

Caracterização química do resíduo pós-cultivo de cogumelos destoxificantes em torta de algodão

Larissa Silva Fonseca¹, Ana Paula Fernandes Araújo², Antony Enis Virginio Machado³, Félix Gonçalves de Siqueira⁴, Marivane Lemos⁵, Simone Mendonça⁶

Resumo

Os cogumelos comestíveis são fungos muito utilizados pelos povos europeus e asiáticos, para fins terapêuticos e culinários. O cogumelo *Agaricus bisporus* (Champignon de Paris) é o mais comercializado, seguido do *Lentinus edodes* (Shiitake) e das diversas espécies do gênero *Pleurotus*. Os cogumelos são corpos de frutificação (estruturas reprodutivas) de espécies de fungos classificados nos filos Basidiomycota e Ascomycota. Essas estruturas possuem excelente valor nutricional, com baixos teores de lipídeos e quantidades significativas de carboidratos e de proteínas, que pode variar entre espécies e sistemas de cultivo. As aplicações biotecnológicas desses microrganismos vão além de alimentos humanos, pois podem ser empregados em técnicas de biorremediação e biodestoxificação de substâncias antinutricionais de biomassas vegetais, por exemplo. Algumas espécies possuem enzimas capazes de transformar substâncias tóxicas presentes no substrato, que poderia ser utilizado na nutrição animal e, também, digerir parcialmente a parede celular vegetal e aumentar o teor de proteína bruta, em função da massa micelial. De acordo com a Food and Agriculture Organization of the United States (FAO), em 2013, a produção mundial de cogumelos frescos foi de aproximadamente 10 milhões de toneladas. A produção de 1 kg de cogumelo fresco pode gerar de 5 kg a 10 kg de pós-cultivo (biomassa vegetal + biomassa microbiana), também conhecido pela sigla em inglês SMS (*Spent Mushroom Substrate*). O SMS gerado de uma ou mais colheitas tem sido objeto de vários estudos em países como China, Estados Unidos e Holanda, evitando assim o descarte desse material de forma inapropriada. O objetivo deste trabalho foi avaliar a composição centesimal de formulações de substratos contendo torta de caroço de algodão como um dos insumos para o cultivo das espécies *Pleurotus ostreatus* CC389, *Pleurotus ostreatus* (Comercial), *Pleurotus eryngii* (Comercial), *Panus lecomtei* CC40 e *Fistulina hepatica* CC102. As espécies *P. ostreatus* CC389, *P. lecomtei* CC40 e *F. hepatica* foram previamente selecionadas por apresentarem resultados significativos quanto à destoxificação do fator tóxico e antinutricional, gossipol. A composição centesimal foi

¹ Graduanda em Farmácia, Universidade de Brasília, larissa.s.fonseca@hotmail.com

² Mestre em Biotecnologia, Universidade Federal do Tocantins, anapaula.araujo1@yahoo.com.br

³ Mestre em Biotecnologia, Universidade Federal do Tocantins, antony-enis@hotmail.com

⁴ Biólogo, doutor em Biologia Molecular, pesquisador da Embrapa Agroenergia, felix.siqueira@embrapa.br

⁵ Marivane Lemos, doutora em Ciências Farmacêuticas, colaboradora da Embrapa Agroenergia, marivane.lemos@gmail.com

⁶ Farmacêutica e Bioquímica, doutora em Saúde Pública, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, simone.mendonca@embrapa.br

determinada pelas análises de teor de matéria mineral, extrato etéreo, proteína bruta, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido e lignina. Os macrofungos demonstraram capacidade de diminuir o teor de lignina nos substratos, tornando o SMS um potencial insumo mais digerível para nutrição animal. Os resultados mostraram que a espécie de macrofungo e o tempo de colheita é determinante quanto às características centesimais do SMS, principalmente quanto ao teor de proteína bruta.

Palavras-chave: macrofungo. composição química. SMS (*Spent Mushroom Substrate*). resíduo da agroindústria. *Gossypium*.

Introdução

Os cogumelos comestíveis têm ganhado espaço no mercado em todos os continentes, uma vez que podem ser utilizados como suplemento alimentar em virtude do seu alto teor de aminoácidos, proteínas, fibras e minerais, e também por terem baixo teor de lipídios e calorias (REIS; ROCHA, 2015). As principais espécies da fungicultura industrial podem variar entre as regiões. Na Europa e em países da América do Norte, predomina o cultivo do *Agaricus bisporus* (champignon de Paris), enquanto no Japão predomina o *Lentinula edodes* (Shiitake) e, na China, o *Flammulina velutipes*, *Ganoderma lucidum*, *Morchela sculenta*, entre outros.

O gênero *Pleurotus* está entre os mais produzidos e disseminados em diversos países. No Brasil, foi realizado um censo em 2016, que mostrou que o estado de São Paulo foi responsável por produzir um total de aproximadamente 1.000 toneladas de cogumelos frescos/mês, sendo o *Pleurotus* spp. o gênero mais produzido, seguido do *Lentinula edodes* (GOMES et al., 2016). Vários fatores influenciam diretamente no cultivo de cogumelos comestíveis, desde fatores físicos (umidade, temperatura), como químicos (pH, composição dos substratos) e biológicos (contaminantes). Substratos como palhas, bagaços e serragens, em quantidades variadas, são fontes lignocelulósicas necessárias para o metabolismo desses fungos. Os cogumelos dispõem de enzimas capazes de hidrolisar tais substâncias, de modo a facilitar sua absorção e/ou utilização por esses organismos (AGUIAR, 2016). O nitrogênio, por sua vez, é essencial para a síntese de proteínas e outras substâncias nitrogenadas. Quando formulado corretamente, o nitrogênio pode aumentar o rendimento da produção de cogumelos, porém, em altas dosagens pode ter o efeito contrário (CHANG; MILES, 2004).

O farelo ou torta da semente de algodão é uma fonte potencial para alimentação animal por seu alto teor proteico (acima de 26%) e lipídico, mas possui limitações de uso, em decorrência da presença do fator tóxico e antinutricional, gossipol. O gossipol é um polifenol que causa efeitos nocivos aos animais monogástricos. A Embrapa Agroenergia tem estudado a destoxificação da torta de caroço de algodão (TCA) por ação de basidiomicetos (macrofungos), de forma que a biomassa passe a ser favorável para a nutrição de monogástricos (ARAUJO et al., 2015). O objetivo do presente trabalho foi avaliar a composição centesimal de biomassas pós-cultivo (SMS) e cogumelos (corpos de frutificação) de diferentes espécies (Embrapa Agroenergia e Comercial) quando cultivadas em substratos que contêm torta de caroço de algodão.

Materiais e Métodos

As amostras para as análises centesimais foram obtidas das misturas de ingredientes (biomassas lignocelulósicas e torta de caroço de algodão), aqui denominada de mistura pré-cultivo, dos cogumelos (corpos de frutificação pós-colheita) e da biomassa pós-cultivo (SMS). Foram realizados quatro experimentos com diferentes formulações e três espécies de fungos. A primeira mistura continha 70% de TCA e 30% de serragem de *Eucalyptus* spp., onde foi inoculado o fungo *Pleurotus ostreatus* CC389, que gerou um cogumelo e um SMS. A segunda mistura continha 70% de TCA e 30% de bagaço de cana-de-açúcar, onde foi inoculado o fungo *Fistulina hepatica* CC102. Nesse caso, o basidiomiceto não frutificou, por isso foi analisado apenas o SMS. A terceira mistura continha 20% de TCA e 80% de serragem, em que foram inoculados os fungos *Fistulina hepatica* CC102 e *Panus lecomtei* CC40, que geraram cogumelos e SMSs, respectivamente. A Hochibra Cogumelos Exóticos (Vitória da Conquista, BA) forneceu os cogumelos *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus eryngii* e seus respectivos pós-cultivos, não sendo informada a formulação do substrato. Os macrofungos *P. ostreatus* CC389, *P. lemcotei* CC40 e *F. hepatica* CC102 apresentaram resultados de degradação de gossipol acima de 95% em trabalhos prévios, por isso foram utilizados neste estudo. Com exceção dos fungos comerciais, todas as coletas dos fungos silvestres foram realizadas sob a autorização de bioprospecção SISBIO / IBAMA n. 41346-1.

As amostras foram secas em estufa com ventilação forçada a 65 °C, por 48 horas, moídas em moinho ultracentrífugo (ZM 200, Retsch, Germany) e caracterizadas quanto à composição centesimal: matéria seca, matéria mineral, extrato etéreo, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, proteína bruta e lignina, de acordo com Nogueira e Souza (2005). Todas as análises foram realizadas em triplicata. Os resultados da composição centesimal obtidos foram expressos em média \pm desvio padrão, em base seca, e analisados estatisticamente pela análise de similaridade, sendo utilizado como pós-teste o método de Scott-Knott. Assim, foi considerado como estatisticamente significativo o $p < 0,05$ (nível de significância de 5%), utilizando o software R Core Team® (2017).

Resultados e discussões

A Tabela 1 apresenta os resultados da composição centesimal das amostras das misturas pré-cultivo, cogumelos e SMSs analisadas. As misturas M1 e M3, contendo serragem de eucalipto em sua composição, mesmo em diferentes concentrações, não apresentaram diferença estatística quanto ao teor de matéria mineral (MM). Os pós-cultivos com maior teor de MM foram os de origem comercial (SMS5 e SMS6), inoculados respectivamente pelos fungos *P. eryngii* e *P. ostreatus*, seguido do SMS2, proveniente do cultivo de *F. hepatica*. Os cogumelos com maior teor mineral foram os comerciais *P. ostreatus* e o *P. eryngii*. Pedra et al. (2009) analisaram dois isolados de *P. ostreatus* cultivados em casca de coco moída suplementada com farelos e encontraram teor de MM entre 6,55% e 7,66%. Com exceção do SMS2, todos os pós-cultivos apresentaram valores menores de MM em relação à mistura, indicando a transferência de MM da mistura para os corpos de frutificação. Fatores como a espécie

de fungo, as condições ambientais e o substrato têm influência direta na composição química dos cogumelos, principalmente nos minerais e na qualidade proteica.

Tabela 1. Composição centesimal dos cogumelos e das misturas antes e após cultivo de basidiomicetos em substratos com torta de algodão e substratos comerciais

AM	% MM	% EE	% N	%PB*	% FDN	% FDA	% LIG	%CEL	%HEM
M1	6,44± 0,17 ^{Aa}	3,31± 0,03 ^{Aa}	3,10± 0,08 ^{Ba}	19,05± 0,04 ^{Ba}	61,86± 0,30 ^{Ca}	47,40 ± 0,03 ^{Bb}	11,71± 0,59 ^{Bb}	28,15	14,46
M2	3,95± 0,05 ^{Bb}	1,60± 0,06 ^{Ba}	3,41± 0,11 ^{Aa}	21,28± 0,67 ^{Aa}	64,61± 0,31 ^{Bb}	45,97± 0,28 ^{Cb}	11,12± 0,05 ^{Bb}	34,26	18,64
M3	6,64± 0,30 ^{Aa}	1,60± 0,11 ^{Ba}	1,19± 0,05 ^{Cb}	7,64± 0,04 ^{Cb}	71,74± 0,10 ^{Ab}	60,75± 0,63 ^{Aa}	19,25± 0,15 ^{Aa}	41,51	10,99
SMS1	4,68± 0,05 ^{Cb}	0,78± 0,02 ^{Bb}	3,31± 0,05 ^{Ca}	20,70± 0,30 ^{Ca}	60,95± 0,05 ^{Fa}	48,32± 0,15 ^{Da}	17,36± 0,19 ^{Aa}	30,96	12,62
SMS2	5,82± 0,21 ^{Ba}	1,36± 0,01 ^{Aa}	3,51± 0,08 ^{Ca}	21,92± 0,52 ^{Ca}	67,53± 0,43 ^{Fa}	52,93± 0,53 ^{Ca}	15,58± 0,28 ^{Ba}	37,35	14,61
SMS3	4,64± 0,00 ^{Cb}	0,25± 0,10 ^{Cb}	3,62± 0,14 ^{Ca}	23,07± 0,46 ^{Ca}	71,07± 0,18 ^{Cb}	55,60± 0,30 ^{Bb}	9,00± 0,25 ^{Cb}	46,60	15,46
SMS4	3,86± 0,12 ^{Db}	0,24± 0,04 ^{Cb}	1,51± 0,15 ^{Db}	8,88± 0,21 ^{Db}	72,93± 0,18 ^{Ba}	57,23± 0,17 ^{Aa}	8,75± 0,32 ^{Cb}	48,47	15,71
SMS5	7,14± 0,04 ^A	0,97± 0,08 ^B	4,20± 0,35 ^B	26,24± 2,18 ^B	74,04± 0,27 ^A	56,72± 0,08 ^A	16,62± 0,30 ^A	40,10	17,32
SMS6	6,12± 0,04 ^A	0,75± 0,26 ^B	5,52± 0,11 ^A	34,48± 0,70 ^A	69,38± 0,08 ^D	52,38± 0,15 ^C	16,16± 0,31 ^B	36,21	17,01
Cog1	7,43± 0,31 ^B	1,12± 0,11 ^A	5,87± 0,07 ^B	25,69± 0,32 ^B	29,82± 0,12 ^C	12,95± 0,27 ^C	0,36± 0,03 ^A		
Cog3	4,24± 0,01 ^D	0,68± 0,13 ^B	4,65± 0,15 ^D	20,01± 0,02 ^D	64,87± 0,06 ^A	27,76± 0,28 ^A	0 ^A		
Cog4	4,34± 0,12 ^D	0,72± 0,12 ^B	5,26± 0,00 ^C	23,05± 0,00 ^C	45,38± 0,34 ^B	18,33± 0,06 ^B	0 ^A		
Cog5	6,74± 0,18 ^C	0,76± 0,01 ^B	3,68± 0,16 ^E	15,72± 0,30 ^E	27,94± 0,26 ^D	13,16± 0,00 ^C	0,76± 0,25 ^A		
Cog6	9,52± 0,20 ^A	1,05± 0,07 ^A	7,01± 0,17 ^A	30,30± 0,24 ^A	22,20± 0,07 ^E	12,07± 0,18 ^D	0,41± 0,18 ^A		

AM: amostra; MM: matéria mineral; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; LIG: lignina; N: nitrogênio; PB: proteína bruta; CEL: celulose; HEM: hemicelulose. *: para cálculo de PB a partir do teor de Nitrogênio, foi utilizado o fator 6,25 para as misturas e SMS, e o fator 4,38 para os cogumelos. Foi realizado teste de Scott-Knott entre as misturas, entre os SMSs e entre os cogumelos, representado pelas letras maiúsculas. Foi realizado teste entre as misturas e os SMS, representado pelas letras minúsculas. Foi comparado a M1 com o SMS1, a M2 com o SMS2, a M3 como SMS3 e a M3 com o SMS4. Diferentes letras na mesma coluna indicam diferença estatística entre as amostras, admitindo nível de significância $p < 0.05$.

Dentre as misturas, a M1, com serragem de eucalipto foi a que apresentou maior teor de extrato etéreo (EE) com 3,31%. Os SMS1, SMS5 e SMS6, inoculados com o fungo *Pleurotus* spp., apresentaram teor de EE variando de 0,75 a 0,97%, não apresentando diferença estatística. Os cogumelos *P. ostreatus* (Cog1 e Cog6) foram os que apresentaram maiores valores de EE, 1,12% e 1,05%, respectivamente. Rangunathan e Swaminathan (2003) avaliaram a composição centesimal de *Pleurotus sajor-caju*, obtendo valor médio de 0,95% de EE para o substrato contendo resíduo da parte aérea do algodão, aproximando-se dos resultados obtidos no presente trabalho, com fungo do mesmo gênero. Dessa forma, observamos que, quando o teor de EE é maior na mistura, o cogumelo apresenta maior teor de EE.

Os teores de proteína bruta (PB) das misturas são estatisticamente diferentes um dos outros e apresentam valores entre 8% e 21%. O baixo teor de PB na M3 já era esperado em decorrência da sua composição com 80% de serragem, que não apresenta muita proteína, de acordo com Andrade et al. (2008), que encontraram valores semelhantes de PB em eucalipto (7,70%). Para o cálculo de proteínas, foi utilizado o fator de correção 6,25, para as misturas e SMS; e 4,38, para os cogumelos, isto porque genericamente nos alimentos as proteínas possuem 16% nitrogênio, ao passo que nos cogumelos, pela presença significativa de compostos nitrogenados não proteicos (principalmente a quitina), essa proporção deve ser reduzida em 70% (FURLANI; GODOY, 2007). O cogumelo *P. ostreatus* foi o que apresentou maior teor de proteína bruta, variando de 26% a 30% aproximadamente, confirmando os estudos de Manzi et al. (1999), que analisaram diferentes isolados de *P.ostreatus* e encontraram teores de PB variando entre 20% e 35%, aproximadamente, em base seca. O teor de PB encontrado no *P. eryngii* (Cog5) foi inferior (15,72%) ao encontrado por Manzi et al. (1999) (22,74%) na mesma espécie. Os SMS5 e SMS6 apresentaram maiores valores de proteína, (34,48% e 26,4%), respectivamente. A quantidade de colheita em função do tempo pode ter influenciado a composição de PB entre os SMSs, pois os cogumelos comerciais que geraram o SMS5 e SMS6 foram colhidos uma única vez, enquanto os demais foram colhidos durante 21 dias (três fluxos, aproximadamente). Furlani e Godoy (2007) compararam diferentes espécies de cogumelos e concluíram que a grande variabilidade dos teores de proteína pode ser explicada pela concentração de quitina presente em cada espécie. Assim, a atividade metabólica dos fungos que ficaram por mais tempo sobre o substrato transferiram parte da proteína para os respectivos. O teor de proteína bruta acima de 30% no SMS pode representar um método alternativo para obtenção de insumos para nutrição animal.

As fibras também estão presentes tanto na forma solúvel como na insolúvel. As principais fibras insolúveis são a celulose e a lignina. A fibra em detergente neutro (FDN) é a fração nutricional correspondente à soma de hemicelulose, celulose e lignina. A hemicelulose tem alta digestibilidade, a celulose tem digestibilidade variável e é afetada principalmente pela maturidade das plantas e a lignina é praticamente indigerível por ruminantes. A fibra em detergente ácido (FDA) é a fração correspondente à soma de celulose e lignina. Os valores de hemicelulose (HEM) foram calculados pela diferença entre FDA e FDN, e a celulose (CEL) foi calculada pela diferença entre a lignina (LIG) e a FDA. Nas análises de fibras, quando o meio apresentou maior teor de LIG (M3), os fungos *F. hepatica* e *P. lecomtei* podem ter produzido prioritariamente enzimas deslignificantes e, quando o meio apresentou maior teor de HEM (M1 e M2) do que LIG, os fungos *P. ostreatus* e *F. hepatica*

produziram preferencialmente enzimas que degradaram HEM. Após o cultivo dos diferentes fungos, os valores de CEL encontrados nos pós-cultivo foram maiores, sugerindo que os fungos não produziram nenhuma enzima que quebre a CEL (celulases). O aumento de CEL no pós-cultivo pode ser explicado também em virtude da presença de fibras que compõem a parede celular dos fungos e se comportam como celulose (insolúvel em detergente neutro e em detergente ácido). Por exemplo, a quitina, que é uma fibra encontrada na parede celular dos fungos, é estruturalmente semelhante à celulose, podendo estar sendo contabilizada como celulose na determinação de FDA. As misturas apresentaram teor de HEM variando de 10,99% a 18,64%. Os pós-cultivos de origem comercial apresentaram maior teor de HEM. No entanto, o SMS1 (*P. ostreatus*) apresentou menor teor de HEM. As análises de lignina, celulose e hemicelulose não foram determinadas nos corpos de frutificação, pois estes são constituídos basicamente por quitina e proteínas e, assim, são necessários outros métodos de avaliação.

Conclusões

De acordo com os resultados obtidos na composição centesimal, verificou-se que substrato influencia diretamente na composição de minerais e extrato etéreo dos cogumelos e dos pós-cultivos (SMS). A avaliação do teor proteico sugeriu que os diferentes fungos e tempo de colheita são fatores fundamentais na composição dos pós-cultivos (SMS). Os valores de celulose foram maiores em todos os pós-cultivos, sugerindo que os fungos não produziram nenhuma enzima que quebre a celulose, ou então a quitina pode estar sendo determinada como se fosse celulose na análise de FDA. Os valores de lignina foram menores nos pós-cultivos, demonstrando a ação enzimática desses fungos, degradando a lignina e tornando o SMS um substrato mais digerível para potencial uso como insumo na nutrição animal.

Referências

- ANDRADE, M. C. N. D.; SILVA, J. H. D.; MINHONI, M. T. D. A.; ZIED, D. C. Mycelial growth of two *Lentinula edodes* strains in culture media prepared with sawdust extracts from seven eucalyptus species and three eucalyptus clones. *Acta Scientiarum-Agronomy*, v. 30, n. 3, p. 333-337, 2008.
- AGUIAR, L. V. B. DE. **Cultivo e avaliação nutricional de *Pleurotus ostreatus* de ocorrência na Amazônia, em condições ambientais não controladas.** [s.l.] Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 2016.
- ARAUJO, A. P. F.; GOMES, T. G.; MACHADO, A. E. V.; CONCEIÇÃO, A. A.; RIBEIRO, J. A. de A.; CAMPANHA, R. B.; URBEN, A. F.; MENDONÇA, S.; SIQUEIRA, F. G. de Fungos como agentes destoxicadores de torta de caroço de algodão (Gossipol). In: ENCONTRO DE PESQUISA E INOVAÇÃO DA EMBRAPA AGROENERGIA, 2., 2015, Brasília, DF. *Anais ... Brasília, DF: Embrapa Agroenergia*, 2015. p. 98-100.
- CHANG, S.-T.; MILES, P. G. **Mushrooms: Cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact.** Boca Raton: CRC Press, 2004.
- FURLANI, R. P. Z.; GODOY, H. T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, n. 1, p. 154-157, 2007.
- GOMES, D.; AKAMATSU, I.; SOUZA, E.; FIGUEIREDO, G. J. B. Censo paulista de produção de cogumelos comestíveis e medicinais. *Pesquisa & Tecnologia*, v. 13, n. 1, p. 1-6, 2016.
- MANZI, P.; GAMBELLI, L.; MARCONI, S.; VIVANTI, V.; PIZZOFERRATO, L. Nutrients in edible mushrooms: An inter-species comparative study. *Food Chemistry*, v. 65, n. 4, p. 477-482, 1999.

NOGUEIRA, A. R. de A.; SOUZA, G. B. de. (Ed.). **Manual de laboratórios: solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos**. São Carlos, SP: Embrapa Pecuária Sudeste, 2005.

PEDRA, W. N.; CARNELOSSI, M. A. G.; SILVA, G. F.; YAGUIU, P.; LIRA, M. L.; GONÇALVES, G. B.; MARINO, R. H. Chemical and sensorial analysis of *Pleurotus ostreatus* cultivated on coconut (*Cocos nucifera* Linn.) husk supplemented with wheat and/or rice bran. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, n. 1, p. 91–98, 2009.

RAGUNATHAN, R.; SWAMINATHAN, K. Nutritional status of *Pleurotus* spp. grown on various agro-wastes. **Food Chemistry**, v. 80, n. 3, p. 371–375, 2003.