

MARLIANE DE CÁSSIA SOARES DA SILVA

**ENRIQUECIMENTO E BIODISPONIBILIDADE DE
SELÊNIO NO COGUMELO DE *Pleurotus ostreatus***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2009

RESUMO

SILVA, Marliane de Cássia Soares da, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2009. **Enriquecimento e Biodisponibilidade de Selênio no cogumelo de *Pleurotus ostreatus***. Orientadora: Maria Catarina Megumi Kasuya. Coorientadoras: Maria Cristina Dantas Vanetti e Neuza Maria Brunoro Costa.

O selênio (Se) é um nutriente essencial envolvido em diversas funções fisiológicas que incluem atividade no centro catalítico de proteínas, aumento de funções do sistema imune e redução do risco de câncer, além de ser o componente essencial da enzima antioxidativa glutathiona peroxidase (GPx). Em áreas onde os solos têm baixa disponibilidade de Se, como os solos brasileiros, os produtos agrícolas também apresentam baixas concentrações desse elemento e essa deficiência causa graves riscos para a saúde humana. Além das plantas, os cogumelos têm a capacidade de acumular grandes quantidades de Se, e, essa característica associada ao elevado valor nutricional, por ser fonte de proteínas, carboidratos, vitaminas B₁, B₂ e B₃, cálcio e ferro, faz dos cogumelos alimentos para suprir carências nutricionais diversas. A biodisponibilidade, definida como a proporção de nutrientes ingeridos que é utilizada para funções fisiológicas normais ou armazenados, deve ser considerada na avaliação nutricional de um alimento. O objetivo deste trabalho foi enriquecer e determinar a biodisponibilidade de Se nos cogumelos *Pleurotus ostreatus*. Os cogumelos foram produzidos em substrato à base de casca de café enriquecido com diferentes concentrações de Se (0; 3,2; 6,4; 12,8; 25,4; 51; 76,4; 102 mg kg⁻¹), na forma de selenito de sódio. Determinou-se a eficiência biológica (EB), as concentrações de Se e também de Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, N, P, Pb, Zn, em três colheitas consecutivas do cogumelo em um mesmo substrato. Para avaliar a biodisponibilidade do Se, 64 ratos da linhagem Wistar, receberam dietas contendo cogumelos *P. ostreatus* enriquecidos ou não com Se. A EB de *P. ostreatus* foi afetada tanto pelo número de colheitas quanto pelas doses de Se adicionadas ao substrato. Os maiores valores de EB, situados entre 13,06 e 37,56 foram constatados na primeira colheita. Valores de EB entre 2,47 e 11,09 foram obtidos na terceira colheita, após um período que variou de 43 a 79 dias. Na concentração de 3,2 mg kg⁻¹ de Se os cogumelos apresentaram cerca de 55 µg g⁻¹ de Se na massa

seca. A quantidade de Se máxima absorvida pelo fungo ocorreu quando foi adicionada ao substrato 51 mg kg^{-1} de Se, embora, o melhor aproveitamento do Se tenha ocorrido na concentração de $0,16 \text{ mmol kg}^{-1}$, com absorção de 34 % do Se adicionado. O ensaio biológico mostrou que o Se presente nos cogumelos foi capaz de atravessar a barreira intestinal e atingir a circulação dos animais. Os ratos alimentados com dietas contendo cogumelos enriquecidos com Se apresentaram cerca de $700 \mu\text{g L}^{-1}$ de Se no plasma sanguíneo, enquanto os alimentados com a mesma quantidade de Se na forma de selenito de sódio apresentaram cerca de $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ($P < 0,05$). A atividade da enzima Gpx plasmática foi de cerca de $2000 \text{ nmol min}^{-1} \text{ mL}^{-1}$ nos animais que se alimentaram de dietas contendo ou não cogumelos enriquecidos com Se ($P > 0,05$). A análise protéica do plasma sanguíneo por cromatografia mostrou não haver diferença no perfil cromatográfico das amostras. O peptídeo em maior concentração foi detectado aos 24 min de corrida cromatográfica e foi estimado o peso molecular de, aproximadamente, 7,7 kDa. Entretanto, a concentração de Se nesse peptídeo foi 2,76, 6,90 e $5,27 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente nos ratos alimentados sem Se, com cogumelos enriquecidos com Se e com selenito de sódio. Com base nestes resultados pode-se concluir que: o selenito de sódio adicionado ao substrato em concentrações de 3,2 a $12,8 \text{ mg kg}^{-1}$ estimulou a produção de cogumelos que foram capazes de acumular Se quando cultivados na presença desse elemento; a EB foi maior na primeira colheita do cogumelo; as concentrações de 3,2 e $12,8 \text{ mg kg}^{-1}$ resultaram em 34 % de aproveitamento do Se adicionado ao substrato; o Se presente no cogumelo foi mais absorvido pelos animais do que o Se na forma de selenato de sódio; o Se presente no cogumelo está não só no plasma sanguíneo como também é metabolizado e inserido nos peptídeos séricos; o cogumelo *P. ostreatus* pode ser uma excelente fonte alimentar de Se.

ABSTRACT

SILVA, Marliane de Cássia Soares da, M. Sc. Universidade Federal de Viçosa, February, 2009. **Enrichment and Bioavailability of Selenium of *Pleurotus ostreatus* mushrooms**. Adviser: Maria Catarina Megumi Kasuya. Co-advisers: Maria Cristina Dantas Vanetti and Neuza Maria Brunoro Costa

Selenium (Se) is one of the essential nutrient for several physiological functions that include activity of the proteins catalytic centre, increase of the immune system functions and reduces the cancer risk, besides being the essential component of the antioxidative enzyme, glutathione peroxydase (GPx). In areas where the soil present low Se concentration, such as the Brazilian soils, the agricultural products also presents low concentrations of this element and this deficiency causes serious risks for the human health. Besides the plants, mushrooms have the capacity to accumulate great quantities of Se, and, this characteristic associated to the elevated nutritional value, being a source of proteins, carbohydrates, vitamin B1, B2 and B3, calcium and iron, makes of mushrooms aliments that alleviate various nutritional deficiencies. The bioavailability is defined as the proportion of ingested nutrient that is used for normal physiological functions or stored, so, it must be considered in the nutritional food evaluation. The objective of this work was to enrich and determine the bioavailability of Se in *Pleurotus ostreatus* mushroom. The mushrooms were produced in coffee rusk as substrate base, enriched with different concentration of Se 3,2; 6,4; 12,8, 25,4; 51; 76,4; 102 mg kg⁻¹), using sodium selenite. Biological efficiency (BE) and Se, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, N, P, Pb and Zn concentration were evaluated, in three consecutive flushing, in the same substrate. For Se bioavailability, 64 rats (Wistar) were fed using *P. ostreatus* mushrooms enriched or not with Se, and as positive control sodium selenite was used. BE of the mushrooms was affected by both flushing number and Se concentration in the substrate. The highest value of BE, among 13.06 to 37.56 % were observed at the first flushing, while BE among 2.47 to 11.09 % were obtained at third flushing, which period varied from 43 to 79 days after inoculation. Mushrooms produced in the substrate with 3,2 mg kg⁻¹ present

about $55 \mu\text{g g}^{-1}$ of Se in the dry matter. The maximum Se concentration absorbed by the fungus was when it was growth in the substrate with $0.64 \text{ mmol kg}^{-1}$ of Se, although the the best use of added Se occurred with $12,8 \text{ mg kg}^{-1}$, where 34 % of added Se was present in the mushroom. Biological assay showed that Se present in the mushroom was able to cross the intestinal barrier reaching the blood circulation of the animals. The rats using mushroom Se enriched mushroom presents $700 \mu\text{g L}^{-1}$ of Se in the blood plasma, while ones receiving the same quantity of Se as sodium selenite present about $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ($P < 0,05$). The plasma GPx enzyme activity was about $2000 \text{ nmol min}^{-1} \text{ mL}^{-1}$ in rats fed with all diets ($P > 0,05$). The blood plasma protein showed no difference among diet in relation to chromatographic profiles. The peptide in high concentration was detected at 24 min presenting molecular weight estimated to 7,7 kDa. However, Se concentration in this peptide was 2.76, 6.90 and $5.27 \mu\text{g L}^{-1}$ in animals fed, respectively, without Se, Se enriched mushroom and sodium selenite. Based on these results, it can be concluded that: mushroom production was stimulated by low concentration of Se added to the substrate; BE in the first flushing is higher than second and third; concentration of $12,8 \text{ mg kg}^{-1}$ of Se in the substrate resulted in the best use of added Se; Se in the mushroom was better absorbed bay the animals than when as sodium selenate. Selenium present in the mushroom shows high bioavailability, since Se was detected not only in the blood plasma but also into the seric peptides; Over all, *P. ostreatus* shows an excellent food source of Se.