

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIA DOS ALIMENTOS**

**AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA, COMPOSTOS
BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM
COGUMELOS COMESTÍVEIS**

PRISCILA ABACKERLI DE PAULI
Biotecnóloga

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências
Farmacêuticas de Araraquara, UNESP, para obtenção do
título de Mestre em Ciência dos Alimentos

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. CÉLIA MARIA DE SYLOS

ARARAQUARA – 2010

Dedico este trabalho aos meus pais, Leila e Laercio, que sempre me incentivaram a estudar, ao meu marido Leandro pela agradável companhia e à minha avó Santa, que mesmo ausente deste mundo continua me ajudando nas dificuldades.

Agradecimentos

À Deus.

À minha família, a melhor que pode existir, pelo apoio e ajuda em todas as horas difíceis.

Ao meu marido Leandro, pelo companheirismo de muitos anos e pela paciência em ouvir meus problemas.

À minha tia Denise, pela disposição em passar seus conhecimentos e por fornecer todo o material necessário à minha pesquisa.

Ao meu tio Álvaro, pelos conselhos e por ser sempre um exemplo a ser seguido.

À minha orientadora Célia Maria de Sylos pela oportunidade e ensinamentos.

Aos meus amigos de laboratório Mateus, Renato, Camila, José Fernando, Hitty, Raíssa, Mariana e Gisele, pelas risadas e ótima convivência.

À LÍlian, pela amizade, conselhos, e por tornar o trabalho no laboratório muito mais divertido.

Às meninas do laboratório de análise de águas, Paola, Fernanda, Josiane, Rosa, Roberta e Adriana, pelos momentos de descontração e alegria.

À Bruna da Cosmetologia, pela grande paciência em me ajudar com os antioxidantes.

À Lica, pela convivência e ajuda nas dificuldades.

À Mariana, por estar sempre disposta a me ajudar e por fazer parte da minha vida

A todos os meus amigos que sempre me ouviram rir e chorar.

À Capes pelo suporte financeiro.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr^a. Célia Maria de Sylos

Marcelo Antonio Morgano

Silvia Amélia Verdiani Tfouni

Araraquara, 28 de maio de 2010.

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
INTRODUÇÃO GERAL	10
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	11
OBJETIVOS	13
 CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
1.1 - Cogumelos	15
1.2 – Composição Química	17
1.3. Compostos Antioxidantes	19
1.4. Compostos fenólicos	20
1.5. Flavonóides	21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
 CAPÍTULO 2 - COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E VITAMINAS EM COGUMELOS	26
RESUMO	27
ABSTRACT	27
1. INTRODUÇÃO	28
2. MATERIAL E MÉTODOS	29
2.1. Amostras	29
2.2. Determinação da composição centesimal	29
2.3. Determinação de Tiamina (vitamina B ₁) e Riboflavina (vitamina B ₂)	29
2.3.1. Extração da Tiamina e da Riboflavina	29
2.3.2. Separação Cromatográfica da Tiamina	30
2.3.3. Separação Cromatográfica da Riboflavina	30
2.4. Determinação de Piridoxina (vitamina B ₆)	30
2.4.1. Extração da Piridoxina	30
2.4.2. Separação Cromatográfica da Piridoxina	30
2.5. Determinação de Niacina (vitamina B ₃)	31
2.5.1. Extração da Niacina	31
2.5.2. Separação Cromatográfica da Niacina	31

2.6. Análise Estatística	31
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
3.1. Composição centesimal	31
3.2. Vitaminas.....	35
4. CONCLUSÃO	38
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38

CAPÍTULO 3 - MINERAIS E CONTAMINANTES INORGÂNICOS ENCONTRADOS EM COGUMELOS COMESTÍVEIS CULTIVADOS NA REGIÃO DE CAMPINAS

(SP).....	41
RESUMO	42
ABSTRACT.....	42
1. INTRODUÇÃO.....	43
2. MATERIAL E MÉTODOS	44
2.1. Amostras.....	44
2.2. Vidraria.....	45
2.3. Metodologia analítica	45
2.3.1 Digestão por via seca.....	45
2.3.2 Digestão em sistema fechado assistido por microondas.....	45
2.4. Instrumentação.....	46
2.5. Curvas analíticas.....	47
2.6. Desempenho do método analítico para preparo da amostra	47
2.7. Análise Estatística	48
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
3.1. Desempenho do método analítico.....	48
3.2. Minerais em cogumelos.....	50
ELEMENTOS	51
Potássio.....	51
4. CONCLUSÃO	54
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

CAPÍTULO 4 - ADEQUAÇÃO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS EM COGUMELOS COMESTÍVEIS.....

RESUMO	58
--------------	----

ABSTRACT.....	58
1. INTRODUÇÃO	58
2. MATERIAL E MÉTODOS	59
2.1. Amostras.....	59
2.2. Escolha das condições de extração dos compostos fenólicos.....	59
2.3. Determinação de fenólicos totais.....	60
2.4. Análise Estatística	60
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60
4. CONCLUSÃO.....	62
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
 CAPÍTULO 5 - CONTEÚDO DE FENÓLICOS E FLAVONÓIDES TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM COGUMELOS COMESTÍVEIS.....	64
RESUMO	65
ABSTRACT.....	65
1. INTRODUÇÃO.....	66
2. MATERIAL E MÉTODOS	67
2.1. Amostras.....	67
2.2. Preparo dos extratos	67
2.3. Determinação do conteúdo de Compostos Fenólicos totais	67
2.4. Determinação de Flavonóides Totais	68
2.5. Capacidade antioxidante pelo método de DPPH [•]	68
2.6. Análise Estatística	68
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
3.1. Fenólicos e flavonóides totais	69
3.2. Capacidade antioxidante pelo método de DPPH [•]	70
4. CONCLUSÃO	71
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
CONCLUSÃO GERAL	73

RESUMO

Os cogumelos medicinais são usados no Oriente há milhares de anos, por serem considerados benéficos à saúde, tanto como medicina curativa quanto preventiva. Além da importância gastronômica e do seu valor medicinal, atualmente tem sido relatada a sua importância como alimento funcional. De uma forma geral, os cogumelos possuem alta quantidade de umidade, proteínas e fibras, e baixos teores de lipídeos. Estudos epidemiológicos têm demonstrado uma relação inversa entre o consumo de alimentos ricos em antioxidantes, e a ocorrência de doenças como câncer, Alzheimer e aterosclerose. Os objetivos deste trabalho foram determinar a composição centesimal, o conteúdo de vitaminas do complexo B, de minerais, adequar uma metodologia para a determinação de fenólicos totais, determinar os teores de compostos fenólicos totais, flavonóides totais e a capacidade antioxidante do radical DPPH de seis espécies de cogumelos comestíveis. A umidade média entre as espécies foi de 90%. O Champignon de Paris apresentou o maior teor de cinzas (11,3%) e a menor quantidade de fibra alimentar total (20,0%) e o *Oudemansiella canarii* destacou-se pela grande quantidade de lipídeos (9,5%). As proteínas variaram de 14,8 a 27% entre as espécies. De uma forma geral, os cogumelos não apresentam grandes quantidades de vitaminas B₁, B₂, B₃ e B₆. As variedades Champignon de Paris e *Oudemansiella canarii* apresentaram maiores teores dos minerais determinados, e os minerais encontrados em maior quantidade entre as espécies foram potássio, cobre e fósforo. O Champignon de Paris e o *O. canarii* foram as variedades que apresentaram, respectivamente, maiores teores de fenólicos totais e flavonóides totais (6,0 mgEAG/g e 2,8 mgEC/g). Já o cogumelo P. branco apresentou teores baixos tanto de fenólicos quanto de flavonóides (2,57 mgEAG/g e 0,39 mgEC/g, respectivamente). A atividade antioxidante foi medida pela porcentagem de inibição *versus* concentração e a variedade Champignon de Paris apresentou uma maior inibição a uma menor concentração, que pode ser relacionada à grande quantidade de compostos fenólicos totais.

ABSTRACT

The medicinal mushrooms are used in the Orient for thousands of years because they are beneficial to health, both in preventive and curative medicine. Besides the importance of their gastronomic and medicinal value, has been reported today their importance as functional food. In general, the mushrooms have a high amount of moisture, protein and fiber, and low levels of lipids. Epidemiological studies have shown an inverse relationship between consumption of foods rich in antioxidants, and the occurrence of diseases like cancer, Alzheimer and atherosclerosis. The objectives were to determine the composition, the content of B vitamins, minerals, adequate a methodology for the determination of phenolic compounds, determining the levels of total phenolics, total flavonoids and antioxidant capacity of DPPH radical of six species edible mushroom. The average humidity between species was 90%. The Champignon de Paris had the highest ash content (11.3%) and lower amount of total dietary fiber (20.0%) and *Oudemansiella canarii* highlighted by a large amount of lipids (9.5%). The proteins ranged from 14.8 to 27% between species. In general, the mushrooms do not have large amounts of vitamins B₁, B₂, B₃ and B₆. Varieties Champignon de Paris and *Oudemansiella canarii* showed higher levels of certain minerals, and minerals found in higher quantities among species were potassium, copper and phosphorus. The Champignon de Paris and the *O. canarii* varieties that were presented, respectively, higher levels of total phenolics and flavonoids (6.0 mgEAG/g and 2.8 mgEC/g). But the mushroom P. White showed both low levels of phenolic and flavonoids compounds (2.57 mgEAG/g and 0.39 mgEC/g, respectively). The antioxidant activity was measured by the percentage of inhibition versus concentration and the variety Champignon de Paris showed greater inhibition at lower concentration, which may be related to large amounts of phenolic compounds.

INTRODUÇÃO GERAL

A utilização dos cogumelos, tanto na medicina curativa quanto na preventiva, pelos povos orientais, ocorre há milhares de anos. Os egípcios achavam que era um presente do deus Osíris; os romanos chamavam de “alimento dos deuses” e utilizavam-no apenas em ocasiões especiais e os chineses acreditavam que era o “elixir da vida”. Já os índios mexicanos usavam os cogumelos como alucinógenos em rituais religiosos e de feitiçaria e também com fins terapêuticos (FURLANI e GODOY, 2005).

O número de cultivares existentes está estimado em 140 mil, sendo que destes apenas 10% são conhecidos (WASSER, 2002), e apenas dois mil são comestíveis (COUTINHO, 2009). Dentre esses, destaca-se o *Agaricus bisporus* (Champignon de Paris), o *Lentinus edodes* (Shiitake) e o *Pleurotus ostreatus* (Shimeji), que são as espécies mais conhecidas no Brasil (GRUPO URAKAMI, 2009), sendo que os dois primeiros ocupam, respectivamente, primeiro e segundo lugar em consumo no Brasil.

A produção mundial de cogumelos em 2004 foi de 4 milhões de toneladas/ano. Estima-se que até o ano de 2012 a produção chegue a 18 milhões de toneladas/ano, gerando cerca de 40 a 50 bilhões de dólares/ano (FAOSTAT, 2009). Segundo VILELA (2009), no Brasil não há dados oficiais sobre a produção de cogumelos, entretanto a região do Alto Tietê (SP) é a maior produtora. No Brasil, o consumo per capita ainda é baixo (aproximadamente 0,6 kg/ano) quando comparado com países da Europa e da Ásia (onde esse número varia de 3 a 3,5 kg/ano). A China é o país pioneiro no cultivo de cogumelos comestíveis, representando cerca de 70% da produção mundial, e produzindo comercialmente mais de 60 espécies, sendo que destas, 35 são exportadas para o mercado mundial (EMBRAPA, 2009).

Apesar de ainda serem pouco usados na alimentação brasileira, os cogumelos possuem excelente valor nutricional, com baixos teores de lipídeos e grandes quantidades de carboidratos e de proteínas, apresentando, também, todos os aminoácidos essenciais (FURLANI e GODOY, 2005; MATTILA *et. al.*, 2000). Além de todas essas características nutricionais, eles são bastante empregados no uso terapêutico, devido às várias substâncias bioativas que apresentam e que estão sendo identificadas. Essa aplicação tem colaborado largamente para o aumento no cultivo das variedades, já que muitas delas são vendidas como medicamentos, em cápsulas (como é o caso do *Agaricus blazei*, conhecido no Brasil como Cogumelo do Sol).

Dentre o potencial uso terapêutico dos cogumelos estão aqueles ligados às propriedades anti-tumorais presentes em diversas espécies, e também a outros benefícios como as propriedades antioxidantes, antiinflamatórias, antivirais, imunomoduladoras, diminuição do colesterol e diabetes, entre outras. Além disso, podem ser utilizados contra doenças auto-imunes como a artrite reumatóide e o lúpus (SMITH *et. al.*, 2002).

Mas grande parte dos dados existente sobre cogumelos é proveniente de estudos feitos nos países orientais, como Coréia, China e Japão, onde o cogumelo é um alimento vastamente consumido e acessível a grande parte da população. No Brasil, faltam dados que expressem realmente o perfil dos cogumelos cultivados no país, já que vários estudos evidenciam fatores que têm influência direta na composição das espécies (MATTILA *et. al.*, 2000; SALES-CAMPOS *et. al.*, 2008).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COUTINHO, L.N. Cultivo de espécies de cogumelo comestíveis. Disponível em: <<http://www.geocities.com/esabio.geo/cogumelo/agaricus.htm>>. Acesso em 27 de Abril de 2009.

EMBRAPA. RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA. Brasil e China vão intensificar cooperação para aumentar a produção e consumo de cogumelos. Disponível em <www.portaldoagronegocio.com.br>. Acesso em 04 de Setembro de 2009.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em <<http://faostat.fao.org>> . Acesso em 23 de Agosto de 2009.

FURLANI, R. P. Z.; GODOY, H. T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis: uma revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 64 (2), p. 149-154, 2005.

GRUPO URAKAMI. Conheça os cogumelos. Disponível em <www.cogumelosurakami.com>. Acesso em 15 de agosto de 2009.

MATTILA, P.; SUONPAA, K.; PIIRONEN, V. Functional properties of edible mushrooms. **Nutrition**. v. 16 (7/8), p. 694-696, 2000.

SALES-CAMPOS, C.; OLIVEIRA, L. A.; ARAUJO, L. M.; VAREJÃO, M. J. C.; ANDRADE, M. C. N. Composição mineral de uma linhagem de *Pleurotus ostreatus* cultivada em resíduos madeiros e agroindustriais da região amazônica. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.29(4), p. 868-872, out.-dez. 2009.

SMITH, J. ROWAN, N. J. SULLIVAN, R. Medicinal Mushrooms: Their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments. Cancer Research UK. University of Strathclyde, Maio, 2002.

VILELA, P. S. Cogumelos: Mercado e comercialização. Disponível em <www.faeng.org.br>. Acesso em 19 de Março de 2009.

WASSER, S. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. **Applied Microb. Biotech.**, v. 60 (3), p. 258-274, nov, 2002.

OBJETIVOS

- **Geral**

- Determinar a composição centesimal, as vitaminas, os minerais, os compostos bioativos e capacidade antioxidante em seis espécies de cogumelos: Shiitake (*Lentinus edodes*), Shimeji (*Pleurotus ostreatus*), Pleurotus salmon (*Pleurotus ostreatusroseus*), Pleurotus branco (*Pleurotus sajor-caju*), Champignon de Paris (*Agaricus bisporus*) e *Oudemansiella canarii*.

- **Específicos**

- Determinar a composição centesimal das seis espécies de cogumelos;
- Determinar o conteúdo das vitaminas B₁, B₂, B₃ e B₆ presentes nas variedades estudadas;
- Avaliar duas metodologias para digestão das amostras de cogumelos;
- Determinar a composição dos minerais potássio, fósforo, magnésio, cálcio, sódio, ferro, zinco, cobre e manganês e dos contaminantes inorgânicos cádmio, cobalto, cromo e chumbo em seis espécies de cogumelos utilizando a técnica de espectrometria de emissão óptica em plasma de argônio com acoplamento indutivo (ICP-OES);
- Adequar uma metodologia de extração para determinação dos compostos fenólicos totais;
- Determinar o teor de compostos fenólicos totais e flavonóides totais nas espécies estudadas através de reação colorimétrica com leitura da absorbância em espectrofotômetro;
- Determinar a capacidade antioxidante das seis espécies estudadas através do Método do radical DPPH[•];

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 - Cogumelos

Os cogumelos são conhecidos e utilizados há milhares de anos, principalmente em países orientais. A espécie mais cultivada no mundo é o Champignon de Paris (*Agaricus bisporus*), que também foi a primeira a ser cultivada no Brasil. Já o Shiitake (*Lentinus edodes*) ocupa o segundo lugar em consumo, mas tem sua importância medicinal devido às várias substâncias ativas que já foram isoladas e purificadas (FURLANI e GODOY, 2005). Nos últimos anos, espécies do gênero *Pleurotus* vêm ganhando espaço nas prateleiras dos mercados, por possuírem aromas e cores diferenciadas, como nas variedades shimeji, *Pleurotus* branco e *Pleurotus* salmon, conhecidos no exterior como “oyster mushrooms”, devido ao seu aspecto parecido com o de uma ostra. As figuras abaixo (1 a 6) apresentam algumas espécies de cogumelos comestíveis.



Figura 1. Shiitake



Figura 2. Shimeji



Figura 3. *Pleurotus* salmon



Figura 4. *Pleurotus* branco



Figura 5. Champignon de Paris



Figura 6. *Oudemansiella canarii*

Segundo a Embrapa (2009), os cogumelos possuem atividade anticâncer que está associada a polissacarídeos existentes na parede celular do corpo de frutificação (fruto), podendo estimular a formação de anticorpos que inibem o crescimento de tumores. Neste caso, o polissacarídeo mais importante conhecido é a Beta-glucana, que potencializa o sistema imunológico, aumentando as defesas naturais do corpo. Nos cogumelos, ela é constituída por ligações glicosídicas $\beta(1\rightarrow3)$ e $\beta(1\rightarrow6)$ (MANZI, 2000).

O mecanismo da ação anti-tumor ainda não é totalmente conhecido, mas pesquisadores acreditam que esses polissacarídeos estimulam a produção de muitos tipos de

células imunes, agindo como imunomoduladores, podendo regular a resposta imune tanto positivamente quanto negativamente (SMITH *et. al.*, 2002).

O Shiitake é a espécie mais estudada no combate ao câncer. Ele possui um polissacarídeo chamado lentiniana, de alta massa molecular, solúvel em água, resistente a ácidos e temperaturas elevadas, mas sensível a álcalis. Estima-se que o mecanismo de ação do lentiniana seja por estimulação do funcionamento dos macrófagos, que aumentam a produção de interleucina-1, substância esta que age combatendo os tumores. Além disso, ele também estimula a proliferação de linfócitos T, aumentando a secreção de interleucina-2 (SALGADO, 2009).

Estudos mostram que os cogumelos do gênero *Pleurotus* são eficientes na redução do colesterol sanguíneo, já que são produtores potenciais de lovastatina, o melhor agente farmacológico para diminuir o colesterol. A espécie *Pleurotus ostreatus* é a que possui maior concentração desta substância. Os polissacarídeos glucanas, além de combaterem as células cancerígenas, ainda produzem o agente antiviral pleuromutilina, que combate infecções virais como a gripe. O extrato de *Pleurotus* ainda possui atividade antimicrobiana, especialmente contra *Staphylococcus aureus* (BR-BUSINESS, 2009).

Os cogumelos possuem grande importância na indústria alimentícia, mas também podem ser usados pela indústria farmacêutica como matérias-primas para a fabricação de remédios.

Há muitos tipos de substratos que podem ser utilizados para o cultivo de cogumelos, como o bagaço e a palha da cana, folha de bananeira, serragem e troncos de árvores, sendo que a mais usada no Brasil é o eucalipto, pela facilidade de ser encontrada e pelo baixo custo. A fabricação do substrato é economicamente viável, já que usa, em sua maioria, resíduos agrícolas e agroindustriais. Quando descartado, ainda, o substrato pode ser utilizado para outros fins, como a adubação de hortas e plantações (FURLANI e GODOY, 2005).

Atualmente, a produção nacional de cogumelos comestíveis cresce 15% ao ano, em média. As principais espécies comestíveis cultivadas no Brasil são *Agaricus bisporus* (Champignon de Paris), *Lentinus edodes* (Shiitake) e *Pleurotus* spp (EIRA e MINHONI, 1997). Algumas espécies passaram de alimentos usados apenas pela alta gastronomia para alimentos usados pela população em geral. Dentre estas se destacam o Shiitake e o Shimeji (*Pleurotus ostreatus*) (FRANCO, 2006). Além do *Pleurotus ostreatus*, outros cogumelos do mesmo gênero vêm sendo produzidos para consumo humano. São eles, *Pleurotus branco* (*Pleurotus sajor-caju*) e o *Pleurotus salmon* (*Pleurotus ostreatoroseus*).

Os cogumelos podem ser encontrados no comércio na forma *in natura* ou processada (conservas ou desidratados) e, dependendo das condições de processamento e de estocagem, também podem ocorrer variações na sua composição.

Segundo a Embrapa (2009), um acordo foi firmado com a Universidade de Longyan (na China) para aumentar as pesquisas com cogumelos comestíveis e medicinais e incentivar o povo brasileiro a utilizá-lo na sua dieta diária. Um dos objetivos principais é promover a coleta do fungo em todo o país, a fim de identificar novas espécies de alto valor nutricional e medicinal para serem estudadas e incorporadas na alimentação brasileira.

1.2 – Composição Química

Em peso seco, os cogumelos contêm grandes quantidades de carboidratos (~60%), fibras (~34%) e proteínas (~23%), incluindo todos os aminoácidos essenciais e, em menores quantidades, minerais e algumas vitaminas como riboflavina, niacina e folato (MATTILA *et. al.*, 2000), além de baixos teores de lipídeos (~5%). Esses valores variam muito de acordo com o substrato usado, as condições de cultivo e frutificação e o estágio de desenvolvimento do cogumelo (MATTILA *et. al.*, 2001).

Os cogumelos possuem em torno de 90% de umidade (CRISAN e SANDS, 1978). Segundo Mattila *et. al.* (2001), um dos fatores mais importantes quando se trata de valor nutricional é o teor de umidade, pois este influencia diretamente na quantidade de matéria seca, e, desta forma, também na quantidade dos nutrientes presentes. Este autor afirma ainda que vários fatores ambientais podem afetar o conteúdo de umidade nos cogumelos durante o crescimento e armazenamento, como a temperatura e a umidade relativa do ar.

Os cogumelos apresentam baixas quantidades de lipídeos, variando de 1,1 a 8,3% segundo Chang e Miles (1989). Uma análise nos tipos de ácidos graxos encontrados em Shiitake cultivado na Índia mostrou que a quantidade de ácidos graxos insaturados é maior que a de saturados (77,7 : 22,3) sendo que os ácidos palmítico, oléico e linoleico representaram quase o total dos ácidos graxos estudados (LONGVAH e DEOSTHALE, 1998).

Mattila *et. al.* (2000) afirmam que os cogumelos apresentam de 19 a 35% de proteínas, incluindo todos os aminoácidos essenciais, e podem ser considerados boas fontes de proteínas. Para o cálculo de proteínas, deve-se levar em conta o fator de correção a partir do conteúdo de nitrogênio orgânico presente no alimento. O fator geral utilizado é 6,25 e

significa que as proteínas possuem 16% de nitrogênio totalmente digeríveis, desprezando compostos nitrogenados não protéicos que podem estar presentes. No entanto, os cogumelos possuem quantidades significativas de compostos nitrogenados não protéicos em suas paredes celulares (quitina). Desse modo, o fator de correção adotado para os cogumelos é 4,38, sugerindo que apenas 70% dos compostos nitrogenados presentes sejam digeridos (FURLANI e GODOY, 2005).

As fibras também estão presentes em quantidades consideráveis, tanto na forma solúvel como insolúvel. As principais fibras insolúveis são a celulose e a lignina. 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).

No Shiitake, este polissacarídeo é chamado de lentiniana. Estima-se que o mecanismo de ação do lentiniana seja por estimulação do funcionamento dos macrófagos, que aumentam a produção de interleucina-1, substância esta que age combatendo os tumores. Além disso, ele também estimula a proliferação de linfócitos T, aumentando a secreção de interleucina-2 (SALGADO, 2009).

O Champignon de Paris apresenta baixas quantidades de beta-glucana, mas é uma boa fonte de fibras insolúveis, que são extremamente importantes para o bom funcionamento do trato gastrointestinal (CLARKE, 2009).

As vitaminas são compostos orgânicos indispensáveis para o bom funcionamento do metabolismo (LEHNINGER, 1995). Por isso, torna-se importante o conhecimento da quantidade de vitaminas presentes nos alimentos. Segundo Mattila *et. al.* (2001), os cogumelos são boas fontes de algumas vitaminas como riboflavina, niacina e folatos.

Os minerais são extremamente importantes para o organismo por regularem o sistema biológico. A única forma de obtê-los é através da alimentação, pois não são sintetizados pelo organismo. Segundo Sales-Campos *et. al.* (2008), fatores como a espécie de fungo usada no cultivo e as condições ambientais têm influência direta na composição química dos cogumelos, principalmente nos minerais e na qualidade protéica.

O substrato também influencia diretamente a composição de minerais, pois as hifas dos cogumelos ficam em contato com esse composto e dele retiram seus elementos essenciais, podendo também acumular metais tóxicos como chumbo, mercúrio e arsênio (MOURA, 2008).

Um estudo feito com 1000 amostras de 400 espécies diferentes de cogumelos mostrou que, de uma forma geral, os minerais encontrados em ordem decrescente de concentração são o potássio, o fósforo, o enxofre, magnésio, cálcio e sódio. O autor afirma ainda que o potássio não está distribuído uniformemente nos cogumelos, sendo encontrado em maior concentração no píleo, seguido do estipe, parte formadora de esporos e por último os esporos. (KALAC, 2009).

KALAC (2009) descreve que, de uma maneira geral, a quantidade de elementos majoritários que os cogumelos apresentam variam de 100 a 400 mg/kg para o sódio; de 20.000 a 40.000 mg/kg para o potássio; de 100 a 500 mg/kg para o cálcio; de 800 a 1.800 mg/kg para o magnésio; de 5.000 a 10.000 mg/kg para o fósforo e de 1.000 a 3.000 mg/kg para o enxofre. Já os elementos traço que aparecem em maiores quantidades são o zinco (30 a 150 mg/kg), o ferro (30 a 150 mg/kg), o cobre (10 a 70 mg/kg) e o manganês (5 a 60 mg/kg).

A Portaria nº 27 da Secretaria da Vigilância Sanitária (ANVISA, 1998) classifica os alimentos de acordo com a quantidade de determinados nutrientes que ele contém. A descrição dos termos utilizados está apresentada na Tabela 1. O alimento é considerado “fonte” de alguma substância quando perfaz o mínimo de 15% da Ingestão Diária Recomendada do nutriente por 100 gramas do alimento; da mesma forma, o alimento possui “alto teor” de uma substância quando ele fornece o mínimo de 30% da Ingestão Diária Recomendada do nutriente por 100 gramas do alimento.

Tabela 1. Descrição dos termos usados para alimentos segundo a Portaria nº27 (ANVISA, 1998).

CLASSIFICAÇÃO	NUTRIENTE	DESCRIÇÃO
“Fonte”	Vitaminas e minerais	Mínimo de 15% do IDR* de referência/100 gramas do alimento
“Alto teor”	Vitaminas e minerais	Mínimo de 30% do IDR de referência/100 gramas do alimento

Ingestão Diária Recomendada (ANVISA, 2005).

1.3. Compostos Antioxidantes

Embora indispensável para a vida, o oxigênio pode causar danos ao organismo, já que o metabolismo celular promove a formação de radicais livres (BARROS *et. al.*, 2008; KITZBERGER, 2005). Esses radicais oxidam vários compostos como proteínas, ácidos

nucléicos, DNA e lipídeos, podendo levar à formação de doenças degenerativas (PRAKASH, 2009).

Os antioxidantes protegem as células do “estresse oxidativo” (CLARKE, 2009), por meio do sequestro dos radicais livres. Estudos epidemiológicos têm demonstrado uma relação inversa entre o consumo de frutas e vegetais, ricos em antioxidantes, e a ocorrência de doenças como câncer, Alzheimer e aterosclerose (WILLET, 2001). Os antioxidantes mais pesquisados são a vitamina E, vitamina C, carotenóides, e mais recentemente, os compostos fenólicos (DUBOST *et. al.*, 2007).

De acordo com Rufino *et al.*, 2007, os métodos para determinar a capacidade antioxidante podem ser baseados na captura do radical peroxila (ORAC, TRAP), no poder de redução do metal (FRAP, CUPRAC), na captura do radical hidroxila (método de desoxirribose), na captura do radical orgânico (ABTS, DPPH) e na quantificação dos produtos formados durante a peroxidação de lipídios (TBARS, oxidação do LDL, co-oxidação do caroteno).

Um dos métodos mais utilizados atualmente para avaliar a atividade antioxidante utiliza o radical DPPH[•] (1,1-difenil-2-picrilidrazil). O extrato é adicionado a uma solução metanólica deste radical, e a redução do DPPH[•] pode ser acompanhada através do decréscimo da absorbância a 515 nm. Quando o DPPH[•] é reduzido por um antioxidante ou por radicais, a absorbância diminui (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995). Os resultados podem ser expressos em % da redução da capacidade antioxidante ou como EC₅₀ (concentração para inibir em 50% a absorbância inicial do radical DPPH[•]) (KITZBERGUER *et. al.*, 2007).

Outro método bastante utilizado é através da captura do radical ABTS (2,2' – azinobis (3 – etilbenzotiazolina – 6 – ácido sulfônico)) que baseia-se na inibição do cátion ABTS por meio dos antioxidantes presentes na amostra. Como no método do DPPH, pode ser verificada a perda de coloração e consequentemente o decréscimo da absorbância a 734 nm. Uma curva padrão é feita com Trolox, um análogo solúvel da vitamina E, usado como antioxidante de referência. Os resultados são expressos em µM equivalente de Trolox em 1 grama ou 100 gramas de amostra (GOMES, 2009; RUFINO *et. al.*, 2007)

1.4. Compostos fenólicos

Compostos fenólicos são substâncias formadas por, no mínimo, um anel aromático, em que pelo menos um hidrogênio é substituído por um grupo hidroxila. A maioria é

encontrada sob a forma de ésteres ou de heterosídeos, e não na forma livre na natureza (SIMÕES *et. al.*, 2000).

Os compostos fenólicos são gerados como metabólitos secundário nas plantas e nos fungos, sendo considerado um dos grupos mais importantes associados ao poder antioxidante, já tendo sido descrita sua capacidade de quelar metais e inibir a lipoxigenase e os radicais livres (DECKER, 1997). Dentre os antioxidantes fenólicos mais comuns advindos de fontes naturais destacam-se os ácidos fenólicos, os taninos, os flavonóides e os tocoferóis (ANGELO e JORGE, 2007).

Os compostos fenólicos possuem moléculas que interagem com os radicais livres e são consumidos durante a reação. Essas moléculas podem ser simples ou com alto grau de polimerização, e se apresentam livres ou ligadas a açúcares e proteínas (ANGELO e JORGE, 2007).

Uma dieta rica em antioxidantes associada aos mecanismos de defesa endógenos (catalase, peroxidase, metaloproteínas e superóxido dismutase) pode ser eficiente no combate de processos oxidativos naturais do organismo, que ocorrem devido às formas de oxigênio extremamente reativas denominadas “substâncias reativas oxigenadas” ou ROS, as quais englobam os radicais livres. (DEGÁSPARI e WASZCZYNSKYJ, 2004).

Um dos métodos mais empregados para determinação dos compostos fenólicos utiliza o Reagente de Folin-Ciocalteu. Este reagente consiste na mistura dos ácidos fosfomolibídico e fosfotúngstico, sendo que o molibdênio encontra-se no estado de oxidação (cor amarela). Na presença de agentes redutores como os compostos fenólicos, são formados complexos molibdênio-tungstênio (cor azul). O número de grupos hidroxilas (ou grupos oxidáveis) determina a quantidade de cor formada. (OLIVEIRA *et al.*, 2009; ANGELO e JORGE, 2007)

1.5. Flavonóides

Consiste no mais importante grupo dos compostos fenólicos, sendo que a maioria dos flavonóides possui 15 átomos de carbono em sua estrutura química, chamada de núcleo fundamental, que é formada por duas fenilas ligadas por uma cadeia de três carbonos. Frequentemente encontram-se oxigenados e a maioria está conjugada com açúcares, sendo chamados de heterosídeos. Já na forma livre, são denominados agliconas (SIMÕES *et. al.*, 2000). A Figura 7 mostra uma estrutura básica dos flavonóides que consiste em um esqueleto de difenil propano (C₆-C₃-C₆) com dois anéis benzênicos (A e B) ligado a um anel pirano (C) (BEHLING *et al.*, 2004).

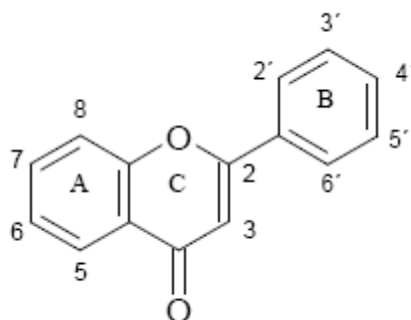


Figura 7. Estrutura básica dos flavonóides

Possuem ação antioxidante, antiplaquetária, antiinflamatória e antialergênicas, podendo também inibir certas enzimas ligadas a tumorigênese como a lipoxigenase e a ciclooxygenase. Nos alimentos, os flavonóides evitam o consumo da vitamina C, o que reduz a formação de radicais livres (DEGÁSPARI e WASZCZYNSKYJ, 2004).

Estudos sobre a ingestão de flavonóides sugerem que a quercetina é a principal contribuinte de flavonóis e flavonas, perfazendo 70% dos 23 mg/dia do total ingerido na Holanda, seguido pelo kaempferol (17%), miricetina (6%), luteolina (4%) e apigenina (3%) (KYLE e DUTHIE, 2006).

Já no Brasil, um estudo de Arabbi *et. al.* (2004) concluiu que os alimentos comumente ingeridos pelos brasileiros que são as principais fontes de flavonóides são a laranja (70%), a alface (9%) e o tomate (2,5%), e os principais flavonóides consumidos são os glicosídeos e a quercetina. A média de ingestão destes compostos no Brasil (17 a 88 anos) é de 79 mg/dia para as mulheres e 86 mg/dia para os homens.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: Uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, vol. 66, p.1-9, 2007.
- ARABBI, P. R.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Flavonoids in vegetable fruits commonly consumed in Brazil and estimated ingestion by the brazilian population. **J. Agric. Food Chem.**, v.52, p. 1124-1131, 2004.
- BARROS, L.; CRUZ, T.; BAPTISTA, P.; ESTEVINHO, L. M.; FERREIRA, I. C. F. R. Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. **Food. Chem. Toxic.** V. 46, p. 2742-2747, 2008.

BEHLING, E.; SENDÃO, M.; FRANCESCATO, H.; ANTUNES, L.; BIANCHI, M. Flavonóide quercetina: Aspectos gerais e ações biológicas. **Alim. e Nutr.** Araraquara - ISSN: 0103-4235 América do Norte, v. 15 (3), p. 285-292, 2004.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm. Wiss. Technol.**, v. 22, p. 25-30, 1995.

BR-BUSINESS. Shimeji. Disponível em <<http://br-business.com.br/port/shimeji.htm>>. Acesso em 03 agosto de 2009.

CLARKE, J. Mushrooms, The New Superfood. Disponível em http://www.mushroom-uk.com/health_professionals/mushroom-superfood.pdf. Acesso em 23 de Setembro de 2009.

CHANG, S. T.; MILES, P. G. Edible mushrooms and their cultivation. CRC Press, inc Boca Raton (FL), 1989.

CRISAN, E. V.; SANDS, A. Nutritional value. In S. T. Chang, & W. A. Hayes, The biology and cultivation of edible mushrooms p.137-165. **New York: Academic Press**, USA, 1978.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5 (1), p. 33-40, Jan.- Jun./2004.

DECKER, E. A. Phenolics: prooxidants or antioxidants? **Nutr. Rev.**, 55, 396–407, 1997.

DUBOST, N. J.; OU, B.; BEELMAN, R. B. Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity. **Food Chem.** , v.105, p. 727–735, 2007.

EIRA, A. F., MINHONI, M. T. A. Manual teórico: prático do cultivo de cogumelos comestíveis. 2. ed. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais PAF; FCA, UNESP, 115p. 1997.

EMBRAPA. RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA. Brasil e China vão intensificar cooperação para aumentar a produção e consumo de cogumelos. Disponível em <www.portaldoagronegocio.com.br>. Acesso em 04 de Setembro de 2009.

FRANCO, L. No reino dos cogumelos. **Revista Globo Rural** n. 253, p. 56-64, 2006.

FURLANI, R. P. Z.; GODOY, H. T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis: uma revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 64 (2), p. 149-154, 2005.

GOMES, F. S. Concentração de licopeno de suco de melancia através de processos de separação por membranas. Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFRRJ, 2009.

KALAC, P. Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. **Food Chem.** v. 113, p. 1033-1036, 2009.

KITZBERGER, C. S. G. Obtenção de Extrato de Cogumelo Shiitake (*Lentinula edodes*) com CO₂ a Alta Pressão. Dissertação submetida ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos. Florianópolis, 2005.

KITZBERGER, C. S. G.; SMÂNIA, A. J.; PEDROSA, R. C.; FERREIRA, S. R. S. Antioxidant and antimicrobial activities of shiitake (*Lentinula edodes*) extracts obtained by organic solvents and supercritical fluids. **J. Food Eng.** v. 80, p. 631-638, 2007.

KYLE, J. A. M.; DUTHIE, G. G. Flavonoids in foods. In Flavonoids: Chemistry, biochemistry and applications, editado por Andersen, O. M. e Markham, K. R., p. 219 – 259, Taylor & Francis Group, 2006.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Sarvier, 839p., 1995.

LONGVAH, T.; DEOSTHALE, Y. G. Compositional and Nutritional Studies on Edible wild Mushroom from Northeast India. **Food Chem.** v. 63 (3), p. 331-334, 1998.

MANZI, P.; PIZZOFERRATO, L. β -glucans in edible mushrooms. **Food Chem.**, v. 68 (3), p. 315-318, 2000.

MATTILA, P.; SUONPAA, K.; PIIRONEN, V. Functional properties of edible mushrooms. **Nutrition**. v. 16 (7/8), p. 694-696, 2000.

MATTILA, P., KONKO, K., EUROLA, M., PIHLAVA, J. M., ASTOLA, J., VAHTERISTO, L., HIETANIEMI, V., KUMPULAINEN, J., VALTONEN, M. e PIIRONEN V. Contents of vitamins, Mineral Elements, and Phenolic Compounds in Cultivated Mushrooms. **J. Agric. Food Chem.**, v. 49 (5), p. 2343-2348, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria da Vigilância Sanitária. Decreto nº 50040; Normas Técnicas Especiais Reguladoras do Emprego de Aditivos Químicos a Alimentos. 24 jan de 1961.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria da Vigilância Sanitária. Portaria nº 27; Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar (declarações relacionadas ao conteúdo de nutrientes), constantes do anexo desta Portaria. 13 jan de 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria da Vigilância Sanitária. RDC nº 269; Regulamento Técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. 22 set de 2005.

MOURA, P. L. C. Determinação de elementos essenciais e tóxicos em cogumelos comestíveis por análise por ativação com nêutrons. Dissertação apresentada para obtenção do Grau de Mestre em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações. Ipen, São Paulo, 2008.

OLIVEIRA, A. C. VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Quim. Nova**, vol. 32 (3), p. 689-702, 2009.

PRAKASH, A. Antioxidant activity. Disponível em <<http://www.medallionlabs.com/file.aspx?FileID=56>>. Acesso em 23 de Setembro de 2009.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: -Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela captura do Radical Livre DPPH. Comunicado Técnico on line. ISSN 1679-6535. Fortaleza. jul, 2007.

SALGADO, J. M. Cogumelos são deliciosos e fazem bem à saúde. Disponível em <www.sanavita.com.br>. Acesso em 15 agosto de 2009.

SALES-CAMPOS, C.; OLIVEIRA, L. A.; ARAUJO, L. M.; VAREJÃO, M. J. C.; ANDRADE, M. C. N. Composição mineral de uma linhagem de *Pleurotus ostreatus* cultivada em resíduos madeireiros e agroindustriais da região amazônica. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.29(4), p. 868-872, out.-dez. 2009.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Ed. Universidades/UFRGS/Ed. da UFSC, 2.ed., 2000.

SMITH, J. ROWAN, N. J. SULLIVAN, R. Medicinal Mushrooms: Their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments. Cancer Research UK. University of Strathclyde, Maio, 2002.

WILLET, W. C. Eat. Drink and be healthy – the harvard medical school guide to healthy eating. New York: Simon and Schuster, 2001.

CAPÍTULO 2

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E VITAMINAS EM COGUMELOS

Priscila Abackerli de PAULI -CREDENDIO

Célia Maria de SYLOS

RESUMO

Os cogumelos são alimentos utilizados tanto na gastronomia quanto na medicina, por apresentarem propriedades antiinflamatórias, antitumorais, antivirais e antioxidantes, dentre outras. O conhecimento sobre a composição centesimal e as vitaminas presentes nas variedades é extremamente importante, já que a produção de cogumelos comestíveis cresce em média 15% ao ano no Brasil. O objetivo deste trabalho foi determinar a composição centesimal e o conteúdo das vitaminas B₁, B₂, B₃ e B₆ em seis espécies de cogumelos: *Lentinus edodes* (Shiitake), *Agaricus bisporus* (Champignon de Paris), *Oudemansiella canarii* e *Pleurotus* *ssp.* (*Pleurotus* branco, *Pleurotus* salmon e Shimeji). A umidade média entre as espécies foi de 90%. O Champignon de Paris apresentou o maior teor de cinzas (11,3%) e a menor quantidade de fibra alimentar total (20%) e o *Oudemansiella canarii* destacou-se pela grande quantidade de lipídeos (9,5%). As proteínas variaram de 14,8 a 27% entre as espécies, sendo que o P. branco apresentou o menor valor e o P. salmon o maior valor. As três espécies de *Pleurotus* apresentaram grande teor de fibra alimentar total (41 a 46%). De uma forma geral, os cogumelos não apresentam grandes quantidades de vitaminas B₁, B₂, B₃ e B₆. Apenas o shimeji e o *O. canarii* podem ser considerados fontes de vitamina B₃.

Palavras-chave: cogumelos, composição centesimal, vitaminas, fibra alimentar total.

ABSTRACT

The mushrooms are foods used in both gastronomy and medicine, because they have anti-inflammatory, antitumor, antiviral and antioxidant properties, among others. Knowledge of the chemical composition and vitamins present in the varieties is extremely important, since the production of edible mushrooms grow on average 15% per year in Brazil. The goal of this study was to determine the composition and content of vitamins B₁, B₂, B₃ e B₆ in six mushrooms' species: *Lentinus edodes* (Shiitake), *Agaricus bisporus* (Champignon de Paris), *Oudemansiella canarii* and *Pleurotus* *ssp.* (white oyster, salmon oyster and Shimeji). The average humidity between species was 90%. The Champignon de Paris had the highest ash content (11.3%) and the fewest total dietary fiber (20%) and *Oudemansiella canarii* stood out for large amounts of lipids (9.5%). The proteins ranged from 14.8 to 27% among species, and the P. white showed the lowest value and the P. salmon the most value. The three species of

Pleurotus showed high levels of total dietary fiber (41 to 46%). In general, the mushrooms do not have large amounts of vitamins B₁, B₂, B₃ e B₆. Only shimeji and *O. canarii* may be considered sources of vitamin B₃.

Keywords: mushrooms, proximate composition, vitamins, dietary fiber.

1. INTRODUÇÃO

Os cogumelos são alimentos conhecidos e utilizados há milhares de anos e podem apresentar propriedades anti-tumorais, antiinflamatórias, antivirais e antioxidantes (SMITH *et. al.*, 2002). Além disso, é um excelente alimento, devido às suas características nutricionais (FURLANI e GODOY, 2005).

Desconsiderando-se a alta quantidade de água (aproximadamente 90% de umidade), apresentam altos teores de proteínas (~23%) e de fibras (~34%), baixas quantidades de calorias (em torno de 30 kcal/100g do produto fresco) e de lipídeos (~5%) e sua maior parte (com exceção da água) é constituída por carboidratos (MATTLA *et. al.*, 2000; FURLANI e GODOY, 2005). Além disso, Mattila *et. al.*, 2002 observaram em seus estudos que os cogumelos são uma boa fonte de quase todos os aminoácidos essenciais quando comparados com legumes como batatas, cenouras e couves-flores.

A maioria dos substratos que são utilizados para o cultivo dos cogumelos é proveniente de resíduos agrícolas e agroindustriais, como gramíneas, palhas, serragem de eucalipto, bagaço de cana e farelo de trigo. Depois do uso, pode ainda ser utilizado para adubação de hortas e plantações (FURLANI e GODOY, 2005).

As vitaminas são compostos orgânicos importantes para o organismo, mas que este não é capaz de sintetizar (LEHNINGER, 1995). O conhecimento de alimentos que contém vitaminas é essencial para evitar doenças como beribéri, escorbuto, raquitismo e xeroftalmia que são causadas por hipovitaminoses. Segundo estudos de Çaglarirmak (2007), shiitake e shimeji apresentam, respectivamente, 2,71 e 4,44 mg de niacina/100g de cogumelo em base úmida, o que representa, segundo este autor, que essas espécies estão adequadas à quantidade requerida de niacina na alimentação.

Segundo Bernás *et. al.* (2006), dentre algumas espécies populares de cogumelos comestíveis, o *Boletus edulis* foi a espécie que apresentou a maior quantidade de vitaminas do complexo B, enquanto que a espécie *Lentinus edodes* foi aquela com a menor quantidade deste componente.

O objetivo deste trabalho foi determinar a composição centesimal e o conteúdo de algumas vitaminas do complexo B das seguintes espécies de cogumelos: *Lentinus edodes* (Shiitake), *Agaricus bisporus* (Champignon de Paris), *Oudemansiella canarii* e *Pleurotus ssp.* (*Pleurotus* branco, *Pleurotus* salmon e Shimeji).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostras

Quatro lotes diferentes de amostras das espécies de cogumelos Shiitake (*Lentinus edodes*), Shimeji (*Pleurotus ostreatus*), *Pleurotus* salmon (*Pleurotus ostreatusroseus*), *Pleurotus* branco (*Pleurotus sajor-caju*), Champignon de Paris (*Agaricus bisporus*) e *Oudemansiella canarii* foram fornecidas pela empresa Zucca Alimentos localizada na cidade de Salto, região de Campinas (SP).

As amostras foram secas em estufa a 65°C (FABBE-PRIMAR), trituradas e acondicionadas em embalagens de vidro e estocadas até o momento da realização das análises, que foram feitas em triplicata.

2.2. Determinação da composição centesimal

Todas as determinações foram realizadas nas amostras secas, exceto a umidade, que foi feita através das amostras frescas. As determinações de cinzas, proteínas, e fibra alimentar total foram feitas segundo métodos descritos pelo AOAC, 1995. A quantificação de umidade foi realizada pelo método de secagem em estufa a 105°C; as cinzas foram determinadas em mufla a 550°C; o teor de proteínas foi feito pelo método de Kjeldahl, utilizando-se o fator de conversão 4,38, já que os cogumelos possuem uma significativa quantidade de compostos nitrogenados não protéicos (que não são digeridos) na forma de quitina, em suas paredes celulares (BREENE, 1990). A quantificação de lipídeos foi feita através do método de Bligh e Dyer (1959). A determinação de fibra alimentar total (FAT) foi feita pelo método enzimo-gravimétrico. O conteúdo de carboidratos foi calculado por diferença.

2.3. Determinação de Tiamina (vitamina B₁) e Riboflavina (vitamina B₂)

2.3.1. Extração da Tiamina e da Riboflavina

As extrações da Tiamina e da Riboflavina foram feitas de acordo com a metodologia da AOAC, 2005. Foram pesados cerca de 2,5g de amostra, adicionado 40mL de HCl 0,1N, autoclavado a 15lb de pressão por 15 minutos. O pH corrigido para 4,5 com acetato de sódio 20%. A amostra foi hidrolisada por 1 noite a temperatura ambiente com diastase e papaina. O extrato foi filtrado em papel, o volume ajustado para 50mL e filtrado em membrana de 0,45mcm.

2.3.2. Separação Cromatográfica da Tiamina

A separação cromatográfica foi realizada de acordo com o método de Weerdhof *et. al.*, 1973, utilizando-se um Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência, acoplado com detector de fluorescência com comprimento de onda de excitação de 362 nm e emissão de 464 nm. A fase móvel foi composta por 32,56 mM de KCl e metanol (85:15, v/v), com vazão de 0,5mL/min, coluna de fase reversa C18 com dimensões de 125 x 4 mm, 5 mm. A Tiamina foi detectada com derivação pós coluna com solução de ferricianeto de potássio.

2.3.3. Separação Cromatográfica da Riboflavina

A separação cromatográfica foi realizada de acordo com o método de Weerdhof *et. al.*, 1973, utilizando-se um Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência, acoplado com detector de fluorescência com comprimento de onda de excitação de 432 nm e emissão de 545 nm. A fase móvel foi composta por 38,33mM de KCl e metanol (70:30, v/v), com vazão de 0,7 mL/min, coluna de fase reversa C18 com dimensões de 125 x 4 mm, 5 mm.

2.4. Determinação de Piridoxina (vitamina B₆)

2.4.1. Extração da Piridoxina

A extração da Piridoxina foi feita de acordo com a metodologia da AOAC, 2005. Foram pesados 2,5g de amostra, adicionados 40mL de solução de HCl 0,44N, autoclavado a 15lb por 2horas. O pH foi ajustado para 4,5 com hidróxido de potássio 6N, filtrado em papel, o volume ajustado para 50mL e filtrada em membrana de 0,45mcm.

2.4.2. Separação Cromatográfica da Piridoxina

A separação cromatográfica foi realizada de acordo com o método de GREGORY e KIRK, 1978, utilizando-se um Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência, acoplado com detector de fluorescência com comprimento de onda de excitação de 295 nm e emissão de 405 nm. A fase móvel foi composta por fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4) 0,033M pH 2,2, com vazão de 0,7 mL/min, coluna de fase reversa C18 com dimensões de 125x4mm, 5mm.

2.5. Determinação de Niacina (vitamina B₃)

2.5.1. Extração da Niacina

A extração da Niacina foi feita de acordo com a metodologia da AOAC, 2005. Foram pesados 2,5g de amostra, adicionado 40mL de ácido sulfúrico 1N, autoclavado a 15 lb por 30 minutos. o pH foi ajustado para 4,5 com hidróxido de sódio 10N, filtrado em papel, o volume ajustado para 50mL e filtrado em membrana de 0,45mcm.

2.5.2. Separação Cromatográfica da Niacina

A separação cromatográfica foi realizada de acordo com o método de LAM *et. al.*, 1984, utilizando-se um Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência, acoplado com detector de arranjo de diodos com monitoração a 260nm. A fase móvel foi composta por 0,12 M de KH_2PO_4 , 1,25 mM de ácido heptanolsulfônico sal sódio e 5 mM trietilamina, pH 2,5 : metanol (97:03) (v/ v), com vazão de 0,8mL/min, coluna de fase reversa C18 com dimensões de 250 x 4 mm, 5 mm.

2.6. Análise Estatística

A análise estatística dos resultados foi realizada no programa OriginPro8 através de análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Composição centesimal

A Tabela 1 apresenta os resultados da composição centesimal e da umidade das seis variedades de cogumelos estudadas.

Os cogumelos “in natura” apresentam alto teor de umidade que em média de 90,2, e está de acordo com os dados oferecidos por Manzi *et. al.* (1999) que variam de 85,2 a 94,7%, bem como com os dados de Crisan e Sands (1978), que afirmam que a umidade dos cogumelos de uma maneira geral é de 90%. A espécie que apresentou maior umidade foi o champignon de Paris, com 92%, que está muito próximo do valor dado por Mattila *et. al.* (2001), que é de 92,3%, e é ligeiramente superior ao dado de Vetter (2003), de 90,5%. O champignon de Paris não possui diferença estatística significativa a $p < 0,05$ do shiitake (91,9%). Os dados deste estudo não concordam com os de Çaglarirmak (2007), que afirma que o shiitake possui menor teor de umidade que os cogumelos do gênero *Pleurotus*. Nesse estudo, o shimeji, P. branco e P. salmon apresentaram, respectivamente, 89,7%, 89,2% e 88,6%. Já a espécie *O. canarii* apresentou um teor de umidade de 90,2%.

Tabela 1. Composição centesimal das seis espécies de cogumelos estudados.

Cogumelos	Umidade (%)**	Cinzas (%)	Lipídeos (%)	Proteínas (%)	FAT ***(%)	Carboidratos (%)
Shiitake	91,9 ± 0,22 ^{a c}	6,7 ± 0,01 ^{a c}	3,9 ± 0,06 ^a	21,7 ± 1,0 ^a	41,0 ± 0,2 ^a	26,7 ± 0,4 ^a
Shimeji	89,7 ± 0,6 ^{a c}	7,4 ± 0,4 ^{a c}	3,4 ± 0,01 ^{a d}	24,8 ± 0,5 ^{b c}	41,0 ± 0,1 ^a	23,4 ± 0,08 ^b
Champignon de Paris	92,0 ± 0,05 ^b	11,3 ± 0,13 ^b	5,0 ± 0,07 ^b	23,4 ± 0,03 ^{a c}	20,0 ± 0,02 ^b	40,3 ± 0,03 ^c
Pleurotus branco	89,2 ± 0,36 ^a	6,2 ± 0,4 ^a	2,0 ± 0,3 ^c	14,8 ± 0,9 ^d	45,6 ± 0,8 ^a	31,4 ± 0,1 ^d
Pleurotus salmon	88,6 ± 1,1 ^{a c}	7,8 ± 0,10 ^{a c}	3,2 ± 0,1 ^d	27,0 ± 0,6 ^e	46,0 ± 0,2 ^a	16,0 ± 0,1 ^e
<i>O. canarii</i>	90,2 ± 0,5 ^c	8,3 ± 0,07 ^c	9,5 ± 0,2 ^e	18,1 ± 0,2 ^f	27,0 ± 0,04 ^b	37,1 ± 0,05 ^f

*Resultados expressos em base seca (média ± desvio padrão).

*Letras diferentes, na mesma coluna, são significativamente diferentes no teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

*Média obtida a partir de 04 lotes, sendo que cada lote foi feito em triplicata, em base seca.

** Resultado em base úmida (média ± desvio padrão).

*** FAT (fibra alimentar total)

A quantidade de cinzas variou de 6,2 a 11,3% entre as espécies, dado que concorda com o estudo de alguns autores que descreveram que este conteúdo varia de 5,27 a 10,5% (YANG *et. al.* 2001; MANZI *et. al.* 1999). A única exceção, que apresentou o maior teor de cinzas, foi o Champignon, que é estatisticamente diferente das outras espécies ao nível de significância de 5%, e que apresentou um valor ligeiramente menor aquele obtido por Furlani e Godoy (2007), que é de 11,98%. Ruegger *et. al.* (2001) encontraram teores menores de cinzas para o *O. canarii* (7,26%) do que o encontrado neste estudo. O P. branco foi a espécie que apresentou o menor teor de cinzas (6,2%), que foi bem próximo daquele descrito por Bonatti *et. al.*, 2004 (5,59%).

Os cogumelos apresentaram baixos teores de lipídeos (2,0 a 9,5%). De um modo geral, as três variedades do gênero *Pleurotus* tiveram os menores teores (2,0 a 3,4%). O Shiitake apresentou quantidade inferior à observada por Yang *et. al.* em 2001 (6,34%), mas superior à descrita por Longvah e Deosthale (1998), que foi de 2%. O Champignon de Paris obteve um teor intermediário entre as espécies estudadas (5,0%), e Vetter (2003) encontrou dados inferiores para esta variedade (2,28%). Já o *Pleurotus* branco obteve o menor valor deste estudo (2,0%), que foi inferior aos valores obtidos por Bonatti *et. al.* (2004) e Alam *et. al.* (2008), (4,99% e 4,41%, respectivamente). Destacou-se a espécie *Oudemansiella canarii*, evidenciando valores muito superiores às outras espécies estudadas, mas valores inferiores ao encontrado por Ruegger *et. al.* em 2001 (15,85%).

A quantidade de proteínas variou bastante (14,8 a 27,0%), estando na mesma faixa encontrada por Mattila *et. al.* (2000) (19 a 35%), exceto pelo P. branco e *O. canarii*, que apresentaram teores um pouco inferiores (14,8 e 18,1, respectivamente). O dado apresentado por Longvah e Deosthale (1998) para o Shiitake (23%) está muito próximo ao encontrado neste estudo (21,7%). Por outro lado, o Champignon teve dados muito inferiores aos de Vetter (2003) (34,84%). O P. branco e o P. salmon apresentaram valores superiores àqueles encontrados por Bonatti *et. al.* (2004) e Scariot *et. al.* (2000) (13,0% e 19,7%, respectivamente), sendo que foram as espécies que obtiveram, respectivamente, o maior e o menor conteúdo de proteínas dentre os cogumelos estudados. Já o *O. canarii* apresentou um valor ligeiramente inferior ao encontrado por Ruegger *et. al.*, 2001 (19,45%).

Os valores referentes às fibras também variaram bastante dentre as espécies (20,0 a 46,0%). O shiitake e o shimeji apresentaram o mesmo valor (41,0%), que não diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) dos valores do P. branco e P. salmon (45,6 e 46,0%, respectivamente). Os teores do champignon de Paris, shiitake e shimeji foram muito próximos àqueles encontrados por Furlani e Godoy (2007) (20,44%, 41,92% e 39,62%,

espectivamente). Não houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre as espécies champignon de Paris e *O. canarii*, que apresentaram os menores valores de fibras entre os cogumelos estudados. Bonatti *et al.* (2004) obtiveram em suas pesquisas um valor bastante inferior ao deste trabalho para o P. branco (9,60%).

Na determinação de carboidratos, todas as espécies apresentaram diferença estatística significativa ($p < 0,05$). A variedade Champignon de Paris foi aquela que apresentou o maior teor de carboidratos (40,3%), mas foi inferior àquele encontrado por Furlani e Godoy, 2007 (54,12%). Bonatti *et al.* (2004) encontraram valores superiores ao deste estudo para as variedades shimeji e *Pleurotus* branco (47,6% e 42,8%, respectivamente). *P. salmon* foi a espécie que obteve o menor valor de carboidratos (16,0%).

3.2. Vitaminas

A Tabela 2 apresenta os resultados das vitaminas nas seis espécies de cogumelos estudadas.

Tabela 2. Quantidade de vitaminas em cogumelos secos (bs) e frescos (bu)

Cogumelos	Tiamina (mg/100g)		Riboflavina (mg/100g)		Piridoxina (mg/100g)		Niacina (mg/100g)	
	Bs	bu	Bs	bu	bs	bu	bs	bu
Shiitake	0,43 ± 0,04 ^{a d}	0,035 ± 0,003	0,33 ± 0,02 ^a	0,027 ± 0,001	0,23 ± 0,02 ^a	0,02 ± 0,001	20,6 ± 1,15 ^a	1,7 ± 0,09
Shimeji	0,48 ± 0,02 ^{a b}	0,05 ± 0,001	0,41 ± 0,01 ^a	0,042 ± 0,0005	0,24 ± 0,03 ^a	0,025 ± 0,003	31,9 ± 1,12 ^b	3,3 ± 0,11
Champignon de Paris	0,57 ± 0,04 ^b	0,046 ± 0,003	0,87 ± 0,03 ^b	0,07 ± 0,002	0,06 ± 0,01 ^a	0,004 ± 0,0004	18,0 ± 0,75 ^a	1,44 ± 0,06
Pleurotus branco	0,12 ± 0,01 ^c	0,013 ± 0,0006	0,19 ± 0,02 ^c	0,021 ± 0,001	0,24 ± 0,02 ^a	0,026 ± 0,002	n.d. ^c	n.d.
Pleurotus salmon	0,35 ± 0,03 ^d	0,04 ± 0,004	0,56 ± 0,01 ^d	0,064 ± 0,01	0,08 ± 0,01 ^a	0,009 ± 0,0006	18,6 ± 0,54 ^a	2,12 ± 0,06
<i>O. canarii</i>	0,09 ± 0,01 ^c	0,009 ± 0,0005	0,66 ± 0,03 ^d	0,065 ± 0,003	0,8 ± 0,03 ^b	0,08 ± 0,002	48,0 ± 1,69 ^d	4,7 ± 0,16

*Resultados expressos em base seca (bs) ± desvio padrão e base úmida (bu) ± desvio padrão

*Letras diferentes, na mesma coluna, são significativamente diferentes no teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

*Média obtida a partir de 04 lotes, sendo que cada lote foi feito em triplicata, em base seca.

*n.d. = não detectado

Segundo a Tabela 2, houve diferença significativa entre as amostras ao nível de significância de 5%. O champignon de Paris apresentou os maiores teores de tiamina e riboflavina, enquanto que a espécie *O. canarii* obteve os maiores resultados para a piridoxina e a niacina.

Mattila *et. al.* (2001) encontraram em seus estudos um valor bem próximo de tiamina para o champignon de Paris (0,6 mg/100g). Para o shiitake, ele observou um valor um pouco maior (0,6 mg/100g) e para o shimeji um valor bem superior ao encontrado neste trabalho (0,9 mg/100g). As variedades *P. branco* e *O. canarii* possuem teores estatisticamente iguais ($p < 0,05$) e inferiores às outras espécies.

Para a riboflavina, Mattila *et. al.* (2001) obtiveram valores extremamente superiores ao deste trabalho para o champignon, shiitake e shimeji (5,1, 1,8 e 2,5 mg/100g, respectivamente). Já para a niacina, ele apresentou teores maiores para o champignon, shimeji e shiitake (43, 65 e 31 mg/100g, respectivamente).

Todas as espécies apresentaram conteúdos de piridoxina estatisticamente iguais, variando de 0,06 a 0,24 mg/100g, exceto a variedade *Oudemansiella canarii*, que obteve resultado superior aos demais (0,8 mg/100g).

Para a tiamina, Furlani e Godoy (2008) determinaram os teores de vitaminas do complexo B em base úmida, e encontraram valores menores para o shiitake, o champignon de Paris e o *P. salmon* (0,009 mg/100g, 0,0245 mg/100g e 0,025 mg/100g, respectivamente), um valor maior para o shimeji (0,065 mg/100g) e o mesmo valor para o *P. branco* que o determinado nesta pesquisa (0,013 mg/100g). Já para a riboflavina, Furlani e Godoy (2008) determinaram valores superiores ao deste trabalho para todas as espécies estudadas (0,057 mg/100g para o shiitake, 0,075 mg/100g para o shimeji, 0,2385 mg/100g para o champignon, 0,075 mg/100g para o *P. branco* e 0,107 mg/100g para o *P. salmon*).

Çaglarirmak (2007) determinou os teores de niacina para o shiitake, shimeji e *P. branco*, e encontrou os valores de 2,71 mg/100g, 4,44 mg/100g e 2,96 mg/100g em base úmida. Estes valores são maiores que aqueles encontrados neste estudo, destacando-se principalmente a variedade *P. branco* que não foi detectada (Tabela 2).

Segundo a Anvisa (2005), as Ingestões Diárias Recomendadas (IDR) para tiamina, riboflavina, niacina e piridoxina são, respectivamente, 1,2 mg, 1,3 mg, 16 mg e 1,3 mg. Uma porção (100 gramas) dos cogumelos frescos avaliados neste estudo perfaz, no máximo, 4, 5 e 6% da IDR das vitaminas tiamina, riboflavina e piridoxina, respectivamente. Já para a niacina, as variedades shimeji e *O. canarii* mostraram-se fonte desta vitamina (acima de 15% da IDR) (ANVISA, 1998).

4. CONCLUSÃO

Os cogumelos estudados apresentaram alto teor de umidade (média de 90%), quantidades consideráveis de proteínas e fibras (média de 21,6 e 36,7%, respectivamente) e baixos teores de lipídeos (média de 4,5%).

O Champignon de Paris apresentou a maior quantidade de cinzas (11,3%) e de carboidratos (40,3%), e o menor teor de fibra alimentar total (20,0%) dentre as espécies estudadas. Já o P. branco destacou-se pelos menores teores de lipídeos (2,0%) e proteínas (14,8%). A espécie *Oudemansiella canarii* apresentou o maior valor de lipídeos dentre as espécies estudadas (9,5%).

De uma forma geral, os cogumelos não podem ser considerados boas fontes de vitaminas B₁, B₂, B₃ e B₆, exceto nas espécies *Pleurotus ostreatus* (shimeji) e *Oudemansiella canarii*, que podem ser consideradas fontes de vitamina B₃.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAM, N.; AMIN, R.; KHAN, A.; ARA, I.; SHIM, M. J.; LEE, M. W.; LEE, T. S. Nutritional Analysis of Cultivated Mushrooms in Bangladesh - *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sajor-caju*, *Pleurotus florida* and *Calocybe indica*. **Mycobiol.** v. 36(4), p. 228-232, 2008.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Official methods of analysis. 15^o ed., Washington, D.C., AOAC, 1995.

AOAC. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 18th ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC, 2005. Chapter 45 (Thiamine in Human and Pet Foods), methods 942.23, p. 9-10.

AOAC. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 18th ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC, 2005. Chapter 45 (Riboflavin in Foods and Vitamin Preparations), methods 970.65, p. 12-13.

AOAC. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 18th ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC, 2005. Chapter 45 (Niacin and Niacinamide in Drugs, Foods, and Feeds), methods 961.14, p.15-16.

AOAC. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 18th ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC, 2005. Chapter 45 (Vitamin B₆ in Food Extracts), methods 961.15, p. 64-65.

BERNÁS, E.; JAWORSKA, G.; LISIEWSKA, Z. Edible mushrooms as a source of valuable nutritive constituents. *Acta Sci.Pol., Technol. Aliment.* v. 5 (1), p. 5-20, 2006.

BLIGH, E. C.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Can. J. Biochem. Physiol.**, 37: 911-917, 1959.

BONATTI, M.; KARNOPP, P.; SOARES, H. M.; FURLAN, S. A. Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. **Food Chem.** v.88, p. 425–428, 2004.

BREENE, W. M. Nutritional and Medicinal Value of Specialty Mushrooms. **J. Food Protection**, v. 53 (10), p. 883-894, 1990

ÇAGLARIRMAK, N. The nutrients of exotic mushrooms (*Lentinula edodes* and *Pleurotus* species) and an estimated approach to the volatile compounds. **Food Chem.** v. 105. p. 1188-1194, 2007.

CRISAN, E. V.; SANDS, A. Nutritional value. In S. T. Chang, & W. A. Hayes, The biology and cultivation of edible mushrooms p.137-165. **New York: Academic Press**, USA, 1978.

FURLANI, R. P. Z.; GODOY, H. T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis: uma revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 64 (2), p. 149-154, 2005.

FURLANI, R. P. Z.; GODOY, H. T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v. 27 (1), p. 154-157, 2007.

FURLANI, R. P. Z.; GODOY, H. T. Vitamins B₁ and B₂ contents in cultivated mushrooms. **Food Chem.** v. 106, p. 816-819, 2008.

GREGORY, J.F.; KIRK, J.R. Assessment of storage effects on vitamin B6 stability and bioavailability in dehydrated food systems. **J. Food Sci.**, Chicago, v. 43, p. 1801-09, 1978.

LAM, F.L.; HOLCOMB, I.J.; FUSARI, S.A. Liquid chromatography assay of ascorbic acid, niacinamide, piridoxine, tiamine and riboflavin in multivitamin mineral preparations. **J. assoc. Anal. Chem.**, Arlington, v. 67, n. 5, p. 1007-11, 1984.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Sarvier, 839p., 1995.

LONGVAH, T.; DEOSTHALE, Y. G. Compositional and Nutritional Studies on Edible wild Mushroom from Northeast India. **Food Chem.** v. 63 (3), p. 331-334, 1998.

MANZI, P., GAMBELLI, L., MARCONI, S., VIVANTI, V. e PIZZOFERRATO, L. Nutrients in Edible Mushrooms: an inter-species comparative study. **Food Chem.** v. 65 (4), p.477-482, 1999.

MATTILA, P.; SUONPAA, K.; PIIRONEN, V. Functional properties of edible mushrooms. **Nutr.** v. 16 (7/8), p. 694-696, 2000.

- MATTILA, P., KONKO, K., EUROLA, M., PIHLAVA, J. M., ASTOLA, J., VAHTERISTO, L., HIETANIEMI, V., KUMPULAINEN, J., VALTONEN, M. e PIIRONEN V. Contents of vitamins, Mineral Elements, and Phenolic Compounds in Cultivated Mushrooms. **J Agric Food Chem.** v. 49 (5), p. 2343-2348, 2001.
- MATTILA, P.; SALO-VÄÄNÄNEN, P.; KÖNKÖ, K.; ARO, H.; JALAVA, T. Basic composition and amino acid contents of mushrooms cultivated in Finland. **J. Agric. Food Chem.** v. 50, p. 6419-22, 2002.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria da Vigilância Sanitária. Portaria nº 27; Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar (declarações relacionadas ao conteúdo de nutrientes), constantes do anexo desta Portaria. 13 jan de 1998.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria da Vigilância Sanitária. RDC nº 269; Regulamento Técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. 22 set de 2005.
- RUEGGER, M. J. S.; TORNISIELO, S. M. T.; BONONI, V. L. R.; CAPELARI, M. Cultivation of the edible mushroom *Oudemansiella canarii* (jungh.) höhn. in lignocellulosic substrates. **Braz. J. Microbiol** v. 32, p. 211-214, 2001.
- SCARIOT, M. R.; RAK, L.; COSTA, S. M. G.; CLEMENTE, E. Composição química de cogumelos comestíveis cultivados em resíduo de algodão (*Gossypium hirsutum* L.). **Acta Scientiarum** v. 22 (2), p.317-320, 2000.
- SMITH, J. ROWAN, N. J. SULLIVAN, R. Medicinal Mushrooms: Their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments. Cancer Research UK. University of Strathclyde, Maio, 2002.
- VETTER, J. Chemical composition of fresh and conserved *Agaricus bisporus* mushroom. **Eur. Food Res. Technol** , v. 217 (1), p. 10-12, 2003.
- YANG, J. H.; LIN, H. C.; MAU, J. L. Non-volatile taste components of several commercial mushrooms. **Food Chem.** v. 72 (4), p. 465-471, 2001.
- VAN DE WEERDHOFF, T.; WIERSUN, M.L.; REISSENWEBWEBER, H.. Application of liquid chromatography in food analysis. **J. Chromatog.**, Amsterdam, v. 83, p. 455-60, 1973.

CAPÍTULO 3

MINERAIS E CONTAMINANTES INORGÂNICOS ENCONTRADOS EM COGUMELOS COMESTÍVEIS CULTIVADOS NA REGIÃO DE CAMPINAS (SP)

Priscila Abackerli de PAULI -CREDENDIO

Marcelo A. MORGANO

Célia Maria de SYLOS

Raquel Fernanda MILANI

RESUMO

Os cogumelos vêm sendo utilizados há milhares de anos, por serem considerados benéficos à saúde. A quantidade de minerais em cogumelos está diretamente relacionada a fatores como espécie, área de cultivo, tempo de crescimento do corpo de frutificação e distância de fontes poluidoras. Os objetivos deste trabalho foram determinar a melhor metodologia para digestão das amostras de cogumelos, determinar o conteúdo dos minerais K, P, Mg, Ca, Na, Fe, Zn, Cu, Mn, Co e Cr e dos contaminantes inorgânicos Cd e Pb em seis espécies de cogumelos: *Lentinus edodes* (Shiitake), *Agaricus bisporus* (Champignon de Paris), *Oudemansiella canarii* e *Pleurotus ssp.* (*Pleurotus* branco, *Pleurotus* salmon e Shimeji). As amostras foram incineradas em forno mufla e os minerais determinados através de um espectrômetro de emissão óptica em plasma de argônio com acoplamento indutivo (ICP OES). O cogumelo Shiitake apresentou os maiores teores de cobalto, cromo e manganês (0,18, 0,26 e 14,2 mg/kg respectivamente). Já a espécie *O. canarii* obteve os maiores valores de fósforo e magnésio (13.660 e 1.600 mg/kg). Os maiores valores dos contaminantes inorgânicos chumbo e cádmio foram encontrados no *P. salmon* (0,54 e 0,29 mg/kg, respectivamente). O Champignon de Paris destacou-se pela quantidade de cobre (28,0 mg/kg), potássio (45.720 mg/kg), cálcio (200,0 mg/kg) e sódio (345 mg/kg) superior às outras espécies. Já o *P. branco* apresentou o menor teor de zinco dentre as amostras estudadas (54,5 mg/kg). De uma maneira geral, as variedades Champignon de Paris e *Oudemansiella canarii* apresentaram maiores teores destes minerais determinados.

Palavras-chave: cogumelos, minerais, ICP-OES

ABSTRACT

Mushrooms have been used for thousands of years, because they are considered beneficial to health. The amount of minerals in mushrooms is directly related to factors such as species, area of cultivation, time of growth in fruiting body and away from pollution sources. The objectives of this study were to determine the best methodology for digestion of mushrooms' samples, to determine the contents of the minerals K, P, Mg, Ca, Na, Fe, Zn, Cu, Mn, Co e Cr and the inorganic contaminants Cd and Pb in six species of mushrooms: *Lentinus edodes* (Shiitake), *Agaricus bisporus* (Champignon de Paris), *Oudemansiella canarii* and *Pleurotus ssp.* (white oyster, salmon oyster and Shimeji). The samples were combusted in

muffle furnace and minerals determined using an optical emission spectrometer with plasma argon with inductive coupled (ICP OES). The Shiitake mushroom showed the highest levels of cobalt, chromium and manganese (0.18, 0.26 and 14.2 mg/kg respectively). The specie *O. canarii* obtained the highest values of phosphorus and magnesium (13,660 and 1,600 mg/kg). The highest values of inorganic contaminants lead and cadmium were found in *P. salmon* (0.54 and 0.29 mg/kg, respectively). The Champignon de Paris stood out for the amount of copper (28.0 mg/kg), potassium (45.720 mg/kg), calcium (200.0 mg/kg) and sodium (345.0 mg/kg) than the other species. The white oyster had the lowest zinc content among the samples studied (54.5 mg/kg). In general, the varieties Champignon de Paris and *Oudemansiella canarii* showed the highest levels of certain minerals.

Keywords: mushrooms, minerals, ICP-OES

1. INTRODUÇÃO

Os cogumelos medicinais são usados no Oriente há milhares de anos, por serem considerados benéficos à saúde, tanto como medicina curativa quanto preventiva (FURLANI e GODOY, 2005). O número de cultivares existentes está estimado em 140 mil, sendo que destes apenas 10% são conhecidos (WASSER, 2002), e apenas 2000 são comestíveis (COUTINHO, 2009). No Brasil, o consumo per capita ainda é baixo, aproximando-se de 0,6 kg/ano, enquanto que em alguns países da Europa e da Ásia esse número varia de 3 a 3,5 kg/ano (EMBRAPA, 2009).

Segundo VILELA (2009), no Brasil não há dados oficiais sobre a produção de cogumelos, entretanto a região do Alto Tietê/SP é a maior produtora. As principais espécies comestíveis cultivadas no Brasil são *Agaricus bisporus* (Champignon de Paris), *Lentinus edodes* (Shiitake) e *Pleurotus* spp (EIRA e MINHONI, 1997). É também sabido que algumas espécies deixaram de ser alimentos usados apenas pela alta gastronomia para se transformarem em alimentos usados pela população em geral. Dentre elas se destacam o Shiitake (*Lentinus edodes*) e o Shimeji (*Pleurotus ostreatus*) (FRANCO, 2006). Além do *Pleurotus ostreatus*, outros cogumelos do mesmo gênero vêm sendo produzidos para consumo humano, como é o caso do *Pleurotus Branco* (*Pleurotus sajor-caju*) e do *Pleurotus Salmon* (*Pleurotus ostreatoroseus*).

A busca por qualidade de vida por vias nutricionais tem também contribuído para o aumento no consumo de cogumelos como o shiitake, o shimeji e o champignon, pois estes

apresentam excelente valor nutritivo (altos teores de proteínas e fibras alimentares, baixos teores de lipídeos) e uma quantidade considerável de fósforo (FURLANI E GODOY, 2007). Essa tendência é corroborada por evidências que apontam que muitas doenças como diabetes, aterosclerose, obesidade e algumas formas de câncer podem, em parte, serem atribuídas à dieta (SMITH *et. al.*, 2002).

Os minerais são obtidos a partir da alimentação, uma vez que não são sintetizados pelo organismo, e possuem um papel importante à saúde regulando o sistema biológico. A quantidade de minerais em cogumelos está diretamente relacionada a fatores como espécie, área de cultivo, tempo de crescimento do corpo de frutificação e distância de fontes poluidoras (GENÇCELEP *et. al.*, 2009), sendo também altamente influenciadas pelas condições de cultivo como o clima e o substrato.

Vários destes substratos utilizados para o cultivo como gramíneas, palhas, serragem de eucalipto, bagaço de cana e farelo de trigo provém de resíduos agrícolas. Depois do uso, pode ainda ser utilizado para adubação de hortas e plantações (FURLANI e GODOY, 2005).

Minerais como os contaminantes inorgânicos cádmio e chumbo podem ocorrer em algumas espécies bioacumuladoras destes minerais ou quando os cogumelos crescem em áreas poluídas, como dentro de algumas cidades (KALAC, 2009). Estudos constataram que os cogumelos podem acumular chumbo, quando este se encontra presente no substrato (STURION e RANZANI, 2000).

Com base no exposto os objetivos deste trabalho foram avaliar duas metodologias para digestão das amostras de cogumelos, a digestão por cinzas e a digestão ácida em sistema fechado assistida por microondas; e determinar o conteúdo em minerais e de alguns potenciais contaminantes inorgânicos das espécies: *Lentinus edodes* (Shiitake), *Agaricus bisporus* (Champignon de Paris), *Oudemansiella canarii* e *Pleurotus ssp.* (*Pleurotus* branco, *Pleurotus* salmon e Shimeji), usando a técnica de espectrometria de emissão óptica em plasma de argônio com acoplamento indutivo (ICP OES).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostras

As amostras das espécies de cogumelos Shiitake (*Lentinus edodes*), Shimeji (*Pleurotus ostreatus*), *Pleurotus* salmon (*Pleurotus ostreatusroseus*), *Pleurotus* branco (*Pleurotus sajor-caju*), Champignon de Paris (*Agaricus bisporus*) e *Oudemansiella canarii* foram fornecidas

por uma empresa localizada na cidade de Salto, região de Campinas (SP). Foram analisados 04 lotes de cada espécie e as determinações realizadas em triplicata.

As amostras foram secas em estufa a 65°C (FABBE-PRIMAR), trituradas e acondicionadas em embalagens de vidro e estocadas até o momento da realização das análises.

2.2. Vidraria

Após lavagem com sabão neutro e água, toda a vidraria utilizada foi descontaminada quimicamente em banho de ácido nítrico 25% (v/v) por 24h. Em seguida, a vidraria foi enxaguada com água destilada e desionizada.

2.3. Metodologia analítica

Foram avaliadas duas metodologias de digestão de amostra, a digestão por via seca e a digestão em sistema fechado assistida por microondas para posterior quantificação dos elementos minerais usando a técnica de ICP OES.

2.3.1 Digestão por via seca

A digestão da amostra de referência certificada de cogumelo (Mushroom Reference Material) foi realizada da seguinte forma: foi pesado 0,50 g das amostras homogeneizadas em cápsula de porcelana, em triplicata, e pré-queimadas em chapa elétrica até finalizar o desprendimento de fumaça. Em seguida, foram colocadas em forno de mufla para a calcinação de acordo com SILVA *et al.* (2002) a uma temperatura de 450°C onde ficaram por 10 h. Foi adicionado 1,25 mL de HCl concentrado às cinzas obtidas e o conteúdo foi transferido para um balão volumétrico de 25 mL aferindo-se com água purificada (resistividade de 18,2 MΩ cm⁻¹). As amostras diluídas foram filtradas em papel de filtro (porosidade de 7,5 micras) para a retirada de partículas sólidas.

2.3.2 Digestão em sistema fechado assistido por microondas

A digestão da amostra de referência certificada de cogumelo (Mushroom Reference Material) foi realizada em sistema fechado assistido por microondas, usando ácido nítrico e peróxido de hidrogênio como meio oxidante, com controle de temperatura sob pressão, em um equipamento da marca Milestone, modelo Start D (Sorisole, Itália), com potência de 1200 W e

sensor de controle de temperatura. Foi usado um rotor de alta pressão com 10 vasos de digestão.

Foi pesado 0,50 g da amostra e adicionados 7 mL de ácido nítrico concentrado, seguido de 1 mL de peróxido de hidrogênio 30%. A Tabela 1 descreve as condições de digestão no sistema de microondas. Completada a digestão, o conteúdo dos copos foi transferido quantitativamente para um balão volumétrico de 25 mL, avolumando-se com solução de HCl 5% (v/v).

Tabela 1. Condições utilizadas no digestor de microondas para a mineralização das amostras de cogumelos.

Condições operação Digestor Microondas*			
Parâmetros	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3
Tempo (min)	10	7	8
Potência (W)	1000	1000	1000
T1 (°C)	100	190	190
T2 (°C)	120	120	120

T1 = temperatura interna do vaso de reação; T2 = temperatura externa do vaso de reação.

* Tempo de resfriamento foi de 30 min após o término das digestões.

2.4. Instrumentação

A quantificação dos elementos inorgânicos foi realizada usando a técnica de ICP OES, empregando um equipamento da marca Varian (Mulgrave Victoria, Austrália), modelo Vista MPX, com visão axial, equipado com uma fonte de radio frequência (RF) de 40 MHz, um detector multielementar simultâneo de estado sólido do tipo CCD (Charge Coupled Device), uma bomba peristáltica, câmara de nebulização e um nebulizador *sea spray*. O sistema é totalmente controlado pelo software ICP Expert utilizando como gás do plasma o argônio líquido com pureza de 99,996 % (Air Liquid, SP, Brasil). As condições operacionais do equipamento de ICP OES estão descritas na Tabela 2.

Tabela 2. Condições de operação do equipamento ICP OES para determinação dos elementos inorgânicos nas amostras de cogumelos.

ICP OES		Condições Experimentais	
Potência de RF (W)		1000	
Vazão de nebulização (L min ⁻¹)		0,9	
Vazão de argônio auxiliar (L min ⁻¹)		1,5	
Vazão de argônio principal (L min ⁻¹)		15	
Correção de fundo		2 pontos	
Tempo de integração (s) e de leitura (s)		10 e 5	
Número de replicatas		3	
Configuração da tocha		Axial	
Comprimento de onda (nm)		Ca (317,933)	Mg (280,270)
		Cd (214,439)	Mn (257,610)
		Co (228,615)	Na (589,592)
		Cr (276,653)	P (213,618)
		Cu (324,754)	Pb (220,353)
		Fe (259,940)	Zn (206,200)
		K (766,491)	

2.5. Curvas analíticas

As curvas analíticas foram preparadas em HCl 5% (v/v) a partir de soluções-estoque na concentração de 10.000 mg L⁻¹ para Ca, K, Mg e Na (Titrisol – Merck), solução-padrão multielementar 1.000 mg L⁻¹ contendo Cd, Cu, Co, Cr, Fe, Mn, Pb e Zn (Merck) e solução-padrão de P 10.000 mg L⁻¹ (Qhemis High Purity). As faixas de concentração para a preparação das curvas analíticas foram: 0,005 a 0,5 mg L⁻¹ para Cd, Cu, Co, Cr, Mn e Pb; 2,04 a 51,0 mg L⁻¹ para Ca, Mg e Na; 0,1 a 2,0 mg L⁻¹ para Fe e Zn; 5,1 a 102,0 mg L⁻¹ para K e 5,0 a 100,0 mg L⁻¹ para P.

2.6. Desempenho do método analítico para preparo da amostra

Foram avaliadas as duas metodologias de preparo de amostras (digestão por via seca e microondas) usando a técnica de ICP OES para a quantificação dos elementos minerais,

usando uma amostra de material de referência de cogumelo obtida do teste de proficiência de Polish mushrooms, da Agência Internacional de Energia Atômica, Viena (POLKOWSKA-MOTRENKO e ROSSBACH, 2007). A exatidão do método foi avaliada pelo cálculo do valor de z-escore. Os valores de limite de detecção (LOD) foram calculados como 3 vezes o desvio-padrão do branco e os valores de limite de quantificação (LOQ) foram calculados como 10 vezes os valores de LOD.

A precisão do método foi avaliada pelo coeficiente de variação de 7 repetições analíticas de uma amostra de cogumelo e os resultados expressos em termos porcentagem do coeficiente de variação (CV).

2.7. Análise Estatística

A análise estatística dos resultados foi realizada no programa OriginPro8 através de análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Desempenho do método analítico

Os resultados obtidos na avaliação dos métodos de preparo de amostra, calcinação em mufla e o método de digestão em microondas, estão apresentados na Tabela 3. De acordo com os valores do Mushroom Reference Material determinados pelo International Atomic Energy Agency (IAEA) - Vienna, o método que mais se adequou, segundo o z-score, foi o método por calcinação em forno de mufla, uma vez que todos os valores de z-score estão abaixo de 2,0, enquanto o método de digestão por microondas apresentou dois resultados de z-score acima de 2,0 (K = 2,1 e Na = 2,4).

Tabela 3. Comparação dos resultados e z-score obtidos utilizando o método de determinação por cinzas e o método de digestão por microondas para alguns elementos inorgânicos em relação ao Mushroom Reference Material usando a técnica de quantificação por ICP OES.

Elemento	Método por cinzas			Método de digestão em microondas	
	Valor	Resultado		Resultado	
	Certificado (mg kg ⁻¹)	Obtido (mg kg ⁻¹)	z-score	Obtido (mg kg ⁻¹)	z-score
Cádmio	2,48 ± 0,27	2,07 ± 0,02	1,5	2,17 ± 0,02	1,13
Cobre	41,95 ± 3,05	36,42 ± 0,28	1,8	40,27 ± 0,04	0,55
Potássio	35403 ± 2000	32085 ± 495	1,7	31193 ± 77	2,10
Magnésio	819 ± 65	761 ± 3	0,9	766 ± 5	0,82
Manganês	16,89 ± 1,35	14,15 ± 0,03	2,0	15,78 ± 0,43	0,82
Sódio	379 ± 24	330 ± 1	2,0	322 ± 22	2,40

Uma vez que a metodologia de preparo de amostra por calcinação forneceu os melhores valores de z-escore, esta metodologia foi escolhida para o preparo das amostras de cogumelos. A Tabela 4 apresenta as características de desempenho do método analítico por calcinação para os valores de LOD, LOQ, CV e coeficiente de correlação (r) obtidos.

O método apresentou um bom desempenho confirmado pelos valores de r próximos a 1, LOD e LOQ foram adequados para determinação dos elementos e o CV mostrou-se satisfatório para os níveis de detecção obtidos, com valores abaixo de 12 %.

Tabela 4. Características de desempenho do método para determinação de elementos inorgânicos em cogumelo.

Elementos	λ (nm)	r	LOD (mg L ⁻¹)	LOQ (mg L ⁻¹)	CV (%)
Cálcio	317,933	0,9999	0,092	0,916	7
Cádmio	214,439	0,9999	0,0002	0,002	10
Cobre	324,754	0,9998	0,006	0,058	10
Cobalto	228,615	0,9996	0,01	0,050	9
Cromo	276,653	0,9999	0,01	0,060	2
Ferro	259,940	0,9998	0,002	0,018	5
Potássio	766,491	0,9999	0,011	0,110	2
Magnésio	280,270	0,9996	0,046	0,461	5
Manganês	257,610	0,9998	0,0001	0,001	5
Sódio	589,592	0,9999	0,040	0,397	5
Fósforo	213,618	0,9998	0,163	1,628	0,5
Chumbo	220,353	0,9998	0,003	0,035	12
Zinco	206,200	0,9996	0,002	0,017	3

λ = valores de comprimento de onda, r = coeficiente de correlação, LOD = limite de detecção, LOQ = limite de quantificação, CV = coeficiente de variação (CV).

3.2. Minerais em cogumelos

Os resultados obtidos para os elementos minerais nas diferentes espécies de cogumelos encontram-se na Tabela 5. Todas as concentrações de minerais foram determinadas em base seca.

Tabela 5. Resultados médios e desvio-padrão (em mg kg⁻¹) das amostras dos cogumelos.

ELEMENTOS	SHIMEJI	SHIITAKE	CHAMPIGNON DE PARIS	PLEUROTUS BRANCO	PLEUROTUS SALMON	OUDEMANSIELLA CANARI
Potássio	30.640 ± 2.570 ^{bd}	11.900 ± 2.650 ^{ac}	45.720 ± 6.700 ^e	18.640 ± 6.390 ^{dc}	15.010 ± 8.210 ^c	35.660 ± 2.570 ^{be}
Fósforo	10.580 ± 530 ^{ad}	7.820 ± 580 ^{ac}	12.430 ± 730 ^{de}	7.070 ± 1.600 ^c	7.845 ± 1.010 ^{ac}	13.660 ± 1.950 ^{be}
Magnésio	1.280 ± 230 ^{ab}	980 ± 310 ^a	990 ± 145 ^a	1.085 ± 210 ^{ab}	1.190 ± 270 ^{ab}	1.600 ± 200 ^b
Cálcio	72 ± 22 ^a	54 ± 28 ^a	200 ± 46 ^b	49 ± 32 ^a	94 ± 35 ^a	123 ± 28 ^{ab}
Sódio	55 ± 16 ^a	123 ± 104 ^{ab}	345 ± 16 ^b	130 ± 40 ^{ab}	28 ± 14 ^a	231 ± 205 ^{ab}
Ferro	93 ± 13 ^b	13 ± 7,0 ^a	32 ± 8,0 ^{ad}	73 ± 20 ^{bc}	85 ± 11 ^b	51 ± 10 ^{cd}
Zinco	84 ± 5,0 ^a	67 ± 8,0 ^{ac}	62 ± 3,0 ^c	55 ± 8 ^c	114 ± 14 ^b	65 ± 12 ^{ac}
Cobre	17 ± 2,0 ^b	4,0 ± 1,0 ^a	28 ± 4,0 ^d	9,5 ± 2 ^{ac}	12 ± 3,7 ^{bc}	11,5 ± 3,2 ^{bc}
Manganês	8,0 ± 1,0 ^{ab}	14,2 ± 5,0 ^a	5,1 ± 0,6 ^b	5,8 ± 1,2 ^b	8,7 ± 2,7 ^{ab}	7,0 ± 0,6 ^b
Cobalto	0,06 ± 0,02 ^{ab}	0,18 ± 0,06 ^a	0,13 ± 0,04 ^{ab}	0,12 ± 0,05 ^{ab}	0,12 ± 0,05 ^{ab}	0,06 ± 0,002 ^b
Cromo	0,12 ± 0,03 ^a	0,26 ± 0,11 ^a	0,11 ± 0,03 ^a	0,18 ± 0,1 ^a	0,21 ± 0,1 ^a	0,11 ± 0,05 ^a
Cádmio	0,13 ± 0,01 ^{ab}	0,2 ± 0,04 ^{ac}	0,03 ± 0,02 ^d	0,15 ± 0,05 ^{ab}	0,29 ± 0,05 ^c	0,07 ± 0,01 ^{bd}
Chumbo	0,37 ± 0,13 ^a	0,51 ± 0,30 ^a	0,48 ± 0,10 ^a	0,33 ± 0,14 ^a	0,54 ± 0,04 ^a	0,21 ± 0,12 ^a

*Média obtida a partir de 04 lotes, sendo que cada lote foi feito em triplicata, em base seca.

*Letras diferentes, na mesma linha, são significativamente diferentes no teste de Tukey ($p \leq 0.05$).

Para classificação dos cogumelos de acordo com a quantidade de minerais, utilizou-se a Portaria nº 27 (ANVISA, 1998). Segundo esta Portaria, um alimento é considerado “fonte” de algum mineral quando perfaz o mínimo de 15% do Índice Diário Recomendado (IDR) (ANVISA, 2005) deste nutriente por 100 gramas do alimento fresco. De modo análogo, o alimento possui “alto teor” de um mineral quando ele fornece o mínimo de 30% do IDR deste nutriente por 100 gramas do alimento fresco. Para tal classificação, foram utilizados os resultados de minerais em base úmida.

Como nos estudos de Sales-Campos *et. al.*, (2009), o potássio foi o mineral encontrado em maior quantidade, variando de 11.900 a 45.720 mg/kg para Shiitake e Champignon de Paris, respectivamente ($p \leq 0,05$). MOURA (2008) encontrou valores menores para o Champignon de Paris e para o *O. canarii* (33.908 e 33.700 mg/kg, respectivamente). Como a IDR para o potássio é de 2000 mg, os cogumelos Champignon de Paris, Shimeji e *Oudemansiella canarii* podem ser considerados fontes deste mineral.

A espécie *O. canarii* foi a que obteve maior quantidade de fósforo (13.660 mg/kg) sendo este número bem superior aquele encontrado por RUEGGER *et. al.*, em 2001 (11.500 mg/kg). Não houve diferença significativa entre as espécies *O. canarii* e Champignon de Paris ($p \leq 0,05$). As variedades *O. canarii*, Shimeji e Champignon de Paris podem ser consideradas fontes de fósforo de acordo com a IDR, que é de 700 mg.

A maior concentração de magnésio foi encontrada no *O. canarii* (1.600 mg/kg), mas não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre este e as três espécies de *Pleurotus* (branco, salmon e shimeji). GENÇCELEP *et. al.*, 2009, apresentaram valores superiores ao encontrado neste trabalho para o Shimeji (1.700 mg/kg). O Shiitake e o Champignon apresentaram quantidades bem próximas deste mineral (980 mg/kg e 990 mg/kg, respectivamente), sendo considerados estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$). KALAC (2009) reportou que a média de magnésio encontrada em cogumelos europeus varia de 800 a 1.800 mg/kg base seca, dado que concorda com os teores obtidos neste estudo.

A concentração de cálcio das espécies variou de 49 a 200 mg/kg sendo que a espécie que apresentou maior concentração de cálcio foi o *Agaricus bisporus* (Champignon de Paris), embora não houve diferença estatística significativa entre esta espécie e o *O. canarii* ($p \leq 0,05$). As três espécies de *Pleurotus* analisadas variaram de 49 a 94 mg/kg para P. branco e P. salmon, respectivamente, valores um pouco menores que os encontrados por STURION e RANZANI (2000), que foi menor ou igual a 100 mg/kg.

Com relação ao sódio, para valores menores que 40 mg de sódio/100g de cogumelo fresco e 5 mg de sódio/100g de cogumelo seco, o alimento pode ser classificado como “teor muito baixo” e “não contém sódio”, respectivamente (ANVISA, 1998). Portanto, todas as espécies podem ser consideradas como “não contém sódio,” pois os teores variaram de 0,32 a 2,76 mg/100 gramas do cogumelo fresco para *P. salmon* e *Champignon de Paris*, respectivamente.

As três espécies de *Pleurotus* apresentaram valores estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$) de ferro, sendo que houve variação entre elas de 73,0 a 93,0 mg/kg, valores menores que aqueles encontrados por MOURA em 2008 (31 a 164 mg/kg). A quantidade encontrada no *Champignon de Paris* e no *Shiitake* (32,0 e 13,0 mg/kg, respectivamente) foi inferior àquela descrita por MATTILA *et al.* em 2001 (48,0 e 33,0 mg/kg, respectivamente).

Como descrito por MOURA (2008), a maior concentração de zinco foi encontrada no *P. salmon* (114,0 mg/kg) sendo que este pode ser considerado fonte do mineral e é estatisticamente diferente de todas as outras espécies estudadas ($p \leq 0,05$). OUZONI *et al.*, (2007) obtiveram valores menores para a variedade *Shimeji* (62,4 mg/kg). As outras espécies variaram de 55,0 a 67,0 mg/kg para *P. branco* e *Shiitake*, respectivamente.

A quantidade de cobre variou bastante entre as espécies. O *Shiitake* apresentou 4,0 mg/kg, enquanto que o *Champignon de Paris* apresentou 28 mg/kg, sendo estatisticamente diferentes de todas as outras espécies estudadas ($p \leq 0,05$). Entre as espécies de *Pleurotus*, o *Shimeji* foi o que obteve o maior valor (17 mg/kg). A IDR do cobre é 0,9 mg e, portanto, o *Champignon de Paris* e o *Shimeji* podem ser considerados alimentos fonte de cobre.

O manganês variou de 5,1 mg/kg a 14,2 mg/kg para *Champignon* e *Shiitake*, respectivamente. SOYLAC *et al.* (2005) verificaram a concentração de alguns minerais em cogumelos da região da Turquia, encontrando valores de manganês que variaram de 14,2 mg/kg a 69,7 mg/kg, valores superiores ao encontrado neste trabalho.

As variedades *O. canarii* e *Shimeji* apresentaram os menores teores de cobalto (0,06 mg/kg). O *Champignon de Paris* apresentou quantidade bem próxima àquela encontrada por ISILOGLU *et al.* em 2001 (0,15 mg/kg).

KALAC e SVOBODA (2000) descreveram que a concentração de cromo nas espécies pode ter grande variação, de 100 a 2000 µg/kg em base seca, sendo que o gênero *Agaricus* (*Champignon de Paris*) pode ser considerado um acumulador deste mineral. Nesse estudo, a quantidade de cromo variou de 110 a 260 µg/kg, e não houve diferença significativa ao nível de 5% entre as amostras.

A quantidade de cádmio variou de 0,03 mg/kg para o Champignon de Paris até 0,29 mg/kg para o P. salmon. Segundo KALAC (2009), a concentração de cádmio nas espécies do gênero *Agaricus* (como o Champignon de Paris) pode variar de 0,5 a 5 mg/kg, valores bem acima do encontrado neste estudo.

A quantidade de chumbo variou de 0,21 mg/kg para o *O. canarii* até 0,54 mg/kg para o P. salmon. Entretanto, os cogumelos não apresentaram diferenças significativas ao nível de 5%. Alguns estudos constataram que os cogumelos podem acumular chumbo, quando este se encontra presente no substrato (STURION e RANZANI, 2000). O Champignon de Paris apresentou valor bem próximo do encontrado por ISILOGLU *et al.* (2001) que foi de 0,55 mg/kg.

4. CONCLUSÃO

A determinação dos minerais estudados em cogumelos usando como método de abertura de amostra a calcinação em forno mufla e quantificação por ICP OES foram mais adequadas, quando comparada ao procedimento de abertura de amostra em sistema fechado assistido por microondas.

Os resultados mostraram que os cogumelos possuem grande quantidade de minerais, principalmente potássio (elemento em maior concentração), fósforo e magnésio. As espécies *Agaricus bisporus* (Champignon de Paris) e *Pleurotus ostreatus* (Shimeji) podem ser consideradas fontes dos dois primeiros minerais. Já a espécie *Oudemansiella canarii*, ainda pouco estudada, pode ser considerada fonte de potássio e fósforo.

O Champignon de Paris também se destacou pela grande quantidade de cálcio quando comparado às outras espécies.

Todas as espécies apresentaram teores baixos de sódio sendo que podem ser classificadas como alimentos que “não contém sódio”. Isso torna-se extremamente importante quando trata-se de pessoas com hipertensão arterial, problema relativamente comum a pessoas idosas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COUTINHO, L.N. Cultivo de espécies de cogumelo comestíveis. Disponível em: <<http://www.geocities.com/esabio.geo/cogumelo/agaricus.htm>>. Acessado em 06 de Maio de 2009.

EIRA, A. F.; MINHONI, M. T. A. Manual teórico: prático do cultivo de cogumelos comestíveis. 2. ed. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais PAF; FCA, UNESP, 1997. 115p.

EMBRAPA. RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA. Brasil e China vão intensificar cooperação para aumentar a produção e consumo de cogumelos. Disponível em <www.portaldoagronegocio.com.br>. Acessado em 06 de Maio de 2009.

FRANCO, L. No reino dos cogumelos. **Revista Globo Rural** n.253, p. 56-64, 2006.

FURLANI, R. P. Z.; GODOY, H. T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis: uma revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 64 (2), p. 149-154, 2005.

FURLANI, R. P. Z.; GODOY, H. T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis. **Revista Ciênc. Tecnol. Aliment.** v. 27 (1), p. 154-157, 2007.

GENÇCELEP, H.; UZUN, Y.; TUNÇTÜRK, Y.; DEMIREL, K. Determination of mineral contents of wild-grown edible mushrooms. **Food Chem.** v. 113, p. 1033-1036, 2009.

ISILOGLU, M.; YILMAZ, F.; MERDIVAN, M. Concentrations of trace elements in wild edible mushrooms. **Food Chem.** v. 73, p. 169-175, 2001.

KALAC, P.; SVOBODA, L. A review of trace element concentrations in edible mushrooms. **Food Chem.** v. 69, p. 273-281, 2000.

KALAC, P. Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. **Food Chem.** v. 113, p. 1033-1036, 2009.

MATTILA, P., KONKO, K., EUROLA, M., PIHLAVA, J. M., ASTOLA, J., VAHTERISTO, L., HIETANIEMI, V., KUMPULAINEN, J., VALTONEN, M. e PIIRONEN V. Contents of vitamins, Mineral Elements, and Phenolic Compounds in Cultivated Mushrooms. **J. Agric. Food Chem.**, v. 49 (5), p. 2343-2348, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria da Vigilância Sanitária. Portaria no 27; 1998 jan 13; Diário Oficial da União 1998 jan 16. Regulamento Técnico referente à informação nutricional complementar. 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria da Vigilância Sanitária. RDC nº 269; Regulamento Técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. 22 set de 2005.

MOURA, P. L. C. Determinação de elementos essenciais e tóxicos em cogumelos comestíveis por análise por ativação com nêutrons. Dissertação apresentada para obtenção do Grau de Mestre em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações. Ipen, São Paulo, 2008.

OUZOUNI, P. K.; VELTSISTAS, P. G.; PALEOLOGOS, E. K.; RIGANAKOS, K. A. Determination of metal content in wild edible mushrooms species from regions of Greece. **J. Food Comp. Anal.** v. 20, p. 480-486, 2007.

POLKOWSKA-MOTRENKO, H., ROSSBACH, M., Preparation and characterization of a proficiency test material ‘‘Polish mushrooms’’ supported by the International Atomic Energy Agency (IAEA), Vienna. **Accred Qual. Assur.**, v.12, p.343–350, julho de 2007.

RUEGGER, M. J. S.; TORNISIELO, S. M. T.; BONONI, V. L. R.; CAPELARI, M. Cultivation of the edible mushroom *Oudemansiella canarii* (JUNGH.) HÖHN. In lignocellulosic substrates. **Braz. J. Microbiol.** v. 32, p.211-214, 2001.

SALES-CAMPOS, C.; OLIVEIRA, L. A.; ARAUJO, L. M.; VAREJÃO, M. J. C.; ANDRADE, M. C. N. Composição mineral de uma linhagem de *Pleurotus ostreatus* cultivada em resíduos madeireiros e agroindustriais da região amazônica. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.29(4), p. 868-872, out.-dez. 2009.

SILVA, S.O.; COSTA, S.M.G. da; CLEMENTE, E. Chemical Composition of *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél., Substrates and Residue after Cultivation. **Braz. Arch. Biol. Technol.** vol.45 (4), p.531-535, dezembro de 2002.

SMITH, J. ROWAN, N. J. SULLIVAN, R. Medicinal Mushrooms: Their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments. Cancer Research UK. University of Strathclyde, Maio de 2002.

SOYLAC, M.; SARAÇOGLU, S.; TÜZEN, M.; MENDİL, D. Determination of trace metals in mushrooms samples from Kayseri, Turkey. **Food Chem.** v. 92, p. 649-652, 2005.

STURION, G. L.; RANZANI, M. R. T. C. Composição em minerais de cogumelos comestíveis cultivados no Brasil – *Pleurotus ssp* e outras espécies desidratadas. **Arch. Latinoam. Nutr.** n.1 (50), p.102-108, 2000.

VILELA, P. S. Cogumelos: Mercado e comercialização. Disponível em <www.faemg.org.br>. Acesso em 19 de Março de 2009.

WASSER, S. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. **Applied Microb. Biotech.**, v. 60, n. 3, p. 258-274, November, 2002.

CAPÍTULO 4

ADEQUAÇÃO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS EM COGUMELOS COMESTÍVEIS

Priscila Abackerli de PAULI-CREDENDIO

Célia Maria de SYLOS

RESUMO

Os cogumelos contêm um valor nutricional adequado e várias substâncias biologicamente ativas. Sua produção vêm aumentando consideravelmente no Brasil. Existem vários estudos que determinam os teores de compostos fenólicos e flavonóides deste alimento, mas a extração destes compostos é feita de várias formas, com diferentes solventes e tempos. O objetivo deste trabalho foi adequar uma melhor metodologia para a extração dos fenólicos totais em cogumelos comestíveis. Foram testados 3 solventes, 3 tempos de extração e 2 tempos de reação antes da leitura no espectrofotômetro. O metanol mostrou-se o melhor solvente, assim como o tempo de reação de 30 minutos. Não houve diferença estatística significativa entre os tempos de extração.

ABSTRACT

Mushrooms contain great nutritional value and various biologically active substances. Their production has been increasing considerably in Brazil. There are several studies that determine the levels of total phenolics of this food, but the extraction of these compounds is made in various ways, with different solvents, temperatures and times. The objective was to adapt a better methodology for the extraction of phenolics and flavonoids in edible mushrooms. Three solvents were tested, three extraction times, two temperatures and two reaction times before reading in the spectrophotometer. Methanol proved to be the best solvent, and also the reaction time of 30 minutes. There was no statistically significant difference between the times of extraction.

1. INTRODUÇÃO

Os cogumelos são alimentos conhecidos desde a antiguidade, e atualmente são vastamente usados pelos povos orientais, nas formas nutricionais e medicinais. Nos últimos anos houve um aumento na produção deste alimento no Brasil, sendo que a maior parte é cultivada no estado de São Paulo, região de Mogi das Cruzes (EMBRAPA, 2009).

Grande parte deste aumento na produção pode-se atribuir às pesquisas que vêm demonstrando que os cogumelos apresentam um ótimo valor nutricional (grandes quantidades de fibras e proteínas e baixas quantidades de lipídeos), além de conterem várias substâncias bioativas que já foram isoladas a partir deles (MATTILA *et. al.*, 2000; FURLANI e GODOY, 2005; SMITH *et. al.*, 2002).

Estudos vêm demonstrando os danos que os radicais livres podem fazer ao organismo, desde o envelhecimento precoce até doenças degenerativas graves como é o caso do câncer (VALKO *et. al.*, 2006). Os compostos antioxidantes têm o poder de combater essas substâncias danosas ao organismo, pois protegem as células do “estresse oxidativo” (CLARKE, 2009). Exemplos destes compostos são as vitaminas A, C e E, os flavonóides, os fenólicos e os carotenóides, presentes naturalmente em alimentos como frutas e verduras.

Na literatura, há diversas extrações realizadas de modo diferente para determinação de compostos fenólicos em cogumelos (YANG *et. al.*, 2002; CHEUNG e CHEUNG, 2005; CHOI *et. al.*, 2006). Há diferenças entre os solventes e tempos de extração, entre outros parâmetros.

Em vista disso, o objetivo deste trabalho foi adequar alguns parâmetros para realizar a extração dos compostos fenólicos totais utilizando-se amostras do cogumelo Shiitake (*Lentinus edodes*).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostras

A amostra do cogumelo Shiitake (*Lentinus edodes*) foi fornecida por uma empresa localizada na cidade de Salto, região de Campinas (SP). Foram analisados 04 lotes e as determinações realizadas em triplicata.

A amostra foi seca em estufa a 65°C (FABBE-PRIMAR), triturada e acondicionada em embalagens de vidro e estocada até o momento da realização das análises.

2.2. Escolha das condições de extração dos compostos fenólicos

A extração das amostras foi realizada de acordo com o método de Ramírez-Anguiano *et. al.* (2007), com modificações. Foi acrescentado 10 mL do solvente 80% na amostra (metanol, etanol e acetona), agitou-se em vórtex por dois minutos e deixou-se o solvente em contato com a amostra por 0, 15 e 30 minutos (tempos de extração). Em seguida, centrifugou-se a 10.000 rpm por 8 minutos e coletou-se o sobrenadante.

2.3. Determinação de fenólicos totais

A quantificação dos fenólicos totais foi feita segundo o método descrito por Scalbert *et. al.* (1989). O método baseia-se na reação da amostra com o reagente de Folin-Ciocalteu e com leitura da absorbância da solução realizada em espectrofotômetro a 760 nm. A curva analítica foi construída nas concentrações entre 0,2 a 0,8 µg de ácido gálico por mL. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico (EAG)/grama de amostra em base seca.

2.4. Análise Estatística

A análise estatística dos resultados foi realizada no programa OriginPro8 através de análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na literatura, os inúmeros trabalhos a respeito da determinação de fenólicos totais realizam a extração destes compostos com diferentes solventes, sendo que os mais utilizados são metanol, etanol e acetona, e também usam diferentes tempos de extração. Outro fator que varia nas metodologias estudadas é o tempo de reação antes da leitura da absorbância da solução (YANG *et. al.*, 2002; CHEUNG e CHEUNG, 2005; CHOI *et. al.*, 2006).

Neste sentido, antes de realizar a determinação de fenólicos totais, alguns parâmetros foram avaliados para escolher a melhor metodologia para extração dos mesmos. Foram avaliados três solventes (metanol, etanol e acetona), três tempos de extração (0, 15 e 30 minutos) e 2 tempos de reação (5 e 30 minutos). As análises foram feitas em temperatura ambiente.

Os resultados do teor de compostos fenólicos totais estão expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/grama de cogumelo em base seca, e estão apresentados nas Tabelas 1 a 3.

Tabela 1. Quantidade de compostos fenólicos do cogumelo Shiitake com tempo de reação de 5 minutos, com variação de solvente e tempo de extração.

Solvente	Tempo de extração (minutos)		
	0	15	30
Metanol	2,91 ± 0,21 ^{a A}	2,95 ± 0,11 ^{a A}	3,22 ± 0,01 ^{a A}
Etanol	2,39 ± 0,22 ^{b A}	2,64 ± 0,35 ^{b A}	2,74 ± 0,03 ^{b A}
Acetona	2,19 ± 0,18 ^{c A}	2,04 ± 0,3 ^{c A}	2,39 ± 0,02 ^{c A}

*Resultados expressos em base seca (média ± desvio padrão).

*Linhas e colunas com diferentes letras são significativamente diferentes no teste de Tukey ($p \leq 0.05$).

*Letras minúsculas refere-se às colunas e letras maiúsculas refere-se às linhas.

Tabela 2. Quantidade de compostos fenólicos do cogumelo Shiitake com tempo de reação de 30 minutos, com variação de solvente e tempo de descanso.

Solvente	Tempo de descanso (minutos)		
	0	15	30
Metanol	3,59 ± 0,22 ^{a A}	3,52 ± 0,13 ^{a A}	3,71 ± 0,05 ^{a A}
Etanol	2,98 ± 0,25 ^{b A}	3,18 ± 0,38 ^{b A}	3,27 ± 0,01 ^{b A}
Acetona	2,71 ± 0,19 ^{c A}	2,49 ± 0,39 ^{c A}	2,87 ± 0,01 ^{c A}

*Resultados expressos em base seca (média ± desvio padrão).

*Linhas e colunas com diferentes letras são significativamente diferentes no teste de Tukey ($p \leq 0.05$).

*Letras minúsculas refere-se às colunas e letras maiúsculas refere-se às linhas.

De acordo com as Tabelas 1 e 2, não houve diferença significativa entre os tempos de extração ao nível de significância de 5%. Os três solventes apresentaram diferença significativa a 5%, sendo que o metanol apresentou os maiores valores. Em suas pesquisas, Yang *et. al.*, (2002) realizaram as extrações dos cogumelos Shiitake e Shimeji utilizando o solvente metanol, assim como Ramírez-Anguiano *et. al.* (2007).

Para a determinação dos teores de compostos fenólicos totais, tomou-se como referência o tempo de extração de 30 minutos pois, embora este não tenha diferido estatisticamente dos demais tempos de extração ($p \leq 0,05$), foi o que apresentou maiores resultados.

A Tabela 3 apresenta os melhores resultados obtidos a partir das duas tabelas anteriores, com o melhor tempo de extração estabelecido.

Tabela 3. Quantidade de compostos fenólicos do cogumelo Shiitake com tempos de reação de 5 e 30 minutos e tempo de extração de 30 minutos.

Solvente	Tempo de reação (minutos)	
	5	30
Metanol	3,22 ± 0,01 ^a	3,71 ± 0,05 ^b
Etanol	2,74 ± 0,03 ^a	3,27 ± 0,01 ^b
Acetona	2,39 ± 0,02 ^a	2,87 ± 0,01 ^b

*Resultados expressos em base seca (média ± desvio padrão).

*Letras diferentes, na mesma coluna, são significativamente diferentes no teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A Tabela 3 mostra que houve diferença estatística significativa entre os tempos de reação ($p \leq 0,05$), sendo que o tempo de reação de 30 minutos foi aquele que apresentou os maiores teores de compostos fenólicos totais.

4. CONCLUSÃO

O solvente extrator e o tempo de reação antes da leitura da absorbância influenciam significativamente na extração de compostos fenólicos, enquanto que o tempo de extração não exerce essa influência.

Os melhores resultados para determinação de fenólicos totais em Shiitake foram o metanol como solvente e o tempo de reação antes da leitura no espectrofotômetro de 30 minutos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHEUNG, L. M.; CHEUNG, P. C. K. Mushrooms extracts with antioxidant activity against lipid peroxidation. **Food Chem.** v.89, p. 403–409, 2005.
- CHOI, Y.; LEE, S. M.; CHUN, J.; LEE, H. B.; LEE, J. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. **Food Chem.**, v. 99, p. 381–387, 2006.
- CLARKE, J. Mushrooms, The New Superfood. Disponível em http://www.mushroom-uk.com/health_professionals/mushroom-superfood.pdf. Acesso em 23 de Setembro de 2009.
- EMBRAPA. RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA. Brasil e China vão intensificar cooperação para aumentar a produção e consumo de cogumelos. Disponível em <www.portaldoagronegocio.com.br>. Acesso em 04 de Setembro de 2009.

- FURLANI, R. P. Z.; GODOY, H. T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis: uma revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 64 (2), p. 149-154, 2005.
- MATTILA, P.; SUONPAA, K.; PIIRONEN, V. Functional properties of edible mushrooms. **Nutr.** v. 16 (7/8), p. 694-696, 2000.
- RAMÍREZ-ANGUIANO, A. C.; SANTOYO, S.; REGLERO, G.; SOLER-RIVAS, C. Radical scavenging activities, endogenous oxidative enzymes and total phenols in edible mushrooms commonly consumed in Europe. **J. Sci Food Agric.** v. 87, p. 2272-2278, 2007.
- SCALBERT, A.; MONTIES, B.; JANIN, G. Tannins in Woods: Comparison of different estimation methods. **J. Agric. Food Chem.** v. 37, n. 5, 1989.
- SMITH, J. ROWAN, N. J. SULLIVAN, R. Medicinal Mushrooms: Their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments. Cancer Research UK. University of Strathclyde, Maio de 2002.
- VALKO, M.; RHODES, C. J.; MONCOL, J.; IZACOVIC, M.; MAZUR, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico-Biological Interactions** v.160, p.1–40, 2006.
- YANG, J. H.; LIN, H. C.; MAU, J. L. Antioxidant properties of several commercial mushrooms. **Food Chem.** v. 77, p. 229-235, 2002.

CAPÍTULO 5

CONTEÚDO DE FENÓLICOS E FLAVONÓIDES TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM COGUMELOS COMESTÍVEIS

Priscila Abackerli de PAULI-CREDENDIO

Célia Maria de SYLOS

RESUMO

O crescente aumento do consumo de cogumelos pode ser atribuído ao seu alto valor nutritivo e também às suas propriedades medicinais. Os compostos antioxidantes como fenólicos e flavonóides estão associados à prevenção de várias doenças como o câncer e a arteriosclerose, e a quantidade de compostos fenólicos totais vêm sendo correlacionada com a atividade antioxidante. O objetivo deste trabalho foi quantificar os compostos fenólicos e flavonóides totais e a atividade antioxidante em seis espécies de cogumelos comestíveis (*Lentinus edodes* (Shiitake), *Agaricus bisporus* (Champignon de Paris), *Oudemansiella canarii* e *Pleurotus ssp.* (*Pleurotus* branco, *Pleurotus* salmon e Shimeji)). As amostras foram secas em estufa circulação de ar a 65°C por 4 horas, e em seguida trituradas. A extração dos compostos foi realizada com metanol 80%. Os compostos fenólicos, expressos em equivalentes de ácido gálico (EAG)/g de amostra, foram determinados utilizando a reação com o reagente de Folin-Ciocalteu e leitura a 760nm; os flavonóides, expressos em equivalente de catequina (EC)/g de amostra, pela reação com cloreto de alumínio e nitrito de sódio em meio alcalino e leitura a 510 nm e a atividade antioxidante foi determinada através da redução do radical DPPH• (1,1- difenil-2-picrilhidrazila) com leitura a 515 nm. O Champignon de Paris e o *O. canarii* foram as variedades que apresentaram, respectivamente, maiores teores de fenólicos totais e flavonóides totais (6,0 mgEAG/g e 2,8 mgEC/g). Já o cogumelo *P. branco* obteve teores baixos tanto de fenólicos quanto de flavonóides (2,57 mgEAG/g e 0,39 mgEC/g, respectivamente). Quanto à atividade antioxidante, o Champignon de Paris apresentou uma maior inibição a uma menor concentração, que pode ser relacionada à grande quantidade de compostos fenólicos totais.

Palavras chave: cogumelos, fenólicos totais, flavonóides totais, atividade antioxidante, DPPH•.

ABSTRACT

The increasing consumption of mushrooms can be attributed to both high nutritional value and medicinal properties. The antioxidant compounds such as phenolics and flavonoids are associated with the prevention of various diseases such as cancer and atherosclerosis, and the amount of total phenolic compounds have been correlated with antioxidant activity. The aim of this study was to quantify the total phenolic and flavonoids compounds and antioxidant activity in six species of edible mushrooms (*Lentinus edodes* (Shiitake), *Agaricus bisporus* (Champignon de Paris), *Oudemansiella canarii* and *Pleurotus ssp.* (white oyster, salmon

oyster and Shimeji)). The samples were dried in air circulation at 65 ° C for 4 hours, and then crushed. The extraction of the compounds was performed with 80% methanol. The phenolic compounds were expressed as gallic acid equivalents (EAG)/g of sample and were determined using the reaction with Folin-Ciocalteu, reading at 760nm; flavonoids, expressed as catechin equivalent (CE)/g of sample by reaction with aluminum chloride and sodium nitrite in alkaline and reading at 510 nm and the antioxidant activity was determined by reducing the DPPH[•] radical (1,1 - diphenyl-2-picrylhydrazyl) reading at 515 nm. The Champignon de Paris and the *O. canarii* varieties presented, respectively, higher levels of total phenolics and flavonoids compounds (6.0 mgEAG/g and 2.8mgEC/g). But the white oyster mushroom showed low levels for both phenolic and flavonoids compounds (2.57 mgEAG/g and 0.39 mgEC/g, respectively). As for antioxidant activity, Champignon de Paris showed greater inhibition at lower concentration, which may be related to large amounts of phenolic compounds.

Keywords: mushroom, total phenolics, total flavonoids, antioxidant activity, DPPH[•].

1. INTRODUÇÃO

Os cogumelos são alimentos conhecidos e utilizados há milhares de anos. Apresentam muitas propriedades, como as anti-tumorais, antiinflamatórias, antivirais e antioxidantes (SMITH *et. al.*, 2002).

A principal função dos antioxidantes é proteger as células do “estresse oxidativo” (CLARKE, 2009). Estudos sugerem que a ingestão de alimentos ricos em antioxidantes pode diminuir a incidência de doenças crônicas como alguns tipos de câncer e doenças do coração. Alguns dos agentes antioxidantes dos alimentos são as vitaminas A, C e E, os flavonóides, os fenólicos e os carotenóides (BIANCHI e ANTUNES, 1999)

Os compostos fenólicos possuem moléculas que interagem com os radicais livres e são consumidos durante a reação. Eles podem ser compostos por moléculas simples ou com alto grau de polimerização, e se apresentam livres ou ligados a açúcares e proteínas (ANGELO e JORGE, 2007).

Uma dieta rica em antioxidantes associada aos mecanismos de defesa endógenos (catalase, peroxidase, metaloproteínas e superóxido dismutase) pode ser eficiente no combate de processos oxidativos naturais do organismo, que ocorrem devido às formas de oxigênio extremamente reativas denominadas “substâncias reativas oxigenadas” ou ROS, as quais englobam os radicais livres. (DEGÁSPARI e WASZCZYNSKYJ, 2004).

Vários estudos têm determinado o valor de compostos fenólicos totais e flavonóides totais em cogumelos, muitos dos quais são realizados a partir de espécies bem conhecidas, como shiitake, champignon de Paris e shimeji (DUBOST *et. al.*, 2007; ELMASTAS *et. al.*, 2007). Faltam dados de algumas variedades menos estudadas, como os *Pleurotus* branco e salmon, e ainda existem espécies comestíveis que não possuem dados publicados na literatura, como é o caso do cogumelo *Oudemansiella canarii*, espécie ainda não comercializada para consumo no Brasil.

Os objetivos deste trabalho foram determinar o conteúdo de compostos fenólicos totais, de flavonóides totais e da capacidade antioxidante do radical DPPH• das seguintes espécies de cogumelos: *Lentinus edodes* (Shiitake), *Agaricus bisporus* (Champignon de Paris), *Oudemansiella canarii* e *Pleurotus* ssp. (*Pleurotus* branco, *Pleurotus* salmon e Shimeji).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostras

As amostras das espécies de cogumelos Shiitake (*Lentinus edodes*), Shimeji (*Pleurotus ostreatus*), *Pleurotus* salmon (*Pleurotus ostreatus*roseus), *Pleurotus* branco (*Pleurotus sajor-caju*), Champignon de Paris (*Agaricus bisporus*) e *Oudemansiella canarii* foram fornecidas por uma empresa localizada na cidade de Salto, região de Campinas (SP). Foram analisados 04 lotes de cada espécie e as determinações realizadas em triplicata.

As amostras foram secas em estufa a 65°C (FABBE-PRIMAR) por 4 horas, trituradas e acondicionadas em embalagens de vidro e estocadas até o momento da realização das análises.

2.2. Preparo dos extratos

As amostras foram extraídas de acordo com o método de Ramírez-Anguiano *et. al.* (2007), com modificações. Foi acrescentado 10 mL de metanol 80% na amostra, agitou-se em vórtex por dois minutos e deixou-se o solvente em contato com a amostra por 30 minutos (tempos de extração). Em seguida, centrifugou-se a 10.000 rpm por 8 minutos e coletou-se o sobrenadante.

2.3. Determinação do conteúdo de Compostos Fenólicos totais

A quantificação dos fenólicos totais foi feita segundo o método descrito por Scalbert *et. al.* (1989). A uma alíquota de 0,5 mL do extrato obtido no item 2.2 foi adicionado 2,5mL do reagente de Folin-Ciocalteu (10%) e 2,0 mL de Na₂CO₃ (7,5%). Após 30 minutos de incubação à temperatura ambiente, a absorbância foi medida em espectrofotômetro a 760 nm. A curva analítica foi elaborada com ácido gálico nas concentrações de 2 a 8 µg/mL. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico/grama de amostra em base seca.

2.4. Determinação de Flavonóides Totais

A quantificação dos flavonóides totais foi feita segundo o método descrito por Toor e Savage (2006). A uma alíquota de 5 mL do extrato obtido no item 2.2 foi adicionado 0,3mL de NaNO₃, 0,6 mL de AlCl₃, 2,0 mL de NaOH 1M e 2,1 mL de água destilada. Após 5 minutos, a absorbância foi medida em espectrofotômetro a 510 nm. A curva analítica foi elaborada com catequina nas concentrações de 12,3 a 36,9 µg/mL. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de catequina/grama de amostra em base seca.

2.5. Capacidade antioxidante pelo método de DPPH[•]

A determinação da capacidade antioxidante via radical livre DPPH[•] foi feita de acordo com o método de Sofiati (2009). Em um tubo, foi adicionado uma alíquota de 1 mL do extrato alcoólico e 2,5 mL da solução metanólica de DPPH[•] 0,004%, que foram mantidos no escuro por 30 minutos. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 515 nm. A atividade sequestrante do radical DPPH[•] das amostras foi expressa como porcentagem de inibição (% Inibição).

2.6. Análise Estatística

A análise estatística dos resultados foi realizada no programa OriginPro8 através de análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Fenólicos e flavonóides totais

A Tabela 1 apresenta os resultados dos compostos fenólicos e dos flavonóides nas seis espécies de cogumelos estudadas.

Tabela 1. Quantidade de compostos fenólicos e flavonóides em seis espécies de cogumelos.

	Fenólicos Totais (mgEAG/g)	Flavonóides Totais (mgEC/g)
Shiitake	3,04 ± 0,04 ^a	0,85 ± 0,03 ^a
Shimeji	4,46 ± 0,14 ^b	0,28 ± 0,01 ^b
Champignon de Paris	6,0 ± 0,46 ^c	1,40 ± 0,06 ^c
Pleurotus salmon	5,9 ± 0,26 ^c	0,60 ± 0,02 ^d
Pleurotus branco	2,57 ± 0,3 ^a	0,39 ± 0,04 ^b
O. canarii	3,74 ± 0,2 ^d	2,8 ± 0,06 ^e

*Resultados expressos em base seca (média ± desvio padrão).

*Letras diferentes, na mesma coluna, são significativamente diferentes no teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Para os fenólicos totais, os resultados mostraram que houve diferenças estatísticas entre os cogumelos, com $p \leq 0,05$. As espécies Shiitake e P. branco mostraram-se estatisticamente iguais ao teste de Tukey, assim como as variedades P. salmon e Champignon de Paris. Esta última foi aquela que apresentou a maior média de compostos fenólicos entre os cogumelos estudados (6,0 mgEAG/g). O shimeji, o P. branco e o P. salmon apresentaram teores bem diferentes entre eles ($p \leq 0,05$), apesar dos três pertencerem ao mesmo gênero *Pleurotus*. A variedade *O. canarii* apresentou um teor intermediário entre as espécies estudadas.

Em suas pesquisas, Dubost *et. al.*, (2007) encontraram um valor de compostos fenólicos totais ligeiramente maior para o champignon de Paris (8,0 mgEAG/g) e um valor bem próximo ao deste trabalho para o shimeji (4,27 mgEAG/g). Já Tsai *et. al.*, (2009) apresentaram resultados bem superiores ao deste trabalho para o shimeji (7,11 mgEAG/g). Para o shiitake, tanto Dubost *et. al.* (2007) quanto Cheung *et. al.* (2003) encontraram valores superiores ao deste estudo (4,32 e 4,79 mgEAG/g, respectivamente). Em suas determinações de compostos fenólicos totais em três espécies de *Pleurotus*, Kim *et. al.* (2008) descreveram terem encontrado 21,2 mgEAG/g de P. branco e 30,1 mgEAG/g de P. salmon, valores extremamente superiores àqueles encontrados nesta pesquisa. As diferenças de valores podem

estar relacionadas a fatores como o clima, o substrato e o tempo de cultivo, entre outros. Além disso, os compostos fenólicos são metabólitos secundários e, portanto, supõe-se que seu teor também pode ser influenciado pela presença de pequenos insetos durante seu crescimento.

Na determinação dos flavonóides totais, Barros *et. al.* (2008) obtiveram um resultado ligeiramente superior (1,73 mgEC/g) ao encontrado neste trabalho para o champignon de Paris. Kim *et. al.* (2009) também encontraram valores superiores para o P. branco e o P. salmon (2,16 mgEC/g e 1,21 mgEC/g). O P. branco não diferiu estatisticamente do shimeji ($p < 0,05$). O *O. canarii* destacou-se pela grande quantidade de flavonóides totais (2,8 mgEC/g) em relação às outras espécies estudadas.

3.2. Capacidade antioxidante pelo método de DPPH•

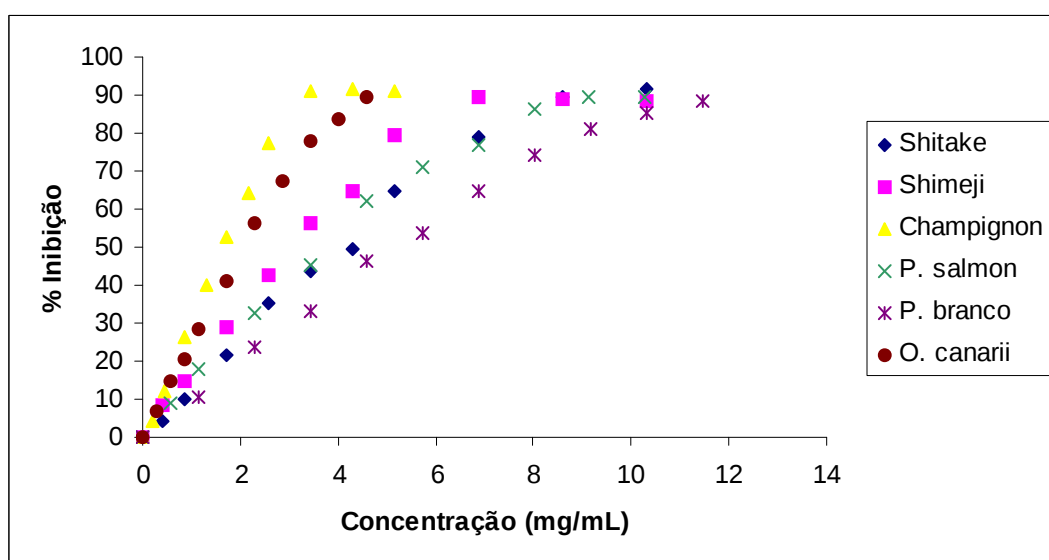


Figura 1. Porcentagem de inibição do radical DPPH• por seis tipos de cogumelos.

A Figura 1 mostra a curva de inibição das seis espécies, com as % de inibição máximas do radical DPPH• e as respectivas concentrações (mg de cogumelo seco/mL de extrato). A porcentagem máxima de inibição do radical DPPH• das seis espécies foi em torno de 90%, mas a concentração necessária para isso variou bastante entre as variedades. O champignon de Paris e o *O. canarii* foram os cogumelos com maiores atividades antioxidantes. Já o P. branco foi aquele que apresentou a menor atividade antioxidante entre as espécies, exigindo uma maior concentração de cogumelo para apresentar 90% de inibição.

Vários estudos têm correlacionado a grande quantidade de compostos fenólicos com a alta atividade antioxidante dos cogumelos (Cheung *et. al.*, 2003; Dubost *et. al.*, 2007). Neste

estudo pode-se observar esta mesma relação entre a maioria das espécies através da Tabela 1 e da Figura 1. As variedades que apresentaram maior quantidade de compostos fenólicos totais (Champignon de paris, *O. canarii* e shimeji) foram as que mostraram maior porcentagem de inibição a uma menor concentração de cogumelo, exceto o cogumelo *P. salmon*, que obteve uma grande quantidade de fenólicos totais, mas não foi tão eficiente na atividade antioxidante.

4. CONCLUSÃO

Dentre as espécies estudadas, o Champignon de Paris e o *Pleurotus salmon* foram os cogumelos que apresentaram as maiores quantidades de compostos fenólicos totais.

Já a espécie *Oudemansiella canarii* destacou-se pela quantidade de flavonóides totais superior às demais espécies analisadas.

Quanto à atividade antioxidante, a porcentagem máxima de inibição do radical DPPH• para as seis espécies foi em torno de 90%. Houve relação proporcional entre a atividade antioxidante e a quantidade de compostos fenólicos totais que as variedades apresentaram.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: Uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, vol. 66, p.1-9, 2007.
- BARROS, L.; CRUZ, T.; BAPTISTA, P.; ESTEVINHO, L. M.; FERREIRA, I. C. F. R. Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. **Food. Chem. Toxic.** V. 46, p. 2742-2747, 2008.
- BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Rev. Nutr.**, v.12 (2), 1999.
- CHEUNG, L. M.; CHEUNG, P. C. K.; OOI, V. E. C. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushrooms extracts. **Food Chem.**, v. 81, p. 249-255, 2003.
- CLARKE, J. Mushrooms, The New Superfood. Disponível em http://www.mushroom-uk.com/health_professionals/mushroom-superfood.pdf. Acesso em 23 de Setembro de 2009.
- DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5 (1), p. 33-40, Jan.- Jun./2004.
- DUBOST, N. J.; OU, B.; BEELMAN, R. B. Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity. **Food Chem.** , v.105, p. 727-735, 2007.

- ELMASTAS, M.; ISILDAK, O.; TURKEKUL, I.; TEMUR, N. Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. **J. Food Comp. Anal.**, v.20, p. 337–345, 2007.
- 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.; RO, H. M.; CHUNG, I. M. Phenolic Compound Concentration and Antioxidant Activities of Edible and Medicinal Mushrooms from Korea. **J. Agric. Food Chem.**, v.56, p. 7265–7270, 2008.
- RAMÍREZ-ANGUIANO, A. C.; SANTOYO, S.; REGLERO, G.; SOLER-RIVAS, C. Radical scavenging activities, endogenous oxidative enzymes and total phenols in edible mushrooms commonly consumed in Europe. **J. Sci Food Agric.** v. 87, p. 2272-2278, 2007.
- SCALBERT, A.; MONTIES, B.; JANIN, G. Tannins in Woods: Comparison of different estimation methods. **J. Agric. Food Chem.** v. 37 (5), 1989.
- SMITH, J. ROWAN, N. J. SULLIVAN, R. Medicinal Mushrooms: Their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments. Cancer Research UK. University of Strathclyde, Maio, 2002.
- SOFIATI, F. T. Estudo fitoquímico e atividades biológicas preliminares de extratos de *Polygonum acre* H.B.K. (POLYGONACEAE) e *Synadenium carinatum* boiss (EUPHORBIACEAE). Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. 100 páginas. Araraquara, 2009.
- TOOR, R. K.; SAVAGE, G. P. Effect of semi-drying on the antioxidant components of tomatoes. **Food Chem.** v. 94, p. 90-97, 2006.
- TSAI, S. Y.; HUANG, S. J.; LO, S. H.; WU, T. P.; LIAN, P. Y.; MAU, J. L. Flavour components and antioxidant properties of several cultivated mushrooms. **Food Chem.**, v. 113, p. 578-584, 2009.

CONCLUSÃO GERAL

Os cogumelos estudados apresentaram alto teor de umidade, quantidades consideráveis de proteínas e fibras, baixos teores de lipídeos e altos teores de carboidratos.

De uma forma geral, os cogumelos não podem ser considerados boas fontes de vitaminas B₁, B₂, B₃ e B₆, exceto nas espécies *Pleurotus ostreatus* (shimeji) e *Oudemansiella canarii*, que podem ser consideradas fontes de vitamina B₃.

A determinação dos minerais estudados em cogumelos usando como método de abertura de amostra a calcinação em forno mufla e quantificação por ICP OES foram mais adequadas, quando comparada ao procedimento de abertura de amostra em sistema fechado assistido por microondas.

Os resultados mostraram que os cogumelos possuem grande quantidade de minerais, principalmente potássio (elemento em maior concentração), fósforo e magnésio.

Todas as espécies apresentaram teores baixos de sódio e foram classificadas como alimentos que “não contém sódio”.

O solvente extrator e o tempo de reação antes da leitura da absorbância influenciam significativamente na extração de compostos fenólicos, enquanto que o tempo de extração não exerce essa influência. Os melhores resultados para determinação de fenólicos totais em Shiitake foram o metanol como solvente e o tempo de reação antes da leitura no espectrofotômetro de 30 minutos.

Dentre as espécies estudadas, o Champignon de Paris e o *Pleurotus salmon* foram os cogumelos que apresentaram as maiores quantidades de compostos fenólicos totais e o *Oudemansiella canarii* o que apresentou quantidade de flavonóides totais superior às demais espécies analisadas.

Quanto à atividade antioxidante, a porcentagem máxima de inibição do radical DPPH• para as seis espécies foi em torno de 90%. Houve relação proporcional entre a atividade antioxidante e a quantidade de compostos fenólicos totais que as variedades apresentaram.