
- Dubost, N.J.; Ou, B.; Beelman, R.B. (2007). Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity. **Food Chem.** 105(2): 727-735.
- Duprat, M.F.L.B. (2012). Estudo da produção de *Pleurotus ostreatus* em resíduos de *Bactris gasipaes* (pupunheira). **Dissertação de mestrado.** Engenharia de Processos, Universidade da Região de Joinvile. Joinvile, Brasil.
- Eira, A.F. (2003). **Cultivo do “cogumelo do sol” *Agaricus blazei* (Murrill) SS. Heinemann.** Viçosa: Aprenda Fácil. 203p.
- Eira, A.F. (2004). **Fungos comestíveis.** In: Espósito, E.; Azevedo, J.L. (Ed.). **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia.** Caxias do Sul: EDUCS. 379p.
- EMBRAPA. (2013). Recursos genéticos e biotecnologia. Embrapa abre inscrições para o 44º Curso de cultivo de cogumelos comestíveis e medicinais. **Disponível (online)** [http://www.cenargen.embrapa.br/\\_comunicacao/2013/noticias/007\\_noticias.html](http://www.cenargen.embrapa.br/_comunicacao/2013/noticias/007_noticias.html) (5 de maio).
- Endo, A.; Kuroda, M.; Tsujita, Y. (1976). ML-236A, ML-236B, and ML-236C, new inhibitors of cholesterologenesis produced by *Penicillium citrinium*. **J. Antibiot.** 29(12): 1346-8.

- Ergönül, P. G.; Akata, I.; Kalyoncu, F.; Ergönül, B. (2013). Fatty acid compositions of six wild edible mushroom species. **Sci. World J.** 1-4.
- Ey, J.; Schömig, E.; Taubert, D. (2007). Dietary sources and antioxidant effects of ergothioneine. **J. Agric. Food Chem.** 55(16): 6466-6474.
- Fernandes, Â.; Barros, L.; Martins, A.; Herbert, P.; Ferreira, I.C. (2015). Nutritional characterisation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) P. Kumm. produced using paper scraps as substrate. **Food Chem.** 169: 396-400.
- Figueiró, G.G.; Gracioli, L.A. (2011). Influência da composição química do substrato no cultivo de *Pleurotus florida*. **Ciênc. Agrotec.** 35(5): 924-930.
- Fine, A.M. (2000). Oligomeric proanthocyanidin complexes: history, structure, and phytopharmaceutical applications. **Altern. Med. Rev.** 5(2): 144-151.
- Finimundy, T. C., Gambato, G., Fontana, R., Camassola, M., Salvador, M., Moura, S., Roesch Ely, M. (2013). Aqueous extracts of *Lentinula edodes* and *Pleurotus sajor-caju* exhibit high antioxidant capability and promising in vitro antitumor activity. **Nutr. Res.**, 33(1), 76–84.
- Franco, L. (2006). No reino dos cogumelos. **Revista Globo Rural.** 253: 56-64.
- Furlani, R.P.Z. (2004). Valor nutricional de cogumelos cultivados no Brasil. **Tese Doutorado.** Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, Brasil.
- Furlani, R.P.Z.; Godoy, H.T. (2005). Valor nutricional de cogumelos comestíveis: uma revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz.** 64(2): 149-154.
- Furlani, R.P.Z.; Godoy, H.T. (2007). Valor nutricional de cogumelos comestíveis. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** 27(1): 154-7.
- Hajjaj H, Van Den Broek P, Niederberger P, Fay L-B, Mace C, Neeser J-R. (2003). Koji molds Fo preparing cholesterol lowering products. **United states Patent** 10,350,227.
- Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. **Biochem. Soc. Trans.** 35: 1147- 1150.

- Hibbett, D.S.; Binder, M.; Bischoff, J.F.; Blackwell, M.; Cannon, P.F. (2007). A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. **Mycol Res.** 111(5): 509-47.
- Hong, S.T.; Kim, H.J.; Lee, D.K.; Yang, W.Y. (2002). Adding a microbial culture of a fermentation media containing an anticholesterol agent to animal feed. **United States Patent** 10,157,519.
- Ikewuchi, J. C., Ikewuchi, C. C., Ifeanchi, M. O., Igboh, N. M., & Ijeh, I. I. (2013). Moderation of hematological and plasma biochemical indices of sub-chronic salt-loaded rats by aqueous extract of the sclerotia of *Pleurotus tuberregium* (Fr) Sing's: Implications for the reduction of cardiovascular risk. **J. Ethnopharmacol.** 150(2): 466–476.
- Im, K. H., Nguyen, T. K., Shin, D. Bin, Lee, K. R., & Lee, T. S. (2014). Appraisal of antioxidant and anti-inflammatory activities of various extracts from the fruiting bodies of *Pleurotus florida*. **Molecules.** 19(3): 3310–26.
- Jang, J.H.; Aruoma, O.I.; Jen, L.S.; Chung, H.Y.; Surh, Y.J. (2004) Ergothioneine rescues PC12 cells from beta-amyloid-induced apoptotic death, *Free Radic. Biol. Med.* 36: 288-299.
- Javiel, N.; Marimuthu, P. (2010). Isolation and screening of lovastatin producing microorganisms. **Int J Eng Sci Technol.** 2(7): 2607–11.
- Jayakumar, T.; Thomas, P.A.; Geraldine, P. (2009). In-vitro antioxidant activities of anethanolic extract of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*. **Innov. Food Sci. Emerg. Technol.** 10: 228-234.
- Kampa, M.; Alexaki, V.-I.; Notas, G.; Nifli, A.-P.; Nistikaki, A.; Hatzoglou, A.; Bakogeorgou, E.; Kouimtoglou, E.; Blekas, G.; Boskou, D. (2004). Antiproliferative and apoptotic effects of selective phenolic acids on T47D human breast cancer cells: potential mechanisms of action. **Breast Cancer Res.** 6(2): 63-74.
- Kao, Y.H., Hiipakka, R.A., Liao, S. (2000). Modulation of endocrine systems and food intake by green tea epigallocatechin gallate 1. **Clin. Endocrinol.** 141(3): 980-987.

- Kato, Y.; Kubo, Y.; Kato, D.S.; Sudo, T.; Sugiura, T.; Kagaya, T.; Wakayama, T.; Hirayama, A.; Sugimoto, M.; Sugihara, K.; Kaneko, S.; Soga, T.; Asano, M.; Tomita, M.; Matsui, T.; Wada, M.; Tsuji, A. (2010). Gene knockout and metabolome analysis of carnitine/ organic cation transporter OCTN1. **Pharm. Res.** 27: 832–840.
- Kim, M.Y.; Seguin, P.; Ahn, J.K.; Kim, J.J.; Chun, S.C.; Kim, E.H.; Seo, S.H.; Kang, E.Y.; Kim, S.L.; Park, Y.J. (2008). Phenolic compound concentration and antioxidant activities of edible and medicinal mushrooms from Korea. **J. Agr. Food Chem.** 56(16): 7265-7270.
- Kimura, K.; Kimura, K.; Komagata, D.; Murakawa, S.; Endo, A. (1990). Biosynthesis of monacolins conversion of monacolin J to monacolin K. **J Antibiot.** 43(12):1621-2.
- Kirk, P.; Cannon, P.; Minter, D.; Stalpers, J. (2008). **Dictionary of the Fungi.** 10 ed. Wallingford, UK: CABI. 784p.
- Lamhonwah, A.M.; Tein, I. (2006). Novel localization of OCTN1, an organic cation/carnitine transporter, to mammalian mitochondria, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 345: 1315-1325.
- Laurenza, R.; Colognato, L.; Migliore, S.; Del Prato, L. B. (2008) Modulation of palmitic acid-induced cell death by ergothioneine: evidence of an anti-inflammatory action. **Biofactors.** 33:237–247.
- Lee, S.-J.; Umamo, K.; Shibamoto, T.; Lee, K.G. (2005). Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum L.*) and thyme leaves (*Thymus vulgaris L.*) and their antioxidant properties. **Food Chem.** 91(1): 131-137.
- Leone, E.; Mann, T. (1951). Ergothioneine in the seminal vesicle secretion. **Nature.** 168: 205-206.
- Li, H.; Wang, X.; Li, Y.; Li, P.; Wang, H. (2009). Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. **Food Chem.** 112(2): 454–460.

- Lin, J.T.; Liu, C.W.; Chen, Y.C.; Hu, C.C.; Juang, L.D.; Shiesh, C.C.; Yang, D.J. (2014). Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory properties for ethanolic extracts from *Pleurotus eryngii* fruiting bodies harvested at different time. **LWT**. 55(1): 374-382.
- Liu, R.H. 2004. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. **J. Nutr.** 134(12): 3479-3485.
- Lu, J.; Lin, P.H.; Yao, Q.; Chen, C. (2010). Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. **J. Cell Mod. Med.** 14: 840-860.
- Mandeel, Q.A.; Al-Laith, A.A.; Mohamed, S.A. (2005). Cultivation of oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) on various lignocellulosic wastes. **World J. Microbiol. Biotechnol.** 21(4): 601-607.
- Manzi P.; Pizzoferrato L. (2000). Beta-glucans in edible mushrooms. **Food Chem.** 68: 315-318.
- Mattila, P.; Könkö, K.; Eurola, M.; Pihlava, J.M.; Astola, J.; Vahteristo, L.; Hietaniemi, V.; Kumpulainen, J.; Valtonen, M.; Piironen, V. (2001). Contents of vitamins, mineral elements, and some phenolic compounds in cultivated mushrooms. **J. Agric. Food Chem.** 49(5): 2343-2348.
- Melville, D.B.; Genghof, D.S.; Inamine, E.; Kovalenko, V. (1956). Ergothioneine in microorganisms. **J. Biol. Chem.** 223: 9-17.
- Miura, Y.; Chiba, T.; Tomita, I.; Koizumi, H.; Miura, S.; Umegaki, K.; Hara, Y.; Ikeda, M. (2001). Tea catechins prevent the development of atherosclerosis in apoprotein E-deficient mice. **J. Nutr.** 131(1): 27-32.
- Nelson, D. L.; Lehinger, A. L.; Cox, M. M. (2011). **Principios de bioquímica de Lehninger**. 5ed. Porto Alegre: Artmed. 1273 p.
- Oke, F.; Aslim, B. (2011). Protective effect of two edible mushrooms against oxidative cell damage and their phenolic composition. **Food Chem.** 128: 613-619.



- Oliveira, M.A.d.; Donega, M.A.; Peralta, R.M.; Souza, C.G.M.d. (2007). Production of spawn for edible mushroom *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quélet-CCB19 using agricultural wastes. **LWT**. 27: 84-87.
- Olthof, M. R.; Hollman, P. C.; Katan, M. B. (2001). Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. **J. Nutr.** 131(1): 66-71.
- Pauli, P.A. (2010). Avaliação da Composição Química, Compostos Bioativos e Atividade Antioxidante em Cogumelos Comestíveis. **Dissertação de mestrado**. Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, UNESP, Araraquara, Brasil.
- Peralta, R.M. (2008). Aproveitamento de resíduos de frutas para a produção de enzimas lignocelulolíticas por basidiomicetos. In: SICOG - Simpósio Internacional de Cogumelos. p. 99 - 302. Caxias do Sul.
- Pfeiffer, C.; Bauer T.; Surek, B.; Schomig, E.; Grundemann, D. (2011). Cyanobacteria produce high levels of ergothioneine. **Food Chem.** 129: 1766-1769.
- Putzke, J.; Putzke, M.T.L. (1998). **Os Reinos dos Fungos**. Santa Cruz do Sul: EDUNISC. Vol.1. 606p.
- Puttaraju, N.G.; Venkateshaiah, S.U.; Mallaiiah, S.; Mysore, S.; Urs, N.; Somasundaram, R. (2006). Antioxidant activity of indigenous edible mushrooms. **J. Agric. Food Chem.** 54: 9764–9772.
- Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants and co-factors. **Clin. Interv. Aging.** 2: 219-236.
- Reis, F. S.; Martins, A.; Barros, L.; Ferreira, I. C. (2012). Antioxidant properties and phenolic profile of the most widely appreciated cultivated mushrooms: a comparative study between in vivo and in vitro samples. **Food Chem. Toxicol.** 50(5): 1201-1207.

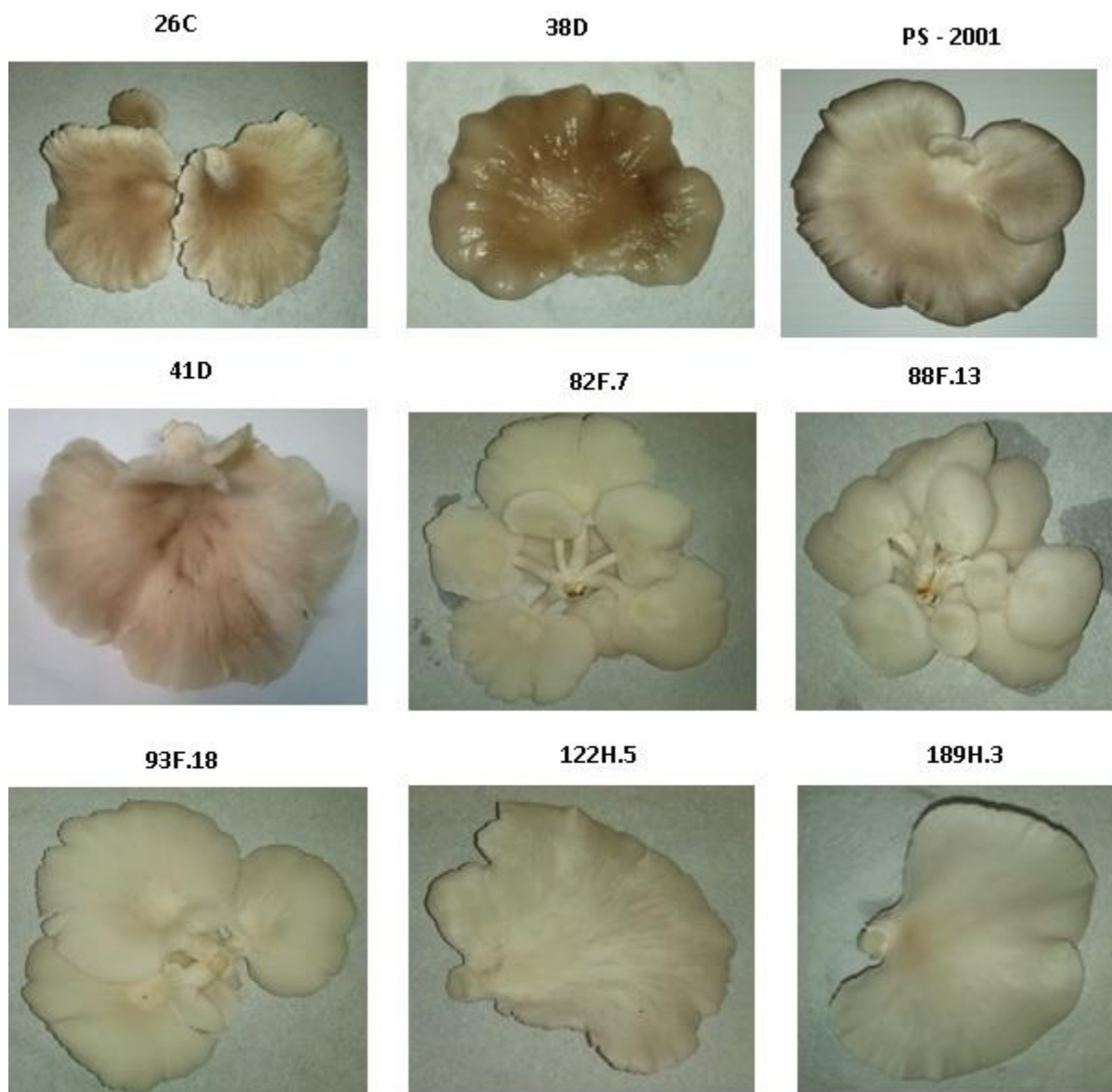
- Rice-Evans, C.A.; Miller, N.J.; Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radic. Biol. Med.** 20(7): 933-956.
- Rodríguez, J.A.; Frade, B.L.; Alfonso, A.T.; Rodríguez, J.A.S; Prieto, O.G.; Martín, E.A; Jarauta, T.P. (1990). **Guia de hongos de la península Ibérica.** Claves - Descripciones - Fotografía. 3 ed. León - noroeste peninsular: CELARAYN. 547p.
- Sales-Campos, C. (2008). Aproveitamento de resíduos madeireiros e da agroindústria regional para o cultivo de fungos comestíveis de ocorrência na região amazônica. **Tese Doutorado.** Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Brasil.
- Sales-Campos, C.; Araujo, L.M.; Minhoni, M.T.A.; Andrade, M.C.N. (2011). Physiochemical analysis and centesimal composition of *Pleurotus ostreatus* mushroom grown in residues from the Amazon. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** 31(2): 456-461.
- Sales-Campos, C.; Andrade, M.C.N. (2011). Aproveitamento de resíduos madeireiros para o cultivo do cogumelo comestível *Lentinus strigosus* de ocorrência na Amazônia. **Acta Amazônica.** 41(1): 1-8.
- Sánchez, A.; Ysunza, F.; Beltrán-García, M.J. Esqueda, M. (2002). Biodegradation of Viticulture Wastes by *Pleurotus*: A Source of Microbial and Human Food and Its Potential Use in Animal Feeding. **J. Sci. Food Agric.** 50:2537-2542.
- Santos, V.M.C.S. (2000). Contribuição ao estudo da produção de *Pleurotus* spp. em resíduos lignocelulósicos. **Dissertação Mestrado.** Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Brasil.
- Scariot, M.R.; Rak, L.; Costa, S.M.G.; Clemente, E. (2000). Composição química de cogumelos comestíveis cultivados em resíduo de algodão (*Gossypium hirsutum* L.). **Acta Sci., Agron.** 22(2): 317-320.

- Shires, T.K.; Brummel, M.C.; Pulido, J.S.; Stegink, L.D. (1997). Ergothioneine distribution in bovine and porcine ocular tissues, **Comp. Biochem. Physiol. C Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.** 117: 117-120.
- Silva, A.C.; Oliveira, M.C.; Del Ré, P.V.; Jorge, N. (2009). Utilização de extrato de cogumelo como antioxidante natural em óleo vegetal. **Ciênc. Agrotec.** 33(4): 1103-8.
- Smiderle, F.R.; Olsen, L.M.; Carbonero, E.R.; Baggio, C.H.; Freitas, C. S.; Morcon, R.; Santos, A.R.S.; Gorin, P.A.J.; Iacomini, M. (2008). Anti-inflammatory and analgesic properties in a rodent model of a (1→3), (1→6)-linked  $\beta$ -glucan isolated from *Pleurotus pulmonarius*. **Eur. J. Pharmacol.** 597: 86-91.
- Soares SE. (2002). Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Rev Nutr.** 15(1): 71-81.
- Stamets, P. (2000). **Growing gourmet and medicinal mushrooms.** 3ed. Berkeley: Ten Speed Press.
- Sturion, G.L.; Oetterer, M. (1995). Composição química de cogumelos comestíveis (*Pleurotus* spp.) originados de cultivos em diferentes substratos. **Ciencia Tecnol. Aliment.** 15(2): 189-193.
- Sturion, G.L.; Ranzani, M.R.C. (2000). Mineral composition of edible mushrooms cultivated in Brazil - *Pleurotus* spp. and others dehydrated species. **Arch. Latinoamer. Nutric.** 50: 102-8.
- Treutter, D. (2006). Significance of flavonoids in plant resistance: a review. **Environ. Chem. Lett.** 4: 147-157.
- Tsao, R. (2010). Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. **Nutrients.** 2: 1231-46.
- Urban, A.F. (2004). **Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada.** 2ed. rev. Ampl.– Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 186 p.
- Valentão, P., Lopes, G., Valente, M., Barbosa, P., Andrade, P.B., Silva, B.M., Baptista, P., Seabra, R.M. (2005). Quantitation of nine organic acids in wild mushrooms. **J. Agric. Food Chem.** 53(9): 3626-3630.

- Webster, J.; Weber, R. (2007). Introduction to fungi. 3. ed. New York: Cambridge University Press.
- Willet, W.C. (2001) Eat. Drink and be healthy – the harvard medical school guide to healthy eating. New York: Simon and Schuster.
- Woldegiorgis, A.Z.; Abate, D.; Haki, G.D.; Ziegler, G.R. (2014). Antioxidant property of edible mushrooms collected from Ethiopia. **Food Chem.**157: 30-36.
- Wolff, E.R.S.; Wisbeck, E.; Silveira, M.L.L.; Gern, R.M.M.; Pinho, M.S.L.; Furlan, S. A. (2008). Antimicrobial and antineoplastic activity of *Pleurotus ostreatus*. **Appl Biochem Biotechnol.** 151: 402-412.
- Zahid, M.; Barua, S.; Haque, S. (2012). Proximate composition and mineral content of selected edible mushroom varieties of Bangladesh. **Bangladesh J. Nutr.** 22: 61-68.
- Zied, D.C.; Minhoni, M.T.A.; Sales-Campos, C.; Andrade, M.C.N. (2011). Avaliação *in vitro* do crescimento micelial de cinco linhagens de *Agaricus blazei* em duas temperaturas. **Ambiência.**7(1): 113 -9.

## 7. ANEXOS

### 7.1 Cogumelos cultivados



**Figura 8.** Macrofungos do gênero *Pleurotus* cultivados em meio serragem.

Fonte: arquivo pessoal autor.