

## Avaliação da composição em aminoácidos de *Pleurotus* spp. cultivados em folha de bananeira

Marcia Regina T. de Camargo Ranzani, Gilma L. Sturion

Universidade de Campinas, Brasil

**RESUMO.** A qualidade da proteína de cogumelos, além de ser específica para a espécie/linhagem, pode variar também com o substrato de cultivo. Esse estudo teve por objetivo determinar a composição em aminoácidos da proteína dos cogumelos comestíveis - *Pleurotus* sp. «Florida» (L1), *P. ostreatoroseus* (L2) e *P. sajor-caju* (L3), cultivados em folha de bananeira (PB) unicamente e, esta misturada ao bagaço de cana (PBBC). Foram avaliados os aminoácidos totais, cistina e triptofano; calculou-se o escore químico e o PDCAAS - "protein digestibility-correct amino acid scoring". As espécies estudadas apresentaram todos os aminoácidos essenciais, de ambos substratos; os aminoácidos presentes em maiores quantidades foram, em ordem decrescente, ácido glutâmico, ácido aspártico, leucina e lisina. O escore químico da proteína de L1 foi de 90,4, com limitação em sulfurados e aromáticos no substrato PB e, no PBBC, o escore químico foi de 88,7 com limitação em aromáticos. O escore químico de L2 e L3 foi igual 100, independente do substrato de cultivo. O PDCAAS calculado, considerando-se 90% de digestibilidade recomendado, variou entre 80,0 a 96%. As proteínas de L1 apresentaram-se limitantes em sulfurados e aromáticos e com menor valor de PDCAAS ( $\approx 80,0$ ) nos dois substratos empregados; a proteína de L3 apresentou limitação em aromáticos, sulfurados e triptofano dependendo do substrato de cultivo; as proteínas de L2 apresentaram o maior valor de PDCAAS (96%) e limitação em aromáticos e/ou sulfurados, dependendo do substrato de cultivo. Considerando-se as condições desse estudo, a proteína das espécies estudadas é incompleta porém de alto valor biológico, comparáveis à carne.

**Palavras-chave:** Composição em aminoácidos, cogumelos comestíveis, *Pleurotus* spp., substrato, folha de bananeira.

**SUMMARY.** Amino acid composition evaluation of edible mushrooms (*Pleurotus* spp.) cultivated on banana leaves. The protein quality of edible mushrooms besides being species/strain specific, could also vary with the growth substrate. The aim of this work was to determine the amino acid composition of the protein from edible mushrooms - *Pleurotus* sp. «Florida»(L1), *P. ostreatoroseus* (L2) and *P. sajor-caju* (L3), cultivated on banana leaves (BL) single and, mixed with sugar cane bagasse (BLSCB). Total amino acids, cystine and tryptophan were evaluated; the chemical score index and PDCAAS - "protein digestibility-correct amino acid scoring" were calculated. From both substrates, the studied species contain all essential amino acids; in decreasing order, the amino acids in great amounts were glutamic acid, aspartic acid, leucine and lysine. The L1 chemical score was 90.4, with limitation in sulfur and aromatic aminoacids when from BL substrate; and, from BLSC substrate the chemical score was 88.7 with limitation in aromatics only. The L2 and L3 was 100.0, independent of cultivation substrate. The calculated PDCAAS value, considering 90% of recommended digestibility, varied between 80.0 - 96%. The L1 proteins were limiting in sulfur and aromatic amino acids and had the lowest value of PDCAAS ( $\approx 80,0$ ) in both substrates; the L3 proteins were limiting in aromatic, sulfur and tryptophan, dependent of cultivation substrate; the L2 proteins had the greatest value of PDCAAS ( $\approx 96\%$ ) and were limiting in aromatic and/or sulfur amino acids, dependent of cultivation substrate. Considering the conditions of this study, the protein of the studied species is incomplete, although of high biological value, comparable to meat.

**Key words:** amino acid composition, edible mushrooms, *Pleurotus* spp., substrate, banana leaves.

### INTRODUÇÃO

A produção de cogumelos comestíveis do gênero *Pleurotus* passou do 6º lugar da produção mundial em 1983-84 para o 2º na década de 90 (1). Várias espécies deste fungo da podridão branca da madeira são encontradas por todo o mundo, sendo apreciadas particularmente na Europa e na Ásia (2). Na Europa, este cogumelo é popularmente conhecido como «oyster mushrooms», no oriente como hiratake e, determinadas espécies, sob condições especiais de cultivo, têm sido chamadas de shimeji. No Brasil é também conhecido como cogumelo

gigante ou caetetuba (3).

Na última década dado ao aumento de sua popularidade passou a ser mais extensivamente cultivado naqueles continentes em países tais como Itália, Alemanha, Holanda, Bélgica, China, Japão, Taiwan, Índia, Singapura, Tailândia e, seu cultivo alcançou países tais como a Nigéria, México, Canadá e Estados Unidos (2).

No Brasil, uma produção incipiente de *Pleurotus* spp. deu-se na década de 70 porém, em meados da década de 80 também verificou-se um aumento da sua produção decorrente de trabalho de divulgação desse cogumelo comestível aliado ao

fato do aumento no consumo de cogumelos em geral, e da necessidade de importação desses pela América do Sul (3).

Embora, mundialmente, cogumelos comestíveis do gênero *Agaricus* sejam os mais cultivados (2,3), o grande interesse nas espécies de *Pleurotus* está relacionado com as facilidades de cultivo desse cogumelo quando comparadas ao primeiro. Entre elas citam-se a existência de espécies que crescem bem em áreas tropicais e subtropicais o que resulta em menor dispêndio de energia; apresentam uma produtividade maior e de menor custo e, crescem numa grande variedade de resíduos agrícolas e industriais graças à produção de enzimas lignocelulolíticas (4). No Brasil, *Pleurotus* spp. têm sido cultivado com sucesso em bagaço de cana (3) e novos substratos agroindustriais vêm sendo avaliados (5).

Quanto a seu valor nutricional, equipara-se ao de outros cogumelos, sendo mais ricos em vitaminas hidrossolúveis que a maioria dos vegetais bem como em proteínas de melhor qualidade (6). *Pleurotus* spp. têm baixo teor de gordura, nenhum colesterol, não contém amido, são boas fontes de vitaminas do complexo B principalmente niacina, riboflavina e ácido fólico, são ricos em minerais especialmente potássio e ferro e, têm baixo teor de sódio (4). Consequentemente, são considerados um alimento ideal para diabéticos e outras dietas especiais (4,6).

De um modo geral, embora a proteína de cogumelos possua os nove aminoácidos essenciais, sendo especialmente rica em lisina e leucina, é classificada como incompleta porque, no caso de *Pleurotus* spp., tem baixo teor de aminoácidos sulfurados e aromáticos quando comparada com a proteína do ovo (4). Todavia, a qualidade da proteína de cogumelos, além de ser específica para espécie são específica para a linhagem, é determinada também pelo substrato de cultivo dada a influência que esses fatores exercem no teor da proteína e na sua composição em aminoácidos (4,7). Assim sendo, alguns cogumelos são considerados de alto valor nutritivo com escores protéicos próximos ao do leite (6,7) podendo sua utilização ser recomendada como fonte de proteína desde que suplementada ou complementada (8).

Portanto, com o aumento do interesse na produção e consumo de *Pleurotus* spp., da possibilidade de produzir-se proteína de qualidade com menor dispêndio de terras e maior eficiência biológica do que proteínas de fontes animais com o emprego de resíduos agroindustriais, o objetivo deste estudo foi determinar a composição em aminoácidos de três espécies de *Pleurotus* cultivadas em palha de folha de bananeira e esta misturada ao bagaço de cana.

## MATERIAL E MÉTODO

**Culturas:** as espécies estudadas foram *Pleurotus* sp. «Florida» (001), *P. ostreatoroseus* (016) e *P. sajor-caju* (020), fornecidas pela Seção de Micologia do Instituto de Botânica de São Paulo. No trabalho estão identificadas como L1, L2 e L3, respectivamente, de acordo com Sturion & Oetterer (9).

**Cultivo:** a manutenção das culturas e produção do micélio bem como preparo dos substratos e condições de cultivo estão descritos em Sturion & Oetterer (9). Os substratos empregados foram palha de folha de bananeira (PB) e, PB misturada ao bagaço de cana (PBBC, 50:50 em peso seco), previamente picados, reumedecidos (maceração 12 horas) e pasteurizados em vapor fluente a 80-90°C/1 hora. Após resfriamento os substratos foram colocados em sacos de polietileno e inoculados; a corrida do micélio fez-se em ambiente com temperatura controlada (24-25°C) na ausência de luz e ocorreu por completo em 30-40 dias; no período de frutificação a umidade relativa e a temperatura foram controladas, 85-90% e 28-30°C, respectivamente, assim como a luminosidade com um fotoperíodo de 12 horas.

**Colheita e preparo das amostras de cogumelos para análises químicas:** estabeleceu-se o limite de 100 dias de cultivo (inclusive o tempo para corrida do micélio), procedendo-se à colheita de todos os fluxos no período de frutificação. Os corpos de frutificação (incluindo a estipe) colhidos, após 3 a 5 dias da saída dos primórdios, foram pesados em balança eletrônica, secos em estufa de circulação de ar forçado a temperatura de 55±5°C por 24 horas, pesados novamente, moídos em moinho de facas, embalados em sacos de polietileno e armazenados, em vidros hermeticamente fechados, sob refrigeração a 5±2°C (9,10). As determinações do nitrogênio e composição centesimal destas amostras de cogumelos foram executadas por Sturion & Oetterer (10). Estas mesmas amostras foram cedidas e avaliadas na sua composição aminoacídica.

### Análises

- Determinação de aminoácidos totais** (exceto cistina e triptofano), executada da seguinte forma, de acordo com Moore & Stein (11): O preparo da amostra foi feito a partir do material (cogumelo) seco e a hidrólise ácida foi executada com HCl 6 N em ampolas seladas à vácuo, durante 22 horas a 110°C. O HCl foi removido em dessecador contendo pastilhas de NaOH. Após secagem, a amostra foi suspensa em tampão citrato, convenientemente diluída e filtrada por membrana de 0,22 µm. A amostra preparada dessa forma foi avaliada para todos os aminoácidos protéicos, exceto cistina e triptofano que são totalmente destruídos durante a hidrólise. A análise da amostra foi feita em autoanalisador de aminoácidos (cromatografia de troca iônica, marca Beckman, modelo 7300), segundo instrução do fabricante para análise do hidrolisado protéico. A identificação e quantificação de cada aminoácido foi feita por comparação dos tempos de retenção e integração da área debaixo de cada pico, em integrador Hewlett Packard 3398A, com áreas obtidas a partir de uma mistura padrão de aminoácidos.
- Determinação da cistina:** foi determinada de acordo com a seguinte metodologia visando a preservação desse aminoácido: de cada amostra foram pesadas o equivalentes

te a 25 mg as quais foram hidrolisadas, à vácuo, com 10 ml de HCl 6,0 N, à temperatura de 140°C por 4 horas. As amostras foram recuperadas em diluente pH 2,2 (marca Pickering). Alíquotas de 25 ml foram injetadas no analisador Dionex DX 300 para separação dos aminoácidos em coluna de troca iônica e reação pós-coluna com ninidrina, usando-se como referência solução padrão de aminoácidos Pierce, segundo Spackman, Stein e Moore citados por Sales (12).

- c. **Triptofano:** após hidrólise enzimática da proteína de cogumelo com pronase, o triptofano presente foi determinado por colorimetria segundo metodologia descrita por Spies (13).

**Escore químico**

O escore químico da proteína ou escore protéico (mg do aminoácido essencial em 1 g da proteína em estudo/mg do mesmo aminoácido em 1 g da proteína padrão X 100) foi calculado para os 9 aminoácidos essenciais empregando-se o padrão de necessidades de aminoácidos essenciais da criança pré-escolar estabelecido pela FAO/WHO/UNU (1985)(14).

O escore químico da proteína é obtido considerando-se os valores acima de 100 igual a 100; valores abaixo de 100 são mantidos e o menor valor encontrado determina o aminoácido mais limitante, o qual oferece uma estimativa do valor biológico ou nutritivo da proteína em estudo em relação à proteína de referência empregada (15).

Nesse estudo o escore químico obtido está apresentado sem a correção para os aminoácidos que obtiveram valores acima de 100 pois, para o cálculo do PDCAAS recomenda-se o emprego do escore químico não-corrigido (16).

**PDCAAS**

A FAO/WHO (17) recomenda o emprego do índice PDCAAS (“Protein Digestibility - Corrected Amino Acid Scoring”) como método de rotina mais desejável na avaliação da qualidade de proteínas de produtos vegetais (e outros produtos alimentícios). O PDCAAS é obtido corrigindo-se o escore químico pela digestibilidade verdadeira da proteína. Proteínas com PDCAAS igual a 1,0 ou 100 são de alta qualidade e completas, atendendo às necessidades humanas em aminoácidos. Proteínas com PDCAAS menor que 1,0 ou 100 são consideradas de menor qualidade ou por apresentarem perfil de aminoácidos essenciais menor que as necessidades do grupo de crianças de 2-5 anos e/ou existirem menores taxas de digestibilidade (16).

O cálculo do PDCAAS obedece os seguintes procedimentos (16):

- 1° Análise da composição aproximada de nitrogênio;
- 2° Cálculo do teor de proteína (N x 6,25 ou fator de conversão específico);

- 3° Análise de aminoácidos essenciais;
- 4° Determinação do escore químico (não-corrigido)- EQ<sub>nc</sub>:  
EQ<sub>nc</sub> = mg do aminoácido essencial em 1 g da proteína/ mg do aminoácido essencial em 1 g de proteína de referência\*
- 5° Análise da digestibilidade verdadeira;
- 6° Cálculo do PDCAAS:  
PDCAAS = escore químico menor não-corrigido X digestibilidade verdadeira da proteína.

A digestibilidade verdadeira de um alimento deve ser determinada por ensaios com animais (17). No entanto, a FAO/WHO (17) permite a utilização de dados publicados de digestibilidade verdadeira para estimar-se o PDCAAS de alimentos definidos e quando os propósitos relacionam-se à rotulagem de valores nutricionais dos alimentos em questão (16, 17).

De acordo com a lista de alimentos publicada por Shapiro (18), onde são dados os valores aceitáveis de digestibilidade verdadeira para propósitos de rotulagem, a digestibilidade verdadeira para cogumelos é de 90%; valor adotado para o cálculo do PDCAAS neste trabalho.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os teores de nitrogênio para as espécies de *Pleurotus* cultivadas em palha de folha de bananeira (PB) e em PB mais bagaço de cana (PBBC), foram determinados por Sturion & Oetterer (10) pelo método Kjeldahl. A seguir, na Tabela 1, estão compilados os valores de N e o teor protéico encontrado por aqueles pesquisadores que empregaram o fator de conversão N x 4,38 (4,6,7,19).

TABELA 1  
Teor de nitrogênio e proteína bruta das espécies de *Pleurotus* estudadas (L1, L2, L3)<sup>a</sup>, conforme substrato de cultivo (PB, PBBC)<sup>b</sup>

Constituintes	PB			PBBC		
	L1	L2	L3	L1	L2	L3
Nitrogênio	5,5	4,4	4,4	4,0	4,0	4,4
Proteína (Nx4,38)	24,1	19,3	19,1	17,4	17,4	19,4

- a L1= *P. “Florida”* sp; L2= *P. ostreatoroseus*; L3= *P. sajor caju*
- b PB = palha de folha de bananeira; PBBC = PB + bagaço de cana (BC)

Fonte: Sturion & Oetterer (10).

Os teores de proteína bruta encontrados por Sturion & Oetterer (10) nas amostras de *Pleurotus* estudadas variaram de 17,4 a 24,1.

Os teores de proteína bruta de cogumelos em geral podem

\* FAO/WHO (1985).

variando de 8,9 a 38,7%, em base seca (4), e segundo Lau (20) de 15,0 a 50,0. Em média 19,8% é o esperado, empregando-se o fator de conversão N x 4,38 (6).

O emprego do fator de conversão N x 4,38 que vem sendo recomendado (4,6,7,21) representa 70% do valor N x 6,25 que superestima o teor de proteínas de cogumelos em geral devido a alta concentração de nitrogênio não-protéico, principalmente da quitina (4,6,7,22) além de outros compostos nitrogenados tais como uréia e nucleotídeos, entre outros (23,24). A redução para 70% é uma média estimada da proteína bruta digerível para o teor de nitrogênio protéico presente em cogumelos (4,7,23), principalmente quando o nitrogênio foi determinado pelo método Kjeldahl, que quantifica o nitrogênio total (23). Essa redução, no entanto, não invalida a premissa de que os cogumelos têm teor de proteína maior que muitos vegetais (23).

De acordo com FAO/WHO/UNU (14) o fator de conversão N x 6,25 é um fator apropriado quando se pretende relacionar a ingesta protéica com as necessidades recomendadas pois este é o fator empregado na determinação dos padrões de necessidades protéicas.

No entanto, quando se pretende fazer uma comparação precisa da composição em aminoácidos dos alimentos, a FAO/WHO/UNU (14) recomenda a utilização de fatores de conversão específicos de nitrogênio que foram determinados para alguns alimentos.

Na Tabela 2 encontram-se os dados obtidos dos aminoácidos detectados e quantificados nas espécies de *Pleurotus* estudadas relacionados aos seus respectivos substratos de cultivo. As espécies de *Pleurotus* estudadas possuem todos os aminoácidos essenciais bem como aminoácidos não essenciais e compostos nitrogenados, tal como a amônia, detectada pelo método empregado. Os teores de amônia encontrados foram: 3,13; 3,20; 2,65; 2,90; 3,05; e 2,97 para PBL1, PBL2, PBL3, PBBCL1, PBBCL2 e PBBCL3, respectivamente.

Os valores para aminoácidos totais recuperados para as espécies de *Pleurotus* estudadas estiveram entre 100,00 a 115,16%. De acordo com Lanfer Marquez (25) recomenda-se que a recuperação de aminoácidos totais esteja entre 85 a 105%, desde que a amostra contenha um teor de nitrogênio não protéico desprezível. Esse não é o caso dos cogumelos como já discutido anteriormente. Segundo Lanfer Marquez (25) valores diferentes dessas porcentagens podem resultar do emprego de um fator de conversão não apropriado para sua proteína, super ou subestimando o valor da mesma.

Desta forma o teor de proteína das amostras de *Pleurotus* estudadas, que apresentaram valores de aminoácidos recuperados acima de 105%, podem estar sendo subestimados. Embora o fator de conversão N x 4,38 para cálculo protéico seja recomendado, segundo Danell & Eaker (23) o valor de conversão do nitrogênio para cálculo da proteína de cogumelos pode ser diferente entre as espécies devido à variação no teor de quitina, amônia e outros compostos nitrogenados não-

protéicos, fato esse investigado e confirmado por Fujihara et al. (26) que encontrou um valor médio para o fator de conversão de  $3,99 \pm 0,76$ , após estudo com vários cogumelos comestíveis, inclusive *Pleurotus ostreatus*. Tshinyangu & Hennebert (28) propõe o valor de conversão 6,58 considerando-se apenas o nitrogênio protéico (N total-N da quitina, este último da ordem de 0,34% em peso seco).

TABELA 2  
Composição em aminoácidos das espécies de *Pleurotus* estudadas (L1, L2, L3)<sup>a</sup>, conforme substrato de cultivo (PB,PBBC)<sup>b</sup>

Aminoácidos <sup>c</sup> (g/100 g de proteína, em p.s.)	L1		L2		L3	
	PB	PBBC	PB	PBBC	PB	PBBC
Leucina	7,93	8,24	8,74	8,50	8,30	9,46
Isoleucina	3,84	3,99	4,31	4,32	4,23	4,64
Valina	5,25	5,41	5,80	6,21	5,57	5,56
Triptofano	1,39	1,62	1,50	1,58	1,56	1,13
Lisina	7,55	7,53	8,69	9,03	7,42	7,83
Treonina	5,46	5,63	6,33	6,22	5,84	5,53
Fenilalanina	4,20	4,07	4,76	4,71	4,66	5,09
Tirosina	2,00	1,52	2,01	2,12	2,03	2,70
Metionina	1,98	2,09	2,20	2,10	2,08	2,23
Cistina	0,28	0,46	0,64	0,59	0,47	0,51
Histidina	2,69	2,57	2,83	2,86	2,57	2,82
Total de aminoácidos essenciais <sup>d</sup>	42,57	43,13	47,20	48,24	44,73	47,50
Acido aspártico	10,38	10,93	11,81	12,26	12,18	11,82
Serina	5,23	5,47	5,99	5,99	5,37	5,38
Acido glutâmico	19,36	18,56	22,58	21,44	19,66	21,66
Prolina	4,54	4,51	4,84	4,66	4,83	4,71
Glicina	4,85	4,97	5,56	5,67	5,33	5,42
Alanina	6,10	6,50	7,54	7,93	6,73	7,23
Arginina	6,97	5,77	9,64	6,96	7,39	7,24
Total de aminoácidos <sup>e</sup>	100,00	99,84	115,16	113,15	106,22	110,96

a L1= *P. "Florida"* sp; L2= *P. ostreatoroseus*; L3= *P. sajor caju*

b PB=palha de folha de bananeira; PBBC=PB+bagaço de cana (BC)

c Média (de três repetições)

d Média e desvio padrão= 45,663±2,509

e Média e desvio padrão= 107,55±6,62; coeficiente de variação=7,86%

Para todas as espécies estudadas, independente do substrato de origem, os aminoácidos presentes em maior quantidade, em ordem decrescente, foram o ácido glutâmico, o ácido aspártico, a leucina e a lisina. O total de aminoácidos essenciais encontrado está de acordo com os limites percentuais esperados, ao redor de 40%. Dos aminoácidos essenciais presentes

em menores quantidades citam-se a cistina e o triptofano, seguidos da metionina e histidina. Esses resultados estão de acordo com observado por outros pesquisadores (4,19,27,29-31).

Os cogumelos comestíveis possuem todos os aminoácidos essenciais (7,8) bem como não essenciais e amidas que ocorrem comumente (7). Do conteúdo total de aminoácidos, 25-40% representam aminoácidos essenciais, podendo variar dentro de um intervalo de 10-50%. Do total de aminoácidos, aproximadamente 25-35% ocorrem como aminoácidos livres, o restante estando combinado na proteína (7).

Segundo Chang (6,8) a proteína de cogumelos, em geral, é especialmente rica em lisina e leucina (6,8,31) que faltam na maioria dos cereais básicos da alimentação humana. Entre outros aminoácidos detectados nas diferentes espécies de *Pleurotus* em altas concentrações citam-se a treonina, valina, leucina, fenilalanina e lisina (29,31) bem como a isoleucina (27,32). Dos aminoácidos totais os não-essenciais, ácido glutâmico e o aspártico, aparecem em maiores quantidades (19,29,30).

Entre os aminoácidos presentes em menores quantidades citam-se a metionina e fenilalanina (27), a cistina e a metionina (19,27,29,30).

No entanto, de acordo com Crisan & Sands (7) e Kurtzman (24) a comparação entre os resultados da composição química, especialmente teor de proteína e conteúdo aminoacídico, obtidos por diferentes pesquisadores, é difícil de ser avaliado, mesmo em relação a uma mesma espécie, pois esta composição é afetada por inúmeras variáveis. Entre estas incluem-se as diferenças básicas entre linhagens, a composição do substrato de crescimento e o método de análise. Além disso os dados em tabelas de composição de alimentos são frequentemente apresentados em diferentes unidades de medida com base na alta variação de peso fresco ou peso seco, dificultando ainda a comparação dos mesmos (7).

Importante mencionar é que alguns trabalhos não especificam as condições e os substratos de crescimento, os métodos de análise empregados na avaliação da composição em aminoácidos e, na apresentação dos resultados não especificam o total de aminoácidos recuperados.

Na Tabela 3 estão compilados os dados obtidos por outros pesquisadores que exemplificam estas variações na composição aminoacídica nas diferentes espécies de cogumelos comestíveis do gênero *Pleurotus*, bem como ilustram as possíveis generalizações em relação aos aminoácidos presentes em maiores e menores quantidades acima mencionados. No rodapé estão compiladas informações quanto ao método de análise, substrato e método de cultivo, quando mencionados nos trabalhos de origem.

TABELA 3  
Comparação da composição em aminoácidos de várias espécies/linhagens de *Pleurotus*

Aminoácidos (g/100 g de proteína, em p.s.)	<i>Pleurotus florida</i>	<i>P. ostreatus</i> cfr. "Florida"	<i>P. sp.</i> cfr. "Florida"	<i>P. ostreatus</i>	<i>P. sajor-caju</i>		
	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(g)
Leucina	5,27	7,50	5,07	7,74	6,8	7,0	9,47
Isoleucina	3,66	5,20	2,74	4,89	4,2	4,4	5,80
Valina	4,85	6,90	4,44	5,95	5,5	5,3	6,91
Triptofano	0,83	1,10	n.d.	n.d.	1,3	1,2	n.d.
Lisina	6,97	9,90	4,03	6,82	4,5	5,7	8,51
Treonina	4,31	6,40	3,49	5,25	4,6	5,5	6,60
Fenilalanina	2,48	3,50	2,99	4,72	3,7	5,0	5,8
Tirosina	1,89	2,70	2,49	3,89	3,0	6,3	4,65
Metionina	2,15	3,00	1,91	5,51	1,5	1,8	4,58
Cistina	0,20	0,20	1,16	n.d.	0,4	1,2	n.d.
Histidina	1,96	2,80	6,23	n.d.	1,7	2,2	n.d.
Total de aminoácidos essenciais	34,57	46,60	34,55	44,77	37,2	45,6	54,52
Acido aspártico	n.d.	n.d.	7,36	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Serina	n.d.	n.d.	3,99	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Acido glutâmico	n.d.	n.d.	9,03	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Prolina	n.d.	n.d.	2,49	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Glicina	n.d.	n.d.	3,74	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Alanina	n.d.	n.d.	5,32	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Arginina	2,24	3,20	5,03	n.d.	5,3	6,2	n.d.

n.d. = não determinado

(a): Bano et al. (27); (a)-substrato não citado; análise quantitativa de aminoácidos = Ensaio microbiológico de acordo com Barton-Wright, 1952; (g)-substrato = palha de trigo; análise quantitativa de aminoácidos = Ensaio microbiológico de acordo com Barton-Wright, 1952).

(b,e,f): Bano & Rajarathnam (4)

(c) Adaptado de Hadar & Cohen-Arazi (19)-substrato = palha de algodão; análise quantitativa de aminoácidos = após hidrólise ácida em HCl 6N, determinação em analisador automático de aminoácidos, LC700.

(d,g) Adaptado de Pei-Ji & Jian-Jun (31)-substrato = casca de caroço de algodão; análise de aminoácidos = não citado.

O efeito da composição do substrato é significativo no teor de proteína dos corpos de frutificação de *Pleurotus*. Bano et al. e Rajarathnam et al., citados por Bano & Rajarathnam (4), observaram que os corpos de frutificação de *Pleurotus flabellatus*, crescidos em pó de semente de algodão e torta de amendoim, torta de gergilim e micélio, apresentaram um aumento no teor de proteína quando comparados àqueles produzidos somente em palha de arroz. Quando suplementados com pó de semente de algodão o aumento no teor protéico foi duplicado. Resultados similares foram também observados em *Pleurotus sajor-caju*. Zadrzil (33) obteve um aumento no teor de proteína dos corpos de frutificação de *P. sajor-caju* quando o substrato foi suplementado com alfafa e torta de soja. Essa diferença no teor protéico de *P. sp.* "Florida" foi constatada em relação ao substrato de cultivo por Sturion & Oetterer (10) quando o teor protéico foi maior em PB (24,1%) em relação a PBBC (17,4%).

As variações na composição protéica com a variação do substrato têm sido observadas em cogumelos comestíveis cultivados, em geral. De acordo com Crisan & Sands (7), a composição do substrato de crescimento pode também ter um efeito significativo na composição de aminoácidos do cogumelo, sem alterar o teor de proteína aparente. Maggioni et al., citado por Crisan & Sands (7), observaram que cogumelos cultivados em compostos suplementados com uréia mais sulfato de amônio exibiram um conteúdo de aminoácidos menor, com limitada produção de prolina e arginina, enquanto houve aumento na produção de metionina, ácido aspártico, valina e alanina quando comparados com cogumelos crescidos apenas com suplementação de sulfato de amônio. Essas mudanças na composição tornam-se menos pronunciadas no decorrer de colheitas sucessivas.

As características fisiológicas e bioquímicas de cogumelos introduzem uma variação adicional nos dados. A natureza genética de uma dada linhagem ligada ao metabolismo tipicamente heterotrófico determina como esta utiliza os nutrientes de um determinado substrato e quais efeitos, se algum, o substrato tem sobre a composição. Desde que os cogumelos são organismos vivos, e assim permanecem até o preparo para consumo, sua composição química está num estado contínuo de fluxo durante o crescimento e depois da colheita. Mudanças significativas na composição podem ocorrer com a idade ou um estágio particular de desenvolvimento e, sob várias condições de armazenamento após a colheita. Todas as outras condições sendo iguais, diferentes porções de um único esporóforo conterá proporcionalmente diferentes quantidades de um dado componente nutricional (7).

Diferenças entre os métodos de análise determinam outra fonte de erros na comparação dos resultados da composição em aminoácidos (24,34). Segundo Sarwar & McDonough (34) variações inter e intralaboratoriais na análise de aminoácidos em alimentos, determinados por cromatografia de troca iônica de amostras hidrosalisadas em HCl 6N, normalmente estão ao redor de 10 e 3%, respectivamente. Variações interlaboratoriais para o triptofano (acima de 24%), cistina (acima de 18%) e metionina (acima de 16%) são consideradas altas. Avalia-se que essas variações interlaboratoriais são produzidas mais no preparo dos hidrolisados do que durante as medidas cromatográficas ou analíticas (34,35). Entre os exemplos dessa natureza estão o caso dos aminoácidos sulfurados e do triptofano onde recomenda-se que as amostras sejam preparadas em ácido perclórico e NaOH 4,2N, respectivamente, antes da hidrólise ácida para evitar-se a total destruição dos mesmos (20,24,25).

Na Tabela 3, observa-se que na maioria dos trabalhos em que a cistina, metionina e triptofano foram determinados, não foram considerados os métodos recomendados ou estes não são citados nos trabalhos de origem. Ainda muitas das pesquisas referentes à análise daqueles aminoácidos apresentam resultados após a hidrólise ácida (19,29,30).

Embora a pré-oxidação dos aminoácidos sulfurados garanta uma melhor recuperação destes, a hidrólise ácida empregada também no presente estudo é considerada uma metodologia clássica na análise de aminoácidos de acordo com Lanfer Marquez (25). Esse método converte sulfóxido de metionina em metionina reduzida, podendo esta ser parcialmente destruída; também a estabilidade da cisteína/cistina, em maior proporção que a metionina, é afetada, porém, a destruição dos sulfurados pode ser parcial dependendo da matriz da amostra (25,35).

Nesse estudo o teor de aminoácidos sulfurados esteve ao redor de 1,98 a 2,23 para metionina e 0,28 a 0,64 para cistina (Tabela 2). Observando-se os valores encontrados por outros pesquisadores (Tabela 3) para metionina, verifica-se que os teores encontrados estão dentro dos limites esperados, exceto para os valores obtidos por Pei-Ji & Jian-Jun (31) para *Pleurotus sp.* "Florida" e *P. sajor-caju*, de 5,51 e 4,58, respectivamente. Embora esses pesquisadores não tenham citado o método de análise empregado na determinação de aminoácidos, sabe-se que a hidrólise ácida tende a subestimá-los, o que pode ter ocasionado as diferenças observadas entre os valores frequentemente esperados para a metionina. Essa justificativa, no entanto, não pode explicar os altos teores (1,16 e 1,2) de cistina encontrados por Hadar & Cohen-Arazi e Bano & Rajarathnam (4), quando comparados com os nossos resultados, uma vez que a metodologia citada pelo primeiro foi a hidrólise ácida.

Com base no conteúdo de aminoácidos essenciais da proteína de cogumelos, o escore químico tem sido empregado para determinar ou prever o valor nutricional dos mesmos dado a ausência de extensos ensaios biológicos (7,32). A limitação em determinados aminoácidos, no entanto, vai depender da proteína padrão adotada como referência para o cálculo do escore químico além das variações acima citadas na determinação de aminoácidos.

Crisan & Sands (7), avaliando dados disponíveis da composição em aminoácidos de várias espécies de cogumelos comestíveis, concluíram que estes são limitantes em pelo menos um aminoácido sendo que muitos são limitantes em 5 até 7 aminoácidos. A metade dos cogumelos avaliados indicaram limitações em somente um ou dois aminoácidos. Em ordem decrescente, os cogumelos analisados foram limitantes em aminoácidos sulfurados, leucina, isoleucina e valina, lisina e aminoácidos aromáticos, incluindo algumas espécies de *Pleurotus*. A proteína de referência adotada por aqueles pesquisadores refere-se à recomendada pela FAO (1973).

Segundo Bano & Rajarathnam (4), quando o escore químico é calculado empregando-se a proteína do ovo como referência, os aminoácidos sulfurados tornaram-se os primeiros limitantes em todas as espécies de *Pleurotus* e os aromáticos aparecem em segundo para algumas espécies. Em outras espécies a isoleucina passa a ser o segundo aminoácido limitante e o triptofano o terceiro.

A FAO/WHO/UNU (1985) (14) sugere que se adote como padrão de referência para o cálculo do escore químico o padrão de aminoácidos essenciais recomendado para a criança pré-escolar, sendo aplicado a crianças e adultos (incluindo uma margem de segurança). Essa recomendação originou-se após comprovação de que a proteína do ôvo integral bem como os padrões anteriormente adotados pela FAO/WHO sugeriam valores para os aminoácidos sulfurados (metionina e cistina) significativamente maiores que as necessidades de aminoácidos para crianças (21-27 meses). Desta forma tendiam a subestimar o valor biológico de grande número de proteínas, particularmente as que são limitantes em aminoácidos sulfurados (17), como é o caso do cogumelo.

Sendo assim, no presente estudo considerou-se para os cálculos do escore químico o índice da FAO/WHO/UNU (1985) (14). Nas tabelas 4 e 5 estão apresentados os aminoácidos essenciais e escore químico não corrigido das espécies de *Pleurotus* estudadas.

TABELA 4

Aminoácidos essenciais, escore químico não corrigido e escore protéico das espécies de *Pleurotus* estudadas (L1, L2, L3)<sup>a</sup>, cultivadas em palha de folha de bananeira (PB)

Aminoácidos essenciais (g/100g de proteína, em p.s.)	L1			L2			L3		
	L1	L2	L3	FAO/WHO/UNU/1985c	Escore químico não corrigido <sup>b</sup>				
					L1	L2	L3		
Leucina	7,93	8,74	8,30	6,60	120,2	130,9	125,8		
Isoleucina	3,84	4,31	4,23	2,80	137,1	153,9	151,1		
Valina	5,25	5,80	5,57	3,50	150,0	165,7	159,1		
Triptofano	1,39	1,50	1,56	1,10	126,4	136,4	141,8		
Lisina	7,55	8,69	7,42	5,80	130,2	149,8	127,9		
Treonina	5,46	6,33	5,84	3,40	160,6	186,2	171,8		
Fenil.+Tiros.	6,20	6,77	6,69	6,30	98,4 <sup>d</sup>	107,5	106,2		
Metion.+Cist.	2,26	2,84	2,55	2,50	90,4 <sup>d</sup>	113,6	102,0		
Histidina	2,69	2,83	2,57	1,90	141,6	148,9	135,3		
Escore protéico					90,4	100,0	100,0		

<sup>a</sup> L1=*Pleurotus sp.* «Florida»; L2=*P. ostreatoroseus*; L3=*P. sajor-caju*

<sup>b</sup> FAO/WHO/UNU (14)

<sup>c</sup> Escore químico= (mg do aminoácido essencial em 1 g de proteína/ mg do mesmo aminoácido em 1 g da proteína de referência)x100

<sup>d</sup> Aminoácidos limitantes

Dos dados obtidos nas Tabelas 4 e 5 algumas considerações podem ser feitas. Os valores para o escore químico entre 88,7 a 100,0 são obviamente maiores que aqueles encontrados por outros pesquisadores (40,0 a 71,8) para proteína de cogumelos

do gênero *Pleurotus*, uma vez que as proteínas de referência empregadas por estes foram aquelas anteriores a FAO/WHO/UNU (1985) (14) as quais superestimavam, como já discutido acima, a necessidade em aminoácidos, especialmente os sulfurados.

TABELA 5

Aminoácidos essenciais, escore químico não corrigido e escore protéico das espécies de *Pleurotus* estudadas (L1, L2, L3)<sup>a</sup>, cultivadas em palha de folha de bananeira misturada ao bagaço de cana (PBBC)

Aminoácidos essenciais (g/100g de proteína, em p.s.)	L1			L2			L3		
	L1	L2	L3	FAO/WHO/UNU/1985c	Escore químico não corrigido <sup>b</sup>				
					L1	L2	L3		
Leucina	8,24	8,50	9,46	6,60	124,8	128,7	143,3		
Isoleucina	3,99	4,32	4,64	2,80	142,5	154,3	165,7		
Valina	5,41	6,21	5,56	3,50	154,6	177,4	158,8		
Triptofano	1,62	1,58	1,13	1,10	147,3	143,6	102,7		
Lisina	7,53	9,03	7,83	5,80	129,8	155,7	135,0		
Treonina	5,63	6,22	5,53	3,40	165,6	182,9	162,6		
Fenil.+Tiros.	5,59	6,83	7,79	6,30	88,7 <sup>d</sup>	108,4	123,6		
Metion.+Cist.	2,55	2,69	2,74	2,50	102,0	107,6	109,6		
Histidina	2,57	2,86	2,82	1,90	135,2	150,5	148,4		
Escore protéico					88,7	100,0	100,0		

<sup>a</sup> L1=*Pleurotus sp.* «Florida»; L2=*P. ostreatoroseus*; L3=*P. sajor-caju*

<sup>b</sup> FAO/WHO/UNU, 1985 (14)

<sup>c</sup> Escore químico= (mg do aminoácido essencial em 1 g de proteína/ mg do mesmo aminoácido em 1 g da proteína de referência)x100

<sup>d</sup> Aminoácidos limitantes

Isto também explica o fato das espécies de *Pleurotus* estudadas neste trabalho não apresentarem limitação em aminoácidos essenciais, exceto a espécie *P. sp.* «Florida» que foi limitante em sulfurados e/ou aromáticos, dependendo do substrato de cultivo. Considerando-se, portanto, somente o escore protéico poder-se-ia concluir que as espécies de *P. sajor-caju* e *P. ostreatoroseus* apresentam uma proteína completa.

No entanto, o escore químico é apenas uma medida simples de avaliação da qualidade de uma proteína porque não leva em consideração a disponibilidade biológica dos aminoácidos, a digestibilidade da proteína ou a habilidade da mesma em manter a síntese celular (15).

A FAO/WHO (1989) (17) recomenda o emprego do índice PDCAAS como método de rotina desejável na avaliação da qualidade de proteínas de produtos vegetais (e outros produtos alimentícios) que corrige o escore químico pela digestibilidade verdadeira da proteína.

Embora, neste estudo a digestibilidade verdadeira da proteína das espécies de *Pleurotus* estudadas não tenha sido determinado, o cálculo do PDCAAS foi realizado (Tabelas 6 e 7). Esse cálculo considerou o valor de 90% de digestibilidade verdadeira da proteína de cogumelos, utilizada para propósitos de rotulagem segundo Shapiro (18), e em acordo com as recomendações dadas quando não se dispõe do valor da digestibilidade verdadeira avaliado para o alimento em específico (26).

TABELA 6

Cálculo do PDCAAS para a proteína das espécies de *Pleurotus* estudadas (L1, L2, L3)<sup>a</sup>, cultivadas em palha de folha de bananeira (PB)

Aminoácidos essenciais	L1		L2		L3	
	Escore químico não corrigido	PDCAAS <sup>b</sup>	Escore químico não corrigido	PDCAAS	Escore químico não corrigido	PDCAAS
Leucina	120,2	100,0	130,9	100,0	125,8	100,0
Isoleucina	137,1	100,0	153,9	100,0	151,1	100,0
Valina	150,0	100,0	165,7	100,0	159,1	100,0
Triptofano	126,4	100,0	136,4	100,0	141,8	100,0
Lisina	130,2	100,0	149,8	100,0	127,9	100,0
Treonina	160,6	100,0	186,2	100,0	171,8	100,0
Fenilalan.						
+ Tiros.	98,4	88,6	107,5	95,86	106,2	95,58
Metionina						
+ Cistina	90,4	81,36	113,6	100,0	102,0	91,86
Histidina	141,6	100,0	148,9	100,0	135,3	100,0
PDCAAS	81,4		95,8		91,8	
Aminoácidos limitantes	sulfurados e aromáticos		aromáticos		sulfurados e aromáticos	

<sup>a</sup> L1= *Pleurotus sp.* "Florida"; L2= *P. ostreatoroseus*; L3= *P. sajor-caju*.

<sup>b</sup> PDCAAS = escore químico não-corrigido x 0,90 (digestibilidade verdadeira 90%)

O valor do PDCAAS das proteínas de *Pleurotus* estudadas calculado variou de 80,8-96%. Considerando-se os aminoácidos mais limitantes, o *P. sp.* "Florida" apresentou limitação em aminoácidos sulfurados e aromáticos, independente do substrato de cultivo e seu PDCAAS foi menor quando comparado à outras espécies estudadas.

O *P. ostreatoroseus* apresentou limitação em sulfurados e/ou aromáticos e o *P. sajor-caju* em sulfurados e aromáticos e sulfurados e triptofano, dependendo do substrato de cultivo.

O maior índice de PDCAAS foi encontrado para a proteína de *P. ostreatoroseus*, independente do substrato de cultivo, ou seja, o menor valor em limitação de aminoácidos essenciais (≈ 96%).

Considerando-se o PDCAAS, a proteína dos cogumelos *Pleurotus* estudados apresentou-se incompleta, principalmente em sulfurados e/ou aromáticos, porém comparável aos valores obtidos para fontes protéicas tais como a carne (92%) (12),

como foi o caso do *Pleurotus ostreatoroseus*.

Nas condições desse estudo o substrato de cultivo apresentou influência qualitativa na limitação em aminoácidos para a proteína de *Pleurotus sajor-caju pois*, esse cogumelo foi limitante em sulfurados e aromáticos quando cultivado em PB e, em PBBC foi limitante em triptofano e sulfurados, nessa ordem.

TABELA 7

Cálculo do PDCAAS para a proteína das espécies de *Pleurotus* estudadas (L1, L2, L3)<sup>a</sup>, cultivadas em palha de folha de bananeira mais bagaço de cana (PBBC)

Aminoácidos essenciais	L1		L2		L3	
	Escore químico não corrigido	PDCAAS <sup>b</sup>	Escore químico não corrigido	PDCAAS	Escore químico não corrigido	PDCAAS
Leucina	124,8	100,0	128,7	100,0	143,3	100,3
Isoleucina	142,5	100,0	154,3	100,0	165,7	100,9
Valina	154,6	100,0	177,4	100,0	158,8	100,0
Triptofano	147,3	100,0	143,6	100,0	102,7	92,3
Lisina	129,8	100,0	155,7	100,0	135,0	100,0
Treonina	165,6	100,0	182,9	100,0	162,6	100,0
Fenilalan.						
+ Tirosina	88,7	80,8	108,4	97,6	123,6	100,0
Metionion.						
+ Cistina	102,0	91,8	107,6	95,96	109,6	98,64
Histidina	135,2	100,0	150,5	100,0	148,4	100,0
PDCAAS	80,8		96,0		92,3	
Aminoácidos limitantes	aromáticos e sulfurados		sulfurados e aromáticos		triptofano e sulfurados	

<sup>a</sup> L1= *Pleurotus sp.* "Florida"; L2= *P. ostreatoroseus*; L3= *P. sajor-caju*.

<sup>b</sup> PDCAAS = escore químico não corrigido x 0,90 (digestibilidade verdadeira)

## CONCLUSÕES

As espécies de *Pleurotus* estudadas, considerando as condições de cultivo, apresentaram todos os aminoácidos essenciais. Como primeiro aminoácido limitante as proteínas de *P. sp.* "Florida" e *P. ostreatoroseus* apresentaram-se limitantes em aminoácidos sulfurados e/ou aromáticos; a proteína de *P. sajor-caju* teve limitação em aminoácidos sulfurados e/ou triptofano, dependendo do substrato de cultivo. O uso de misturas desses cogumelos com cereais pode melhorar a deficiência em sulfurados, exceto o milho que também é deficiente em triptofano; a deficiência em triptofano pode ser superada empregando-se os cogumelos com carnes e ovos. Nas condições de avaliação desse estudo o valor biológico das proteínas desses cogumelos pode ser considerado alto (80,8 a 96,0). A variação observada no PDCAAS esteve em função da espécie cultivada; *P. sp.* "Florida" apresentou o menor índice e *P. ostreatoroseus* o maior, nesse caso igualando-se ao valor da proteína de carnes, independente do substrato de cultivo.

Sendo assim, o cogumelo *P. ostreatoroseus* pode ser considerado a melhor espécie em termos de valor nutricional.

### AGRADECIMENTOS

À Secretaria de Ciência, Tecnologia e Desenvolvimento Econômico do Estado de São Paulo pelo suporte financeiro, à Dra. Ursula M. Lanfer Marquez da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo pela análise de aminoácidos totais e ao Dr. Arlindo Moreira Sales do Instituto de Tecnologia de Alimentos de Campinas pelas análises de cistina e triptofano.

### REFERÊNCIAS

- Eira AF, Minhomi MTA. coordenadores. Manual do Cultivo do "hiratake" e "shimeji" (*Pleurotus spp.*). Botucatu: FEPAF; UNESP, 1997.
- Chang ST, Miles PG. Edible mushrooms and their cultivation. Boca Raton: CRC Press Inc, 1989.
- Bononi VL, Capelari M, Maziero R, Trufem SFB. Cultivo de cogumelos comestíveis. São Paulo: Icone Editora Ltda, 1995.
- Bano Z, Rajarathnam S. *Pleurotus* mushrooms, Part II: Chemical composition, nutritional value, post-harvest physiology, preservation and role as human food. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition 1988; 27(2):87-158.
- Maziero R. Substratos alternativos para o cultivo de *Pleurotus spp* (dissertação). São Paulo: Universidade de São Paulo, 1990.
- Chang ST. Cultivated mushrooms. In: Arora DK, Mukerji KJ, Marth EH. Handbook of applied mycology. New York: Marcel Dekker Inc, 1991:221-40.
- Crisan EV, Sands A. Nutritional value. In: Chang ST, Hayes WA, editors. The biology and cultivation of edible mushrooms. New York: Academic Press, 1978:137-68.
- Chang ST, Miles PG. A new look at cultivated mushrooms. Bioscience 1984;34(6):351-62.
- Sturion GL, Oetterer M. Utilização da folha da bananeira como substrato para cultivo de cogumelos comestíveis (*Pleurotus spp.*). Ciência e Tecnologia de Alimentos 1995b;15(2):194-200.
- Sturion GL, Oetterer M. Composição química de cogumelos comestíveis (*Pleurotus spp.*) originados de cultivos em diferentes substratos. Ciência e Tecnologia de Alimentos 1995a;15(2):189-93.
- Moore S, Stein WH. Chromatographic determination of amino acids by use of automatic recording equipment. In: Colowick SP, Kaplan NO. editors. Methods in enzymology. New York: Academic Press, 1963:vol.6.
- Sales AM. Análise de aminoácidos na determinação da qualidade protéica dos alimentos. In: Sales AM. coord. Seminário sobre análise de aminoácidos em alimentos e outros materiais biológicos. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1994:41-46.
- Spies JR. Determination of tryptophan in proteins. Analytical Chemistry 1967;39:1412-15.
- FAO/WHO/UNU. Energy and Protein Requirements. Geneva: FAO/WHO and United Nation University, 1985. Report nº 724.
- Krause MV, Mahan LK. Proteínas. In: Krause MV. Alimentos, nutrição e dietoterapia. São Paulo: Livraria Roca Ltda, 1991:52-73.
- Henley EC, Kuster JM. Protein quality evaluation by protein digestibility-corrected amino acid scoring. Food Technology 1994;78(4):74-7.
- FAO/WHO (1989). Protein Quality Evaluation. Rome: Food Agriculture Organization and World Health, 1989. Report nº51.
- Shapiro RA. Competitive review of the nutrition labeling and education act regulations. In: Shapiro R, editor. Nutrition labeling handbook. New York: Marcel Dekker Inc, 1995: Cap.7 (Apendice 1, p. 601).
- Hadar Y, Cohen-Arazi E. Chemical composition of edible mushroom *Pleurotus ostreatus* produced by fermentation. Applied and Environmental Microbiology 1986;51(6):1352-54, 1986.
- Lau O. Methods of chemical analysis of mushrooms. In: Chang ST, Quimio TH, editors. Tropical mushrooms; biological nature and cultivation methods. Hong Kong: The Chinese University Press, 1982; p.87-116.
- Buswell JA, Chang ST. Edible mushrooms: attributes and applications. In: Chang ST, Buswell JA, Miles PG. Genetics and breeding of edible mushrooms. Amsterdam: Gordon and Breach Science Publishers SA, 1993:298-300.
- Weaver JC, Kroger M, Kneebone LR. Comparative protein studies (Kjeldahl, dye binding, amino acid analysis) of nine strains of *Agaricus bisporus* (Lange) imbach mushrooms. Journal Food Science 1977;42(2):364-366.
- Danell E, Eaker D. Amino acid and total protein content of the edible mushroom *Cantharellus cibarius* (fries). Journal of Science and Food Agriculture 1992;60:333-337.
- Kurtzman RH. Mushrooms as a source of protein. In: Friedman M. editor. Protein nutritional quality of foods and feeds; part 2: quality factors - plant breeding, composition, processing and antinutrients. New York: Marcel Dekker Inc., 1975:305-318.
- Lanfer Marquez UM. Preparo de amostras para análise de aminoácidos em proteínas alimentares. Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos 1996;30(1):19-27.
- Fujihara S, Kasuga A, Aoyagi Y, Sugahara T. Nitrogen-to-protein conversion factors for some common edible mushrooms. Journal of Food Science 1995;60(5): 1045-47.
- Bano Z, Bhagya S, Srinivasan KS. Essential amino acid composition and proximate analysis of mushrooms *Pleurotus* eous and *Pleurotus* Florida. Mushrooms Newsletter for the Tropics 1981;1(3):6-10.
- Tshinyangu KK, Hennert GL. Protein and chitin nitrogen content in *Pleurotus ostreatus* var. columbinus. Food Chemistry 1996;57(2):223-27.
- Gupta S, Misra PS, Pathak M.C, Sing MS. Cultivation and nutritive value of pink mushroom. Fitoterapia 1982;53:57-61.
- Kalberer P, Kunsch U. Amino acid composition of the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). Lebensmittel-Wissenschaft+Technologie 1974;7(4):242-44.
- Pei-Ji S, Jian-Jun Y. The cultivation of *Pleurotus* mushrooms on sterilized substrates in the field. Proceedings of twelfth International Congress on the Science and Cultivation of Edible Fungi. Mushroom Science 1989;XII(Part II):219-28.
- Bano Z, Rajarathnam S. *Pleurotus* mushrooms as a nutritional

- food. In: Chang ST, Quimio TH, editors. Tropical mushrooms; biological nature and cultivation methods. Hong Kong: The Chinese University Press, 1982:362-80.
33. Zadrazil F. Influence of ammonium nitrate and organic supplements on the yield of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Sing. European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology 1980;9:31-5.
34. Sarwar G, McDonough FE. Review of protein quality evaluation methods. Journal Association of Official Analytical Chemistry 1990;73(3):347-56.
35. Gehrke CW, Larry LW, Absheer JS, Kaiser FE, Zumwalt RW. Focus: amino acid analysis; sample preparation for chromatography of amino acids: acid hydrolysis of protein. Journal Association of Official Analytical Chemistry 1985;68(5):811-821.

Recibido: 26-11-1997

Aceptado: 18-06-1998