

FERNANDA BIANCHINI CARVALHO

**ABSORÇÃO E ESPECIAÇÃO DE SELÊNIO EM *Pleurotus sajor-caju*
CULTIVADO EM SUBSTRATO SUPLEMENTADO COM SELENITO DE SÓDIO
COMO POTENCIAL NUTRACÊUTICO**

JOINVILLE

2021

FERNANDA BIANCHINI CARVALHO

**ABSORÇÃO E ESPECIAÇÃO DE SELÊNIO EM *Pleurotus sajor-caju*
CULTIVADO EM SUBSTRATO SUPLEMENTADO COM SELENITO DE SÓDIO
COMO POTENCIAL NUTRACÊUTICO**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Saúde e Meio Ambiente, na Universidade da Região de Joinville - UNIVILLE.

Prof^a orientadora: Dra. Andréa Lima dos Santos Schneider

Prof^{as} coorientadora: Dra. Elisabeth Wisbeck e Regina Maria Miranda Gern

JOINVILLE

2021

Catálogo na publicação pela Biblioteca Universitária da
Univille

C331a Carvalho, Fernanda Bianchini
Absorção e especiação de selênio em *Pleurotus sajor-caju* cultivado em
substrato suplementado com selenito de sódio como potencial nutracêutico /
Fernanda Bianchini Carvalho; orientadora Dra. Andréa Lima dos Santos Schneider;
coorientadora Dra. Elisabeth Wisbeck e Regina Maria Miranda Gern. – Joinville:
UNIVILLE, 2021.

79 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Saúde e Meio Ambiente – Universidade da Região de
Joinville)

1. Selênio. 2. *Pleurotus* - Cultivo. 3. Antioxidantes. 4. Cogumelos. I.
Schneider, Andréa Lima dos Santos (orient.). II. Wisbeck, Elisabeth (coorient.).
III. Gern, Regina Maria Miranda. IV. Título.

CDD 635.8

Termo de Aprovação

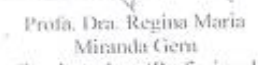
"Absorção e Especificação de Selênio em *Pleurotus sajor-caju* Cultivado em Substrato Suplementado com Selenito de Sódio como Potencial Nutracêutico"

por

Fernanda Bianchini Carvalho

Dissertação julgada para a obtenção do título de Mestre em Saúde e Meio Ambiente, área de concentração Saúde e Meio Ambiente e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente.



Prof. Dra. Andréa Lima dos Santos Schneider
Orientadora (UNIVILLE)


Prof. Dra. Regina Maria Miranda Gern
Coorientadora (Profissional Sênior/UNIVILLE)


Prof. Dra. Elisabeth Wisbeck
Coorientadora (UNIVILLE)



Prof. Dra. Maria Jussara Cremer
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente

Bancas Examinadora:


Prof. Dra. Andréa Lima dos Santos Schneider
Orientadora (UNIVILLE)


Prof. Dra. Regina Maria Miranda Gern
Coorientadora (Profissional Sênior/UNIVILLE)


Prof. Dra. Elisabeth Wisbeck
Coorientadora (UNIVILLE)


Prof. Dra. Marijss Dallarmi Miguel
(UEPR)


Prof. Dra. Mônica Luciane Lange Silveira
(UNIVILLE)

Joinville, 26 de agosto de 2021

Foi o tempo que dedicaste a tua rosa
que a fez tão importante.

Antoine de Saint-Exupéry

RESUMO

O selênio é um elemento essencial para diversos processos bioquímicos do corpo humano, sendo um elemento ativo nos mecanismos de defesa contra danos oxidativos. Os cogumelos são consumidos há séculos, por muitas culturas como fonte de alimentos devido a sua composição nutricional e suas características organolépticas. Além disso, possuem grande capacidade de absorver nutrientes, em especial metais, dos substratos onde são cultivados. O consumo de alimentos enriquecidos tem demonstrado uma relação inversa à incidência de doenças crônicas degenerativas e os efeitos do envelhecimento, benefícios potenciais são atribuídos ao uso de antioxidantes na forma de suplementação. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de absorção de selênio por *Pleurotus sajor-caju* cultivado em substrato suplementado com selênio como um potencial nutracêutico ou alimento enriquecido. *Pleurotus sajor-caju* CCB019 foi cultivado em substrato misto de palha de bananeira com bagaço de malte (1:1), suplementado com selênio em concentrações de 3,2, 6,4, 12,8 e 25,4 mg/Kg de substrato. Em um primeiro momento a influência da suplementação de selênio sobre os parâmetros produtivos do processo, rendimento (R%), eficiência biológica (EF%) e produtividade (Pr) e a capacidade de absorção de selênio pelos corpos frutíferos foram avaliadas. Os corpos frutíferos que melhor absorveram selênio, sem alteração dos parâmetros produtivos foram analisados quanto atividade antioxidante e as espécies de selênio presente. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os parâmetros produtivos do processo quando os cultivos realizados em substrato sem suplementação de selênio (controle) foram comparados com aqueles suplementados com 3,2, 6,4 e 12,8 mg/Kg, apresentando, em média, R% igual a 27,66, EB% igual a 4,41 e Pr igual a $1,57 \times 10^{-3}$ g/g substrato.dia⁻¹. No entanto, quando a concentração de 25,4 mg/Kg foi utilizada, houve um redução de 75,27%, 74,82% e 84,7% no rendimento, na eficiência biológica e na produtividade, respectivamente. O aumento da absorção de selênio pelos corpos frutíferos de *P. sajor-caju* foi proporcional ao aumento da concentração de selênio no substrato, apresentando uma concentração de 50,45 µg/g de selênio quando a concentração no substrato era de 12,8 mg/Kg, representando um aumento de 31 vezes em relação ao controle. Quanto a atividade antioxidante, *P. sajor-caju* enriquecido com 12,8 mg/Kg de selênio apresentou atividade sequestrante do radical DPPH de 41,44%, sem diferença significativa em relação ao controle. Pelo método de redução do íon férrico, observou-se que o enriquecimento proporcionou o dobro da capacidade antioxidante (16,75 mgAA/g) quando comparado ao controle (34,47 mgAA/g). A avaliação das espécies de selênio mostrou que *P. sajor-caju* possui a capacidade de converter selênio inorgânico em orgânico, apresentando uma concentração de 40,61 µg/g de selenometionina nos corpos frutíferos. Esses resultados mostram que *Pleurotus sajor-caju* possui atividade antioxidante, boa capacidade de absorção de selênio e conversão de selênio inorgânico em orgânico, podendo ser utilizado como alimento enriquecido com potencial nutracêutico.

Palavras-chave: Selênio; *Pleurotus sajor-caju*; Atividade antioxidante; Nutracêuticos, Cogumelos.

ABSTRACT

Selenium is an essential element for several biochemical processes in the human body, being an active element in the defense mechanisms against oxidative damage. Mushrooms have been consumed for centuries by many cultures as a food source due to their nutritional composition and organoleptic characteristics. Furthermore, they have a great capacity to absorb nutrients, especially metals, from the substrates where they are cultivated. The consumption of fortified foods has shown an inverse relationship to the incidence of chronic degenerative diseases and the effects of aging, potential benefits are attributed to the use of antioxidants in the form of supplementation. Thus, the objective of this work was to evaluate the selenium absorption capacity by *Pleurotus sajor-caju* cultivated in substrate supplemented with selenium as a potential nutraceutical or enriched food. *Pleurotus sajor-caju* CCB019 was cultivated in mixed substrate of banana straw with malt bagasse (1:1) supplemented with selenium at concentrations of 3,2, 6,4, 12,8 e 25,4 mg/Kg of substrate. At first, the influence of selenium supplementation on productive parameters of the process, yield (Y%), biological efficiency (BE%) and productivity (P) and the capacity of selenium absorption by fruit bodies were evaluated. The fruit bodies that better absorbed selenium without changing the production parameters, were analyzed for antioxidant activity and selenium species present. There was no statistically significant difference between the productive parameters of the process when the cultures carried out in substrate without selenium supplementation (control) were compared with those supplemented with 3,2, 6,4 e 12,8 mg/Kg presenting on average Y% 27,66, BE% 4,41 and P $1,57 \times 10^{-3}$ g/g substrate.day⁻¹. However, when the concentration of 25,4 mg/Kg was used, there was reduction of 75,27%, 74,82 and 84,7 in yield, biological efficiency and productivity, respectively. The increase in the absorption of selenium by the fruit bodies of *Pleurotus sajor-caju* was proportional to the increase in the concentration of selenium in the substrate with a concentration of 50,45 µg/g of selenium when the substrate was supplemented with 12,8 mg/Kg representing a 31 fold increase over the control. As for the antioxidant activity, *P. sajor-caju* enriched with 12,8 mg/Kg of selenium presented DPPH radical scavenging activity of 41,44% with no significant difference in relation to the control. By the ferric ion reduction method, it was observed that the enrichment provided twice the antioxidant capacity (16,75 mgAA/g) when compared to the control (34,47 mgAA/g). The evaluation of selenium species showed that *Pleurotus sajor-caju* has the capacity to convert inorganic selenium to organic, presenting a concentration of 40,61 µg/g of selenomethionine in the fruit bodies. These results show that *Pleurotus sajor-caju* has good antioxidant activity, good selenium absorption capacity and conversion of inorganic to organic selenium, and can be used as food enriched with nutraceutical potential.

Keywords: Selenium; *Pleurotus sajor-caju*; Antioxidant activity; Nutraceuticals; Mushrooms

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama de consumo de selênio ($\mu\text{g Se dia}^{-1}$): essencialidade, deficiência e toxicidade...7	7
Figura 2 - Mecanismo metabólico de selênio da dieta de humanos. SeMet (selenometionina), SeCys (selenocisteína), GSSESG (selenodiglutationa).10	10
Figura 3 - Reação de conversão de lipoperóxidos em álcoois.12	12
Figura 4 - Reação da redução da glutathiona peroxidase.12	12
Figura 5 - Corpos de frutificação de <i>Pleurotus sajor-caju</i>20	20
Figura 6 - Inóculo do <i>P. sajor-caju</i> em grãos de trigo.27	27
Figura 7 - Preparo do substrato misto de palha de folhas de bananeira com bagaço de malte enriquecido com solução de selenito de sódio.29	29
Figura 8 - Ponto de colheita de <i>P. sajor-caju</i>30	30
Figura 9 - Morfologia dos corpos frutíferos de <i>P. sajor-caju</i> cultivados em substrato de palha de bananeira e bagaço de malte na ausência (0) e presença de Se (3,2 mg/Kg (1); 6,4 mg/Kg (2); 12,8 mg/Kg (3) e 25,4 mg/Kg (4).42	42
Figura 10 - Cromatograma do extrato enzimático de <i>P. sajor-caju</i> (PSC C/E).53	53
Figura 11 - Cromatograma Cromatograma do extrato aquoso de <i>P. sajor-caju</i> (PSC S/E).53	53

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1 - Estudos da atividade antioxidante in vitro de fungos do gênero <i>Pleurotus</i>	23
Tabela 2 - Composição do meio TDA.....	26
Tabela 3 - Gradiente de eluição para análise de selenometionina.	35
Tabela 4 - Gradiente de eluição para análise de selenometionina nas amostras.....	36
Tabela 5 - Médias \pm desvio padrão de rendimento (R%) e eficiência biológica (EB%) para corpos frutíferos de <i>Pleurotus sajor-caju</i> cultivados em substrato misto de palha de bananeira e bagaço de malte suplementado com diferentes concentrações de selênio.....	38
Tabela 6 - Médias \pm desvio padrão da produtividade (PRO) para corpos frutíferos de <i>Pleurotus sajor-caju</i> cultivados em substrato misto de palha de bananeira e bagaço de malte suplementado com diferentes concentrações de selênio.	41
Tabela 7 - Médias \pm desvio padrão das concentrações de selênio encontradas nos corpos frutíferos de <i>P. sajor-caju</i> cultivados em substrato suplementado com diferentes concentrações de selênio e aproveitamento (%) de selênio presente no substrato pelos corpos frutíferos.	43
Tabela 8 - Atividade antioxidante dos extratos metanólicos de <i>Pleurotus sajor-caju</i> com e sem enriquecimento de selênio.....	47
Tabela 9 - Concentração de selenometionina nos extratos dos corpos frutíferos de <i>Pleurotus sajor-caju</i> enriquecidos com selênio (50,45 $\mu\text{g/g}$), obtidos com extração enzimática e extração aquosa utilizando HPLC.....	51
Tabela 10 - Resultados obtidos no atual trabalho e por diferentes autores para influência da suplementação de selênio na eficiência biológica (EF%), absorção de selênio e espécies de selênio pelo gênero <i>Pleurotus</i>	55
Quadro 1 – Formas químicas do Selênio.	5
Quadro 2 - Valores recomendados de consumo diário de selênio de acordo com cada agência reguladora ($\mu\text{g Se dia}^{-1}$).....	6
Quadro 3 - Valores máximos toleráveis de selênio ($\mu\text{g dia}^{-1}$).....	8
Quadro 4 - Principais selenoproteínas humanas e as suas funções.....	11

LISTA DE SIMBOLOS E ABREVIATURAS

ANPC	Associação Nacional de Produtores de Cogumelos
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CCB	Coleção de Culturas de Basidiomicetos do Instituto de Botânica
DPPH●	1,1 Difenil-2-Picrilidrazil
EB	Eficiência biológica
ERO's	Espécies Reativas ao Oxigênio
FAO	Food and Agriculture Organization
FNB	Food and Nutrition Board
FRAP	Potencial Antioxidante de Redução do ferro)
GPx	Glutathione Peroxidase
GSH	Glutathione Reduzida
GSSG	Glutathione Oxidada
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HO•	Hidroxil
H ₂ O	Água
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
IOM	Institute of Medicine
IDR	Índice Diário Recomendado
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
¹ O ₂	Oxigênio singlete
O ₂	Oxigênio
O ₂ ⁻	Superóxido

●OH	Hidróxido
OMS	Organização Mundial de Saúde
ONOO-	Peroxinitrito
PR Fe ⁺³	Potencial Redutor do íon férrico
Pr	Produtividade
PSC C/E	<i>Pleurotus sajor-caju</i> com adição de enzimas
PSC S/E	<i>Pleurotus sajor-caju</i> sem adição de enzimas
R	Rendimento
RDA	Ingestão Dietética Recomendada (Recommended Dietary Allowance)
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
ROH	Álcool
ROO•	Radicais peroxil
ROOH	Lipoperóxidos
SeMet	Selenometionina
SeCis	Selenocisteína
T3	Triiodotironina
T4	Tiroxina
TEAC	Capacidade Antioxidante Equivalente em Trolox
TDA	Trigo, Dextrose e Agar
TRx	Tireodoxina Redutase

SUMÁRIO

RESUMO	I
ABSTRACT	II
LISTA DE FIGURAS	III
LISTA DE TABELAS E QUADROS	IV
LISTA DE SIMBOLOS E ABREVIATURAS	I
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS	4
2.1 OBJETIVO GERAL	4
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	5
3.1 SELÊNIO	5
3.1.1 Características físico-químicas e métodos de obtenção	5
3.1.2 Recomendação diária e Toxicidade	6
3.1.3 Selênio como bionutriente.	8
3.1.4 Nutracêuticos, alimentos funcionais e enriquecimento de alimentos com selênio	14
3.2. FUNGOS.....	17
3.2.1 Fungos do gênero <i>Pleurotus</i>	19
3.2.2 Propriedades Antioxidantes de fungos do gênero <i>Pleurotus</i>	21
3.2.3 Absorção de selênio por fungos do gênero <i>Pleurotus</i>	23
3.2.4 Cultivo do gênero <i>Pleurotus</i>	25
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	26
4.1 CULTIVO DE <i>P. sajor-caju</i>	26
4.1.1 Micro-organismo e manutenção	26
4.1.2 Preparo do inóculo.....	27

4.1.4 Frutificação e colheita	29
4.1.5 Cálculo dos parâmetros produtivos	31
4.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE SELÊNIO	32
4.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS METANÓLICOS DOS CORPOS FRUTÍFEROS	33
4.4 ESPECIAÇÃO DE SELÊNIO EM CORPOS FRUTÍFEROS DE <i>Pleurotus sajor-caju</i>	34
4.4.1 Preparo das amostras.....	34
4.4.2 Análise das espécies de selênio	35
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	38
5. 1 PARÂMETROS PRODUTIVOS	38
5.1.1 Rendimento (R%) e Eficiência Biológica (EB%).....	38
5.1.2 Produtividade (Pr)	41
5.2 QUANTIFICAÇÃO DA ABSORÇÃO DE SELÊNIO POR <i>P. sajor-caju</i>	43
5.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS METANÓLICOS DOS CORPOS FRUTÍFEROS DE <i>P. sajor-caju</i> ENRIQUECIDO COM SELÊNIO.....	46
5.4 ESPECIAÇÃO DE SELÊNIO EM CORPOS FRUTÍFEROS DE <i>Pleurotus sajor-caju</i>	51
CONCLUSÕES.....	59
REFERÊNCIAS	61
APÊNDICE	77

1 INTRODUÇÃO

Em 1817, o químico sueco Jöns Jacob Berzelius descobriu o selênio, entretanto somente em 1957, Schwarz e Foltz reportaram a essencialidade deste mineral para os animais. Após vinte anos aproximadamente, foi constatado que o selênio faz parte do sítio ativo da enzima glutathione peroxidase (GPx), a qual é essencial para prevenir a produção de espécies reativas ao oxigênio (ERO's) (COMINETTI e COZZOLINO, 2009).

O selênio é um elemento essencial para diversos processos bioquímicos do corpo humano, podendo ser encontrado em duas formas: inorgânica e orgânica. As formas inorgânicas selenito ($\text{SeO}(\text{OH})_2$) e selenato ($\text{SeO}_2(\text{OH})_2$) são menos biodisponíveis que as formas orgânicas chamadas de selenoproteínas, que são compostas por aminoácidos análogos ao aminoácidos sulfurados cisteína e metionina, denominados selenocisteína e selenometionina (ALMONDES *et al.*, 2010). A absorção das formas orgânicas é de 90-95%, enquanto a absorção das formas inorgânicas é inferior em cerca de 10% (BODNAR *et al.*, 2012; PIECZYNSKA e GRAJETA, 2015).

De acordo com a FAO/OMS (2001) a ingestão recomendada de selênio é de 55 $\mu\text{g}/\text{dia}$, e sua deficiência ocorre a partir de ingestão inferior a 40 $\mu\text{g}/\text{dia}$, como observado em alguns países como Nova Zelândia e no nordeste e centro-sul da China onde são notáveis as quantidades muito baixas de selênio no solo (COMBS, 2001). No Brasil a ANVISA segue as determinações da FAO/OMS. A quantidade deste mineral presente nos alimentos depende diretamente da concentração do mesmo no solo (MARTENS e COZZOLINO, 2012). Solos com concentração de selênio em torno de 0,05 $\mu\text{g}/\text{g}$ tendem a proporcionar dietas deficientes neste mineral, enquanto solos com concentração superior a 5 $\mu\text{g}/\text{g}$ do mineral contribuem para intoxicação de selênio nos seres humanos (OLDFIEL, 1999).

O selênio encontra-se difundido no corpo humano em vários tecidos (músculo esquelético, sangue, glândula tireoide, cérebro, fígado e rins) e é um elemento ativo nos mecanismos de defesa dos organismos contra danos oxidativos (BODNAR *et al.*, 2012). Funciona como um agente antimutagênico, prevenindo a transformação de células normais em malignas (ALMONDES *et al.*, 2010). De maneira

geral, o selênio funciona como um importante centro redutor, principalmente na atuação contra radicais livres. Também atua auxiliando na regulação da síntese do hormônio da tireóide, por meio das selenoproteínas que fazem parte da glândula da tireoide, protegendo-a de danos oxidativos (VENTURA, 2017). O selênio também possui relevância na redução dos efeitos da intoxicação por metais como Cd, Hg, Ag, Pb e Cu pela formação de vinte e um complexos inertes com estes elementos (YAMASHITA *et al.*, 2011). Vários estudos realizados salientaram a importância do Selênio nas doenças oncológicas (MUECKE *et al.* 2014), principalmente devido às selenoproteínas, que previnem a ativação da oncogênese e a diferenciação de células cancerosas, por meio da eliminação de espécies que danificam o DNA, as espécies reativas de oxigênio e eicosanoides promotores de tumor (BARTOLINE, *et al.*, 2017)

Por outro lado, os cogumelos são consumidos há séculos, por muitas culturas como fonte de alimentos devido a sua composição nutricional e suas características organolépticas (KALAC, 2013; HOA *et al.*, 2015; SHARIF *et al.*, 2017). São ricos em minerais, vitaminas, fibras e aminoácidos, possuem baixo valor energético e, além disso, produzem como metabólitos secundários, compostos fenólicos que são potenciais antioxidantes (STEFANELO *et al.*, 2014) sendo, portanto, um alimento recomendável para uma dieta saudável. Outra característica importante dos cogumelos é sua capacidade de absorver nutrientes, em especial metais, dos substratos onde são cultivados (WITKWOSK, 2014). Segundo a FAO (2017), a China teve um consumo de cogumelos superior a sete milhões de toneladas, que se dá principalmente pela procura de alimentos que tragam benefício a saúde. Os quatro países com maior consumo de cogumelos no mundo são: China, seguido da Itália, Estados Unidos e Noruega.

Dentre os cogumelos cultivados comercialmente, os do gênero *Pleurotus* são caracterizados pelo seu rápido crescimento e facilidade de cultivo (BONATTI, 2004), podendo crescer em uma ampla gama de resíduos agroindustriais (POPPE, 2004). Segundo a Associação Nacional de Produtores de cogumelos (ANPC), o gênero *Pleurotus*, é o segundo mais comercializado no mundo, representando 25% da produção, e no Brasil, representando 16% da produção.

A capacidade de absorção de minerais por fungos do gênero *Pleurotus*, inclusive o selênio, já vem sendo reportada por alguns autores (BHATIA *et al.*, 2013;

MILOVANOVIC *et. al.*, 2014). Desta forma é possível o enriquecimento dos cogumelos deste gênero, por meio da suplementação do substrato de cultivo com selênio. A incorporação de selênio torna os cogumelos um alimento enriquecido, que alia as já conhecidas propriedades nutracêuticas do gênero *Pleurotus* com os benefícios do selênio.

O objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade de absorção de selênio por *Pleurotus sajor-caju* cultivado em substrato adicionado de selenito de sódio, sua melhora na capacidade antioxidante e a especiação do selênio nos corpos frutíferos como um potencial alimento enriquecido ou nutracêutico.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a capacidade de absorção de selênio por *Pleurotus sajor-caju* cultivado em substrato adicionado de selenito de sódio e a especiação do selênio nos corpos frutíferos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar o rendimento e a eficiência biológica de *Pleurotus sajor-caju* cultivado em substrato adicionado de diferentes concentrações de selenito de sódio;
- Determinar a produtividade de *Pleurotus sajor-caju* cultivado em substrato adicionado de diferentes concentrações de selenito de sódio;
- Determinar a capacidade de absorção de selênio por corpos frutíferos de *Pleurotus sajor-caju* cultivados em substratos adicionados de diferentes concentrações de selenito de sódio;
- Comparar a capacidade antioxidante *in vitro* de extratos obtidos de corpos frutíferos de *Pleurotus sajor-caju* cultivados na ausência e presença de selenito de sódio;
- Conhecer a especiação do selênio nos corpos frutíferos de *Pleurotus sajor-caju* cultivados na presença de selenito de sódio.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 SELÊNIO

3.1.1 Características físico-químicas e métodos de obtenção

O selênio encontra-se ao lado do enxofre (S) na tabela periódica devido à sua similaridade química. O selênio forma compostos orgânicos e inorgânicos e pode ser encontrado no estado de oxidação reduzido (Se^{-2} , seleneto), elementar (Se^0) e oxidado (Se^{+4} , Selenito e Se^{+6} , Selenato) (POLATAKKO *et al.*, 2006).

O selênio pode ser encontrado em diferentes tipos de solos, em quantidades bastantes distintas. Áreas litorâneas possuem maior concentração deste mineral e as rochas com elevadas concentrações de basalto e granito são mais pobres em Selênio. Já as rochas vulcânicas incandescentes, as calcárias e as de carvão possuem uma maior concentração deste mineral (COMINETTI e COZZOLINO, 2009). O teor e a forma de selênio nos solos dependem do pH, do potencial redox e da composição mineral do meio, além da fertilização artificial e das chuvas (LYONS *et al.*, 2007).

Em solos, as formas inorgânicas selenito e selenato predominam (KOPSELL e KOPSELL, 2007). Nos alimentos, pode ser encontrado nas formas inorgânicas e orgânicas, predominando as formas orgânicas de selenometionina e selenocisteína, cujas formas químicas estão apresentadas no Quadro 1 (NAVARO-ALARCON *et al.*, 2008).

Quadro 1 – Formas químicas do Selênio.

Composto	Abreviatura	Forma Química
Selenito	Se (IV)	SeO_3^{-2}
Selenato	Se (VI)	SeO_4^{-2}
Selenocisteína	SeCys	$\text{HOOCCH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{-Se-H}$
Selenometionina	SeMet	$\text{HOOCCH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-Se-CH}_3$

Fonte: Adaptado de ZORZETTO (2017).

3.1.2 Recomendação diária e toxicidade

A ingestão diária recomendada de selênio é baixa, e por mais que haja diferenças entre as agências regulamentadoras (Quadro 2), observa-se que a essencialidade deste elemento é pequena. O Brasil de acordo com a RDC 269/2005 da ANVISA, segue as orientações da FAO/OMS (BRASIL, 2005).

Quadro 2 - Valores recomendados de consumo diário de selênio de acordo com cada agência regulamentadora ($\mu\text{g Se dia}^{-1}$).

Idade	Homens		Mulheres		Gravidas		Lactentes	
	FNB**	FAO*	FNB	FAO	FNB	FAO	FAO	FNB
Nascimento até 6 meses	6	15	6	15	-	-	-	-
7 - 12 meses	10	20	10	20	-	-	-	-
1 - 3 anos	17	20	17	20	-	-	-	-
4-6 anos	22	-	22	-	-	-	-	-
4 – 8 anos	-	30	-	30	-	-	-	-
7-9 anos	21	-	21	-	-	-	-	-
9 – 13 anos	-	40	-	40	-	-	-	-
10-18 anos	32	-	26	-	-	-	-	-
14 – 18 anos	-	55	-	55	28-30	60	35-42	70
19 – 50 anos	-	55	-	55	28-30	60	35-42	70
19 – 65 anos	34	26	-	-	-	-	-	-
51+ anos	-	55	-	55	-	-	-	-
65+ anos	33	-	-	25	-	-	-	-

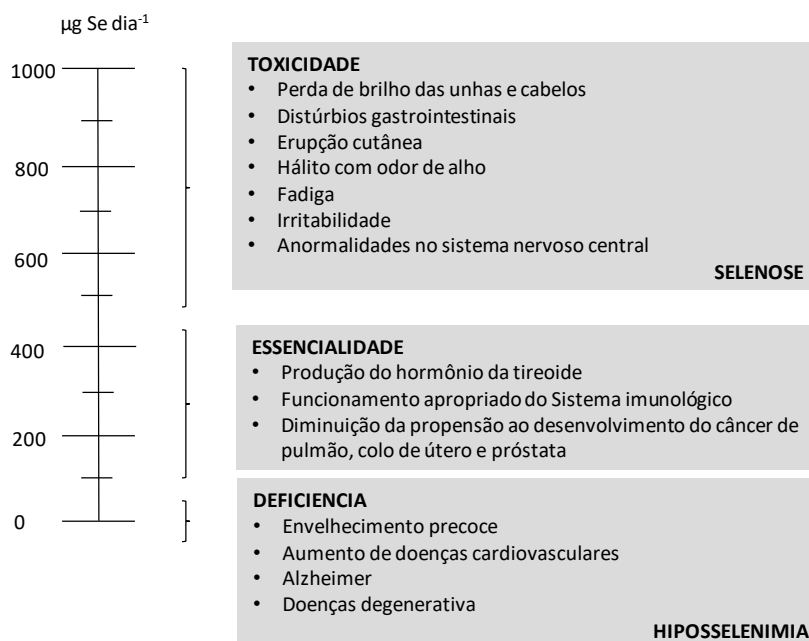
* Food and Agriculture Organization for World Health Organization (FAO/OMS), 2001.

** Food and Nutrition Board (FNB), 2000.

A toxicidade e a biodisponibilidade dos compostos de selênio têm relação com sua forma química e concentração. No meio ambiente, os íons selenato e selenito são espécies altamente solúveis em água e por isso são tóxicas para sistemas biológicos mesmo em baixas concentrações. Por sua vez, o selênio elementar (Se^0) é uma espécie insolúvel em água e não apresenta toxicidade para os sistemas biológicos. Em contrapartida, os selenetos (Se^{-2}) são espécies altamente tóxicas e reativas, porém são rapidamente oxidadas a Se^0 (WACHOWICZ *et al.*, 2001).

Embora o selênio seja um mineral essencial, a diferença entre os níveis essenciais e tóxicos do selênio é bastante estreita. A dose máxima admissível está fixada em 300-400 $\mu\text{g}/\text{dia}$ e a dose letal média varia entre os valores de 1,5 e 6 mg/Kg de peso corporal para a maioria dos compostos de selênio e espécies animais. A intoxicação por selênio é chamada selenose e o sistema nervoso central parece ser o órgão-alvo (Figura 1). No entanto, o fígado, o coração e os pulmões podem também ser afetados (ALEXANDER, 2015).

Figura 1 - Diagrama de consumo de selênio ($\mu\text{g Se dia}^{-1}$): essencialidade, deficiência e toxicidade.



Modificado de KUBACHKA (2015).

A toxicidade do selênio não depende somente da forma química e da quantidade do elemento consumido, mas também de uma variedade de outros fatores que incluem a idade, estado fisiológico, a nutrição e a rota de administração. Estudos de sua toxicidade em animais são alvos de pesquisa, entretanto o mecanismo celular ou molecular não está totalmente compreendido. Há estudos que propõem que a toxicidade pode estar relacionada com a interação do selenito com a glutathione para formar trissulfetos de selênio, o que leva à formação de superóxidos tóxicos e peróxido de hidrogênio (TINGGI, 2003).

A FNB/OMS (2000) também propõe valores guia para o consumo máximo tolerável de selênio, como mostrado no Quadro 3 abaixo:

Quadro 3 - Valores máximos toleráveis de selênio ($\mu\text{g dia}^{-1}$).

Idade	Homens	Mulheres	Grávidas	Lactantes
Nascimento até 6 meses	45	45	-	-
7 – 12 meses	60	60	-	-
1 – 3 anos	90	90	-	-
4 – 8 anos	150	150	-	-
9 – 13 anos	280	280	-	-
14 – 18 anos	400	400	400	400
19 + anos	400	400	400	400

Institute of Medicine (IOM), 2000.

3.1.3 Selênio como bionutriente.

O selênio é mineral essencial para o metabolismo de humanos e de animais e, como observado, o interesse em seu estudo pela comunidade científica vem aumentando nos últimos anos.

Em 1973 foi descoberto que o selênio é essencial para a formação da proteína glutathiona peroxidase (GPx), fazendo parte do sítio ativo desta enzima (ROTRUCK *et al.*, 1973). Sua importância na dieta humana foi reconhecida em 1979, quando o mineral foi utilizado em um paciente com distrofia muscular em uso de dieta parenteral, e observou-se uma melhora no quadro clínico (COMINETTI e COZZOLINO, 2009). No mesmo ano, o Keshan Disease Research Group confirmou o efeito do selenito de sódio na prevenção da doença de Keshan, uma cardiomiopatia que atinge crianças e mulheres jovens com alta incidência em algumas regiões áridas da Austrália, da China, da Coreia do Norte, Nepal e Tibete onde o solo é extremamente pobre nesse elemento (CHEN *et al.*, 1980; YANG, 1993). A partir desse momento uma nova dimensão das propriedades do selênio foram apontadas, muito diferente da única que durante muitos anos lhe tinha sido atribuída que era a de ser um elemento tóxico.

Passou a ser reconhecido como um elemento essencial para o desenvolvimento e metabolismo dos mamíferos, com importantes funções na proteção antioxidante contra danos causados por radicais livres em membranas celulares, lipoproteínas e ácidos nucleicos, na reprodução masculina e no normal desempenho do sistema imune (ALEXANDER, 2015).

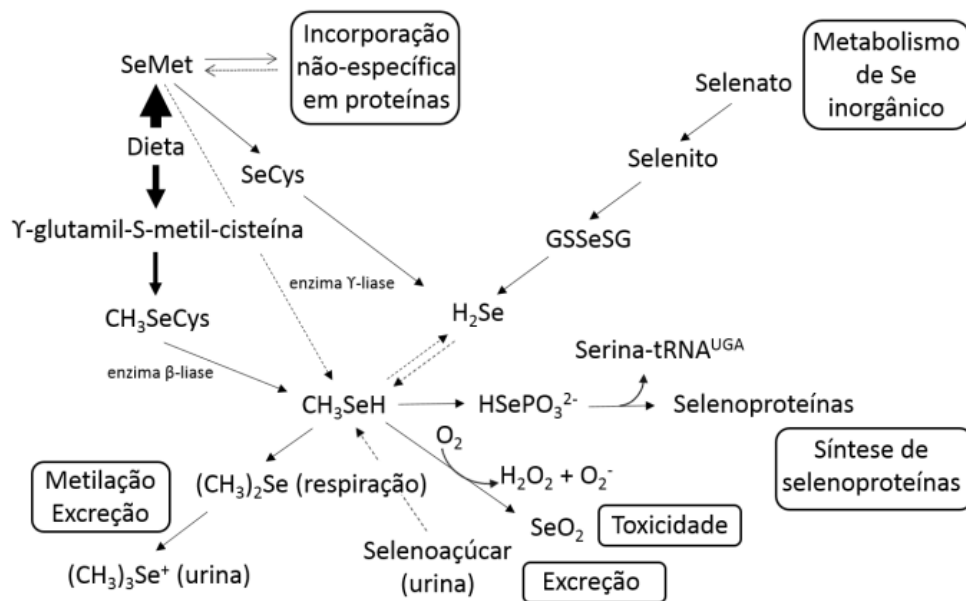
As melhores fontes de selênio não são necessariamente as de maior biodisponibilidade, como observado nos vegetais, que em geral são pobres no mineral, entretanto apresentam uma biodisponibilidade elevada, variando de 85 a 100%. Nos pescados, que também são boas fontes de selênio, a biodisponibilidade varia de 20 a 50%. Alguns pesquisadores relacionam esta baixa biodisponibilidade à interação do selênio com o metal mercúrio (Hg) que pode estar presente nesses alimentos (ORTUÑO *et al.*, 1997; MARTENS *et al.*, 2012).

Assim sabe-se que alimentos proteicos incorporam melhor o selênio, principalmente aqueles que contêm os aminoácidos sulfurados cisteína e metionina. Carnes bovinas, frangos, peixes e ovos também apresentam uma quantidade significativa do mineral, já os leites e derivados dependem do animal e quantidade de gordura, pois se observa que quanto maior a quantidade de gordura menor a concentração de selênio (NAVARRO ALARCON e CABRERA-VIQUE, 2008).

O selênio é absorvido a partir dos alimentos apenas sob a forma de compostos inorgânicos, como selenitos e selenatos, ou quando está incorporado em ligações orgânicas, onde existe como análogo de aminoácidos sulfurados, principalmente, selenometionina (SeMet) e selenocisteína (SeCis) sendo, por isso, produto direto da incorporação de selênio em aminoácidos em substituição do enxofre. O percentual de absorção das formas orgânicas de selênio é de 90 a 95%, e inferior a 10% nas formas inorgânicas (BODNAR *et al.*, 2012; PIECZYNSKA e GRAJETA, 2015).

A Figura 2 mostra o metabolismo do selênio em suas diferentes formas proveniente da dieta, suas vias de excreção e assimilação.

Figura 2 - Mecanismo metabólico de selênio da dieta de humanos. SeMet (selenometionina), SeCys (selenocisteína), GSSESG (selenodiglutationa).



Modificado de RAYMAN; INFANTE; SARGENT (2008).

A composição da alimentação diária também é significativa, uma vez que estes podem causar efeitos sinérgicos ou antagônicos. Alimentações diárias ricas em proteínas de baixa massa molecular e vitaminas (principalmente A, C e E) possuem biodisponibilidade aumentada, alimentações diárias com uma elevada concentração de metais pesados (cádmio, chumbo, arsênio e mercúrio) diminuem a biodisponibilidade desse elemento (BODNAR *et al.*, 2012; ALEXANDER, 2015).

Diversos trabalhos na literatura assumem, portanto, que a ingestão de selênio pode variar entre uma dose diária deficitária menor que 40 µg até níveis tóxicos superiores a 400 µg (FORCYDE, 2007).

A propriedade antioxidante do selênio está relacionada às glutatona peroxidases (GPx) que são dependentes desse mineral. As GPx agem na proteção celular contra os danos provocados por radicais livres, juntamente com um sistema antioxidante complexo que envolve outras substâncias (HOLBEN e SMITH, 1999). Em células e tecidos humanos foram identificadas 25 selenoproteínas que desempenham papéis fundamentais no sistema imunológico, reduzindo infecções virais (RAYMAN, 2012). O Quadro 4 traz as principais selenoproteínas em humanos e suas funções.

Quadro 4 - Principais selenoproteínas humanas e as suas funções.

Selenoproteínas	Função
Glutaciona peroxidases (GPx)	Enzimas antioxidantes
GPx1 (citossólica)	Antioxidante no citosol celular; reserva de selênio
GPx2 (gastrointestinal)	Antioxidante no trato gastrointestinal
GPx3 (rim e plasma)	Antioxidante no espaço extracelular e plasma
GPx4 (vários tecidos)	Atua protegendo as membranas da degradação peroxidativa. Importante na fertilidade masculina
GPx5	Desconhecida
GPx6 (olfativo)	Pode atuar como antioxidante e apenas se encontra presente em embriões e epitélio olfativo em adultos.
Tireodoxina redutase (TRx)	
TR1 (citoplasma / núcleo) TR2 (mitocondrial) TR3 (específico do testículo)	Desempenham o papel antioxidante e controlam o potencial redox intracelular. Diminuem a concentração de tioredoxina (TR1 e TR2). Atuam como cofator no crescimento de células, na síntese de DNA e inibição da apoptose.
Iodotironinas desiodases	
Tipo D1 (tiroide, fígado, rim). Tipo D2 (cérebro, pituitária, músculo, ouvido, coração) Tipo D3 (córtex cerebral, pele, placenta)	Produção ativa do hormônio tireoide T3 e T3 reversa (rT3). Atuam na síntese da forma ativa do hormônio tireoide T3 (DIO1 e DIO2) e na inativação (DIO3).
Selenoproteína S	Localizada no retículo endoplasmático, faz a regulação da inflamação.
Selenoproteína P	Proteína de transporte de selênio do fígado para outros tecidos. Antioxidante no endotélio. Constitui mais de 50% das reservas plasmáticas de Se.
Selenoproteína N	Desenvolvimento muscular adequado. Proliferação celular, sinalização redox, homeostase do cálcio.
Selenoproteína K	Possível atividade antioxidante e de desenvolvimento. Presente no baço, células imunológicas e retículo endoplasmático.
Selenoproteína W	Antioxidante em células de câncer de pulmão humano, protege o mioblasto em desenvolvimento de ligação de cálcio.
Selenoproteína H	Regulação genética da síntese de glutaciona, fator de transcrição, aumento da viabilidade celular. Presente no baço, cérebro e núcleo.
Selenoproteína R	Antioxidante, metabolismo da metionina e reparação de proteínas. Redução do grupo sulfoximetil. Presente no rim e fígado.
Selenoproteína M	Encontrada no cérebro e retículo endoplasmático, tem atividade antioxidante e participa do enovelamento de proteínas.
Selenofosfato sintetase 2 (SPS2)	Síntese de selenofosfato para a síntese de selenoproteínas, biossíntese de selenocisteína.

15 kD Selenoproteínas (SeI 15)	Proteção anticâncer?

Adaptado de Mehdi *et al.* (2013) e Beckett e Arthur (2005).

Dentre as selenoproteínas as GPx são as mais conhecidas. Compõem uma família de enzimas que contêm selenocisteína como centro ativo e desempenham um papel importante na desintoxicação de vários hidroperóxidos, bem como na proteção celular contra o estresse oxidativo (LOPEZ HERAS *et al.*, 2011).

A família de GPxs deve ser particularmente focada porque a atividade inapropriada de GPxs tem sido relatada como um fator que se correlaciona fortemente com a deficiência nutricional de selênio, que contribui para o estresse oxidativo e, portanto, o surgimento de doenças, incluindo desordens neuronais. Dentre as oito enzimas descritas nesta família, cinco (GPx1, GPx2, GPx3, GPx4 e GPx6) são selenoproteínas, e estão envolvidas na desintoxicação de peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos lipídicos, entre outros tipos de espécies reativas. Nestas reações, o tripeptídeo glutariona reduzida (GSH) é utilizado como agente redutor (ELLWANGER, *et al.*, 2016).

A GPx funciona convertendo a glutatona reduzida (GSH) à glutatona oxidada (GSSG), removendo H₂O₂ (peróxido de hidrogênio) e formando água (Figura 3). Além disso, a GPx converte lipoperóxidos (ROOH) em álcool (ROH) e outras substâncias inertes (Figura 4) (SURAI, 2006).

Figura 3 - Reação de conversão de lipoperóxidos em álcoois.



Figura 4 - Reação da redução da glutatona peroxidase.



A GPx 1 é encontrada no citosol de todas as células do corpo e, além de sua função antioxidante, parece ser uma forma de armazenar selênio no organismo e é a

primeira enzima a ser afetada pela deficiência de selênio. A GPx 2 localizada predominantemente nos tecidos gastrointestinais e fígado protege contra danos oxidativos. A GPx 3 representa de 10 a 30% do selênio encontrado no plasma e no fluido extracelular. A GPx 4 atua sobre peróxidos de resíduos de ácidos graxos nas membranas e lipoproteínas reduzindo, também, o hidroperóxido da timina, formado como consequência do ataque dos radicais à base timina do DNA (RAYMAN, 2000). A GPx 4 tem como função proteger as membranas das células contra a ação de hiperóxidos de ácidos graxos e também reduzir a formação de hiperóxidos de colesterol e de éster de colesterol nas membranas e lipoproteínas de baixa densidade (LDL). Também é importante para a fertilidade masculina e maturação, função e motilidade do espermatozoide. A GPx 6 está presente no embrião e no epitélio olfatório, seu papel permanece desconhecido (MEHDI *et al.*, 2013).

Na tireoide, a GPx3 vai desenvolver a sua ação protegendo as células da tireoide do H₂O₂ que vai ser utilizado posteriormente pela peroxidase da tireoide na síntese de T3, T4 e iodeto de tireoglobulina (RAYMAN, 2012).

As selenoproteínas têm um papel importante na ação antioxidante que reduz o aparecimento de doenças oncológicas e a gravidade de doenças infecciosas, por meio da diminuição das espécies reativas de oxigênio (ERO's) (MAYNE, 2013). As ERO's são moléculas instáveis (radicais livres e peróxidos) extremamente reativas capazes de transformar outras moléculas (como proteínas, hidratos de carbono, lipídeos e ácidos nucleicos) com as quais colidem provocando inúmeras patologias. O poder antioxidante das selenoproteínas vai desempenhar um papel fundamental para combater as ERO's ou as irregularidades por elas causadas (WEEKS *et al.*, 2012).

Devido às suas propriedades redox e nucleofílicas únicas, a GPx está envolvida na defesa celular contra a ação tóxica de xenobióticos, oxirradicais, salinidade, acidez, bem como contra os cátions de metal (DOGAN *et al.*, 2016).

Estudos recentes mostram que o baixo consumo de selênio pelas populações europeias, aumentou a incidência de câncer colorretal (WITKOWSKA, 2014). Estudos sugerem que o selênio pode reduzir os riscos de diferentes formas de câncer, porém a natureza complexa do selênio em relação à prevenção desta doença mostra que seu mecanismo não está totalmente elucidado (LOPEZ HERAS *et al.*, 2011).

Uma adequada ingestão de selênio é importante, independentemente da idade. Estudos mais recentes têm mostrado que a deficiência de selênio pode contribuir para o declínio cognitivo em pessoas idosas, além de haver uma associação com o estresse oxidativo observado em pacientes com Alzheimer e diabetes tipo 2 (CARDOSO *et al.*, 2010; RAYMAN, 2012). Além disso, vários estudos demonstraram que suplementação com selênio (80 µg ou 200 µg por dia de selenito de sódio ou selenometionina) é eficaz contra Tireoidite de Hashimoto, a forma mais comum de doença tireoidiana autoimune. Estudos mostram também que a suplementação de selênio tem ação imunoestimulante (RAYMAN *et al.*, 2012).

Outro estudo mostrou que a concentração plasmática em selênio inferior a 135 µg/L em pacientes infectados com HIV aumentam o risco significativamente (3 vezes maior) de desenvolver infecções bacterianas (entre elas tuberculose) quando comparados àqueles pacientes que possuíam maiores concentrações em selênio (SIGEL *et al.*, 2013).

De acordo com evidências clínicas, a suplementação com selênio não impede o desenvolvimento de câncer, mas reduz a sua taxa de ocorrência e diminui a taxa de mortalidade associada. Um estudo realizado com indivíduos saudáveis e doentes oncológicos que receberam 200 µg de selênio durante um período de 12 semanas revelou que o teor em selênio no plasma era 15% superior no primeiro grupo (BODNAR *et al.*, 2012).

Sayehmiri *et al.* (2018) em seu estudo de meta-análise demonstrou que o selênio tem um importante papel contra o desenvolvimento de Câncer de próstata e na sua progressão em estágios avançados.

3.1.4 Nutracêuticos, alimentos funcionais e enriquecimento de alimentos com selênio

O termo nutracêutico, refere-se como sinônimo de suplementos alimentares, sendo este termo reconhecido pela ANVISA. De acordo com as regulamentações existentes, os nutracêuticos não podem ser definidos como alimentos ou medicamentos, mas sim como suplementos alimentares que possuem benefícios para

manutenção da saúde especialmente em situações de condições patológicas específicas (QUAGLIARIELLO *et al.*, 2018).

Com a melhor compreensão dos mecanismos da nutrigenômica, nutrigenética e nutracêuticos foi possível à identificação de superalimentos capazes de condicionar favoravelmente a expressão gênica. Com isso os nutracêuticos assumem o papel de moduladores celulares funcionais capazes de garantir a otimização dos processos fisiológicos além de serem fonte de moléculas capazes de reverter alterações epigenéticas e regular ativamente a expressão gênica e molecular, prevenindo também doenças crônico-degenerativas devido à modulação epigenética (DIVELLA, *et al.*, 2020).

A comercialização de nutracêuticos no Brasil, pode ser feita na forma de cápsulas. Esse processo é regido pela RDC nº 166 da ANVISA de 2017 (BRASIL, 2017), que regulamenta o processo de encapsulamento do alimento, e a RDC nº 2 da ANVISA de 2002 (BRASIL, 2002) que regulamenta o encapsulamento do bioativo do extrato do alimento.

Os estudos sobre o uso de compostos naturais presentes nos alimentos nutracêuticos ou funcionais para prevenção de várias doenças e manutenção da saúde vêm aumentando. Dentre os alimentos, os cogumelos possuem compostos naturais, já conhecidos por proporcionarem benefícios a saúde humana diminuindo o risco de doenças (ALVES *et al.*, 2012; MIRCEA *et al.*, 2015), pelo seu valor nutricional além de propriedades antienvhecimento, anti-infeccioso, redutor do colesterol e pressão arterial e, também, do nível de açúcar no sangue (REIS *et al.*, 2017). Esses benefícios se dão principalmente pela presença de compostos fenólicos, polissacarídeos, terpenos e esteroides (ZHANG, *et al.*, 2020; SUN *et al.*, 2017; HELENO *et al.*, 2015; LIM; YIM, 2012; PREETI *et al.*, 2012).

Os cogumelos são corpos de frutificação de fungos do filo Basidiomicota que dão origem a uma variedade de produtos farmacológicos, principalmente devido às suas propriedades medicinais. Os suplementos dietéticos elaborados a partir desses fungos são exemplos destes produtos, sendo compostos por 80% dos corpos de frutificação (CHANG, 2008; NGAI e NG, 2003)

Mridu e Atri (2017) realizaram a caracterização nutricional e nutracêutica de três cogumelos silvestres comestíveis (*Calocybe gambosa*, *Lentinus squarrosulus* e

Podaxis pistillaris) evidenciando sua utilização como constituinte de suplementos alimentares e fontes de componentes nutracêuticos devido a presença de metabólitos secundários com ação antioxidante, entre eles fenóis, flavonoides e alcaloides. Kanagasabapathy (2011) analisou a atividade antioxidante de *Pleurotus sajor-caju* por diferentes métodos, demonstrando que essa espécie possui atividade antioxidante, podendo ser usado como um potencial nutracêutico. Finimundy (2018) avalia que *Pleurotus sajor-caju* pode emergir como um potencial nutracêutico, e sugere sua utilização como suplemento nutricional junto ao câncer colorretal, associado a terapia de tratamento convencional.

De maneira geral, *Pleurotus* spp. podem ser utilizado como alimentos funcionais em três vias: como um agente fortificante, como potencializador do valor nutricional dos alimentos, como substituto de ingredientes proteicos que compõe alguns alimentos como frangos processados e ingredientes prébióticos que estimulam o crescimento da microbiota intestinal como as beta-glucanas e fibras alimentares (LAVVELLI *et al.*, 2018).

O consumo de alimentos enriquecidos tem demonstrado uma relação inversa à incidência de doenças crônicas degenerativas e os efeitos do envelhecimento, benefícios potenciais são atribuídos ao uso de antioxidantes na forma de suplementação (DUBOST e BEELMAN, 2007; SRIVIDYA *et al.* 2010; ZENG *et al.*, 2012). Sendo assim, é necessário permitir que a população tenha acesso a uma dieta diversificada de alimentos aliada a características nutritivas melhoradas dos mesmos, principalmente a partir do processo denominado biofortificação. Uma forma de biofortificar o alimento é melhorar a biodisponibilidade de selênio, aumentando seu teor nas partes comestíveis de plantas cultivadas principalmente em áreas que são deficientes em selênio no solo. Assim, estratégias de manejo para minimizar a deficiência de selênio e os distúrbios causados por ele em dietas deficientes, devem se concentrar no estabelecimento de uma conexão entre os produtos alimentares agrícolas, o teor de selênio e sua disponibilidade no solo (WINKEL *et al.*, 2015).

No Brasil alguns estudos de biofortificação em selênio vêm sendo realizados com arroz, alface, brócolis, rabanete, entre outras culturas, tanto com aplicação de selênio via solo como via adubação foliar (BOLDRIN *et al.*, 2012; RAMOS *et al.*, 2011)

Alguns estudos têm demonstrado que a concentração de selênio depende da espécie química deste mineral. Ramos *et al.* (2011) mostraram que o acúmulo de selênio na alface foi afetado pelas espécies químicas de selênio utilizadas. A aplicação do selenato foi mais eficiente que o selenito na indução de acúmulo de selênio na parte comestível de plantas de alface para todos os ensaios examinados.

Uma alternativa interessante para suprir a deficiência de selênio na população tem sido observada no caso de enriquecimento de cogumelos comestíveis com o mineral. Estudos com cogumelos do gênero *Pleurotus* demonstraram que estes são capazes de acumular selênio em seus corpos frutíferos e converter o selênio inorgânico adicionado aos substratos para selênio orgânico, principalmente na forma de selenometionina (BHATIA *et al.*, 2013, ASSUNÇÃO *et al.*, 2014). Witkowska (2014) desenvolveu uma revisão sobre cogumelos enriquecidos com selênio evidenciando que estes podem ser usados para atender a RDA (Ingestão Dietética Recomendada) de selênio.

Miletic *et. al* (2019) comprovou que cogumelos da espécie *Coriolus versicolor*, cultivados em meios suplementados em selenourea, conseguem transformar mais de 30% do selênio em L-selenometionina, podendo ser usado para a produção de suplementos alimentares com biodisponibilidade de selênio melhorada.

Zhou *et. al* (2019), estudaram o enriquecimento de *Pleurotus ostreatus* crescidos em substratos enriquecidos com selenito de sódio, levedura de selênio e selenato de sódio, demonstrando que este cogumelo teve maior eficiência de utilização do selênio na forma de selenito de sódio, concluindo que *Pleurotus ostreatus* enriquecido com selênio pode ser usado como fonte alimentar de selênio para aumentar a ingestão desse elemento na dieta.

3.2. FUNGOS

Os fungos constituem um grupo de organismos cosmopolita diverso, com uma ampla variedade de morfologias, metabolismos e habitats. Representam assim, um dos maiores grupos taxonômicos com o maior número de espécies na natureza (aproximadamente 1,5 milhões) (TODD *et al.*, 2014). Crescem sobre a matéria

orgânica, restos de vegetais e animais, assimilando-os e transformando-os em substâncias mais simples, passíveis de serem absorvidas, permitindo assim a reciclagem dos elementos na natureza (BONONI, 1999).

Hibbett *et al.* (2007) descrevem uma abrangente classificação filogenética do Reino Fungi, com base na análise filogenética molecular. Desta forma, correntemente, são propostos sete filos: Microsporidia, Chytridiomycota, Blastocladiomycota, Neocallimastigomycota, Glomeromycota, Ascomycota e Basidiomycota. Neste último, encontram-se os fungos da podridão branca e os cogumelos comestíveis e medicinais.

Os cogumelos são os grandes fungos, isto é, formados por corpos grandes de frutificação (SINGER, 1995). Tecnicamente, segundo Chang e Miles (1993), os cogumelos são corpos de frutificação distintos que normalmente ocorrem em fungos do filo Basidiomycota. São consumidos por muitas culturas como fonte de alimentos devido à sua composição química e suas características organolépticas (KALAC 2013; HOA *et al.*, 2015; SHARIF *et al.*, 2017).

Do ponto de vista nutricional, os cogumelos possuem uma quantidade significativa de fibras alimentares e são pobres em calorias e gorduras. Além disso, eles têm um bom teor de proteína (20-30% de matéria seca) que inclui a maioria dos aminoácidos essenciais e não essenciais (WASSER 2002; WASSER 2011; ATRI *et al.*, 2013; SLI *et al.*, 2015). Os carboidratos, em base seca, podem variar de 13 a 65% na forma principalmente de oligossacarídeos e polissacarídeos. Os carboidratos não digeríveis mais presentes são quitina, alfa e beta-glucana, manana, xilana e galactana e os carboidratos digeríveis são a glicose, manitol, arabitol, trealose, inositol e o glicogênio (CHEUNG, 2008; SYNYTSYA *et al.*, 2009; WANG *et al.*, 2014). Algumas espécies são fontes de vitaminas lipossolúveis (vitaminas A, D, E e K) e ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) (BARROS *et al.*, 2007). A tiamina, riboflavina, niacina e biotina, vitaminas do complexo B, estão presentes nos cogumelos, além da vitamina C e do precursor da vitamina D o ergosterol (WANG, 2014; DEEPALSKSHMI e MIRUNALINI, 2014)

A presença de substâncias bioativas específicas torna os cogumelos terapeuticamente valiosos desde o fortalecimento do sistema imunológico até a cura e prevenção de doenças, como doenças cardíacas, hipertensão, acidente vascular

cerebral e câncer. A composição química das espécies de cogumelos pode ser afetada por diversas variáveis tais como estrutura genética, cepas, estágio de maturação, condições ambientais, como a composição do solo, bem como a parte específica do cogumelo, método de preservação pós-colheita (secos ou frescos) e processo de cozimento (BARROS *et al.*, 2007).

Além de serem consumidos como alimentos, também são utilizados como principais componentes bioativos na elaboração de suplementos dietéticos para melhorar a qualidade da vida humana (JAKOPOVICH, 2011) sendo considerados alimentos funcionais (RIBEIRO *et al.*, 2015).

Além disso, pesquisas realizadas com fungos basidiomicetos tornaram-se frequentes nos últimos anos, principalmente devido ao seu potencial de uso em uma variedade de aplicações biotecnológicas e ambientais, como na produção de enzimas, compostos fisiologicamente ativos e em ações relacionadas à biorremediação (ASATIANI *et al.*, 2008).

3.2.1 Fungos do gênero *Pleurotus*

Os fungos do gênero *Pleurotus* (Figura 5) são classificados como pertencentes ao filo Basidiomycota, classe Agaricomycetes, ordem Agaricales e família Pleurotaceae (SARANGI *et al.*, 2006). São decompositores de matéria orgânica, e produzem o verdadeiro cogumelo, sendo este o ápice do ciclo vital desta espécie. O cogumelo também pode ser chamado de fruto, corpo de frutificação, carpóforo ou basidiocarpo. Na maturação do cogumelo o píleo se abre, as lamelas são expostas e ocorre a disseminação dos esporos. Estes são sexuais, haploides, resultado do processo de divisão meiótica dentro do basidiocarpo. Os esporos germinados dão origem às hifas, que formam o micélio primário; a união de micélios primários compatíveis gera um micélio dicariótico ou micélio secundário, responsável pela formação dos primórdios, que darão origem aos cogumelos (CHANG e MILES, 1984; RAJARATHNAN, 1987).

Figura 5 - Corpos de frutificação de *Pleurotus sajor-caju*.



Fonte: <https://ecoaldeiajanas.org/ecoloja/cogumelos-pleorotus-bio/>

O cultivo de fungos do gênero *Pleurotus* aumentou significativamente no mundo durante as últimas décadas, sendo o segundo gênero mais cultivado (FAO, 2019). Sua popularidade vem aumentando devido à sua facilidade de cultivo, elevado potencial de rendimento e elevados valores nutricionais e medicinais (OLIVEIRA, 2019). A Agência Nacional de Produtores de Cogumelos (ANPC, 2020) destaca que, ao longo dos últimos anos, a cadeia produtiva do cogumelo no Brasil tem se estruturado e, atualmente, o cultivo de cogumelos está disseminado em várias regiões do país. A produção brasileira anual gira em torno de 2 mil ton/ano.

Fungos do gênero *Pleurotus* possuem uma série de enzimas que lhes permitem degradar resíduos lignocelulolíticos (ELISASHVILI *et al.*, 2008; SÁNCHEZ, 2009). Assim, esses fungos têm sido cultivados em diversos resíduos agroindustriais, como: folha de bananeira, casca de café, serragem de eucalipto, sabugo de milho, sisal, resíduo de soja, palha de trigo e bagaço de cana de açúcar, entre outros (BONATTI *et al.*, 2004; SÁNCHEZ, 2010; MEMBRILLO, 2011; DA LUZ *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2012; NUNES *et al.*, 2012; BHATIA *et al.*, 2013). Além disso, são boas fontes de carboidratos, com alto conteúdo de fibras e proteínas, e apresentando quase todos os aminoácidos essenciais, vitaminas e minerais (BONATTI *et al.*, 2004).

Dentre as inúmeras atividades medicinais atribuídas aos fungos do gênero *Pleurotus*, encontra-se o potencial antioxidante.

3.2.2 Propriedades Antioxidantes de fungos do gênero *Pleurotus*

O desequilíbrio entre pró-oxidantes e antioxidantes, resulta em um aumento da taxa de oxidação provocando o stress oxidativo. As espécies de oxigênio/nitrogênio ou radicais livres mais comuns existentes no corpo são os radicais peroxil ($\text{ROO}\cdot$), hidroxil ($\text{HO}\cdot$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), superóxido (O_2^-), oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) e peroxinitrito (ONOO^-) (VALKO *et al.*, 2006; HAMINIUK *et al.*, 2012; SKINNER; HUNTER, 2013; ANJANA *et al.*, 2016). Os radicais livres têm causas diferentes e muitas doenças como arteriosclerose, diabetes e câncer foram associadas ao estresse oxidativos (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015).

Esses radicais livres são inativados por moléculas denominadas antioxidantes, possuindo um papel de grande importância no sistema de defesa a espécies reativas ao oxigênio (ERO's). Assim, é necessário enriquecer a dieta com alimentos e/ou suplementos antioxidantes para auxiliar o corpo humano a reduzir os danos oxidativo (GONZÁLEZ-PALMA *et al.*, 2016; RADZKI *et al.*, 2016).

Uma molécula antioxidante pode ser de natureza endógena ou provenientes da alimentação. A ingestão dietética de antioxidantes naturais e sua relação inversa a incidência de doenças humana, tem sido constantemente observada, levando há um crescente interesse no uso de antioxidantes naturais em alimentos, cosméticos e indústria de alimentos (TAOFIQ, *et al.*, 2016; VALVERDE *et al.*, 2015).

Segundo, Ferreira *et al.*, (2009) os cogumelos são fontes de antioxidantes naturais, principalmente compostos fenólicos e tocoferóis que reagem com os radicais livres levando a formação de produtos intermediários, relativamente estáveis. Dentre os compostos fenólicos e seus derivados encontram-se os ácidos hidroxibenzóico, cumárico, ferúlico, gálico e gentísico (PALACIOS *et al.*, 2011). Os compostos fenólicos são antioxidantes naturais que são produzidos por via metabólica secundária nos cogumelos, sendo que o consumo desses alimentos possui relação inversa à

incidência do envelhecimento e doenças crônicas degenerativas (HELENO *et al.*, 2015; RADZKI *et al.*, 2016).

Segundo Upadhyay (2011) o gênero *Pleurotus* apresenta compostos fenólicos em sua matriz. Os compostos fenólicos podem ser definidos como substâncias dotadas de anéis aromáticos com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais. Possuem estrutura variável, sendo, portanto, multifuncionais. Já foram identificados milhares de compostos fenólicos, destacando-se dentre eles os flavonoides, os ácidos fenólicos, as cumarinas, os taninos, as ligninas e os tocoferóis (LEE *et al.*, 2005). Os ácidos fenólicos são os principais compostos encontrados e são responsáveis por uma grande variedade de efeitos biológicos (TAOFIQ *et al.* 2015)

Finimundy *et al.* (2018) relataram que o extrato de *Pleurotus sajor-caju* pode ajudar a controlar os danos oxidativos ocasionados por radicais livres, sendo promissores para o desenvolvimento de suplementos alimentares, bem como seu consumo in natura auxiliando no controle e prevenção de doenças.

Sun (2017) examinou a capacidade de um polipeptídeo do micélio de *Pleurotus eryngii* em eliminar os radicais DPPH, O₂⁻ e •OH, mostrando sua habilidade antioxidante e também inibindo significativamente o crescimento das células do câncer cervical, de mama e de estômago e ativando respostas imunes mediadas por macrófagos sendo que sua aplicabilidade potencial como alimento funcional deve-se principalmente a suas atividades anticâncer e imunoestimulatórias.

Valez *et al.* (2019) constataram que o micélio de *Pleurotus djamor* que cultivado em soro de leite enriquecido com selenito de sódio possui uma maior atividade antioxidante, podendo ser usado como um suplemento nutricional com compostos bioativos. Segundo Bach *et al.* (2018) a presença de compostos biologicamente ativos no extrato de *Lentinula edodes*, possibilita que este seja usado na indústria farmacêutica e/ou alimentícia como um agente antioxidante. *Pleurotus Sajor-caju*, devido ao alto teor de fibra, baixa concentração de gordura e alta atividade antioxidante, pode ser considerado um alimento funcional trazendo benefícios a saúde (RASHIDI; YANG, 2016).

A atividade antioxidante utilizando métodos químicos pode ser avaliada por meio de métodos de transferência de elétrons como: o DPPH• (1,1-difenil-2-picrilidrazil), o FRAP (potencial antioxidante de redução do ferro) e o TEAC

(capacidade antioxidante equivalente em Trolox) (HAMINIUK *et al.*, 2012). O DPPH, é um dos métodos mais populares para estimar a atividade antioxidante, amplamente utilizado devido a sua reação simples que envolve um radical e um antioxidante (NOIPA *et al.*, 2012). Duas dessas metodologias serão abordadas aqui: DPPH e poder redutor do íon férrico.

Na tabela 1 estão relacionados trabalhos que analisaram a atividade antioxidante de fungos do gênero *Pleurotus* por meio dos métodos *in vitro* de DPPH e potencial redutor do íon férrico.

Tabela 1 - Estudos da atividade antioxidante *in vitro* de fungos do gênero *Pleurotus*

Ano	Cogumelo	Método antioxidante (<i>in vitro</i>)		Autores
		DPPH	Redutor Fe	
2021	<i>Pleurotus florida</i>	X		MENAGA <i>et al.</i> (2021)
2020	<i>Pleurotus ostreatus</i>	x		ZHANG <i>et al.</i> (2020)
2018	<i>Pleurotus ostreatus</i>	X	X	MA <i>et al.</i> (2018)
2016	<i>Pleurotus ostreatus</i>	X	X	RADZKI <i>et al.</i> (2016)
2016	<i>Pleurotus sajor-caju</i>	X		RASHIDI; YANG (2016)
2016	<i>Pleurotus ostreatus</i>		X	YILMAZ <i>et al.</i> (2016)
2015	<i>Pleurotus ostreatus</i>	X	X	JAWORSKA <i>et al.</i> (2015)
2015	<i>Pleurotus ostreatus</i>	X		HAN <i>et al.</i> , 2015
2014	<i>Pleurotus sajor-caju</i> , <i>Pleurotus ostreatus</i> , <i>Pleurotus sapidus</i>	X		JEENA <i>et al.</i> (2014)
2013	<i>Pleurotus ostreatus</i>	X		VIEIRA <i>et al.</i> (2013)

3.2.3 Absorção de selênio por fungos do gênero *Pleurotus*

A capacidade dos cogumelos de absorver nutrientes presentes nos substratos nos quais eles se desenvolvem é uma de suas características (FALANDISZ; BOROVIČKA, 2013). Essa propriedade é muito maior do que em plantas superiores (TUZEN, 2003), por isto tem sido estudada por diversos autores com o propósito de

obter cogumelos enriquecidos com certos minerais essenciais para a saúde humana (ALONSO *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2012; NUNES *et al.*, 2012).

No processo de fortificação ou enriquecimento de alimentos são adicionados um ou mais nutrientes essenciais, com objetivo de reforçar o conteúdo nutritivo do alimento. Segundo a *Food and Drug Administration* (FDA) os alimentos considerados enriquecidos com um nutriente devem conter pelo menos 10% a mais do valor requerido diariamente para esse nutriente se comparado a um alimento do mesmo tipo que não esteja enriquecido (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2019).

No caso do selênio, os cogumelos são capazes de absorver formas desse elemento inorgânico a partir do substrato e convertê-los em compostos orgânicos contendo selênio, os quais são menos tóxicos e estão mais biodisponíveis para absorção por humanos (RAYMAN *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2010; MADSEN *et al.*, 2014; ASSUNÇÃO *et al.*, 2014), fazendo deste alimento um excelente candidato para enriquecimento com selênio.

Dentre os estudos já realizados com o gênero *Pleurotus* encontra-se o de Milovanovic (2014), que concluiu que *Pleurotus ostreatus* possui notável capacidade de absorção de selênio, e sua intensidade de crescimento foi a mesma se comparado o grupo controle com os grupos enriquecidos com 5, 10 e 20 mg/L de selênio. Assunção *et al.* (2014) demonstraram em seu estudo que tanto *Pleurotus ostreatus* quanto *Lentinula edodes* possuem alta capacidade de acumular selênio inorgânico em seus corpos frutíferos, aumentando 152 e 330 vezes, respectivamente, a concentração de selênio total quando desenvolvidos em substratos enriquecidos por selênio.

Estudos realizados sobre a absorção de selênio em diferentes cogumelos (*Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus* e *Lentinula edodes*) mostraram que a melhor absorção de selênio acontece em substratos enriquecidos em selenito de sódio quando comparados à aqueles enriquecidos com selenato de sódio ou levedura de selênio (Zhou *et al.*, 2018, Zhou *et al.*, 2019, Zhou *et al.*, 2020).

3.2.4 Cultivo do gênero *Pleurotus*

Devido a efetividade na biodegradação de materiais lignocelulósicos, estes fungos são chamados de fungos de decomposição branca ou “white-rot fungi” (FERRAZ, 2010). A utilização de substratos vegetais à base de palha tem vindo a assumir uma importância crescente na cultura de cogumelos saprófitos, principalmente do gênero *Pleurotus* (SAPATA *et al.*, 2010).

Inicialmente as árvores e seus resíduos eram os principais materiais de cultivo de fungos, entretanto essas técnicas estavam em direção contrária ao balanço ecológico das florestas, assim na década de 1980, professores chineses iniciaram pesquisas com novos substratos para o cultivo, tais como palha de arroz, carapaça da semente de algodão, caule de trigo, folha de bananeira entre outras espécies vegetais. A técnica de Jun-Cao (Jun = cogumelo; Cao = gramíneas), teve seu surgimento em 1983, e é uma forma de cultivo muito utilizado para o gênero *Pleurotus*, unindo benefícios sociais, ecológicos e econômicos, o que também estabeleceu melhor equilíbrio ecológico entre plantas, fungos e animais. Esta técnica utiliza gramíneas como substrato para o crescimento e produção de corpos frutíferos, que são colocadas em sacos plásticos, incubadas na ausência de luz até completa colonização, para então serem colocadas em salas com umidade controlada em 70% e temperatura ambiente. Esta técnica também oferece melhor valor nutricional aos cogumelos quando comparados a cogumelos crescidos em toras e serragens (URBEN, 2004).

A palha de bananeira segundo Sturion (1994), equivale a 15% dos resíduos da planta e apresenta em sua composição a celulose como principal fibra encontrada em uma concentração de 34,13%, seguida da hemicelulose com 20,1% e lignina com 15,37%. A proteína bruta varia 9,38% a 13,8% (STURION, 1994; BEZERRA *et al.* 2002; FRANÇA, 2013) Já o malte representa cerca de 85% do resíduo cervejeiro, apresentando elevado valor nutricional, de 30 a 50% da sua composição é fibra, apresenta uma boa concentração de proteínas variando de 19 a 30% e lignina de 12 a 28%, além de apresentar em sua composição lipídios, vitamina, minerais, aminoácidos e compostos fenólicos (LYNCH *et al.*, 2016).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 CULTIVO DE *P. sajor-caju*

4.1.1 Micro-organismo e manutenção

Foi utilizado o fungo da linhagem *Pleurotus sajor-caju* CCB019, obtida da Coleção de Culturas de Basidiomicetos do Instituto de Botânica de São Paulo, cadastro no SisGen A87B3EE.

A cepa foi cultivada em placas de Petri contendo meio TDA (Trigo, Dextrose e Ágar) conforme Tabela 2.

Tabela 2 - Composição do meio TDA.

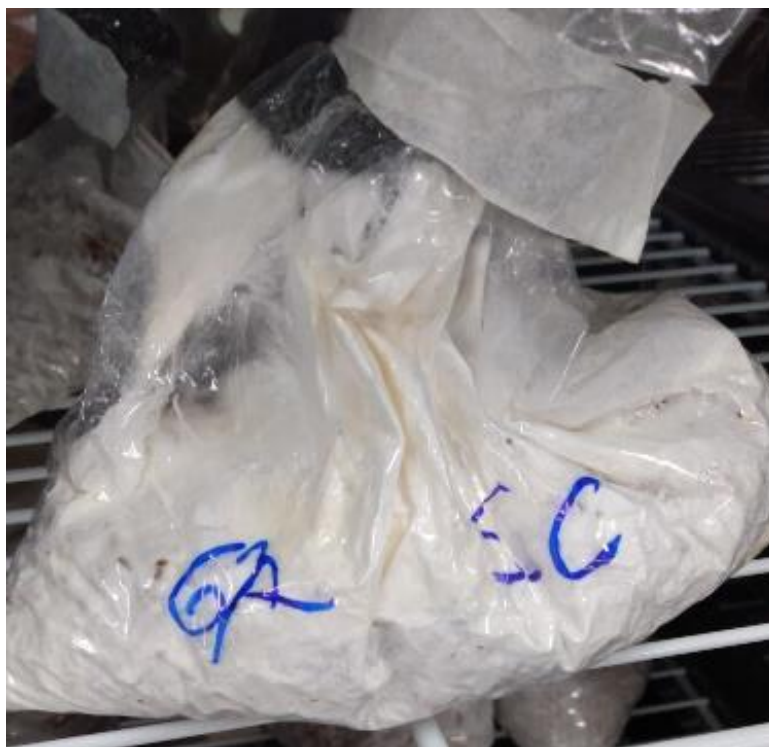
Ingrediente	Quantidade
Glicose	20g
Ágar	15g
Extrato de trigo	1000mL

O extrato de trigo foi preparado pelo cozimento em água de grãos de trigo previamente lavados, na proporção de 1:2 (grãos:água, m/m). Os grãos foram mantidos por 10 min em ebulição, resfriados à temperatura ambiente e filtrados em peneira e gaze. O extrato de trigo livre dos grãos foi utilizado no preparo do meio TDA. As placas de Petri contendo o meio TDA e completamente colonizadas pelos fungos (30 °C, aproximadamente 7 dias) foram armazenadas sobre refrigeração (4±1 °C) e repicadas a cada 3 meses (FURLAN *et al.*, 1997).

4.1.2 Preparo do inóculo

O inóculo foi preparado conforme metodologia descrita por Bonatti *et al.* (2004). Os grãos cozidos resultantes do preparo do meio TDA (item 4.1.1) foram utilizados para a produção do inóculo. Estes foram suplementados com CaCO_3 e CaSO_4 nas proporções de 0,35% e 1,3%, respectivamente, em relação a massa dos grãos antes da fervura. A adição destes componentes teve a finalidade de manter o pH ligeiramente alcalino e deixar os grãos descompactados, respectivamente. Os grãos foram, então, embalados em pacotes de polipropileno de 30x20 cm (250 g de grãos de trigo por pacote) foram fechados com um respiro de espuma e esterilizados a 121 °C, durante 1 h. Após a esterilização e resfriamento, cada pacote foi inoculado com 3 discos de ágar de 12 mm de diâmetro contendo o micélio fúngico provenientes da cultura de manutenção da cepa e incubados a 30 °C, em ausência de luz, até colonização total dos grãos de trigo pelo micélio fúngico, aproximadamente 20 dias (Figura 6).

Figura 6 - Inóculo do *P. sajor-caju* em grãos de trigo.



Fonte: A autora (2020)

4.1.3 Preparo do substrato enriquecido com selênio

Folhas secas de bananeira (*Musa cavendishii*) fornecidas por produtores de banana da região de Joinville, SC foram utilizadas como substrato de cultivo, juntamente com o bagaço de malte *in natura*, proveniente da cervejaria Opa Bier, resultantes da produção de cerveja Pilsen. As folhas foram trituradas em partículas de 2 a 5 cm em triturador forrageiro (Trapp). As folhas trituradas e o bagaço de malte foram secos em estufa (Shellab - 1370FX) a 60 °C por 24 h, até massa constante. A proporção de bagaço de malte e folhas de bananeira foi de 1:1, de acordo com a metodologia proposta por Schulz (2016). Folhas e bagaço de malte foram acondicionados em um saco de rafia e imerso em água por 12 h de acordo com metodologia proposta por Madan; Vasudevan e Sharma (1987). Após este tempo, a água excedente foi drenada e o bagaço de malte foi suplementado com CaCO₃, CaSO₄ nas proporções de 0,35% e 1,3% (massa seca), respectivamente, com a finalidade de descompactar o bagaço de malte. Como fonte de nitrogênio foi acrescentado 5% farelo de arroz, em relação à massa seca da mistura. O substrato foi então embalado em pacotes de polipropileno de 40 x 30 cm autoclaváveis na proporção de 100 g de massa seca/pacote (50 g de bagaço de malte e 50 g de palha de bananeira). Para o enriquecimento em selênio o substrato foi adicionado de uma solução de 5 mL de selenito de sódio de forma que as concentrações finais de selênio foram de 0 (controle - 0), 3,2 (1); 6,4(2); 12,8 (3); 25,4 (4) mg de selênio por Kg de substrato (Figura 7). A definição dessas concentrações foi baseada nos trabalhos de Silva *et al.* (2012 e 2013). Em seguida, cada pacote plástico contendo o substrato suplementado com selênio foi fechado com respiro de espuma fixada com fita crepe, de forma a permitir trocas gasosas moderadas e evitar contaminação externa. Os pacotes plásticos contendo o substrato foram esterilizados em autoclave (Quimis, 190-22) a 121 °C e 1 atm, por 1 h e resfriados à temperatura ambiente para posterior inoculação. Para padronizar a quantidade de massa seca, 100 g do substrato misto seco foram imersos em água por 12 h e, em seguida, escorrido o excesso de água, foi determinada a massa úmida correspondente a ser utilizada em cada pacote. O substrato suplementado foi inoculado em cabine de segurança biológica usando-se 20% de inóculo em relação à massa de substrato seco e incubados na ausência de

luz à temperatura ambiente, até a completa colonização do substrato pelo micélio fúngico.

Figura 7 - Preparo do substrato misto de palha de folhas de bananeira com bagaço de malte enriquecido com solução de selenito de sódio.



Fonte: A autora (2020)

4.1.4 Frutificação e colheita

Após a completa colonização do substrato pelo micélio fúngico, foi realizada a indução dos primórdios por meio da perfuração, de ambos os lados dos pacotes de polipropileno, com orifícios de aproximadamente 0,5 cm e exposição destes à luz por um período de 12 h/dia, em câmara de cultivo com temperatura (28 ± 2 °C) e umidade (90%) até a formação dos corpos frutíferos (BONATTI *et al.*, 2004).

O ponto de colheita (Figura 7) foi identificado de forma visual, observando-se a maturidade do corpo frutífero, momento em que as margens do píleo se apresentavam

planas, estágio este precedente a esporulação, cerca de 30 a 35 dias após a inoculação (STURION, 1994; BHATIA, *et al.* 2013).

Os corpos frutíferos foram colhidos com o auxílio de um estilete, colocados em bandejas e pesados em balança-analítica (METTLER PM 4800) para determinação da massa úmida. Em seguida, foram desidratados a 40 °C por 24 h em estufa (QUIMIS – 396/0) com circulação de ar forçada.

Figura 8 - Ponto de colheita de *P. sajor-caju*.



Fonte: A autora (2020)

Os experimentos foram realizados em 8 replicatas, nas quais foram avaliados o rendimento (R%), a eficiência biológica (EB%), e a produtividade (Pr) (g/g substrato.dia⁻¹).

4.1.5 Cálculo dos parâmetros produtivos

Para determinação do rendimento (R %) do processo, foi utilizada a relação proposta por Chang, Lao e Cho (1981), que relaciona a massa úmida dos corpos frutíferos e a massa de substrato seco, conforme a Equação 1.

$$R (\%) = \frac{\text{Massa úmida dos corpos frutíferos}}{\text{Massa de substrato seco}} * 100 \quad (1)$$

A massa de substrato seco corresponde a 100 g de resíduo previamente desidratado a 60 °C por 24 h. A massa úmida dos corpos frutíferos corresponde à massa úmida de corpos frutíferos obtida em cada pacote.

A eficiência biológica (EB %) do processo foi determinada pela relação entre a massa dos corpos frutíferos secos e a massa de substrato seco, conforme Equação 2, (BISARIA; MADAN; BISARIA, 1987). A EB (%) é o parâmetro mais utilizado para avaliar a produção de corpos frutíferos em relação ao substrato.

$$EB (\%) = \frac{\text{Massa seca dos corpos frutíferos}}{\text{Massa de substrato seco}} * 100 \quad (2)$$

A massa dos corpos frutíferos secos corresponde à massa dos corpos de frutificação obtidos em cada pacote, desidratados a 40 °C por 24 h em estufa.

A produtividade (Pr) foi calculada a partir da relação entre a massa de corpos de frutificação secos (40 °C) e a massa de substrato seco, por dia, conforme Equação 3.

$$Pr = \frac{\text{Massa seca dos corpos frutíferos}}{\text{Massa de substrato seco} * \text{dia}} \quad (3)$$

4.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE SELÊNIO

Amostras desidratadas (40 °C) de 500 mg dos corpos de frutificação cultivados em substrato contendo diferentes concentrações de selênio e do substrato inoculado sem adição de selênio foram moídas (graal e pistilo) e colocadas dentro de um tubo fechado adicionado de 6 mL de ácido nítrico (HNO₃) e posicionados em um bloco de grafite (marca DigiPREP MS) aquecido a 65 °C *overnight*. Após esse período, foram adicionados 3 mL de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e a temperatura do bloco de grafite foi elevada a 120 °C. O conteúdo resultante da digestão foi transferido a novos tubos e o volume final foi completado para 10 mL utilizando água ultrapura (Milli-Q Millipore 18.2 MΩ cm⁻¹) (SEREÑO, 2016).

A determinação da concentração de selênio absorvida pelo *Pleurotus sajor-caju* foi realizada em triplicata por espectrometria de emissão óptica por plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), em equipamento da marca AGILENT, utilizando as normas de referência do Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (RICE *et al.*, 2012).

O percentual de aproveitamento de selênio presente no substrato foi calculado de acordo com a Equação 4.

$$\% \text{ de aproveitamento} = \frac{\text{EB\%} * [\text{Se nos corpos frutíferos}] * 100}{[\text{Se no substrato}]} \quad (4)$$

Onde:

Se nos corpos frutíferos = µg/g de corpos frutíferos

Se no substrato = µg/ 100 g de substrato

4.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS METANÓLICOS DOS CORPOS FRUTÍFEROS

4.3.1 Preparo da amostra

Aproximadamente 3g dos corpos frutíferos (0 e 12,8 mg/Kg de selênio) desidratados (40 °C) foram trituradas a pó com gral e pistilo e extraídas por agitação com 100 mL de metanol a 25°C a 150 rpm por 24h e filtradas em papel filtro Whatman número 4. O resíduo foi extraído com 2 porções adicionais de 100mL de metanol. Os extratos metanólicos foram evaporados até à secura a 40 °C e redissolvido em metanol a uma concentração de 50 mg/mL, e armazenado a 4 ° C até seu uso (BARROS *et al.*, 2007).

4.3.2 Determinação do potencial redutor do íon férrico (PR Fe⁺³)

O ensaio para a análise da atividade antioxidante por meio da determinação do potencial redutor foi baseado no método proposto por Waterman e Mole (1994). Todas as amostras foram diluídas em metanol na concentração de 1000 µg/mL. Num tubo de ensaio contendo 50 µL das amostras, adicionou-se 4,25 mL de água destilada e 0,5 mL de FeCl₃ 0,1 M. Após 3 minutos, adicionou-se 0,5 mL de ferrocianeto de potássio 0,008 M e deixou-se na temperatura ambiente durante 15 min. As absorbâncias das amostras foram determinadas em espectrofotômetro em comprimento de onda de 720 nm. O branco foi preparado utilizando o metanol no lugar da amostra conforme o procedimento já descrito. O potencial redutor do íon férrico foi estimado por interpolação em uma curva de calibração construída com soluções padrão de ácido ascórbico nas concentrações de 15,62 até 500 µg/mL, diluídos em metanol. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. O ajuste linear foi confirmado pelo coeficiente de determinação da equação da reta ($y = 0,002x + 0,0191$, $r^2 = 0,9996$). O potencial redutor das amostras foi expresso em mg de ácido ascórbico por grama de extrato (mg AAc/g do extrato).

4.3.3 Determinação de ação sequestradora do radical livre DPPH (DPPH•)

A determinação da atividade antioxidante do radical livre DPPH foi realizada segundo Cavin *et al.*, (1998). Num tubo de ensaio contendo 0,5 mL das amostras diluídas em metanol, em concentrações de 1000 µg mL⁻¹, foi adicionado 1 mL da solução DPPH 4% diluída em metanol. Deixou-se em temperatura ambiente em local escuro durante 30 min e as absorbâncias das soluções foram determinadas em comprimento de onda de 517 nm. Foram realizadas uma solução em branco sem a amostra para eliminação da interferência e o ácido ascórbico foi utilizado como padrão nas mesmas concentrações. O potencial de atividade sequestrante do radical DPPH (%) foi calculado de acordo seguinte fórmula: $1 - (A_s/A_c) \times 100$, onde, A_s é a absorbância na presença de amostra e A_c é absorbância de controle, sendo os resultados expressos porcentagem de inibição na forma de média ± desvio padrão.

4.4 ESPECIAÇÃO DE SELÊNIO EM CORPOS FRUTÍFEROS DE *Pleurotus sajor-caju*

4.4.1 Preparo das amostras

Duas extrações independentes foram preparadas. As amostras foram preparadas conforme Silva (2015), com algumas adaptações. A primeira amostra, PSC C/E (*Pleurotus sajor-caju* com adição de enzimas) foi preparada utilizando 0,5 g de extratos de corpos frutíferos secos a 40 °C, adicionados de proteases XIV de *Streptomyces griseus* + lipases de *Rhizopus oryzae* (Sigma-Audrich) (4 mg/g + 2 mg/g), completadas para 5 mL de água ultrapura mili-Q. Essas amostras foram mecanicamente homogeneizadas por 30 s em *vórtex*, incubadas em agitador termostatizado em 200 rpm durante 16 h a 37 °C. As amostras foram então centrifugadas por 30 min a 2489 g, os sobrenadantes foram filtrados em filtros de 0,45 µm e analisadas em sistema HPLC (SILVA, 2015). O mesmo procedimento foi realizado com extratos de corpos frutíferos de *P. sajor-caju*, porém sem adição das

enzimas, somente água (extração em água), para a determinação da PSC S/E (*Pleurotus sajor-caju* sem adição de enzimas) (MILOVANOVIC *et al.*, 2019).

4.4.2 Análise das espécies de selênio

As análises foram realizadas baseadas nas metodologias de Sousa (2017) e Silva (2012) no aparelho Merck-Hitashi do Laboratório de Análises Instrumentais da UNIVILLE, compostos de: bomba L7100 Lachrom, degaseificador de solventes L7612, injetor automático 7200 Merck ; Forno L7300 Lachrom; detectores UV L74001, UV L7400; interface L7000 LaChrom conectada ao sistema operacional Windows NT, que utilizara o Symmetry C18 coluna (75 mm x 4,60 mm, 3,5 µm), à temperatura de 35°C e o sistema de separação foi otimizado conforme Tabelas 3 e 4 (CARVALHO, 2008; SILVA, 2012; SILVA, 2015; SOUSA, 2017). Para determinar e quantificar as formas de selênio, uma curva de calibração foi composta pelo padrão DLSelenometionina da Sigma Audrich, em concentrações de 5, 10, 15, 20, 25 µg/L para os quais foram analisados o tempo de retenção e área de pico de cada.

Tabela 3 - Gradiente de eluição para análise de selenometionina.

Tempo (min.)	Fase A (%) ⁽¹⁾	Fase B (%) ⁽²⁾	Fase C (%) ⁽³⁾	Fase D (%) ⁽⁴⁾	Fluxo mL/min
0	0	100	0	0	0,4
6	0	100	2	0	0,4
8	0	84	13	3	0,8
10	0	100	0	0	1,0
13	0	100	0	0	1,0
14	0	100	0	0	0,5
15	0	100	0	0	0,4

⁽¹⁾ Fase A = água ⁽²⁾, Fase B = tampão fosfato mono básico hidratado 0,2M/0,2 mg/mL de ácido cítrico

⁽³⁾ Fase C = metanol, ⁽⁴⁾ Fase D = acetonitrila

Tabela 4 - Gradiente de eluição para análise de selenometionina nas amostras.

Tempo (min.)	Fase A (%) ⁽¹⁾	Fase B (%) ⁽²⁾	Fase C (%) ⁽³⁾	Fase D (%) ⁽⁴⁾	Fluxo mL/min
0	0	100	0	0	0,4
6	0	100	2	0	0,4
8	0	84	13	3	0,8
10	0	78	19	3	1,0
15	0	57	40	3	1,0
25	0	57	40	3	1,0
27	0	100	0	0	1,0
35	0	100	0	0	1,0
39	0	100	0	0	0,5
40	0	100	0	0	0,4

⁽¹⁾ Fase A = água, ⁽²⁾ Fase B = tampão fosfato mono básico hidratado 0,2M/0,2 mg/mL de ácido cítrico, ⁽³⁾ Fase C = metanol, ⁽⁴⁾ Fase D = acetonitrila

Para quantificação e qualificação do doseamento de selenometionina por HPLC, foram realizados testes de linearidade segundo o Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos (RDC 166/17, ANVISA). Inicialmente preparou-se a solução padrão com concentração de 0,5 mg/mL, em metanol. A seguir foi preparada uma diluição da solução padrão com concentração final 0,2 mg/mL. Para a realização da curva de calibração foram preparadas cinco concentrações diferentes (5; 10; 15; 20; 25 µg /mL) a partir da solução padrão de referência de DL-selenometionina com concentração estoque de 0,5 mg/mL, em balões volumétricos, calibrados, de 5 mL. A condição de análise é que o coeficiente de correlação (r^2) deve resultar no mínimo 0,99. As soluções foram diluídas para se obter um sinal de 50 a 2000 mV de absorbância pelo detector.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados obtidos foram analisados por meio do teste estatístico para rejeição de valores desviantes (Teste Q de Dixon), sendo aceitos ou não

(RORABACHER, 1991). Foram também submetidos à análise de variância dos valores médios das amostras, através do teste t *Student* com nível de confiança de 95% (ANOVA) utilizando como ferramenta o programa EXCEL da Microsoft.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 PARÂMETROS PRODUTIVOS

5.1.1 Rendimento (R%) e Eficiência Biológica (EB%)

Na Tabela 5 estão apresentados os valores de rendimento (R%) e a eficiência biológica (EB%) obtidos nos cultivos com as diferentes concentrações de selênio no substrato (0 (controle); 3,2; 6,4; 12,8; 25,4 mg de Se/Kg).

Tabela 5 - Médias \pm desvio padrão de rendimento (R%) e eficiência biológica (EB%) para corpos frutíferos de *Pleurotus sajor-caju* cultivados em substrato misto de palha de bananeira e bagaço de malte suplementado com diferentes concentrações de selênio.

Concentração de Se (mg/Kg)	Rendimento (R%)	Eficiência Biológica (EB%)
0	26,39 ^a \pm 8,24	4,31 ^a \pm 0,92
3,2	22,42 ^a \pm 3,06	4,34 ^a \pm 0,71
6,4	28,74 ^a \pm 4,38	4,09 ^a \pm 0,40
12,8	33,12 ^a \pm 0,02	4,88 ^a \pm 1,34
25,4	6,84 ^b \pm 4,10	1,11 ^b \pm 0,77

Letras iguais determinam valores sem diferenças estatisticamente significativas dentro do mesmo grupo, pelo test t *student* com nível de confiança de 95%.

Observa-se que nas concentrações testadas de 3,2 a 12,8 mg/Kg de selênio no substrato não houve diferença estatisticamente significativa para os valores de EB e R em relação ao substrato não suplementado com selênio. Entretanto na concentração de 25,4 mg/Kg de selênio no substrato verifica-se que este elemento apresenta efeito inibitório sobre o crescimento de *Pleurotus sajor-caju*.

Os valores encontrados para EB (4,31%) e R (26,39%) no experimento controle (sem adição de selênio) deste trabalho quando comparados a Bonatti (2001) que

utilizou *P. sajor-caju*, porém, cultivado em substrato composto apenas por folha de bananeira foram similares ao atual trabalho com valores de 4,2% e 26,1 para EB e R, respectivamente. Entretanto Schulz (2016) ao cultivar *Pleurotus sajor-caju* em substrato misto de folha de bananeira com bagaço encontrou valores maiores para EB e R de 7,2% e 58,7%, respectivamente. Esta diferença pode estar relacionada, principalmente, ao resíduo de bagaço de malte, que pode variar sua composição dependendo do lote (LYNCH *et al.*, 2016).

Estudos realizados com *Pleurotus sajor-caju* em diferentes tipos de substratos apresentaram eficiência biológica muito semelhante com o atual estudo de (4,31% grupo controle). Corgorni (2013) realizou o cultivo dessa espécie de cogumelos em folhas de pupunheira suplementadas com 10% de farelo de arroz e obteve uma EB de 4,5%. Pereira (2017) realizou o cultivo em resíduos de cebola e obteve uma EB de 4,66%.

O rendimento médio de 26,39% e a eficiência biológica média de 4,31% observados neste trabalho são superiores ao observados por Westphal (2017) no cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em substrato de resíduo de mate enriquecido com 5% de farelo de arroz (21,9 e 2,5% para EB e R, respectivamente). Entretanto quando esse autor realiza uma mistura de substrato 1:1 de resíduo de guaraná e mate o rendimento e a eficiência biológica de *P. sajor-caju* ficam semelhantes ao encontrados no atual trabalho (R = 29,8 e EB =4,2).

Os resultados encontrados neste trabalho também contradizem os resultados reportados por Silva *et al.* (2012), que constatou que a adição de pequenas concentrações de selênio no substrato pode estimular o crescimento dos corpos frutíferos de *Pleurotus ostreatus*, observando que a melhor eficiência biológica foi encontrada em substratos suplementados com concentrações de selênio entre 3 e 20 mg/Kg. Essa diferença pode ser devido a espécie fúngica bem como os substratos em que os mesmos foram cultivados.

Kaur (2017) analisa o rendimento de corpos frutíferos de *Pleurotus sajor-caju* crescidos em substratos de palha de trigo enriquecidos naturalmente com selênio e não enriquecidos com selênio (grupo controle), concluindo que os cogumelos crescidos em substratos naturalmente enriquecidos por selênio, possuem um rendimento de 30%, valor este inferior ao grupo controle que apresentou um

rendimento de 57%. O rendimento encontrado por Kaur (2017), apesar de não determinar a quantidade de selênio presente no substrato é bem semelhante ao encontrado pelo atual trabalho (33,12%) com concentrações de 12,8mg/ Kg de selênio no substrato. Quanto ao grupo controle o rendimento é superior ao encontrado no atual trabalho que foi de 26,39%.

Solovyev (2018) analisou o crescimento de *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju* em substrato de palha de trigo proveniente de áreas não seleníferas (controle) e áreas seleníferas de Punjab na Índia, e reportou que a EB e o R total para todas as espécies de *Pleurotus* analisadas, cultivados em áreas seleníferas, são semelhantes ao controle. Zhou (2021), evidenciou que tanto a eficiência biológica quanto o rendimento de cogumelos *Pleurotus eryngii* não são alteradas quando pequenas doses 1 a 5 mg/Kg de selênio são adicionados ao substrato. O mesmo pode ser observado neste trabalho para concentração de selênio até 12,8 mg/Kg no substrato.

Niedzielski (2015) constatou que *Pleurotus ostreatus* crescido em substratos suplementados com selenito de sódio a uma concentração de 43 mg/Kg, apresentaram valores de rendimento dos corpos frutíferos similares ao grupo controle. Entretanto quando o substrato se encontra com concentrações entre 43 mg/Kg a 215 mg/Kg de selenito de sódio ocorre uma diminuição significativa nos valores de biomassa dos corpos frutíferos de *P. ostreatus*, resultado semelhante ao encontrado neste estudo para o grupo suplementado com 25,4 mg/Kg de selênio (equivalente a 55 mg/Kg de selenito de sódio) mostrou EB (1,11%) e R (6,84%) , resultado 74,25% e 74,09% inferiores, respectivamente, aos observados para o grupo controle.

Rathore (2018) avaliou fungos da espécie *Calocybe indica* crescidos em substratos suplementados com selenito de sódio, e observou que concentrações acima de 10 mg/Kg de selênio para essa espécie de cogumelo afeta sua eficiência biológica, diferente do estudo atual onde a eficiência biológica de *Pleurotus sajor-caju* só é influenciada em concentrações superiores 12,8 mg/Kg de selênio no substrato.

Corroborando com o atual trabalho Dimawarnita (2020), estudou *Pleurotus sajor-caju* crescidos em substratos enriquecidos com selenito de sódio e observou que eficiência biológica reduz a partir de concentrações de 30 mg/Kg de selênio.

Hu (2018), demonstrou que *Cordyceps militaris* suplementados com selênio em diferentes concentrações (0, 5, 10, 20 e 40 mg/Kg), não alteraram sua eficiência biológica mesmo em doses maiores. Esse resultado diverge do atual trabalho onde concentrações de 25,4 mg/Kg de selênio afetaram negativamente tanto a eficiência biológica como o rendimento na produção de cogumelos *Pleurotus sajor-caju*.

Os resultados encontrados neste trabalho demonstram que *Pleurotus sajor-caju* tem boa capacidade de crescimento em substratos suplementados com selênio e que concentrações de até 12,8 mg/Kg de selênio no substrato não interferem em seu rendimento e eficiência biológica.

5.1.2 Produtividade (Pr)

A Tabela 6 demonstra os valores médios da produtividade obtidas nos substratos suplementados com diferentes concentrações de selênio.

Tabela 6 - Médias \pm desvio padrão da produtividade (PRO) para corpos frutíferos de *Pleurotus sajor-caju* cultivados em substrato misto de palha de bananeira e bagaço de malte suplementado com diferentes concentrações de selênio.

Concentração de Se (mg/Kg)	Produtividade (Pr)
0	$1,67 \times 10^{-3} \text{ a} \pm 0,35 \times 10^{-3}$
3,2	$1,58 \times 10^{-3} \text{ a} \pm 0,30 \times 10^{-3}$
6,4	$1,45 \times 10^{-3} \text{ a} \pm 0,14 \times 10^{-3}$
12,8	$1,59 \times 10^{-3} \text{ a} \pm 0,45 \times 10^{-3}$
25,4	$0,24 \times 10^{-3} \text{ b} \pm 0,07 \times 10^{-3}$

Letras iguais determinam valores sem diferenças estatisticamente significativas dentro do mesmo grupo, pelo test t *student* com nível de confiança de 95%.

A produtividade do processo como já observado nos resultados para R e EB, foi afetada apenas nos cultivos com uma concentração de 25,4 mg/Kg de selênio no substrato, e mostrando que não há diferença significativa em relação ao grupo

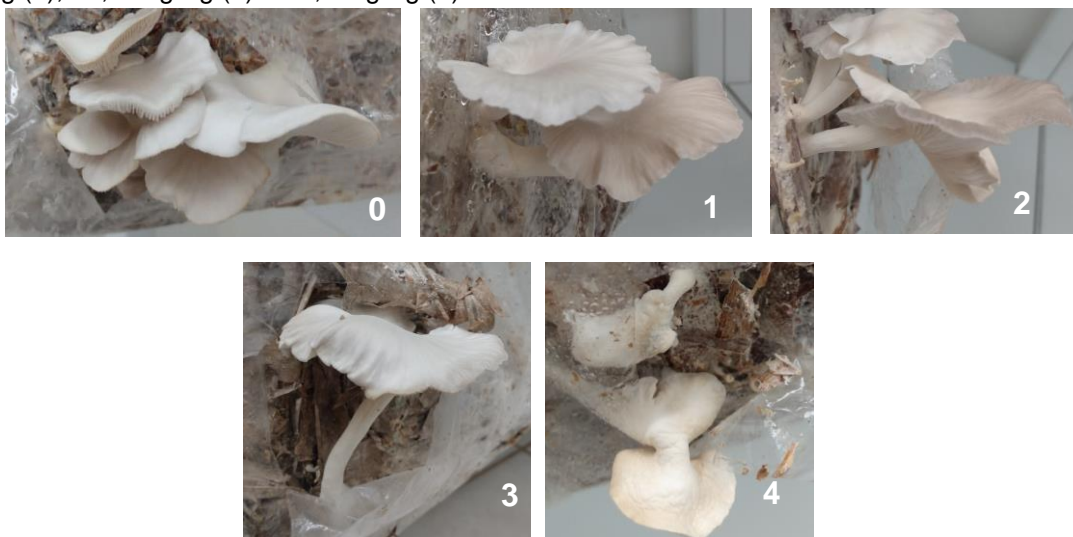
controle e os grupos com concentração de selênio no substrato de 3,2, 6,4 e 12,8mg/Kg.

Com relação à Pr, o resultado encontrado neste trabalho para o experimento controle de $1,67 \times 10^{-3}$ g/g substrato.dia foi inferior ao encontrado por Schulz (2016) utilizando a mesma espécie fúngica e o mesmo substrato, encontrou uma produtividade de $2,8 \times 10^{-3}$ g/g substrato.dia. Westphal (2017) avaliou o crescimento de *Pleurotus sajor-caju* em substratos mistos 1:1 de resíduo de guaraná e mate, chegando a uma produtividade $0,8 \times 10^{-3}$ g/g substrato.dia valores bem abaixo do encontrado no atual trabalho.

Estas divergências de resultados dos parâmetros produtivos segundo Tesfay *et al.* (2020) podem ser devido a condições que afetam o crescimento dos cogumelos como umidade, temperatura e variação na composição nutricional dos substratos. Biswas *et al.* (2018) também evidencia que a presença de fungos competidores em meios de cultivo diminui a produtividade.

Hu *et al.* (2018), analisaram fungos do gênero *Cordyceps militaris* cultivados em substratos suplementados com selênio e observou que a produtividade dos corpos frutíferos suplementados com selênio (18,2 mg/Kg) era semelhante ao grupo controle, resultado que corrobora com atual trabalho em concentrações semelhantes.

Figura 9 - Morfologia dos corpos frutíferos de *P. sajor-caju* cultivados em substrato de palha de bananeira e bagaço de malte na ausência (0) e presença de Se (3,2 mg/Kg (1); 6,4 mg/Kg (2); 12,8 mg/Kg (3) e 25,4 mg/Kg (4).



Fonte: a autora (2020)

Além disso, foi possível observar neste estudo que a adição de selenito de sódio afetou a forma dos corpos frutíferos (Figura 9) em substratos suplementados com concentrações de 12,8 a 25,4 mg/Kg de selênio. Nestas concentrações, os corpos frutíferos possuíam píleos menores e estipes maiores, quando comparados com os corpos frutíferos provenientes do experimento controle. Esse resultado corrobora com os resultados observados no estudo de Silva *et. al.* (2012), no qual concentrações superiores a 12,8 mg/Kg de selênio nos corpos frutíferos possuíam píleos menores e estipes maiores além de capas mais escuras nos cogumelos enriquecidos com selênio.

5.2 QUANTIFICAÇÃO DA ABSORÇÃO DE SELÊNIO POR *P. sajor-caju*.

Foi determinada a concentração de selênio em substrato misto de palha de bananeira com bagaço de malte inoculado, porém sem adição de selênio e sem crescimento de cogumelos e encontrou-se uma concentração de $2,34 \pm 0,06$ $\mu\text{g/g}$ de substrato (Tabela 7). Apesar da palha de bananeira e o bagaço de malte não serem fontes de selênio, o inóculo foi realizado usando grão de trigo (fonte de selênio), o que pode justificar essa quantidade de selênio. O conteúdo de selênio em cogumelos *Pleurotus sajor-caju* cultivados em substrato misto de palha de bananeira e bagaço de malte sem enriquecimento de selênio foi de $1,63$ $\mu\text{g/g}$ de cogumelo seco.

Tabela 7 - Médias \pm desvio padrão das concentrações de selênio encontradas nos corpos frutíferos de *P. sajor-caju* cultivados em substrato suplementado com diferentes concentrações de selênio e aproveitamento (%) de selênio presente no substrato pelos corpos frutíferos.

Concentração de Se adicionada ao substrato (mg/Kg)	Concentração de Se adicionada ao substrato + concentração de selênio presente no substrato sem adição de selênio* (mg/Kg)	Concentração de Se nos corpos frutíferos de <i>P. sajor-caju</i> ($\mu\text{g/g}$ de corpos frutíferos**)	Aproveitamento de selênio pelos corpos frutíferos (%)
0	2,34	$1,63 \pm 0,03^a$	3,00
3,2	5,54	$13,93 \pm 0,04^b$	10,91
6,4	8,74	$33,10 \pm 0,87^c$	15,49
12,8	15,14	$50,46 \pm 0,65^d$	16,25

25,4

27,74

95,36± 0,34^e

3,81

* 2,34 mg/Kg ** massa seca

Letras iguais determinam valores sem diferenças estatisticamente significativas dentro do mesmo grupo, pelo teste t *student* com nível de confiança de 95%.

Como pode ser observado na Tabela 7, a incorporação do selênio nos corpos frutíferos de *Pleurotus sajor-caju* é crescente e significativa, à medida que aumenta a concentração de selênio no substrato, até a concentração de 25,4 mg/Kg. Observa-se que nessa concentração a quantidade de selênio em 1 g de massa seca é quase 60 vezes superior, a encontrada nos corpos frutíferos sem adição de selênio no substrato. Além disso, pode-se observar que o aproveitamento de selênio presente no substrato pelos corpos frutíferos é crescente até a suplementação com 12,8 mg/Kg de selênio. Na concentração de 25,4 mg/Kg de selênio, o aproveitamento é reduzido para 3,81%, valor 76,6% inferior ao encontrado para a suplementação de 12,8 mg/Kg de selênio.

Assunção (2014) analisou o selênio acumulado em *Pleurotus ostreatus* e *Lentinula edodes*, mostrando que estas espécies são capazes de aumentar em mais de 150 vezes sua concentração de selênio, caracterizando uma alta capacidade de absorção de selênio por esses cogumelos.

Pleurotus eryngii crescido em substratos suplementados com selenito de sódio a uma concentração de 5 mg/Kg de selênio apresentaram uma capacidade doze vezes superior na absorção de selênio quando comparados ao controle chegando a uma concentração de 17,65 µg/g (Zhou 2021). Já *Pleurotus ostreatus* crescido em substratos suplementados com selenito de sódio a uma concentração e 5 mg/Kg de selênio, apresentaram uma capacidade quase três vezes maior que *Pleurotus eryngii* chegando a absorver 48,5 µg/g (Zhou, 2019). Ao compararmos essas duas espécies de *Pleurotus* com o *Pleurotus sajor-caju* utilizada neste trabalho observamos que este tem uma capacidade superior ao *Pleurotus eryngii* em acumular selênio e inferior ao *Pleurotus ostreatus*, visto que em uma concentração de 6,4 mg/Kg de selênio no substrato *Pleurotus sajor-caju* foi capaz de absorver 33,10 µg/g de selênio

Solovyev (2018) mostra que os corpos frutíferos de *Pleurotus* e *Agaricus* possuem boa capacidade na acumulação de selênio, quando cultivados em áreas

ricas neste mineral. Bhatia (2013) analisou cogumelos *Pleurotus florida* crescidos em palha de trigo do cinturão selenífero de Punjab, na Índia e comparou com a mesma espécie de cogumelos crescidos em palha de trigo de áreas não seleníferas (grupo controle), observando que os cogumelos crescidos em áreas seleníferas apresentaram uma concentração de 141 µg/g de selênio e o grupo controle apenas 0,17 µg/g ou seja, 800 vezes mais selênio.

Fang (2018) constatou que o conteúdo de selênio em corpos frutíferos de *Pleurotus eryngii* crescidos em substratos suplementados com 50 mg/Kg de selênio foi de 23,06 µg/g. Zieba (2020) estudou o mesmo fungo com uma suplementação de 50mg/Kg e a concentração de selênio nos corpos frutíferos foi de 13,6 µg/g. Esses resultados mostram que o gênero *Pleurotus* possui boa capacidade de absorver e acumular selênio em seus corpos frutíferos e vão ao encontro dos resultados encontrados no atual trabalho.

Niedzielski (2015) avaliou três espécies de fungos, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus nameko* e *Pleurotus eryngii*, crescidos em substratos suplementados com selenito de sódio com concentrações variando de 43 mg/Kg a 215mg/Kg, equivalentes a uma concentração de selênio de 19,63 mg/Kg e 98,17mg/Kg e observou que o teor de selênio em todas as três espécies testadas aumentou com a adição de selênio, e a maior quantidade de selênio foi observada nos cultivos nos quais produção de biomassa foi menor, corroborando com o resultado deste estudo, no qual absorção de selênio pelo fungo *Pleurotus sajor-caju* suplementado com uma concentração de selênio no substrato de 25,6mg/Kg, foi de 95,36 µg/g. No entanto, nesta concentração de selênio obteve-se os menores parâmetros produtivos para eficiência biológica, rendimento e produtividade.

Silva *et al.* (2013) verificaram que altas concentrações de selênio no substrato de crescimento são prejudiciais e tóxicas ao desenvolvimento de fungos. Isto também foi observado por Gaso *et al.* (2000) e Hartikainen (2005). Estes resultados vão ao encontro do atual trabalho, onde observa-se que o rendimento e a eficiência biológica diminuem quando a concentração de selênio no substrato encontra-se em 25,4mg/Kg.

Kaur (2017) analisou a concentração de selênio em fungos da espécie *Pleurotus sajor-caju* crescidos em substrato de palha de trigo naturalmente enriquecidos com selênio e constatou uma absorção 40 vezes maior que o grupo

controle, resultado semelhante ao presente estudo onde foi encontrado uma absorção de 30 a 60 vezes maior que o grupo controle, quando comparado aos grupos com concentração de selênio no substrato de 12,8 e 25,4mg/Kg.

Os corpos frutíferos de *Pleurotus sajor-caju* do presente trabalho mostraram maior capacidade de absorção de selênio em substrato enriquecido com selênio se comparados com *Calocybe indica* estudado por Rathore (2018). No presente trabalho corpos frutíferos obtidos de substrato com concentrações de 12,8 mg/Kg de selênio apresentaram uma concentração de selênio de 50,45 µg/g e no estudo com *Calocybe indica* corpos frutíferos obtidos de substrato com um uma concentração de 10 mg/Kg apresentaram apenas 8,28 µg/g de selênio.

Os resultados obtidos demonstraram que *Pleurotus sajor-caju* tem capacidade de mobilizar o selênio do substrato e acumulá-lo em seus corpos frutíferos. Neste estudo foi evidenciado que em 1 g de corpos frutíferos secos de *P. sajor-caju* cultivados em substrato suplementado com 12,8 mg/Kg de selênio foi incorporado 50,5 µg de selênio, dose muito próxima da dose diária recomendada deste mineral (55 µg/dia) para pessoas acima de 14 anos, tornando o extrato seco dos corpos frutíferos de *Pleurotus sajor-caju* enriquecidos com selênio um potencial nutracêutico ou suplemento alimentar.

5.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS METANÓLICOS DOS CORPOS FRUTÍFEROS DE *P. sajor-caju* ENRIQUECIDO COM SELÊNIO.

A atividade antioxidante dos extratos metanólicos de corpos frutíferos de *Pleurotus sajor-caju* crescidos em substrato misto de palha de bananeira e bagaço de malte com e sem suplementação com selênio, foi avaliada pelos métodos DPPH e do poder redutor do íon férrico (Tabela 8), ambos baseados na reação de transferência de elétrons (HAMINIUK *et al.*, 2012).

Esses métodos são amplamente utilizados na avaliação da atividade antioxidante de alimentos, devido a sua simplicidade, rapidez, sensibilidade e reprodutibilidade (OLIVEIRA *et al.*, 2016).

A atividade antioxidante não deve ser concluída com base em um único modelo de teste antioxidante, devido a possíveis interferências, devendo ser realizados diversos procedimentos de ensaios *in vitro*. Além disso, os modelos de testes antioxidantes variam em diferentes aspectos, tendo os resultados expressos em unidades distintas, o que dificulta a comparação direta de um método com outro (HAMINIUK *et al.*, 2012; ALAM; BRISTI; RAFIQUZZAMAN, 2013).

Para a análise antioxidante foram utilizados os corpos frutíferos provenientes do substrato suplementado com 12,8 mg/Kg de selênio. Esta condição foi escolhida pelo fato de ter promovido a maior absorção de selênio, sem comprometer a produtividade, rendimento e eficiência biológica do processo. Como controle, foram utilizados corpos frutíferos obtidos do substrato sem suplementação de selênio.

Tabela 8 - Atividade antioxidante dos extratos metanólicos de *Pleurotus sajor-caju* com e sem enriquecimento de selênio.

Amostras	Atividade sequestrante DPPH %	Potencial redutor íon férrico (mgAA/g*)
0 (sem suplementação de selênio)	42,61 ^a ± 0,93	16,75 ^a ± 6,26
12,8 mg/Kg de selênio	41,44 ^a ± 2,68	34,47 ^b ± 5,13
Vitamina C**	93,34 ± 0,23	

Letras iguais representam valores sem diferenças estatisticamente significativas dentro do mesmo grupo, pelo test t *student* com nível de confiança de 95%.

*mg AA/g = miligramas de ácido ascórbico por grama de extrato. **Controle positivo utilizado no teste.

O teste de DPPH não apresentou diferença estatística entre corpos frutíferos de *Pleurotus sajor-caju* crescidos em substrato na ausência de selênio (42,61%) quando comparados com os crescidos em substrato suplementado com selênio (41,44%). Entretanto para o teste de potencial redutor do íon férrico, houve diferença significativa entre corpos frutíferos de *Pleurotus sajor-caju* crescidos em substrato na ausência de selênio (16,75 mgAA/g) quando comparados com os crescidos em substrato suplementado com selênio (34,47mgAA/g).

Apesar dos extratos avaliados em cada ensaio serem os mesmos, os mecanismos de ação envolvidos nos métodos são diferentes. O DPPH é um radical livre, receptor tanto de um átomo de hidrogênio como de um elétron para se tornar uma molécula diamagnética estável. Ao receberem um átomo de hidrogênio ou um elétron de um agente antioxidante, como os compostos fenólicos, a forma reduzida do radical é gerada, seguida pela perda de cor (MUJIC *et al.*, 2010; ZIELINSKI; HAMINIUK; BETA, 2016). Já o potencial redutor do íon férrico é caracterizado somente pela capacidade de transferência de elétrons, que resulta na redução de íons ferro (Fe^{3+} para Fe^{2+}) na presença de compostos antioxidantes (CRAFT *et al.*, 2012).

O resultado encontrado nesse estudo para o teste DPPH em percentual é considerado baixo, visto que apenas quando encontra-se acima de 50%, é realizado o cálculo de IC_{50} . Esse índice significa a quantidade suficiente do extrato para reduzir em 50% a absorção do radical DPPH, dessa forma quanto menor a quantidade para inibir 50% de absorção, maior a atividade antioxidante.

O estudo de Fazoranti *et al.* (2019) analisou espécies de *Pleurotus* crescidos em substrato com e sem suplementação com selênio e observaram que cogumelos crescidos em substrato suplementado com selênio (22,8 mg/Kg) apresentaram uma maior capacidade antioxidante (91,58%) quando comparados aos cogumelos crescidos na ausência de selênio (75,5%).

Outros estudos com o gênero *Pleurotus* também reportaram atividade antioxidante superiores ao encontrado neste trabalho pelo método DPPH. Sulistiany *et al.* (2016) avaliaram uma espécie de *Pleurotus* selvagem da Indonésia e encontraram uma capacidade antioxidante de 77,82%. Menaga *et al.* (2021) encontraram uma capacidade antioxidante foi de 76% para *Pleurotus florida*. Elmastas *et al.* (2007) avaliaram *Pleurotus ostreatus* encontrando uma capacidade antioxidante de 82,8%.

Contudo deve-se considerar as espécies fúngicas bem como as diferenças de substrato de cultivo e concentrações de selênio utilizadas. Outros fatores que influenciam a atividade de eliminação do radical DPPH são: o solvente no qual o DPPH é solubilizado, o pH, a concentração da amostra e tempo de reação (BADARINATH *et al.*, 2010; NOIPA *et al.*, 2011; ALAM; BRISTI; RAFIQUZZAMAN, 2013), que podem resultar em valores divergentes quando comparações entre estudos são realizadas.

Mesmo diante dessas informações ao compararmos o presente trabalho a outros estudos que avaliaram a capacidade antioxidante de gênero *Pleurotus* pelo mesmo método para análise DPPH, é possível verificar uma proximidade nos resultados. Bathia (2014) verificou que *Pleurotus fossulatus* enriquecidos com selênio (27,9 mg/Kg) apresentavam 40,6% de atividade antioxidante por esse método. Mishra (2014) analisou o potencial antioxidante dos píleos e estipes de *Pleurotus sajor-caju* e encontrou um percentual para capacidade antioxidante de 43% e 41,1%, respectivamente.

Krummel (2018) encontrou uma atividade antioxidante de 47,2% em extratos metanólicos de *Pleurotus sajor-caju* crescidos em substratos sem suplementação, valor semelhante ao encontrado nesse estudo que encontrou atividade oxidante para DPPH de 42,61%.

Além disso, um estudo recente, avaliou o método DPPH, chamando a atenção para um erro comum na unidade para expressar o ácido ascórbico e outras substâncias antioxidantes, sugerindo que o teste de ação antioxidante é amplamente mal utilizado, com total desconsideração da concentração de DPPH no teste, podendo acarretar uma superestimativa de 7%, impossibilitando a comparação entre estudos (MENEZES *et al.*, 2021).

Os resultados da atividade antioxidante pelo método de redução do íon férrico neste trabalho, apresentam maior similaridade quando comparados a outros estudos. Fasoranti *et al.* (2019) encontraram um poder redutor 21% maior nos cogumelos crescidos em substrato suplementado com selênio, resultado que corrobora com o presente estudo. A capacidade antioxidante e redutora dos cogumelos, são conhecidas pela presença de fenóis e terpenóides (FASORANTI, 2019). A atividade quelante dos cogumelos enriquecidos com selênio também pode ser devida a capacidade antioxidante das porções biológicas contendo o metal selênio. A adição de selênio em cogumelos desencadeia a síntese de selenoergotenoína, substituindo o enxofre pelo composto de selênio da porção antioxidante ergotioneína (BEELMAN; ROYSE, 2006).

Corroborando com este estudo, que observou que *Pleurotus sajor-caju* suplementado com selênio (12,8 mg/Kg), apresentou uma capacidade antioxidante 105% maior em relação ao grupo controle (0 mg/Kg), pelo teste de redução do íon

férrico, Bhatia (2014) em seu estudo com *Pleurotus fossulatus* crescidos em substratos naturalmente enriquecidos por selênio (24 mg/Kg) obteve uma capacidade antioxidante 33% maior quando comparados ao grupo controle (1,9 mg/Kg) pelo mesmo método.

Também corroborando com o presente estudo, Rathore (2018) utilizando concentrações de selênio que variaram de 0 e 10 mg/Kg no substrato, observa que com o aumento da concentração de selênio há um aumento no poder redutor do íon férrico melhorando a atividade antioxidante de cogumelos da espécie *Calocybe indica* em 51%.

Um estudo realizado com espécies de *Pleurotus*, crescidos em substrato suplementado com selênio mostrou que estes apresentaram suas atividades antioxidantes 18% melhores, indicando que os mesmos podem ter aplicabilidade como ingredientes bio-fortificados ou como alimentos funcionais (PONIEDZIALEK *et al.*, 2017).

Vários autores evidenciam a possibilidade de extratos de cogumelos serem utilizados como possíveis nutracêuticos e/ou alimentos funcionais devido as suas atividades antioxidantes. Finimundy *et al.* (2018) relataram que o extrato de *Pleurotus sajor-caju* pode ajudar a controlar os danos oxidativos ocasionados por radicais livres, sendo promissores para o desenvolvimento de suplementos alimentares, bem como seu consumo *in natura* auxiliando no controle e prevenção de doenças. Segundo Bhatia *et al.* (2013), cogumelos enriquecidos com selênio possuem maior atividade antioxidante podendo ser utilizados como suplementos alimentares ou nutracêuticos.

Diante dos resultados e comparações com os estudos observamos que *Pleurotus sajor-caju* enriquecido com selênio, principalmente pelo teste de potencial redutor do íon férrico, possui atividade antioxidante melhorada podendo seu extrato ser utilizado como potencial nutracêutico ou alimento enriquecido.

5.4 ESPECIAÇÃO DE SELÊNIO EM CORPOS FRUTÍFEROS DE *Pleurotus sajor-caju*

Os corpos frutíferos que obtiveram a maior absorção de selênio pelo método quantitativo de ICP-MS, sem alteração da eficiência biológica, rendimento e produtividade do processo foram os escolhidos para as análises das espécies de selênio. O padrão utilizado para as análises foi DL-selenometionina. Foi realizada a quantificação de selenometionina em duas amostras de *Pleurotus sajor-caju* cultivados em substrato suplementado com 12,8 mg/Kg de selênio (50,45 µg/g de selênio no corpo frutífero), uma amostra preparada com extração enzimática (proteases + lipases) – PSC C/E, e a outra amostra preparada com extração em água - PSC S/E.

O cromatograma obtido da solução padrão de 15 µg /mL de DL-selenometionina está apresentado no Apêndice 1. A curva de linearidade das diferentes concentrações do padrão está representada no Apêndice 2.

A concentração de selenometionita de cada amostra está apresentada na Tabela 9 e os respectivos cromatogramas nas Figuras 10 e 11.

Tabela 9 - Concentração de selenometionina nos extratos dos corpos frutíferos de *Pleurotus sajor-caju* enriquecidos com selênio (50,45 µg/g), obtidos com extração enzimática e extração aquosa utilizando HPLC.

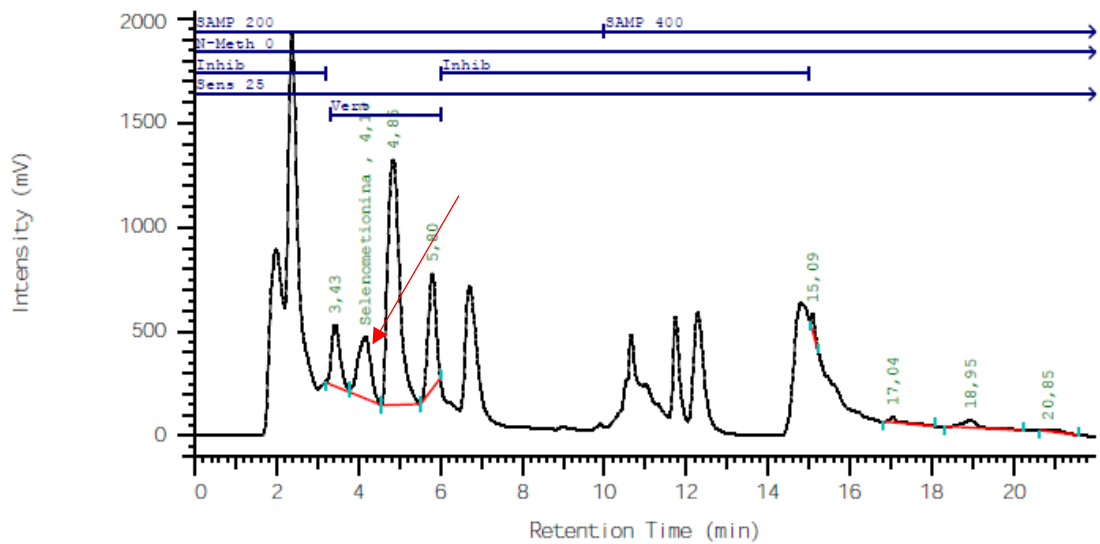
Amostras	Concentração de selenometionina nos corpos frutíferos de <i>P. sajor-caju</i> (µg/g)
PSC C/E	40,61
PSC S/ E	14,68

PSC C/E (extrato seco de *Pleurotus sajor-caju* com extração enzimática) PSC S/E (extrato seco *Pleurotus sajor-caju* com extração por água).

Conforme as Figura 10 e 11, podemos observar que o extrato de corpos

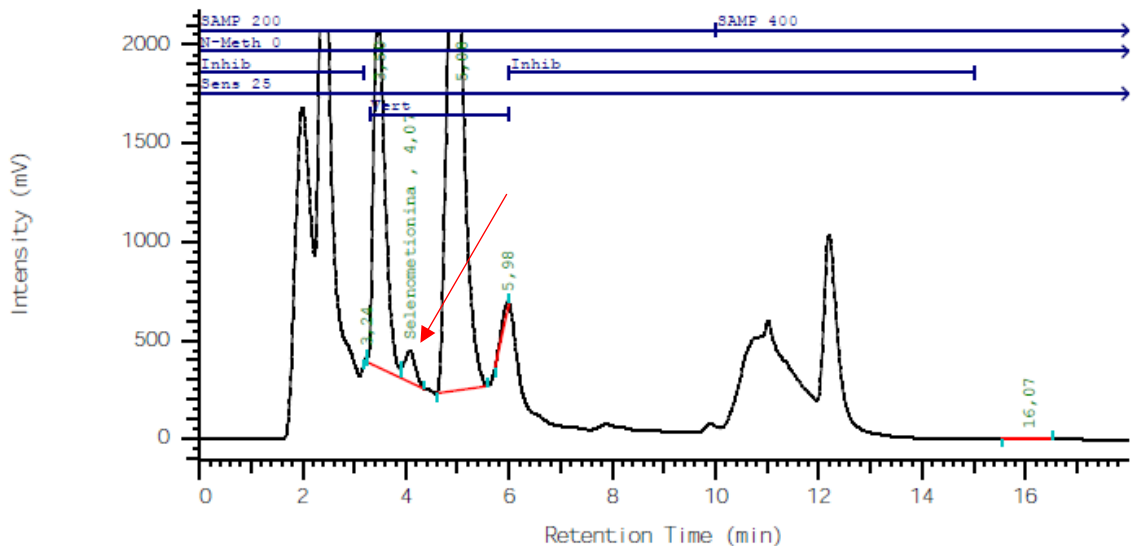
frutíferos de *Pleurotus sajor-caju* crescidos em substrato suplementado com 12,8 mg/Kg de selênio (50,45 µg/g de selênio nos corpos frutíferos) após processo de extração enzimática (proteases + lipases), e processo de extração em água apresentou o selênio em sua forma orgânica mais biodisponível, a selenometionina. As concentrações de selenometionina obtida no extrato enzimático e aquoso foram de 40,61 µg/g e 14,68 µg/g respectivamente. Esse resultado vai ao encontro dos resultados obtidos por Milanovic *et al.* (2019) que estudaram *Pleurotus pulmonarius* cultivados em substrato suplementado com selênio a uma concentração de 3,2 mg/Kg, e realiza a extração dos corpos frutíferos por meio enzimático e aquoso, como no atual trabalho. Estes autores demonstraram que ambas as extrações são capazes de apresentar a selenometionina, sendo que os cogumelos maduros com extração enzimática alcançaram uma concentração de selenometionina de 17,1 µg/g e com extração aquosa alcançaram 13,9 µg/g, mostrando que os diferentes métodos de extração (enzimático e aquoso) apresentaram resultados semelhantes, divergindo do presente estudo, onde a extração enzimática obteve um valor 2,8 vezes superior. Os autores ainda analisaram a presença de três selenocompostos nos corpos frutíferos cultivados em substrato suplementado com selênio e observaram que a selenometionina é a principal forma de selênio em *Pleurotus pulmonaris*. No atual estudo foi dosada apenas a selenometionina, e observa-se que a mesma representa 32,2% (cálculo estequiométrico) do selênio presente nos corpos frutíferos crescidos em substrato suplementado com selênio.

Figura 10 - Cromatograma do extrato enzimático de *P. sajor-caju* (PSC C/E).



Selenometionina (tempo de retenção = 4,17, concentração = 40,61 µg/g).

Figura 11 - Cromatograma do extrato aquoso de *P. sajor-caju* (PSC S/E).



Selenometionina (tempo de retenção = 4,07, concentração = 14,68 µg/g).

Diante desses resultados com análise de espécie de selênio utilizando tanto métodos de extração aquosa e enzimática, podemos evidenciar que a selenometionina não está presente nos corpos de frutificação apenas incorporadas

em estruturas de proteínas, mas estão amplamente presentes como moléculas livres (MILANOVIC *et al.*, 2019).

A Tabela 10 apresenta uma compilação dos resultados obtidos neste trabalho e por vários autores que utilizaram o gênero *Pleurotus* cultivado em diferentes substratos suplementados com selênio.

Tabela 10 - Resultados obtidos no atual trabalho e por diferentes autores para influência da suplementação de selênio na eficiência biológica (EF%), absorção de selênio e espécies de selênio pelo gênero *Pleurotus*.

Espécie fúngica	Substrato	EB			Suplementação de Selênio (mg/Kg)	Absorção de selênio (µg/g)	Selenometionina (µg/g)	Referência
		Não alterada	Aumentada	Diminuída				
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	Palha de bananeira e bagaço de mate com selenito de Na	X			12,8	50,45	40,61*	
							14,68**	A autora
<i>Pleurotus erryngii</i>	Com selenito de sódio	X			5	17,65	-	Zhou <i>et al.</i> (2021)
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Com selenito de sódio	X			5	48,5	11,63	Zhou <i>et al.</i> (2019)
<i>Pleurotus Pulmonaris</i>	Palha de trigo com selenito de Na	-	-	-	3,2	23,1	17,1 *	Milanovic <i>et al.</i> (2019)
							13,9**	
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	Palha de trigo naturalmente enriquecida			X	-	19,05	-	Kaur <i>et al.</i> (2017)
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	Palha de trigo naturalmente enriquecida	X			27	399	-	Solovyev <i>et al.</i> (2018)
<i>Pleurotus eryngii</i>	Substrato sintético com selenito de Na	-	-	-	50	23,06	13,68	Fang (2018)

<i>Pleurotus ostreatus</i>	Serragem de faia e palitos de linho com Selenito de Na				X	98,04	62	50 33	Niedzielski <i>et al.</i> (2015)
<i>Pleurotus eryngii</i>									
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Casca de café com com selenito de sódio	-	-	-		11,4	267,55	362,7	Assução <i>et al.</i> (2014)
<i>Pleurotus florida</i>	Palha de trigo naturalmente enriquecida	-	-	-		27,9	141	69,2	Bathia <i>et al.</i> (2013)
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Casca de café com selenito de sódio				X	25,4	>200	-	Silva <i>et al.</i> (2012)

*extrato enzimático, **extrato aquoso

Assunção *et. al.* (2014) ao analisar em corpos frutíferos de *Pleurotus ostreatus* e *Lentinula edodes*, verificaram que a principal espécie de selênio foi a seleniometionina.

Zhou (2019), ao analisar as espécies de selênio de *Pleurotus ostreatus* crescidos em substrato suplementado com selenito de sódio a uma concentração de 5mg/Kg de selênio constatou que a principal forma de selênio nesse cogumelo é da selenometionina, com concentração de 11,63 µg/g. Em comparação com o presente trabalho pode-se observar que o *Pleurotus sajor-caju* teve uma maior capacidade de converter o selênio do substrato em selenometionina chegando a um resultado de 40,66 µg/g, superior ao encontrado por Zhou (2019).

Bathia (2013) estudou as espécies de selênio dos cogumelos *Pleurotus florida*, crescidos em palha de trigo proveniente do cinturão selenífero na Índia, e observou que a principal espécie de selênio após processo de simulação gastrointestinal foi a selenometionina em uma concentração de 69,2 µg/g. Este resultado foi superior ao encontrado no atual trabalho, entretanto a palha de trigo utilizada por Bathia possuía uma concentração de selênio de 27,9 mg/Kg de substrato, valor superior ao utilizado nesse estudo.

Um estudo realizado com *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus eryngii*, analisou a capacidade desses fungos absorverem selênio inorgânico do substrato e bio transformar em selênio orgânico, do tipo selenometionina. Ambos os fungos foram capazes de absorver selênio em uma concentração de 19,6 mg/Kg e alcançaram uma concentração de selenometionina de 50 µg/g e 33 µg/g respectivamente, resultado semelhante ao encontrado no atual estudo (NIEDZIELSKI *et al.* 2015).

Fang (2018) analisou as espécies de selênio em *Pleurotus eryngii* crescidos em substratos suplementados com 50 mg/Kg de selênio utilizando digestão enzimática e simulação gastrointestinal. O autor observou que a principal espécie de selênio presente nos corpos frutíferos foi a selenometionina em concentração de 13,68 µg/g e 11,36 µg/g para digestão enzimática e simulação gastrointestinal, respectivamente, resultados inferiores aos encontrados no atual trabalho.

A selenometionina também foi a principal espécie de selênio encontrada em *Cordyceps militares* (32,8 µg/g) suplementados com 40mg/Kg de selênio (HU *et al.*, 2018).

Algumas divergências de resultados podem ser explicadas pela degradação oxidativa dos selenoscompostos, bem como pelos diferentes métodos de extração para quantificação dos selenoaminoácidos (GAMMELGAARD *et al.*, 2003; AMOAKO *et al.*, 2009). Também é importante considerar que tanto a forma de cultivo do cogumelo, como as características de enriquecimento, forma de selênio e sua concentração, e a fisiologia do fungo influenciam nas formas de absorção e capacidade de biotransformação do selênio pelo fungo (SILVA *et al.*, 2012; MASEKO *et al.*, 2013).

A biotransformação do selênio inorgânico em compostos de organosselênio pode ser uma característica do gênero *Pleurotus*, conforme observa-se nos trabalhos de outros autores.

Os resultados encontrados neste trabalho, evidenciando que o selênio que está presente em *Pleurotus sajor-caju*, está na forma de organosselênio, a selenometionina, sugerem a capacidade dos corpos frutíferos desse cogumelo em biotransformar selenito de sódio do substrato principalmente em selenometionina, melhorando seu valor nutricional como fonte de selênio para ser usado como possível nutracêutico ou alimento funcional. Segundo Combs (1988) alimentos ou suplementos que contem selenometionina, podem manter por períodos mais longos as atividades das selenoenzimas durante a depleção do que aqueles que contêm selênio inorgânico, devido à reciclagem da selenometionina que é catabolizada a partir da proteína armazenada.

Rayman *et al.* (2008) destacaram que as formas orgânicas são mais disponíveis que as formas inorgânicas, e afirmaram que suplementações realizadas com selênio orgânico podem ficar retidas por período de tempo mais longos, quando comparadas a suplementações realizadas na forma de selenito de sódio ou selenato de sódio (selênio inorgânico). Assim, *Pleurotus- sajor caju* crescido em substrato suplementado com selênio inorgânico, pode ser utilizado, principalmente devido a presença de selênio orgânico, selenometionina, como um potencial nutracêutico ou alimento enriquecido.

CONCLUSÕES

A eficiência biológica, o rendimento e a produtividade não apresentam diferenças significativas quando o substrato foi acrescido de selênio em concentrações de 3,2 a 12,8 mg/Kg de substrato. Entretanto, em concentrações de selênio de 25,4 mg/Kg de substrato observou-se parâmetros de rendimento, eficiência biológica e produtividade diminuídos, bem como, alterações no aspecto morfológico dos corpos frutíferos, como píleos menores e estipes maiores.

Quanto a absorção de selênio pelos corpos frutíferos do *Pleurotus sajor-caju*, observou-se que o mesmo tem uma boa capacidade de absorção, e conforme aumenta a concentração de selênio no substrato aumenta a quantidade de absorção pelos corpos frutíferos, sendo que 1g de corpos frutíferos secos crescidos em substratos suplementados com selênio em uma concentração e 12,8mg/Kg, representam 91,7% da ingestão diária recomendada (RDA) de 55 µg/dia, visto que apresentaram uma concentração de 50,45 µg/g de selênio.

A atividade antioxidante de corpos frutíferos de *Pleurotus sajor-caju* crescidos em substrato enriquecido com selênio apresentou resultado significativamente maior que o controle (sem selênio) somente no teste de redução para íon férrico. Para o teste de DPPH não houve diferença significativa, contudo os resultados apresentaram boa atividade antioxidante. *Pleurotus sajor-caju* enriquecidos com selênio possuem atividade antioxidante maior que o grupo controle pelo teste de redução do íon férrico, apresentando um grande potencial para ser um alimento funcional.

Pleurotus sajor-caju mostrou-se capaz de mobilizar o selênio do substrato misto de palha de bananeira e bagaço de malte enriquecido com selênio e incorporar em seus corpos frutíferos biotransformando o selênio inorgânico em selênio orgânico, selenometionina uma concentração de 40,61 µg/g nos extratos enzimáticos e 14,68 µg/g nos extratos aquosos. Desta forma corpos frutíferos desidratados de *Pleurotus sajor-caju* enriquecido com selênio podem ser utilizados tanto como alimento enriquecido ou potencial nutracêutico.

Como perspectivas para continuação deste trabalho:

- analisar os resíduos de selênio no substrato e técnicas de eliminação sustentável;
- analisar e quantificar outras espécies de selênio presentes em *Pleurotus sajor-caju* crescidos em substrato enriquecidos com selênio;
- Realizar estudos in vivo da capacidade antioxidante de extratos de cogumelos *Pleurotus sajor-caju* crescido em substrato suplementado com selênio;
- Realizar a viabilidade econômica da produção de *Pleurotus sajor-caju* crescido em substrato suplementado com selênio e seu uso como potencial nutracêutico.

REFERÊNCIAS

- ALAM, N.; BRISTI, N. J.; RAFIQUZZAMAN, M. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 21, p. 143–152, 2013.
- ALEXANDER, J. Selenium. In: Nordberg, F. G., Fowler, A. B., Nordberg. M. **Handbook on the Toxicology of Metals**. 4^a ed. London, Elsevier, p. 1175-1208, 2015.
- ALVES, M. J.; FERREIRA, I. C. F. R.; DIAS, J.; TEIXEIRA, V.; MARTINS, A.; PINTADO, M. A review on antifungal activity of mushroom (Basidiomycetes) extracts and isolated compounds. **Planta Medica**, v. 78, p. 1707–1718, 2012.
- ALMONDES, K. G. S. *et al.* O papel das selenoproteínas no câncer. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 4, p. 484–488, 2010.
- ALONSO, J.; GARCÍA, M. A.; PÉREZ-LÓPEZ, M., MELGAR, M. J. The concentrations and bioconcentration factors of copper and zinc in edible mushrooms. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 44, p. 180-188, 2003.
- AMOAKO, P.O., UDEN, P.C., TYSON, J.F. Speciation of selenium dietary supplements; formation of S- methylseleno)cysteine and other selenium compounds. **Analytica Chimica Acta.**, v. 652, p, 315-326, 2009.
- ANJANA, K. G. S.; BALAMURUGAN;, T. S. B.; MANIVASAGAN;, V.; RAMESH, N. G. B. Phytochemical, antioxidant and antitumor activity of edible mushroom *Pleurotus ostreatus*. **Int. J. Advanced Research in Biological Sci.**, v. 3, n. 9, p. 170–177, 2016.
- ANVISA. **Portaria nº 31, de 13 de janeiro de 1998**. Secretaria de Vigilância Sanitária - Ministério da Saúde, 1998.
- ASATIANI, M. D.; KACHLISHVILI, E. T.; KHardZIANI, T. S.; METREVELI, E. M.; MIKIASHVILI, N. A.; SONGULASHVILI, G. G.; TSIKLARI, N. D.; WASSER, S. P.; ELISASHVILI, V. I. Basidiomycetes as a source of antioxidants, lectins, polysaccharides, and enzymes. **Journal of Biotechnology**, v. 136, p. S717, 2008.
- ASSUNÇÃO L.S., SILVA M.C.S., FERNANDEZ M.G., GARCÍA-BARRERA T., GOMÉZ-ARIZA J.L., BAUTISTA J., KASUYA M.C.M. Speciation of selenium in *Pleurotus ostreatus* and *Lentinula edodes* mushrooms. **Journal of Biotechnology Letters**. v. 5, p. 79-86, 2014.
- ATRI, *et al.*, Nutritional and Nutraceutical Composition of Five Wild Culinary- edicinal Species of Genus *Pleurotus* (Higher Basidiomycetes) from Northwest India. **International Journal of Medicinal Mushrooms**. v. 15, p. 49-56, 2013.
- BACH, F. *et al.* Atividade antioxidante e antimicrobiana do extrato de *Lentinula edodes*. **IV Congresso Sul Brasileira de Engenharia de alimentos + VII encontro paranaense de engenharia de alimentos**. Guarapuava, 2018.

BADARINATH, A. V.; RAO, K. M.; CHETTY, C. M. S.; RAMKANTH, S.; RAJAN, T. V. S.; GNANAPRAKASH, K. A review on In-vitro antioxidant methods: comparisons, correlations and considerations. **International Journal of PharmTech Research**, v. 2, n. 2, p. 1276–1285, 2010.

BARROS, L., P.; BAPTISTA, D. M.; CORREIA, J. S.; MORAIS, I. C. F. Effects of conservation treatment and cooking on the chemical composition and antioxidant activity of Portuguese wild edible mushrooms. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 55, n. 12, p. 4781-4788, 2007.

BARROS, L., P.; BAPTISTA, D. M.; CORREIA, S.; CASAL, B.; OLIVEIRAI. C. F. R. F. Fatty acid and sugar compositions, and nutritional value of five wild edible mushrooms from Northeast Portugal. **Food Chemistry**, v.105, p. 140-145, 2007.

BARTOLINI, D. et al. Selenocompounds in Cancer Therapy: An Overview. **Advances Cancer Research**, v. 136, p. 259-302, 2017.

BHATIA, P.; AURELI, F.; D'AMATO, M.; PRAKASH, R.; CAMEOTRA, S.S.; NAGAJARA, T. P.; CUBADDA, F. Selenium bioaccessibility and speciation in biofortified *Pleurotus* mushrooms grown on selenium-rich agricultural residues Poonam. **Food Chemistry**, v. 140, p. 225-230, 2013.

BHATIA P, BANSALAA C, PRAKASB R, NAGARAJAC T. Selenium uptake and associated anti-oxidant properties in *Pleurotus fossulatus* cultivated on wheat straw from seleniferous fields. **Acta Alimentaria**, v. 43(2), p. 280–287, 2014.

BECKETT, G.J.; ARTHUR, J.R. Selenium and endocrine systems. **Journal of Endocrinology**, v.184, p.455-465, 2005.

Beelman, R. B.; Royse, D. J.; Identification and quantification of ergothioneine in cultivated mushrooms by liquid chromatography-mass spectroscopy. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 8, p. 1, 2006.

BEER, D.; JOUBERT, E.; GELDERBLOM, W. C. A.; MANLEY, M. Phenolic compounds: a review of their possible role as *in vivo* antioxidants of wine. **South African Journal of Enology and Viticulture**, v. 23, n. 2, p. 48-61, 2002.

BERNARDI, E., NASCIMENTO, J. S. Cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em diferentes substratos pasteurizados. **Arquivos dos Instituto Biológico**. v. 78, n. 1, p. 217-223, 2011.

BEZERRA, L. J. D.; SOUSA, E. B. C.; DANTAS, M. D. O.; SILVA, D. S.; SARMENTO, P. E. A.; NASCIMENTO, G. A. J. D.; NETO, R. D. C. L.; SOUZA, G. C. **Estudo bromatológico da bananeira (*Musa sp.*) e sua utilização na alimentação de bovinos**. João Pessoa, 2002. Dissertação mestrado. Universidade Federal da Paraíba.

BISARIA, R.; MADAN, M.; BISARIA, V. S. Biological efficiency and nutritive value of *Pleurotus sajor-caju* cultivated on different agro-wastes. **Biological Wastes**, v. 19, n. 4, p. 239–255, 1987.

BISWAS, M.; KUIRY, S.; GHOSH, T. Use of Plant Extracts for Substrate Sterilization and Its Effect on Competitor Moulds and Biological Efficiency of Oyster Mushroom. **European Journal of Medicinal Plants**, v. 22, n. 4, p. 1–8, 2018.

BONATTI, M. **Estudo do potencial nutricional de cogumelos do gênero *Pleurotus* cultivados em resíduos agrícolas**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001.

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 Chemistry**, v. 88, p. 425-428, 2004.

BODNAR, M. KONIECZKA, P, NAMIESNIK, J. Properties, Functions, and Use of Selenium Compounds in Living Organisms. **Journal of Environmental Science and Health, Part C: Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology Reviews**, v. 30, n.3, p. 225-252, 2012.

BONONI, V.L.; CAPELARI, M.; MAZIERO, R.; TRUFEM, S.F.B. **Cultivo de cogumelos comestíveis**. **Icone Editora**, São Paulo, p. 206, 1999.

BRASIL. Agência Nacional de vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC 166** de 24 de julho de 2017. Guia Para Validação de Métodos analíticos e bioanalíticos. Disponível em <www.anvisa.gov.br>. Acessado em 15 de março de 2021.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC nº 269**, de 22 de setembro de 2005. O regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0269_22_09_2005.html>. Acesso em: 29/10/2020.

CARDOSO, B. R. et al. Nutritional status of selenium in Alzheimer's disease patients. **The British Journal of Nutrition, Cambridge**, v. 103, n. 6, p. 803–806, 2010.

CARVALHO, J. L. S. **Desenvolvimento tecnológico de insumos, isolamento de marcadores e validação analítica dos derivados do *Nasturtium officinale* R. Br., BRASSICACEAE**, Dissertação (mestrado em ciências farmacêuticas). Programa de pós-graduação em ciências farmacêuticas, Setor de Ciências da saúde, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, 105p. 2008.

CAVIN, A.; HOSTETTMANN, K.; DYATMYKO, W. *et al.* Antioxidant and Lipophilic Constituents of *Tinospora crispa*. **Planta médica**, v. 64, n. 05, p. 393-396, 1998.

CHANG, S.T.; MILES, P.G. A new look at cultivated mushrooms. **Bioscience**, v.34, n.6, p. 358 – 362, 1984.

CHANG, S.T., LAU, O.W., CHO, K.Y. The cultivation and nutritional value of *Pleurotus sajor-caju*. **European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, v.12, p.58-62, 1981.

CHANG, J. C. *et al.* Selenium content of Brazil nuts from two geographic locations in Brazil. **Chemospher**, v. 30, n. 4, p. 801–802, 1995.

CHANG, S. Training Manual on Mushroom Cultivation Technology. Beijing, China: **Asian And Pacific Center For Agricultural Engineering And Machinery** (APCAEM), 2008

CHANG, S. T.; WASSER, S. P. The role of culinary-medicinal mushrooms on human welfare with a pyramid model for human health. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 14, p. 95-134, 2012.

CHEN, X. *et al.* Studies on the relations of selenium and Keshan disease. **Biological Trace Element Research**, v. 2, n. 2, p. 91–107, 1980.

CHEUNG, P. C. Nutritional value and health benefits of mushrooms. In: **Mushrooms as functional foods**. New Jersey: John Wiley & Sons, p. 279, 2008.

CHEUNG, P. C. K. The nutritional and health benefits of mushrooms. **Nutrition Bulletin**. v. 35, p. 292-299, 2010.

COMBS, G. F. Selenium in foods. **Advances in Food Research**, v. 32, p. 85-113, 1988.

COMBS, G. F. Jr. Selenium in global food systems. **British Journal of Nutrition**, v. 85, n. 5, p. 517-547, 2001.

COMINETTI, C.; COZZOLINO, S. M. F. Funções plenamente reconhecidas de nutrientes – Selênio. **Série de Publicações ILSI Brasil**, 2009.

COGORNI, P. F. B. O. **Produção de Pleurotus sajor-caju em folhas de pupunheira (bactris gasipaes) e avaliação de sua utilização no enriquecimento de farinha de trigo**. Dissertação (Mestrado Engenharia de processos). Programa de pós-graduação em engenharia de processos, Universidade da Região de Joinville, UNIVILLE, Joinville, 95p, 2013.

CRAFT, B. D.; KERRIHARD, A. L.; AMAROWICZ, R.; PEGG, R. B. Phenol-based antioxidants and the In vitro methods used for their assessment. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 11, p. 148–173, 2012.

CREWS, H. M.; CLARKE, P. A.; LEWIS, D. J.; OWEN, M.; STRUTT, P. R.; IZQUIERDO, A. Investigation of selenium speciation in in vitro gastrointestinal extracts of cooked cod by high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 11, p. 1177–1182, 1996.

DEEPALAKSHMI, K.; MIRUNALINI, S. *Pleurotus ostreatus*: an oyster mushroom with nutritional and medicinal properties. **Journal of Biochemical Technology**, v. 5, n. 2, p. 718–726, 2014.

DIMAWARNITA, F., FARAMITA, Y., & TRI-PANJI, Fortifikasi senyawa selenium pada jamur tiram coklat (*Pleurotus pulmonarius* and *Pleurotus sajor-caju*). **E-Journal Menara Perkebunan**, v. 88(1), p. 44–51, . (2020).

DIVELLA, R., DANIELE, A., SAVINO, E., & PARADISO, A. Review: Anticancer Effects of Nutraceuticals in the Mediterranean Diet: An Epigenetic Diet Model. **CANCER GENOMICS & PROTEOMICS**. v. 17, p. 335-350, 2020.

DUBOST, N. J.; OU, B.; BEELMAN, R. B. Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 105, n. 2, p. 727–735, 2007.

ELLWANGER, J. H.; FRANKE, S. I. R.; BORDIN, D. L.; PRA, D.; HENRIQUES, J. A. P. Biological functions of selenium and its potential influence on Parkinson's disease. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, n.3, p. 1655 – 1674, 2016.

FALANDYSZ, J.; BOROVIČKA, J. Macro and trace mineral constituents and radionuclides in mushrooms: health benefits and risks. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, p. 477-501, 2013.

FANG, Y., ZHANG, Y., MINGYANG, W. PEI, F. XIE, M., HU, L., HU, Q. In vitro bioaccessibility and speciation changes of selenium in *Pleurotus eryngii* during the growing stage. **Food & Fuction**, v. 9, p. 4493 – 4499, 2018.

FASORANTI, O.F., OGIDI, C.O., OYETAYO, V.O. Nutrient contents and antioxidant properties of *Pleurotus* spp. cultivated on substrate fortified with Selenium. **Journal of Fungal Biology**. v. 9, p. 66-76, 2019.

FERRAZ, A.L. **Fungos decompositores de materiais lignocelulósicos**. In: Esposito, E.;Azevedo, J.L. (Ed). **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. 2 ed. Caxias do Sul:Educ. p. 215 – 244, 2010.

FERREIRA, I. C. F. R., BARROS, L., ABREU, R. M. V. Antioxidants in wild mushrooms. **Current Medicinal Chemistry**. v. 16, p. 1543–1560, 2009.

FINIMUNDY TC, Gambato G., Fontana R., et al. Aqueous extracts of *Lentinula edodes* and *Pleurotus sajor-caju* have high antioxidant capacity and promising in vitro antitumor activity **Nutrition Research**. v.33, p. 76-84, 2013.

FINIMUNDY, T, et al. Apoptosis induction by *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer extracts on colorectal cancer cell lines. **Food and Chemical Toxicology**. v. 112, p. 383-392, 2018.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, Are foods that contain added nutrients considered "enriched"? Disponível em: <http://www.fda.gov/AboutFDA/Transparency/Basics/ucm194348.htm>. Acesso em: 6 de maio de 2019.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION FOR WORLD HEALTH ORGANIZATION (FAO/WHO). Human vitamin and mineral requirements. Bangkok, Thailand, 2001. 303 p. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on human vitamin and mineral requirements.

FORDYCE, F. Selenium geochemistry and health. **Ambio**, v. 36, p. 1, 2007.

FRANÇA, X. A. A. **Características de carcaças e composição tecidual de cortes de cordeiros alimentados com resíduos da bananicultura.** Montes Claros, 2012. Dissertação - (Mestrado em Ciências Agrárias). Universidade Federal de Minas Gerais.

FURLAN, S.A., VIRMOND, L.J., MIERS, D. A., BONATTI, M., GERN, R.M.M., JONAS, R. (1997). Mushrooms strains able to grow at high temperatures and low pH values. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 13, n.6, p. 689-692

GA, M., & SIWULKI, M. *LWT* - The effect of selenium on phenolics and flavonoids in selected edible white rot fungi. **Food Science and Technology**, v. 63, p. 726–731, 2015.

GAMBATO, G.; TODESCATO, K.; PAVÃO, E. M.; SCORTEGAGNA, A.; FONTANA, R. C.; SALVADOR, M.; CAMASSOLA, M. Evaluation of productivity and antioxidant profile of solid state cultivated macrofungi *Pleurotus albidus* and *Pycnoporus sanguineus*. **Bioresource Technology**, v. 207, p. 46–51, 2016.

GAMMLGAARD B., CORNET C., OLSEN J., BENDAHL L. e HANSEN. Combination of LC-ICP-MS, LC-MS and NMR for investigation of the oxidative degradation of selenomethionine. **Talanta**, 59, 1165-1171. 2003.

GASO, M. I., SEGOVIE, N., MORTON, O., SERVANTES, M. L., GODINES, L., PENA, P., et al. Cs and relationship with major and trace elements in edible mushrooms from México. **The Science of Total Environment**, v. 262, p. 73–89, 2000.

HALLIWELL, B. Antioxidant defense mechanisms: from the beginning to the end. **Free Radical Research**, v. 31, p. 261-272, 1999.

HALLIWELL, B; GUTTERIDGE J. M., **Free Radicals in Biology and Medicine.** 5^a ed., Oxford University Press, USA, 2015.

HAMINIUK, C. W. I.; MACIEL, G. M.; PLATA-OVIEDO, M. S. V; PERALTA, R. M. Phenolic compounds in fruits – an overview. **International Journal of Food Science and Technology**, p. 1–22, 2012.

HARTIKAINEN, H. Biogeochemistry of selenium and its impact on food chain quality and human health. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 18, p. 309–318, 2005.

HATANO, T.; KAGAWA, H.; YASUHARA, T.; OKUDA, T. Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 36, p. 2090–2097, 1988.

HELENO, S. a.; BARROS, L.; MARTINS, A.; QUEIROZ, M. J. R. P.; SANTOS-BUELGA, C.; FERREIRA, I. C. F. R. Phenolic, polysaccharidic, and lipidic fractions of mushrooms from northeastern portugal: Chemical compounds with antioxidant properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 18, p. 4634–4640, 2012.

HELENO, S. A.; MARTINS, A.; QUEIROZ, M. J. R. P.; FERREIRA, I. C. F. R. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. **Food Chemistry**, v. 173, p. 501–513, 2015.

HOA, H. T.; WANG, C. L.; WANG, C. H. The effects of different substrates on the growth, yield, and nutritional composition of two oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus cystidiosus*). **Mycobiology**, v. 43, p.423-434, 2015.

HOLBEN, D.H.; SMITH, A. M. The diverse role of selenium within selenoproteins: a review. **Jornal of the American dietetic Association**, v. 99, n. 7, p. 836-843, 1999.

INSTITUTE OF MEDICINE (IOM), FOOD AND NUTRITION BOARD (FNB). **Dietary reference intakes**: vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. National Academy Press, Washington, DC, 2000.

JAGADISH, LK, SHENBHAGARAMAN, R., VENKATAKRISHNAN V., KAVIYARASAN V. Studies on the phytochemical, antioxidante na antimicrobial properties of three indigenous species of *Pleurotus*. **Journal of Molecular Biology and Biotechnology**. v. 1, p. 20-29, 2008.

JAKOPOVICH, I. New dietary supplements from medicinal mushrooms: Dr Myko San-a registration report. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 13, p. 307-313, 2011.

JAYAKUMAR, T.; THOMAS, P. a.; GERALDINE, P. In-vitro antioxidant activities of na ethanolic extract of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 10, n. 2, p. 228–234, 2009.

JAYAKUMAR, T, THOMAS A, SHEU J, GERALDINE P. In-vitro and In-vivo antioxidant effects of the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. **Food Research International**, v. 44, p. 851–861, 2011.

JEDINAK A., SLIVA D. *Pleurotus ostreatus* inhibits th proliferation of human breast and colon câncer cells via th p53-dependent as well as p53-independent pathway. **International Journal of Oncology**. v. 33, p 1307-1313, 2008.

KALAC, P. A review of chemical composition and nutritional value of wild growing and cultivated mushrooms. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, p. 209-218, 2013.

KANAGASABAPATHY, G, MALEK, S. N. A., KUPPUSSAMY U. R., VIKINESWARY S. Chemical Composition and Antioxidant Properties of Extracts of Fresh Fruiting Bodies of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer. **Journal fo agricultural and food chemistry**, v. 59, p. 2618-2626, 2011.

KAUR, G., KALIA, A. SODHI, H. S. Selenium biofortification of *Pleurotus* species and its effect on yield, phytochemical profiles, and protein chemistry of fruiting bodies. **Journal of food biochemistry**. p 1-7, 2017.

KRUMMEL, A. **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DE COGUMELO OSTRÁ (*Pleurotus sajor-caju*)** Dissertação - Mestrado em Engenharia de alimentos. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis.135 p, 2018.

KUBACHKA, K. Selenium Speciation in Animal Feed. In: **EUROPEAN WINTER PLASMA CONFERENCE**, 2015, Munique.

LAVELLI, V.; PROSERPIO, C.; GALLOTI, F.; LAUREATI, M.; PALIARINI, E. Circular reuse of bioresources: the role of *Pleurotus* spp. in the development of functional foods. **Food Funct.** v. 9, p.1353- 1372, 2018.

LEE, S. J.; UMANO, K.; SHIBAMOTO, T.; LEE, K. G. Identification of volatile compounds in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 91, p. 131-137, 2005.

LI, W.; ZHOU, W; KIM, E. J.; SHIM, S. H.; Kang, H. K.; KIM, Y. H. Isolation and identification of aromatic compounds in Lion's Mane Mushroom and their anticancer activities. **Food Chemistry**, v. 170, p. 336-342, 2015.

LIM, S. M.; YIM, H. S. Determination of optimal extraction time and temperature by Response Surface Methodology to obtain high-level antioxidant activity in culinary medicinal Oyster mushroom , *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) P . Kumm . (Higher Basidiomycetes). **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 14, n. 6, p. 593–602, 2012.

LYNCH, K.M., STEFFEN, E.J., ARENDT, E.K., 2016. Brewers' spent grain: a review with an emphasis on food and health. **Journal of the Institute Brewing**. v. 122, p. 553–568, 2016.

LIU, R. H. Health benefits of fruits and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 78, p. 517-520, 2003.

LOPEZ HERAS, I.; PALOMO, M.; MADRID, Y. Selenoproteins: the key factor in selenium essentiality. State of the art analytical techniques for selenoprotein studies. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 400, n. 6, p. 1717–1727, 2011.

LYONS, M.P.; PAPAZYAN, T.T.; SURAI, P.F. Selenium in food chain and animal nutrition: lessons from nature. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v. 20, n.7, p.1135-1155, 2007.

MA, L, *et al.* Characterization of Se-enriched *Pleurotus ostreatus* polysaccharides and their antioxidant effects in vitro. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 111, p. 421-429, 2017.

MACHADO, G., PUTON, B. F, BERTOL, C. Nutracêuticos: aspectos legais e científicos. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v. 1, p. 1-9, 2019.

MADAN, M.; VASUDEVAN, P.; SHARMA, S. Cultivation of *Pleurotus sajor-caju* on different wastes. **Biological Wastes**, v. 22, p. 241–250, 1987.

MARTENS, I.B.G.; MARTENS, A.; COZZOLINO, S.M.F. Selênio. In: COZZOLINO, S.M.F., org. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 4 ed. Barueri: Manole, p 721-765, 2012.

MASEKO, T.; CALLAHAN, D. L.; DUNSHEA, F. R.; DORONILA, A.; KOLEV, S. D.; NG, K. Chemical characterisation and speciation of organic selenium in cultivated selenium-enriched *Agaricus bisporus*. **Food Chemistry**, v.141, p.3681-3687, 2013

MASEKO, T.; DUNSHEA, F. R.; HOWELL, K.; CHO, H. J.; RIVERA, L. R.; FURNESS, J. B.; NG, K. Selenium-enriched *Agaricus bisporus* mushroom protects against increase in gut permeability ex vivo and up-regulates glutathione peroxidase 1 and 2 in hyperthermally-induced oxidative stress in rats. **Nutrients**, v. 6, p. 2478-2492, 2014.

MAYNE, T. S. Oxidative stress, Dietary Antioxidant Supplements and Health: Is th Glass Half Full or Half empty? **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**,v. 22 n. 12, p. 2145-2148, 2013

MEHDI, Y. *et al.* Selenium in the environment, Metabolism and Involvement in body Functions. **Molecules**, v. 18, n. 3, p. 3292-3311, 2013.

MENAGA, D. *et al.* Antioxidant and Cytotoxic Activities of A Novel Isomeric Molecule (PF5) Obtained from Methanolic Extract of *Pleurotus florida* Mushroom. **Journal of Bioresources and Bioproducts**. v 10:46, p. 1-12, 2021.

MENEZES, B. B. *et al.* A critical examination of the DPPH method: Mistakes and inconsistencies in stoichiometry and IC₅₀ determination by UV–Vis spectroscopy. **Analytica Chimica Acta**, v. 1157, p. 338-398, 2021

MILATIC, D. *et al.* Seleniun-enriched *Coriolus Versicolor*. **Journal Science Food Agricutural**, v. 99, p. 5122-5130, 2019.

MILOVANOVIC, *et. al.*, Potential of *Pleurotus ostreatus* Mycelium for Selenium Absorption. **The Scientific World Journal**. v. 14, p. 1-8, 2014.

MILOVANOVIC, *et. al.*, Simultaneous selenium and sulfur speciation analysis in cultivated *Pleurotus pulmonarius* mushroom. **Food Chemistry**, v.279, p. 231-236, 2019.

MISHRA, K. K., PAL, R. S., ARUNKUMAR, R. Antioxidant Activities and Bioactive Compound Determination from Caps and Stipes of Specialty Medicinal Mushrooms *Calocybe indica* and *Pleurotus sajor-caju* (Higher Basidiomycetes) **India International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 16, p.555–567, 2014.

MRIDU, & ATRI, N. S. Nutritional and nutraceutical characterization of three wild edible mushrooms from Haryana, India. **Mycosphere**, v. 8, p.1035–1043, 2017.

MUECKE, R. *et. al.* Selenium supplementation in radiotherapy patients: do we need measure selenium levels in serum or blood regularly prior radiotherapy? **Radiation Oncology**, 9(289), p. 1-2, 2014.

NGAI, P. H. K.; NG, T. B. Lentin, a novel and potent antifungal protein from shitake mushroom with inhibitory effects on activity of human immunodeficiency virus-1 reverse transcriptase and proliferation of leukemia cell. **Life Sciences**, v. 73, p. 3363-3374, 2003.

NAVARRO-ALARCON, M.; CABRERA-VIQUE, C. Selenium in food and the human body: a review. **Science of the total Environment**, v. 400, n. 1/3, p. 115-141, 2008.

NAVARRO-ALARCON, M.; LOPES-MARTINEZ, M.C. Essentiality of selenium in the human body: relationship with different diseases. **Science of Environment**, v. 249, n. 1/3, p. 347-371, 2000.

NIEDZIELSKI, P., MLECZEK, M., SIWULSKI, M., GAZECKA, M., RZYMSKI, P., KOZAK, L. Supplementation of cultivated mushroom species with selenium: bioaccumulation and speciation study. **European Food Research and Technology**, v. 241, n. 3, p. 419 – 426, 2015.

NOIPA, T.; SRIJARANAI, S.; TUNTULANI, T.; NGEONTAE, W. New approach for evaluation of the antioxidant capacity based on scavenging DPPH free radical in micelle systems. **Food Research International**, v. 44, n. 3, p. 798–806, 2011.

NUNES R.G.F.L.; LUZ J.M.R.; FREITAS R.B.; HIGUCHI A.; KASUYA M.C.M.; VANETTI M.C.D. Selenium bioaccumulation in Shiitake mushrooms: A nutritional alternative source of this element. **Food Science**, v. 77, p. 983-986, 2012.

OLDFIELD, J.E. **Selenium Word Atlas**. Selenium-Telurium. Development Association, Grimbergen, Belgium, p.83, 1999.

OLIVEIRA, D. A.; ANGONESE, M.; GOMES, C.; FERREIRA, S. R. S. Valorization of passion fruit (*Passiflora edulis* sp.) by-products: Sustainable recovery and biological activities. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 111, p. 55–62, 2016.

OLIVEIRA, A. P., *et al.* Elemental imaging by Laser-Induced Breakdown spectroscopy to evaluate selenium enrichment effects in edible mushrooms. **Nature – Scientific Reports**. v. 9, p 1-10, 2019.

ORTUÑO, J., ROS, G. PERIAGO, M. J.; MARTINEZ, C. LOPEZ, G; RODRIGO, J. Importancia nutricional del selênio. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 47, n1, p. 6-13, 1997.

OYAZU, M. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. **Japanese Journal of Nutrition**, v. 44, p. 307–315, 1986.

PALACIOS, I.; LOZANO, M.; MORO, C.; D'ARRIGO, M.; ROSTAGNO, M. A.; MARTÍNEZ, J. A.; GARCÍA-LAFUENTE, A.; GUILLAMÓN, E.; VILLARES, A. Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in edible mushrooms. **Food Chemistry**, v. 128, p. 647-678, 2011.

PALATAJKO, A.; JAKUBOWSKI, N.; SZPUNAR, J. State of the art report of selenium speciation in biological samples. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 21, p. 639, 2006.

PEREIRA, G. S.; CIPRIANI, M.; WISBECK, E.; SOUZA, O.; STRAPAZZON, J. O.; GERN, R. M. M. Food and Bioproducts Processing Onion juice waste for production of *Pleurotus sajor-caju* and pectinases. **Food and Bioproducts Processing**, v. 106, p. 11-18, 2017.

PIECZYNSKA, J.; GRAJETA H. The role of selenium in human conception and pregnancy. **Journal of Trace Elements in Medicine na Biology**. V. 29, p 31-38, 2015.

PONIEDZIALEK B, MLECZEK M, NIEDZIELSKI P, SIWULSKI, M *et al.* Bioenriched *Pleurotus* mushrooms for deficiency control and improved antioxidative protection of human platelets. **European Food Research and Technology**, v. 243, p. 2187-2198, 2017.

POPPE, Journal Agricultural Wastes as Substrates for Oyster Mushroom. In: **Mushroom Growers' Handbook**. v. 1, cap 5, p. 75–85, 2004.

PREETI, A.; PUSHPA, S.; SAKSHI, S.; JYOTI, A.; CHEMISTRY, P.; PHARMACY, M. M. C. O. Antioxidant mushrooms: a review. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 3, n. 6, p. 65–70, 2012.

QUAGLIARIELLO V., VECCHIONE R., COPPLA C., Di CICCIO C., De CAPUA A., PISCOPO G., PACIELLO R., NARCISO V., FORMISANO C., TAGLIALATELA-SCAFATI O., *et al.* Cardioprotective Effects of Nanoemulsions Loaded with Anti-Inflammatory Nutraceuticals against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity **Nutrientes**, v. 10, p. 1 a 21, 2018.

RADZKI, W.; SLAWINSKA, A.; JABLONSKA-RYS, E.; MICHALAK-MAJEWSKA, M. Effect of blanching and cooking on antioxidant capacity of cultivated edible

mushrooms: A comparative study. **International Food Research Journal**, v. 23, n. 2, p. 599–605, 2016

RASHIDI, A. N. M.; YANG, T. A. Nutritional and antioxidant values of oyster mushroom (*P.sajor-caju*) cultivated on Rubber Sawdust. **International Journal on Advanced Science Engineering Information Technology**, v. 6, n. 2, p. 161–164, 2016.

RATHORE, et al. Selenium bioaccumulation and associated nutraceutical properties in *Calocybe indica* mushroom cultivated on Se-enriched wheat straw Himanshi Rathore. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 20, p. 1-6, 2018

RAYMAN, M. P. Selenium and human health. **The Lancet**, v. 379, n. 9822, p. 1256–1268, 2012.

RAYMAN, M. P.; INFANTE, H. G.; SARGENT, M. Food-chain selenium and human health. **British Journal of Nutrition**, v. 100, p. 238-253, 2008.

RAYMAN, M. P. The importance of selenium to human health. **The Lancet**, v. 356, p. 233-241, 2000.

REIS, F. S.; MARTINS, A.; VASCONCELOS, M. H.; MORALES, P.; FERREIRA, I. C.F.R. Functional foods based on extracts or compounds derived from mushrooms. **Trends in Food Science & Technology**. v. 66, p. 48-62, 2017.

RIBEIRO, A., G.; RUPHUY, J. C.; LOPES, M. M.; DIAS, L.; BARROS, F.; BARREIRO I. C. F. Spray-drying microencapsulation of synergistic antioxidant mushroom extracts and their use as functional food ingredients. **Food Chemistry**, v. 188, p. 612-618, 2015.

RICE, E. W.; BAIRD, R. B.; EATON, A. D.; CLESCERI, L. S. (Ed.). Standard methods for the examination of water and wastewater. 22nd. ed. Washington, **DC: American Public Health Association**, 2012.

RORABACHER, D.B. Statistical treatment for rejection of deviant values: critical values of Dixon's "Q" parameter and related subrange ratios at the 95 % confidence level. **Analytical Chemistry**, v. 63, n.2, p.139-146, 1991.

SAYEHMIRI, K., AZAMI, M., MOHAMMADI, Y., SOLEYMANI, A., TARDEH, Z. The associatino between selenium and prostate câncer: a systematic review ant meta-analysis. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**. v. 19, p. 1431-1437, 2018.

SAPATA, M., RAMOS, C., FERREIRA, A., ANDRADA, L., & CANDEIAS, M. Processamento mínimo de cogumelos do género *Pleurotus*. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 33(2), p. 15-26, 2010.

SARMENTO, R. F. DE O. Revisões Sistemáticas em TerapialIntensiva - Suplementaçãode Selênio. **Medicina perioperatoria**, v. 101, p. 903–912, 2006.

SARANGI, I., D.; GHOSH, S. K.; BHUTIA, S. K.; MALLICK, T. K. M. Anti-tumor and immunomodulating effects of *Pleurotus ostreatus* mycelia-derived proteoglycans. **International Immunopharmacology**, v. 6, p. 1287-1297, 2006.

SCHULZ, J. G. **Estudo da produção de *Pleurotus sajor-caju* em resíduo de cervejaria (bagaço de malte)**. Dissertação - (Mestrado em engenharia de processos) Programa de Pós-graduação em Engenharia de Processos, Universidade da Região de Joinville (UNIVILLE), Joinville, 90 p., 2016.

SEREÑO, P. A. Z. **Enriquecimento, distribuição e especiação de selênio em cogumelos de *Pleurotus* spp.** Dissertação - (Mestrado em Microbiologia Agrícola), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 55 p., 2016.

SHARIF, S., M.; SHAHID, M.; MUSHTAQ, S.; AKRAM, A. R. Wild mushrooms: A potential source of nutritional and antioxidant attributes with acceptable toxicity. **Preventive Nutrition and Food Science**, v. 22, p. 124-130, 2017.

SILVA, M. C.; NAOZUKA, J.; DA LUZ, J. M. R.; DE ASSUNÇÃO, L. S.; OLIVEIRA, P. V.; VANETTI, M. C.; BAZZOLLI D.M.S.; KASUYA, M. C. Enrichment of *Pleurotus ostreatus* mushrooms with selenium in coffee husks. **Food Chemistry**, v.131, p.558-563, 2012.

SILVA, M. C.; NAOZUKA, J.; OLIVEIRA, P. V.; VANETTI, M. C.; BAZZOLLI, D. M.; COSTA, N. M.; KASUYA, M. C. *In vivo* bioavailability of selenium in enriched *Pleurotus ostreatus* mushrooms. **Metallomics**, v. 2, p.162-166, 2010.

SILVA, M. D. C. S.; NUNES, M. D.; DA LUZ, J. M. R.; KASUYA, M. C. M. Mycelial growth of *Pleurotus* spp in Se-enriched culture media. **Advances in Microbiology**, v. 3, p. 11-18, 2013.

SILVA, E. G. **Combinação de técnicas para determinação de espécies selênio**. Dissertação – (Doutorado em Ciências). Instituto de Química da UNICAMP. Campinas, 165p., 2012.

SILVA, L. **Desenvolvimento de método (HPLC-ICP-MS) para os estudos de certificação de selenometionina em material de referência levedura (*Saccharomyces cerevisiae*)**. Dissertação - (Mestrado profissional em metrologia e qualidade) Instituto Nacional de Metrologia e Qualidade, Duque de Caxias, 2015.

SILVEIRA, M.L.L. **Comparação entre o desempenho de inóculo sólido e inóculo líquido para o cultivo de *Pleurotus ostreatus* DSM 1833**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 90p. 2003.

SIGEL, *et. al.*, Role of Selenium in Infectious Diseases. In: Sigel, A., Sigel, H., Sigel, O. K. R. Interrelations between Essential Metal Ions and Human Diseases. Netherlands, **Springer Science & Business Media**, p. 14-18, 2013.

SKINNER, M.; HUNTER, D. **Bioactives in Fruit: Health Benefits and Functional Foods**. New Delhi: John Wiley & Sons, 2013.

SLI, W., ZHOU, W., KIM, E. J., SHIM, S. H., KANG, H. K., KIM, Y. H. Isolation and identification of aromatic compounds in Lion's Mane Mushroom and their anticanceractivities. **Food Chemistry**. v. 170, p. 336-342, 2015.

SOLOVYEV, N. *et al.* Selenium-rich mushrooms cultivation on a wheat straw substrate from seleniferous area in Punjab, India. **Journal of trace elements in medicine of biology**, v. 27, n 1, p. 1-17, 2013.

SOUSA, J. R. **Desenvolvimento de métodos para determinação de Se total por ICP-MS e de suas espécies por HPLC-ICP-MS em suplemento alimentar e levedura enriquecida isotopicamente.** Dissertação (Doutorado em Química). Programa de pós-graduação em química da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio), Rio de Janeiro, 178p., 2017.

SRIVIDYA, A. R.; VENKATESH, N.; VISHNUVARTHAN, V. J. Nutraceutical as medicine. **Pharmanest**, v. 1, n. 2, p. 132–145, 2010.

STEFANELLO, F. S.; CAVALHEIRO, C. P.; LUDTKE, F. L.; SILVA, M. S.; MILANI, L. I. G.; KUBOTA, E. H. Effect of extraction of phenolic compounds on the *in vitro* antioxidant and antibacterial activity of sun mushroom. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, p. 1 – 7, 2016.

STOFFEL, F.; SANTANA, W. O.; FONTANA, R. C.; GREGOLON, J. G. N.; KIST, T. B. L.; GONÇALVES, F. S.; MENDONÇA, S.; CAMASSOLA, M. Chemical features and bioactivity of grain flours colonized by macrofungi as a strategy for nutritional enrichment. **Food Chemistry**, v. 297, p. 124988, 2019.

STURION, G. L. **Utilização da folha de bananeira como substrato para o cultivo de cogumelos comestíveis (*Pleurotus spp.*).** Dissertação - (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo – USP, Piracicaba, 1994. 147p.

SUN, L.; LIU, Q.; BAO, C.; FAN, J. Comparison of free total amino acid compositions and their functional classifications in 13 wild edible mushrooms. **Molecules**, v. 22, p. 1–10, 2017.

SULISTIANY, *et al.* Production of Fruiting Body and Antioxidant Activity of Wild *Pleurotus*. **HAYATI Journal of Biosciences**. v. 23, p. 191-195, 2016.

SYNYTSYA, A.; MÍČKOVÁ, K.; SYNYTSYA, A.; JABLONSKÝ, I.; SPĚVÁČEK, J.; ERBAN, V.; KOVÁŘÍKOVÁ, E.; ČOPÍKOVÁ, J. Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: Structure and potential prebiotic activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, n. 4, p. 548–556, 2009.

TAOFIQ, O.; HELENO, S. A.; CALHELHA, R. C.; ALVES, M. J.; BARROS, L.; BARREIRO, M. F. Development of mushroom-based cosmeceutical formulations with anti-inflammatory, anti-tyrosinase, antioxidant, and antibacterial properties. **Molecules**, 21(10), 1372, 2016.

TINGGI, U. Essentiality and toxicity of selenium and its status in Australia: **A review. Toxicology Letters**, v. 137, n. 1–2, p. 103–110, 2003.

TSAI, S.; MAU, J.; HUANG, S. Enhancement of antioxidant properties and increase of content of vitamin D2 and non-volatile components in fresh button mushroom, *Agaricus bisporus* (Higher Basidiomycetes) by γ -irradiation. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 16, n. 2, p. 137–147, 2014.

TÜZEN, M. Determination of heavy metals in soil, mushroom and plant samples by atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 74, p. 289-297, 2003

VALKO, M.; RHODES, C. J.; MONCOL, J.; IZAKOVIC, M.; MAZUR, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico-Biological Interactions**, v. 160, p. 1–40, 2006.

VALVERDE, M. E.; HEMÁNDEZ-PÉREZ, T.; PAREDES-LÓPEZ, O. Edible mushrooms: Improving human health and promoting quality life. **International Journal of Microbiology**, 2015.

VELEZ, M. E. V. et al. Production of bioactive compounds by the mycelial growth of *Pleurotus djamor* in whey powder enriched with selenium. **LWT - Food Science and Technology**, v. 114, p. 1-9, 2019.

VENTURA, M; MELO, M; FRANCISCO, C. Selenium and thyroid disease: from pathophysiology to treatment. **International Journal Endocrinology**. v. 17, p. 1-9, 2017.

WACHOWICZ, B.; ŻBIKOWSKA, H. M.; NOWAK, P. Selenium compounds in the environment, their effect on human health. **Cellular & Molecular Biology Letters**, v. 6, n. 2, p. 375–381, 2001.

WANG, X. M.; ZHANG, J.; WU, L. H.; ZHAO, Y. L.; LI, T.; LI, J. Q.; WANG, Y. Z.; LIU, H. G. A mini-review of chemical composition and nutritional value of edible wild-grown mushroom from China. **Food Chemistry**, v. 151, p. 279–285, 2014.

WANG, D.; SAKODA, A.; SUZUKI, M. Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beer grain. **Bioresource Technology**, v.78, p. 293–300, 2001.

WASSER, S. P. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 60, p. 258-274, 2002.

WASSER, S. P. Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 89, p. 1323-1332, 2011.

WATERMAN, P. G.; MOLE, S. **Analysis of phenolic plant metabolites**. Oxford: Blackwell Scientific, 238f. 1994.

WEEKS, B. S., HANNA, M. S., COOPERSTEIN, D. Dietary selenium and selenoprotein function. **Medical Science Monitor**, v. 18, n. 8, p. 127-132, 2012.

WESTPHAL, M. S. **Utilização de resíduos da indústria de aromas (guaraná, carvalho, cacau e mate) na produção**. Dissertação (Mestrado Engenharia de processos). Programa de pós-graduação em engenharia de processos, Universidade da Região de Joinville, UNIVILLE, Joinville, 102p, 2017.

WHANGER, P. D. Selenium and its relationship to cancer: an update. **British Journal of Nutrition**, v. 91, n. 1, p. 11, 2007

WINKEL, L.; VRIENS, B.; JONES, G.; SCHNEIDER, L.; PILON-SMITS, E.; BAÑUELOS, G. Selenium Cycling Across Soil-Plant-Atmosphere Interfaces: A Critical Review. **Nutrients**, Basel, v. 7, n. 6, p. 4199–4239, 2015.

WITKOWSKA A. M. Selenium-fortified mushrooms - candidates for nutraceuticals? **Austin Therapeutics**, v. 1, p. 1-4, 2014.

YAMASHITA, Y. et al. Selenoneine, total selenium, and total mercury content in the muscle of fishes. **Fisheries Science**, v. 77, n. 4, p. 679–686, 2011.

ZENG, X.; SUWANDI, J.; FULLER, J.; DORONILA, A.; NG, K. Antioxidant capacity and mineral contents of edible wild Australian mushrooms. **Food Science and Technology International**, v. 18, n. 4, p. 367–379, 2012.

ZIEBA, P *et al.*, Selenium and Zinc Biofortification of *Pleurotus eryngii* Mycelium and Fruiting Bodies as a Tool for Controlling Their Biological Activity. **Molecules**, v. 24, p.1-18, 2020.

ZHANG Z., et al. A water-soluble selenium-enriched polysaccharide produced by *Pleurotus ostreatus*: Purification, characterization, antioxidant and antitumor activities in vitro. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 168, p. 356-370, 2020.

ZHOU, F. YANG, W., WANG, M., MIAO, Y., CUI, Z., LI, Z., LIANG, D. Effects of selenium application on Se content and speciation in *Lentinula edodes*. **Food Chemistry**. V. 87, p. , 2018.

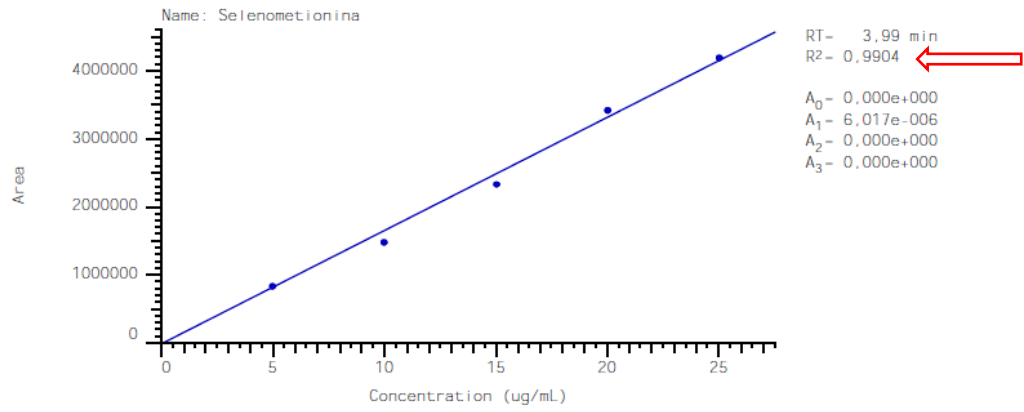
ZHOU, F.; DINH, Q. T.; YANG, W.; WANG, M.; XUE, M.; BAÑUELOS, G. S.; LIANG, D. Assessment of speciation and in vitro bioaccessibility of selenium in Se-enriched *Pleurotus ostreatus* and potential health risks. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 185, n. September, p. 109675, 2019.

ZHOU, F, *et al.* Influence of processing methods and exogenous selenium species on the content and in vitro bioaccessibility of selenium in *Pleurotus eryngii*. **Food Chemistry**, v. 338, p 1-8, 2021

ZORZETTO, P. S., **Fontes de selênio na dieta de matrizes pesadas**. Dissertação – (Mestrado em Ciências) Programa de Pós-graduação em Nutrição e Produção Animal, Universidade de São Paulo (USP), Pirassununga, 2017. 23 p.

Apêndice 2 – Curva de linearidade DL-selenometionina

D-7000 HSM: Validation Series: 5772 curva 3 Report: modified System: UNIVILLE
 Channel 1 Calibration Curves and Results



Chrom Type: HPLC Channel : 1

Name	Pts	A0	A1	A2	A3	R-Sqr	Unit
Selenometionina	5	0,000E+00	6,017E-06	0,000E+00	0,000E+00	9,904E-01	ug/ π

Termo de Autorização para Publicação de Teses e Dissertações

Na qualidade de titular dos direitos de autor da publicação, autorizo a Universidade da Região de Joinville (UNIVILLE) a disponibilizar em ambiente digital institucional, Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/IBICT) e/ou outras bases de dados científicas, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o texto integral da obra abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data 22/11/2021.

1. Identificação do material bibliográfico: () Tese (x) Dissertação () Trabalho de Conclusão

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

Autor: Fernanda Bianchini Carvalho

Orientador: Andréa Lima dos Santos Schneider Coorientadores: Dra. Elisabeth Wisbeck e Regina Maria Miranda Gern

Data de Defesa: 26/08/2021

Título: Absorção e especiação de selênio em *Pleurotus sajor-caju* cultivado em substrato suplementado com selenito de sódio como potencial nutracêutico.

Instituição de Defesa: Universidade da Região de Joinville - UNIVILLE

3. Informação de acesso ao documento:

Pode ser liberado para publicação integral (x) Sim () Não

Havendo concordância com a publicação eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese, dissertação ou relatório técnico.


Assinatura do autor


Local/Data