



# **UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR**

Recredenciada pela Portaria – MEC n.º 747, de 10/09/2020 – D.O.U. 11/09/2020

**Mantenedora: UNIPAR – SOCIEDADE EMPRESARIAL LTDA.**

**Coordenação de Pós-Graduação *Stricto Sensu* e Pesquisa**

**Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura**

**Renata de Campos Bicudo Ferreira**

**Análise metabolômica e composição nutricional do micélio de *Panus strigellus***

**Umuarama  
2026**

**Renata de Campos Bicudo Ferreira**

**Análise metabolômica e composição nutricional do micélio de *Panus strigellus***

Dissertação apresentada como parte das exigências para a obtenção do grau de mestre em Biotecnologia Aplicada à Agricultura pela Universidade Paranaense - UNIPAR.

Orientador(a): Profa. Dra. Suelen Pereira Ruiz Herrig

Coorientador(a): Profa. Dra. Maria Graciela Iecher Faria Nunes

Umuarama  
2026

Ficha Catalográfica

F383a Ferreira, Renata de Campos Bicudo.

Análise metabolômica e composição nutricional do micélio de *Panus strigellus* / Renata de Campos Bicudo Ferreira. – Umuarama : Universidade Paranaense – UNIPAR, 2026.

27 f.

Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Suelen Pereira Ruiz Herrig.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Paranaense – UNIPAR.

1. Polyporaceae. 2. Análise nutricional. 3. Perfil metabolômico. 4. Fungos comestíveis. 5. Compostos bioativos. I. Universidade Paranaense – UNIPAR. II. Título.

CDD: 579.6

Bibliotecária Responsável Regiane Luiza Campaneli CRB 9/2194

## **AGRADECIMENTOS**

A cada passo desta caminhada, levo comigo a certeza de que ninguém trilha um caminho de conhecimento sozinho. Dedico este trabalho àqueles que caminharam comigo com sabedoria, generosidade e fé.

Aos meus professores e orientadores da Universidade Paranaense – UNIPAR, minha eterna gratidão. Obrigada por cada palavra de apoio, cada orientação paciente e cada semente de saber plantada com cuidado. Foi sob a luz do conhecimento de vocês que este trabalho floresceu.

E ao meu esposo, Wagner Alcantara, dedico o mais profundo agradecimento e amor. Você foi abrigo nos dias difíceis, sorriso nos dias incertos e força quando a minha fraquejou. Seu incentivo constante, sua presença silenciosa e seu amor incondicional foram o alicerce desta conquista. Se hoje chego ao fim desta etapa, é porque você nunca deixou que eu desistisse no meio do caminho.

A vocês, dedico não apenas estas páginas, mas tudo o que elas representam: esforço, superação, e um sonho realizado.

## SUMÁRIO

Resumo.....	5
Abstract.....	6
<b>Capítulo 1 - Análise metabolômica e composição nutricional do micélio de <i>Panus strigellus</i>.....</b>	<b>7</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>8</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>10</b>
Material biológico.....	10
Produção de biomassa micelial.....	10
Composição química da biomassa micelial.....	10
Análise metabolômica.....	12
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>14</b>
Composição nutricional.....	14
Perfil de aminoácidos.....	14
Análise metabolômica.....	15
<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>18</b>
<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>23</b>
<b>AGRADECIMENTOS.....</b>	<b>24</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>25</b>

## Análise metabolômica e composição nutricional do micélio de *Panus strigellus*

**RESUMO:** A crescente busca por fontes alternativas de nutrientes e por insumos biotecnológicos sustentáveis tem direcionado a atenção da comunidade científica para os fungos, especialmente espécies ainda pouco investigadas. Entre elas, *Panus strigellus* destaca-se por seu papel ecológico como fungo lignocelulolítico e por seu potencial para produzir biomassa rica em compostos nutricionais e metabólitos de interesse industrial. Entretanto, apesar de sua relevância ecológica e biotecnológica, informações sobre a composição nutricional e o perfil químico de seu micélio permanecem escassas. Nesse contexto, esta dissertação teve como objetivo caracterizar o perfil nutricional e metabolômico do micélio de *P. strigellus*. A avaliação nutricional incluiu a determinação de umidade, cinzas, proteínas, lipídios, carboidratos e frações de fibra alimentar (solúvel e insolúvel). Paralelamente, o perfil metabolômico foi investigado a partir de extratos fúngicos submetidos a métodos analíticos capazes de identificar e anotar diferentes classes de metabólitos primários e secundários, permitindo uma visão integrada da diversidade química produzida pela espécie. Os resultados demonstraram que o micélio de *Panus strigellus* apresenta composição nutricional relevante, caracterizada pela baixa umidade ( $6,238 \pm 0,002\%$ ) e teor moderado de cinzas ( $4,365 \pm 0,007\%$ ). O conteúdo proteico foi expressivo, alcançando  $21,83 \pm 2,72\%$ , enquanto o teor total de fibras atingiu  $23,51 \text{ g}/100 \text{ g}$ , composto predominantemente por fibras insolúveis ( $20,15 \pm 0,44 \text{ g}/100 \text{ g}$ ) e, em menor proporção, fibras solúveis ( $3,36 \pm 0,21 \text{ g}/100 \text{ g}$ ). Os carboidratos representaram a maior fração nutricional, totalizando  $43,50 \pm 1,23\%$ . Entre os aminoácidos identificados, destacaram-se histidina ( $3,139 \pm 0,064 \text{ mg}/\text{g}$ ), valina ( $2,3092 \pm 0,0043 \text{ mg}/\text{g}$ ) e glutamina ( $2,3338 \pm 0,0074 \text{ mg}/\text{g}$ ). Esses achados reforçam o potencial do micélio como ingrediente nutritivo com características adequadas para futuras aplicações alimentares. A análise metabolômica revelou a presença de 42 estruturas químicas associadas a propriedades funcionais. Entre esses compostos, foram identificados metabólitos com potencial atividade antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana, indicando a ampla versatilidade química da espécie. De maneira integrada, os dados obtidos demonstram que a biomassa de *P. strigellus* é promissora tanto do ponto de vista nutricional quanto químico, evidenciando seu valor como recurso biotecnológico sustentável. As características observadas indicam a viabilidade de sua exploração como ingrediente em produtos alimentícios e nutracêuticos, bem como em aplicações industriais e farmacêuticas que demandam moléculas bioativas de origem natural. Além disso, os resultados aqui apresentados contribuem para a ampliação do conhecimento sobre a espécie, destacando a importância de estudos voltados à caracterização de espécies ainda pouco exploradas, mas com elevado potencial para inovação científica e tecnológica.

**Palavras-chave:** Polyporaceae. Análise nutricional. Perfil metabolômico. Fungos comestíveis. Compostos bioativos.

## Metabolomic analysis and nutritional composition of *Panus strigellus* mycelium

**ABSTRACT:** The growing search for alternative nutrient sources and sustainable biotechnological inputs has directed the attention of the scientific community to fungi, especially species that are still poorly investigated. Among them, *Panus strigellus* stands out for its ecological role as a lignocellulolytic fungus and for its potential to produce biomass rich in nutritional compounds and metabolites of industrial interest. However, despite its ecological and biotechnological relevance, information on the nutritional composition and chemical profile of its mycelium has remained scarce. In this context, this dissertation aimed to comprehensively characterize the nutritional and metabolomic profile of *P. strigellus* mycelium, thus supporting its possible application in the food, nutraceutical, pharmaceutical, and industrial areas. The nutritional evaluation included the determination of moisture, ash, protein, lipids, carbohydrates, and dietary fiber fractions (soluble and insoluble). In parallel, the metabolomic profile was investigated using fungal extracts subjected to analytical methods capable of identifying and recording different classes of primary and secondary metabolites, allowing an integrated view of the chemical diversity produced by the species. The results showed that the mycelium of *Panus strigellus* presented a relevant nutritional composition, characterized by low moisture content ( $6.238 \pm 0.002\%$ ) and moderate ash content ( $4.365 \pm 0.007\%$ ). The protein content was significant, reaching  $21.83 \pm 2.72\%$ , while the total fiber content reached  $23.51 \text{ g}/100 \text{ g}$ , composed predominantly of insoluble fibers ( $20.15 \pm 0.44 \text{ g}/100 \text{ g}$ ) and, to a lesser extent, soluble fibers ( $3.36 \pm 0.21 \text{ g}/100 \text{ g}$ ). Carbohydrates represented the largest nutritional fraction, totaling  $43.50 \pm 1.23\%$ . Among the identified amino acids, histidine ( $3.139 \pm 0.064 \text{ mg/g}$ ), valine ( $2.3092 \pm 0.0043 \text{ mg/g}$ ), and glutamine ( $2.3338 \pm 0.0074 \text{ mg/g}$ ) stand out. These results reinforce the potential of mycelium as a nutritive ingredient with specific characteristics for future food applications. A metabolomic analysis revealed the presence of 42 chemical structures associated with relevant functional properties. Among these compounds, metabolites with potential antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial activity were identified, related to the broad chemical characteristics of the species. In an integrated manner, the data obtained demonstrate that *P. strigellus* biomass is promising from both a nutritional and chemical standpoint, highlighting its value as a sustainable biotechnological resource. The observed characteristics indicate predictions for its exploitation as ingredients in nutritional and nutraceutical products, as well as in industrial and pharmaceutical applications that require bioactive molecules of natural origin. Furthermore, the results presented here are aimed at expanding knowledge about fungi, highlighting the importance of studies focused on characterizing species that are still poorly explored but have high potential for scientific and technological innovation.

Key-words: Polyporaceae. Nutritional analysis. Metabolomic profile. Edible fungi. Bioactive compounds.

## CAPÍTULO I

## Análise metabolômica e composição nutricional do micélio de *Panus strigellus*

**RESUMO:** O interesse por fungos como fontes alternativas de nutrientes e compostos bioativos tem crescido devido ao seu potencial biotecnológico e à demanda por ingredientes sustentáveis. *Panus strigellus*, embora relevante do ponto de vista ecológico, permanece pouco caracterizado sob as perspectivas nutricional e química. Este estudo teve como objetivo avaliar a composição nutricional, o perfil de aminoácidos e o metaboloma do micélio desta espécie. O micélio foi cultivado em extrato de malte e submetido a análises físico-químicas para determinação de umidade, cinzas, proteínas, lipídios, carboidratos e de fibra alimentar. O perfil de aminoácidos livres foi analisado por cromatografia líquida de alta eficiência. Para a caracterização metabolômica, extratos fúngicos foram obtidos por partição líquido-líquido com acetato de etila, rotaevaporado e analisado cromatografia (UHPLC-HRMS/MS). O micélio apresentou umidade ( $6,238 \pm 0,002\%$ ) e cinzas ( $4,365 \pm 0,007\%$ ). As proteínas totalizaram  $21,83 \pm 2,72\%$ , enquanto as fibras atingiram  $23,51 \text{ g}/100 \text{ g}$ . Os carboidratos representaram a maior fração nutricional, totalizando  $43,50 \pm 1,23\%$ . Entre os aminoácidos, destacaram-se a presença de histidina ( $3,139 \pm 0,064 \text{ mg/g}$ ), valina ( $2,3092 \pm 0,0043 \text{ mg/g}$ ) e glutamina ( $2,3338 \pm 0,0074 \text{ mg/g}$ ). Aminoácidos essenciais como leucina, isoleucina e metionina também foram identificados em menores concentrações. A análise metabolômica revelou 42 estruturas químicas incluindo sesquiterpenos e fosfolipídeos, fornecendo uma visão abrangente da diversidade química do micélio. Os resultados demonstram que *Panus strigellus* apresenta biomassa com nutrientes e perfil químico diversificado, destacando seu potencial para aplicações biotecnológicas.

Palavras-chave: Basidiomycota. Compostos bioativos. Metabolômica. Micélio fúngico.

## INTRODUÇÃO

O interesse pelos fungos como fontes alternativas de nutrientes e compostos bioativos vem aumentando em razão de seu potencial biotecnológico e da crescente demanda por ingredientes sustentáveis. Nesse cenário, os fungos comestíveis despontam como alternativas promissoras devido à eficiência na produção, ao baixo uso de recursos e ao elevado valor nutricional (Holt *et al.*, 2023).

A crescente demanda por alimentos alternativos, sustentáveis e ricos em nutrientes tem direcionado a atenção da comunidade científica para os fungos comestíveis, especialmente aqueles pertencentes ao filo Basidiomycota, reconhecidos por sua capacidade de biossíntese de compostos bioativos e pela contribuição ecológica como decompositores de matéria orgânica (Ionescu *et al.*, 2025). Além disso, esses fungos destacam-se pelo elevado valor nutricional, sendo fontes de proteínas, vitaminas e minerais, o que reforça seu potencial para uso na alimentação humana e na biotecnologia (Wasser, 2011).

O micélio fúngico, estrutura vegetativa dos fungos, tem emergido como alternativa sustentável e versátil para obtenção de biomassa rica em nutrientes e compostos funcionais. Essa matriz é composta por proteínas, fibras, vitaminas, minerais e carboidratos complexos (Holt *et al.*, 2023), incluindo  $\beta$ -glicanas e outros polissacarídeos com propriedades imunomoduladoras e antioxidantes (Bisen *et al.*, 2010). Assim, o micélio configura-se como uma fonte promissora para o desenvolvimento de novos ingredientes alimentares e produtos biotecnológicos, oferecendo vantagens como rápido crescimento e possibilidade de cultivo controlado (Royse *et al.*, 2017).

Dentro desse contexto, o gênero *Panus* tem despertado interesse devido à produção de metabólitos secundários com atividades funcionais e farmacológicas, incluindo diterpenos, sesquiterpenos e compostos fenólicos (Sánchez, 2017). Tais metabólitos exibem propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas (Kalač, 2013), o que reforça o potencial biotecnológico do gênero.

Entre as espécies pertencentes a esse grupo, *Panus strigellus* se destaca por ser nativa de regiões tropicais e subtropicais, apresentando morfologia semelhante à de *Panus lecomtei* e registros de uso tradicional por comunidades de povos originários amazônicos (Garibay-Orijel *et al.*, 2007). Trata-se de um basidiomiceto lignocelulolítico que promove

a decomposição de resíduos vegetais em ambientes úmidos, desempenhando papel ecológico relevante (Sousa-Guimarães *et al.*, 2024). Contudo, há escassez de estudos voltados à caracterização química e nutricional de seu micélio, limitando o entendimento sobre seu potencial funcional e biotecnológico.

A investigação da composição nutricional do micélio é fundamental para avaliar seu potencial como fonte alternativa de nutrientes e identificar compostos de interesse para as indústrias alimentícia e farmacêutica. Estudos demonstram que micélios de diferentes espécies apresentam altos teores de proteínas (aprox. 15–30%), lipídios insaturados (ácidos graxos essenciais), carboidratos complexos, fibras (incluindo  $\beta$ -glicanas) e vitaminas do complexo B (Kalač, 2013). Esses micélios também contêm minerais essenciais como ferro, selênio, zinco e potássio, além de compostos fenólicos que conferem propriedades antioxidantes e imunomoduladoras (Kumar *et al.*, 2021).

Além dos macronutrientes, os fungos produzem metabólitos secundários biologicamente ativos, como polifenóis, terpenoides, alcaloides e antraquinonas (Lindequist *et al.*, 2005). Tais compostos apresentam propriedades antioxidantes, antibacterianas e citotóxicas, com aplicações potenciais em alimentos funcionais e produtos farmacêuticos (Valverde *et al.*, 2015).

A análise metabolômica é uma ferramenta poderosa para caracterizar perfis químicos e elucidar vias metabólicas, permitindo a identificação de metabólitos primários e secundários (Patti *et al.*, 2012). Em macrofungos comestíveis, a metabolômica tem revelado moléculas bioativas de interesse nutracêutico (Rochfort, 2005; Shen *et al.*, 2023).

Entretanto, não há registros até o momento de estudos metabolômicos voltados especificamente ao micélio de *Panus strigellus*, o que representa uma lacuna no conhecimento científico sobre o perfil químico e nutricional dessa espécie. Dessa forma, a presente pesquisa teve como objetivo avaliar a composição nutricional e o perfil metabolômico do micélio de *Panus strigellus*, visando identificar compostos de interesse biotecnológico e nutricional, de modo a contribuir para o avanço do conhecimento científico sobre fungos tropicais e para a valorização biotecnológica dessa espécie em aplicações alimentares, nutracêuticas e farmacêuticas.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Material biológico**

Foi utilizado o fungo *Panus strigellus*, linhagem U16-7, pertencente à coleção de culturas do laboratório de Biologia Molecular da Universidade Paranaense. O micélio do fungo foi cultivado no escuro a  $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , durante 7 dias, em ágar extrato de malte (2%) (AEM) previamente autoclavado a  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 20 min. O micélio homogêneo e sem setoriamento foi selecionado para o inóculo do cultivo em meio líquido.

### **Produção de biomassa micelial**

O fungo foi cultivado em frascos Erlenmeyer (250 mL) contendo 100 mL de meio líquido de extrato de malte (20 g/L) previamente autoclavado a  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 20 minutos. Foram inoculados com 6 discos de MEA de 6 mm de diâmetro contendo o micélio do fungo em estudo. O crescimento da biomassa micelial foi a  $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , por 21 dias, no escuro, sem agitação. Os micélios foram recuperados por filtração com filtro qualitativo (Whatman grau 1) utilizando uma bomba a vácuo e mantidos em estufa com circulação de ar a  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  até massa constante (Avelino *et al.*, 2020).

### **Composição química da biomassa micelial**

#### **Análise físico-química**

As análises físico-químicas da biomassa micelial de *P. strigellus* foram realizadas de acordo com as normas da Association of Official Analytical Chemists – AOAC (2000), conforme descritas abaixo:

- Teor de umidade: O teor de umidade foi determinado por secagem das amostras em estufa convencional a  $105\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 24 h.

- Teor de cinzas: foi analisada a incineração das amostras em forno mufla a  $550\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 8 h até o aparecimento de cinzas brancas/claras sem presença de pontos pretos.

- Teor de proteínas: foi quantificado por meio do método de Kjeldahl. As amostras foram digeridas em bloco digestor na presença de ácido sulfúrico P.A. e mistura catalítica, sendo posteriormente destiladas em destilador de nitrogênio e então tituladas com solução padronizada de ácido clorídrico a 0,1 M.

- Teor de lipídeos: foi determinado pelo método de Goldfish com solvente éter de petróleo.

- Teor de fibras: A determinação da fibra alimentar total foi baseada na digestão enzimática sequencial da amostra de cogumelo desidratado com alfa-amilase

termoestável; protease e amiloglicosidase.

- Teor de carboidratos: foi realizado pelo método de diferenciação, após obter o resultado de todas as análises. Esse cálculo foi realizado subtraindo-se o teor de todas as análises (umidade, cinzas, proteínas, lipídios, e fibras totais) de 100%.

#### Análise do perfil de aminoácidos

A biomassa micelial foi submetida à hidrólise ácida utilizando ácido clorídrico 6 mol/L, na proporção amostra:ácido de 1:25 (m/v). A mistura foi autoclavada a 121 °C e 1,1 atm durante 8 minutos. Em seguida, o material foi filtrado em papel de filtro de celulose com porosidade de 0,45 µm, e o meio reacional foi evaporado em banho de areia a 110 °C. As amostras resultantes foram lavadas cinco vezes com 5 mL de água Milli-Q, sendo a água evaporada nas mesmas condições. O resíduo obtido foi ressuspensionado em 10 mL de água Milli-Q e homogeneizado em banho ultrassônico por 3 minutos. Por fim, a solução foi novamente filtrada em papel de filtro de celulose (0,45 µm) e transferida para balões volumétricos de 25 mL, sendo o pH do extrato ajustado a 4,5 (Denardi-Souza *et al.*, 2018).

O extrato foi analisado em HPLC (Shimadzu, 20A), com detector de fluorescência (Shimadzu, RF-20A) seguindo a metodologia adaptada de Corleto *et al.* (2019). Os aminoácidos foram derivatizados pré-coluna com uma mistura de Ftaldialdeído (Sigma), borato de sódio (Lafan), Brij (Sigma) e mercaptoetanol (Neon). O gradiente de eluição constituído por acetato de sódio 20 mM a pH 5,40 (fase A) e 45% de acetonitrila, 45% de metanol e 10% de água (fase B) foi utilizado da seguinte forma: 1-50 min (20% B), 50-80 min (40% B), 80-120 min (40% B), 120-125 min (90% B), 125-137 min (90% B) e 137-140 min (20% B). Para separação dos aminoácidos foi utilizada uma coluna Shim-pack GIST C8, 4,6x250 mm (Shimadzu) a 30 °C com um volume de injeção de 5 µL de amostra e uma vazão 0,5 mL min<sup>-1</sup>. O detector de fluorescência (RF-20A) operou nos comprimentos de onda de 340 (excitação) e 455 nm (emissão). Os padrões de aminoácidos utilizados foram: ácido aspártico, ácido glutâmico, asparagina, histidina, serina, alanina, glutamina, glicina, treonina, arginina, tirosina, valina, metionina, triptofano, fenilalanina, isoleucina, leucina e lisina (Sigma). As curvas analíticas destes padrões (0,1 a 5,0 µg/mL) foram obtidas ( $R^2 > 0,99$ ) para calcular os resultados, que foram expressos em mg/g de amostra.

#### Análise metabolômica

A obtenção dos extratos metabólicos do meio de cultivo (controle), massas de micélio e de extrato metabólico bruto (meio de cultivo fermentado) foi realizada conforme Polli *et al.* (2021) com modificações. Para a extração dos metabólitos produzidos, a biomassa micelial (suspensa em água destilada na proporção 1:5), o sobrenadante do meio fermentado e do meio controle foram transferidos para um funil de separação e submetidos a partição líquido-líquido com o solvente orgânico acetato de etila (EtOAc-grau P.A). A partição com acetato de etila foi repetida três vezes (3 x 10 mL) para 15 mL do meio fermentado, resultando em um volume final de 30 mL de EtOAc. Após a separação, a fração orgânica do acetato de etila com os metabólitos foi coletada e concentrada sob pressão reduzida em evaporador rotativo (37 °C e pressão de 600 mmHg), obtendo-se o extrato bruto de metabólitos.

#### Estudo de desrepliação por UHPLC-HRMS/MS

A separação cromatográfica foi realizada utilizando uma coluna C18 (75 × 2.0 mm i.d.; 1.6 µm) (Shimpack XR- ODS III) mantida à temperatura de 40 °C. A fase móvel consistiu em água Milli-Q (solvente A) e 0,1% de ácido fórmico em acetonitrila (solvente B). O gradiente de eluição foi: 5% de acetonitrila (0-1 min), 30% de acetonitrila (1-3 min), 95% de acetonitrila (3-8 min) e por fim mantida a 95% de acetonitrila (8-16 min), com uma taxa de fluxo de 0,2 min<sup>-1</sup> e volume de injeção de 2 µL. Acoplado ao cromatógrafo, foi utilizado um espectrômetro de massas de alta resolução com analisador quadrupolo-Tempo de voo (QTOF), modelo IMPACT II (Bruker Daltonics Corporation, EUA) e equipado com uma fonte de ionização Electrospray. No espectrômetro de massas, a voltagem capilar foi operada no modo de ionização positiva, regulada a 4500 V, utilizando formiato de sódio (10 µM) como calibrante. Os parâmetros do gás seco foram ajustados para 8 min<sup>-1</sup> a 200 °C com uma pressão de gás de nebulização de 4 bar. A fragmentação por dissociação induzida por colisão (CID) ocorreu usando gás de colisão de argônio (Ar) e energia 5 de colisão de 5-30 eV. Os dados espectrais das amostras investigadas foram recolhidos a partir de *m/z* 50-1000, e com uma taxa de aquisição de 5 espectros por segundo. Os íons de interesse foram selecionados por auto-fragmentação de varredura MS/MS. A análise foi realizada em triplicata.

#### Anotação de substâncias baseada em *Molecular Networking*

Para a anotação de substâncias e organização dos dados brutos obtidos das análises por UHPLC-MS/MS utilizou-se a abordagem de *Molecular Networking*. Inicialmente os

dados brutos foram convertidos para o formato mzXML, por meio do *software* de dados Data Analysis™ (Bruker) e carregados para a plataforma do GNPS (*Global Natural Products Social Molecular Networking*) (Wang *et al.*, 2016). No GNPS, os dados foram submetidos para formação das redes moleculares utilizando o fluxo de trabalho online. Os dados foram agrupados com *MS-Cluster* com uma tolerância de massa parental de 0,02 Da e uma tolerância do íon fragmento MS/MS de 0,02 Da para criar espectros de consenso. Uma rede então foi criada onde os parâmetros das bordas foram pontuação de cosseno acima de 0,7 e mais de 4 picos correspondentes.

Os dados foram filtrados removendo todos os picos de MS/MS dentro de  $\pm 17$  Da do precursor *m/z*. Em seguida, a rede foi pesquisada em relação às bibliotecas espectrais do GNPS e todas as correspondências apresentaram a pontuação de cosseno acima de 0,7 e pelo menos 4 picos correspondentes. A análise de rede foi exportada do GNPS e analisada no *Cytoscape* (Shannon *et al.*, 2003) e os dados obtidos também foram comparados com dados da literatura. A análise do branco também foi incluída, e os nós correspondentes aos íons detectados no branco foram excluídos das redes moleculares. A análise foi realizada em triplicata.

## RESULTADOS

### Composição nutricional

Os resultados obtidos para o micélio de *Panus strigellus* demonstraram um alto conteúdo de fibras, com  $20,15 \pm 0,44$  g/100 g de fibra insolúvel e  $3,36 \pm 0,21$  g/100 g de fibra solúvel, totalizando 23,51 g/100 g (Tabela 1).

**Tabela 1.** Composição nutricional do micélio do *Panus strigellus*.

<b>Composição nutricional (g/100 g)</b>	<b>Teor</b>
Umidade	$6,24 \pm 0,01$
Cinzas totais	$4,37 \pm 0,01$
Proteínas	$21,83 \pm 2,72$
Lípídeos	$0,56 \pm 0,08$
Fibras totais	$23,51 \pm 0,22$
Fibras solúveis	$3,36 \pm 0,21$
Fibras insolúveis	$20,15 \pm 0,44$
Carboidratos	$43,50 \pm 1,23$

Resultados expressos em média  $\pm$  desvio padrão.

### Perfil de aminoácidos

O micélio apresentou valores nutricionais relevantes, tanto no perfil de aminoácidos essenciais quanto no teor de fibras alimentares. Os dados de aminoácidos (Tabela 2) demonstram destaque para a lisina (4,191 mg/g) e a histidina (3,139 mg/g) entre os essenciais, enquanto a metionina apresentou o menor valor (0,042 mg/g).

**Tabela 2.** Perfil de aminoácidos (mg/g) no micélio do *Panus strigellus*.

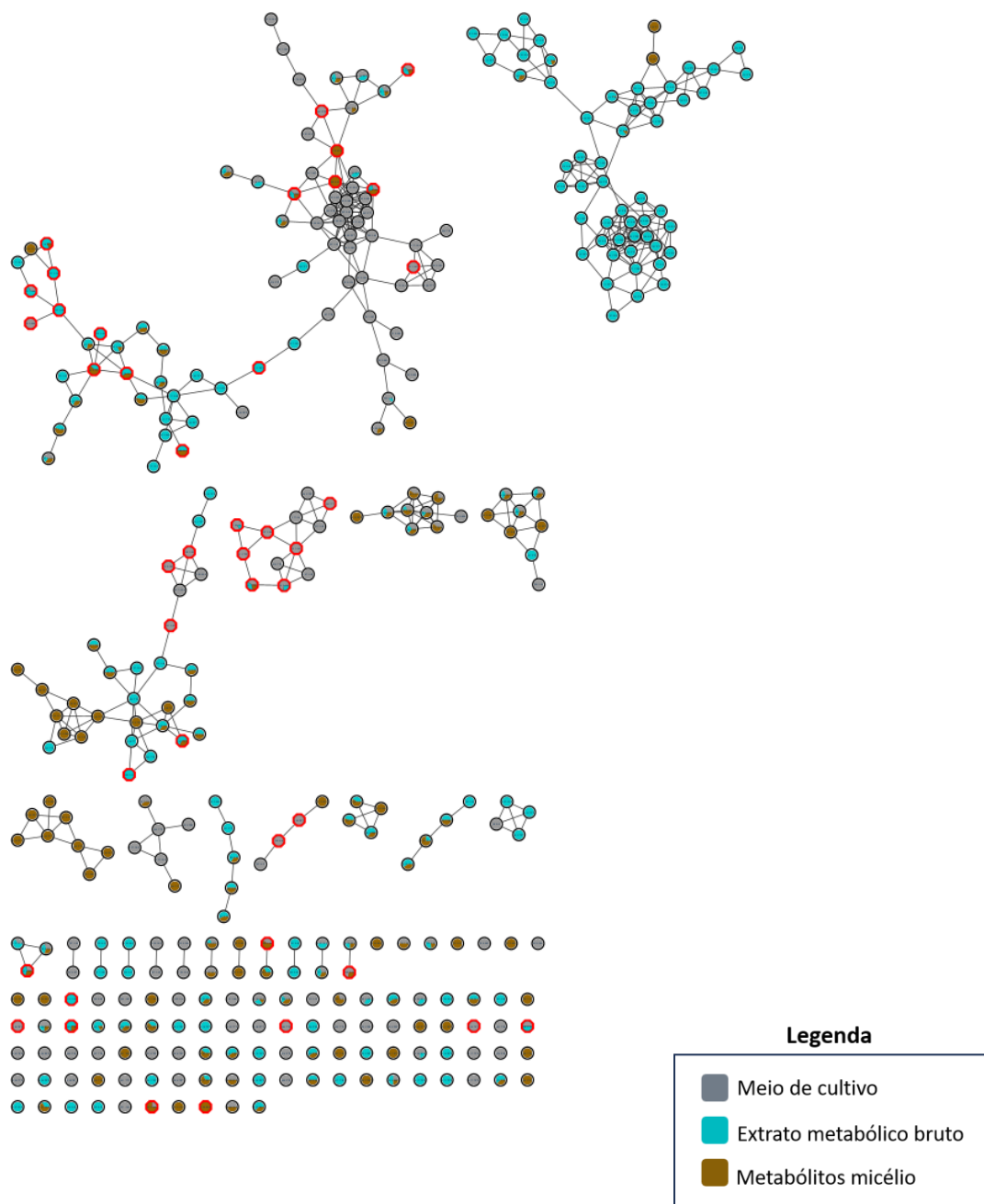
<b>Aminoácido</b>	<b>Teor (mg/g)</b>
Ácido Aspártico	0,476 ± 0,000
Ácido Glutâmico	0,317 ± 0,003
Histidina	3,139 ± 0,064
Serina	0,364 ± 0,010
Glutamina	2,334 ± 0,007
Glicina	0,347 ± 0,001
Treonina	0,239 ± 0,016
Arginina	0,294 ± 0,019
Alanina	0,742 ± 0,001
Tirosina	0,211 ± 0,015
Valina	2,309 ± 0,004
Metionina	0,042 ± 0,001
Isoleucina	0,141 ± 0,000
Leucina	0,431 ± 0,002
Lisina	4,191 ± 0,038

Resultados expressos em média ± desvio padrão.

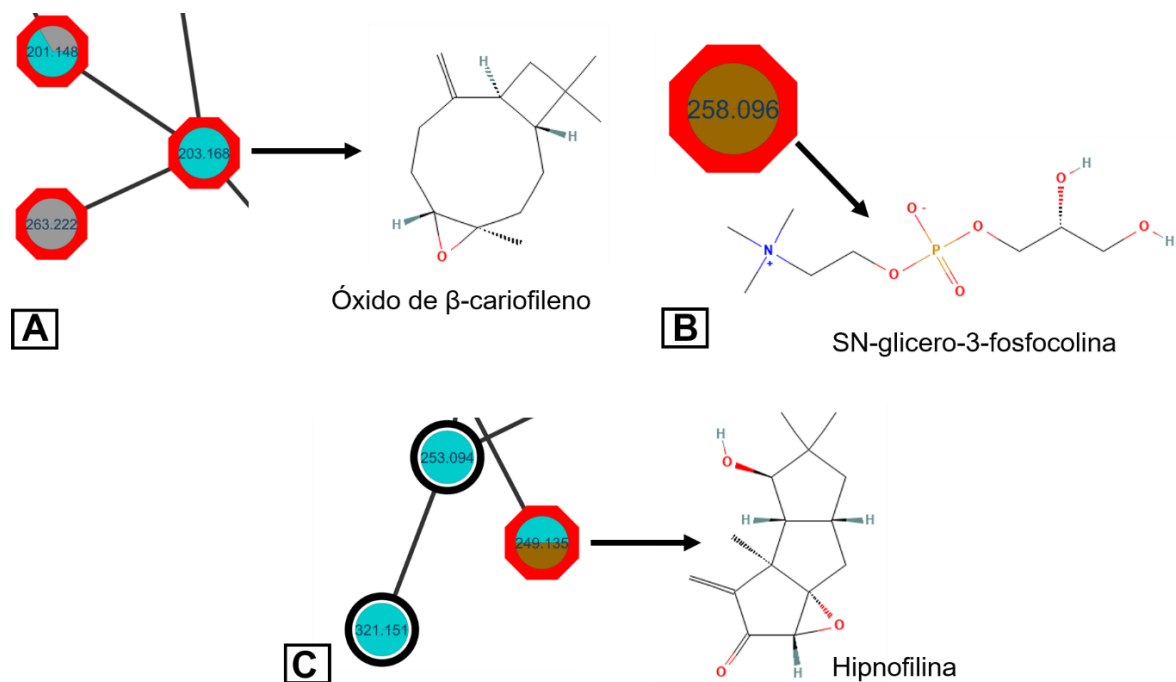
### **Análise metabolômica**

A partir dos perfis de espectrometria de meio de cultivo (controle), biomassa micelial e de extrato metabólico bruto (meio de cultivo fermentado), foi gerada uma rede molecular a fim de avaliar e comparar o perfil metabolômico produzido por *P. strigellus*. Os íons parentais dentro da rede molecular corresponderam a apenas quatro padrões conhecidos dentro da biblioteca espectral do GNPS, com valor de cosseno estabelecido em 0,7. A rede molecular construída, resultou em 353 sinais espectrais e a desreplicação pelo GNPS anotou 42 estruturas químicas (Figura 1). Os metabólitos de *P. strigellus* geraram 26 famílias moleculares e 97 nodos únicos (*single nodes*).

Na figura 2. estão os principais metabólitos encontrados em *P. strigellus*.



**Figura 1.** Rede molecular contendo as principais famílias moleculares identificadas na análise de desreplcação de metaboloma de *Panus strigellus*. Nodos com bordas vermelhas correspondem aos compostos anotados pelo GNPS. Meio de cultivo (controle), biomassa micelial e de extrato metabólico bruto (meio de cultivo fermentado).



**Figura 2.** Metabólitos de *Panus strigellus* identificados putativamente por meio da análise de desreplicação na plataforma online de anotação de produtos naturais GNPS. **A.:** Sesquiterpeno oxigenado identificado no extrato metabólico bruto de *Panus strigellus*. **B.:** Fosfolípídeo nootrópico identificado no material micelial de *Panus strigellus*. **C.:** Sesquiterpenoide hipnofilina identificado no extrato metabólico bruto e no material micelial de *Panus strigellus*.

## DISCUSSÃO

Os aminoácidos constituem os blocos estruturais das proteínas e desempenham funções essenciais em praticamente todos os processos metabólicos do organismo humano. Entre suas principais atribuições destacam-se o crescimento e reparo tecidual, a síntese de enzimas e hormônios, além da regulação de vias metabólicas relacionadas à resposta imunológica e à manutenção da homeostase energética (KELLY *et al.*, 2020). Os aminoácidos essenciais, por não serem sintetizados endogenamente, necessitam ser obtidos pela dieta e representam um parâmetro fundamental para a avaliação da qualidade nutricional das fontes proteicas (FAO, 2013).

Nesse contexto, os fungos basidiomicetos vêm sendo estudados como potenciais fontes alternativas de proteína, devido à sua composição equilibrada de aminoácidos essenciais e à presença de compostos bioativos de interesse nutricional e farmacológico. O micélio especialmente, destaca-se por apresentar elevado teor proteico e perfil de aminoácidos que, em alguns casos, supera o observado nos corpos de frutificação (Yu *et al.*, 2023).

Em estudo conduzido por Yu *et al.* (2023), avaliando o micélio de *Lentinula edodes* de diferentes linhagens, verificou-se que a lisina foi o aminoácido essencial predominante, com valores de  $88,20 \pm 0,43$  mg/g de proteína na linhagem 18 e  $122,04 \pm 2,93$  mg/g de proteína na cepa 18N44. Em contrapartida, os aminoácidos sulfurados metionina e cisteína foram identificados como limitantes na composição proteica.

Esse padrão é coerente com os achados de Kadimaliev, Gafurova e Zakirova (2006) e de Mouritsen *et al.* (2019), que, ao analisarem basidiomicetos como *Pleurotus* spp. e *L. edodes*, também observaram predominância de lisina entre os aminoácidos essenciais e limitação relativa de metionina e cisteína. No presente estudo, valores consideráveis também foram encontrados para glutamina (2,334 mg/g) e valina (2,309 mg/g), reforçando o potencial proteico do micélio de *P. strigellus*.

A fibra dietética desempenha papel fundamental na manutenção da saúde intestinal, contribuindo para a regulação do trânsito gastrointestinal, modulação da microbiota, controle glicêmico e redução do risco de doenças crônicas (LI *et al.*, 2025). Em fungos comestíveis, tanto o micélio quanto os corpos de frutificação apresentam polissacarídeos funcionais, como  $\beta$ -glicanas, quitina e hemiceluloses, que conferem propriedades estruturais e prebióticas importantes (Berger *et al.*, 2022).

Os resultados obtidos para o micélio de *P. strigellus* evidenciam um teor elevado de fibras. Esses valores demonstram que o micélio desta espécie apresenta potencial

funcional, sendo a fração insolúvel predominante, mas acompanhada de fibra solúvel, o que sugere benefícios tanto para a saúde intestinal quanto para formulações de alimentos funcionais.

Esses achados estão em consonância com a literatura, que aponta que micélios de basidiomicetos frequentemente apresentam teores mais elevados de fibra dietética em comparação aos corpos de frutificação. Por exemplo, Berger *et al.* (2022) reportaram teor de 14,72% de fibra total no micélio e 12,90% nos corpos de frutificação de diferentes espécies de fungos comestíveis.

Estudos em outras espécies, como *Pleurotus sapidus*, demonstraram que micélios cultivados em resíduos agroindustriais apresentam perfil proteico de boa qualidade e aminoácidos essenciais, embora metionina e cisteína continuem limitantes (Ahlborn *et al.*, 2019). Além disso, o micélio de *Lentinula edodes* também apresenta importância nutricional tanto pelo conteúdo de fibras quanto pelo perfil de aminoácidos essenciais (Yu *et al.*, 2023), evidenciando o potencial dos micélios como fontes funcionais e nutritivas.

Os resultados obtidos neste trabalho corroboram achados prévios sobre o potencial nutricional do micélio de fungos basidiomicetos, que se destaca como fonte alternativa de proteínas e compostos bioativos quando comparado a alimentos convencionais, como carnes, leguminosas e cereais. A literatura mostra que a concentração proteica do micélio pode variar de 10% a 48% em base seca, dependendo da espécie e das condições de cultivo (Ionescu *et al.*, 2025; Singh, 2025). Esses valores são semelhantes ao reportado para leguminosas como a soja, que apresenta valores entre 35% e 45% em base seca, e, quando ajustado para umidade, aproxima-se dos valores encontrados em carnes magras (Holt *et al.*, 2023). O micélio contém aminoácidos essenciais em proporções adequadas, valor biológico, comparável às proteínas de origem animal (Majumder *et al.*, 2024; Ionescu *et al.*, 2025).

Outro aspecto importante é que possui fibras e polissacarídeos estruturais, como  $\beta$ -glicanas e quitina, praticamente ausentes em alimentos de origem animal. Esses componentes conferem ao micélio propriedades funcionais associadas à modulação da resposta imune, à redução de colesterol sérico e à manutenção da saúde intestinal (Singh, 2025; Holt *et al.*, 2023). Do ponto de vista lipídico, o micélio apresenta baixo teor de gordura total, alto teor de ácidos graxos insaturados e ausência de colesterol, representando uma vantagem em relação às carnes vermelhas (Berger, 2022).

É importante salientar que a composição nutricional do micélio é fortemente influenciada por fatores como espécie, substrato, tempo de crescimento e métodos de processamento. Dessa forma, comparações quantitativas com alimentos convencionais devem ser realizadas com cautela, considerando se os valores apresentados estão em base seca ou úmida, já que a elevada umidade dos corpos de frutificação e do micélio fresco pode mascarar a densidade de nutrientes (Berger, 2022; Majumder *et al.*, 2024). Contudo, a literatura salienta que os fungos basidiomicetos, em especial seu micélio, representam como fonte emergente e sustentável de nutrientes essenciais, com potencial de contribuir para a diversificação proteica e redução da dependência de produtos de origem animal.

A análise de compostos anotados sugeridos pela biblioteca espectral do GNPS, resultou na identificação putativa da hipnofilina, um sesquiterpenoide de ocorrência natural em fungos (Dasgupta; Acharya, 2019), principalmente no gênero *Lentinus* (Abate; Abraham, 1994; Souza-Fagundes *et al.*, 2010; Rukachaisiriku, 2005). A análise de desrepliação identificou a hipnofilina tanto no micélio quanto no extrato metabólico bruto de *P. strigellus* (Figura 2C). A hipnofilina apresenta atividade contra protozoários causadores de doenças tropicais (Cota *et al.*, 2008; Souza-Fagundes *et al.*, 2010), como também, apresenta citotoxicidade contra células tumorais humanas (Pinto *et al.*, 2013).

Exclusivamente na biomassa micelial de *P. strigellus* foi identificado a anotação para o fosfolípido SN-glicero-3-fosfocolina, também conhecido como alfoscerato de colina (Figura 2B). Sendo um precursor da acetilcolina, é considerado um fosfolípido nootrópico, utilizado no tratamento de distúrbios cognitivos como Alzheimer e demência (Sagaro *et al.*, 2023; Shavlovskaya *et al.*, 2023). Segundo Waldbillig *et al.* (2023), foram encontradas concentrações significativas de alfoscerato de colina em micélios de *Psilocybe* spp., sendo, portanto, considerado um potencial agente micoterapêutico para a produção alfoscerato de colina de origem natural.

A desrepliação do extrato metabólico bruto de *P. strigellus*, realizou uma anotação exclusiva para o composto óxido de  $\beta$ -cariofileno (BCPO) (Figura 2A). O BCPO é um sesquiterpeno oxigenado, derivado do  $\beta$ -cariofileno, que possui uma gama de atividades biológicas, incluindo propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e anticancerígenas (Di Sotto *et al.*, 2020). A produção de BCPO está associada tanto com a presença do composto isolado em extratos de fungos (Deyrup *et al.*, 2006; Walther *et al.*, 2021; Yang *et al.*, 2009), quanto como produto de biotransformação microbiana (Medina *et al.*, 2019).

Dessa forma, o micélio de *P. strigellus* apresenta potencial fonte de nutrientes para aplicações alimentícias e farmacêuticas.

## **CONCLUSÕES**

A caracterização metabolômica e nutricional do micélio de *Panus strigellus* evidenciou a presença de diversos metabólitos e nutrientes importantes, confirmando seu potencial como fonte de compostos bioativos e alimento funcional. O micélio apresentou níveis consideráveis de proteínas, e compostos que contribuem para suas propriedades nutricionais e funcionais. A análise metabolômica indicou a presença de diferentes metabólitos, incluindo sesquiterpenos e fosfolipídeos. Este estudo amplia o conhecimento sobre o micélio de *Panus strigellus* e possibilita novos estudos voltados a sua aplicação na indústria alimentícia e farmacêutica.

## **AGRADECIMENTOS**

Com o devido respeito e reconhecimento, expresso meus sinceros agradecimentos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), à Universidade Paranaense (UNIPAR), à Fundação Araucária e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio institucional e pelo fomento financeiro, por meio de bolsas e auxílios à pesquisa, que foram fundamentais para a viabilização e a execução deste trabalho.

## REFERÊNCIAS

ABATE, D.; ABRAHAM, W. Antimicrobial metabolites from *Lentinus crinitus*. **The Journal of Antibiotics**, v. 47, n. 11, p. 1348-1350, 1994.

AHLBORN, J. *et al.* Upcycling of food industry side streams by basidiomycetes for production of a vegan protein source. **International journal of recycling of organic waste in agriculture**, v. 8, n. Suppl 1, p. 447-455, 2019.

AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 17th ed. Gaithersburg: AOAC International, 2000.

AVELINO, K. V. *et al.* Coculture of white rot fungi enhance laccase activity and its dye decolorization capacity. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 11, e88191110643, 2020.

BERGER, R. G. *et al.* Mycelium vs. fruiting bodies of edible fungi—A comparison of metabolites. **Microorganisms**, v. 10, n. 7, p. 1379, 2022.

BISEN, P. S. *et al.* *Lentinus edodes*: a macrofungus with pharmacological activities. **Current Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 22, p. 2419-2430, 2010.

CORLETO, K. A. *et al.* A sensitive HPLC-FLD method combined with multivariate analysis for the determination of amino acids in L-citrulline rich vegetables. **journal of food and drug analysis**, v. 27, n. 3, p. 717-728, 2019.

COTA, B. B. *et al.* A potent trypanocidal component from the fungus *Lentinus strigosus* inhibits trypanothione reductase and modulates PBMC proliferation. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, p. 263-270, 2008.

DASGUPTA, A.; ACHARYA, K. Mushrooms: an emerging resource for therapeutic terpenoids. **3 Biotech**, v. 9, n. 10, p. 369, 2019.

DENARDI-SOUZA, T. *et al.* Monitoring of fungal biomass changed by *Rhizopus oryzae* in relation to amino acid and essential fatty acids profile in soybean meal, wheat and rice. **CyTA-Journal of Food**, v. 16, n. 1, p. 156-164, 2018.

DEYRUP, S. T. *et al.* Caryophyllene sesquiterpenoids from a fungicolous isolate of *Pestalotiopsis disseminata*. **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 4, p. 608-611, 2006.

DI SOTTO, A. *et al.* Chemopreventive potential of caryophyllane sesquiterpenes: An overview of preliminary evidence. **Cancers**, v. 12, n. 10, p. 3034, 2020.

FAO. **Dietary protein quality evaluation in human nutrition: report of an FAO Expert Consultation**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2013. 92 p.

GARIBAY-ORIJEL, R. *et al.* Compreendendo o significado cultural: o caso dos cogumelos comestíveis. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 3, p. 1-18, 2007.

HOLT, Roberta R. et al. Mycelium: a nutrient-dense food to help address world hunger, promote health, and support a regenerative food system. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 72, n. 5, p. 2697-2707, 2023.

IONESCU, M. *et al.* Proteins from Edible Mushrooms: Nutritional Role and Contribution to Well-Being. **Foods**, v. 14, n. 18, p. 3201, 2025.

KADIMALIEV, D. A. *et al.* Interrelation between the composition of lipids and products of their peroxidation and the secretion of ligninolytic enzymes during growth of *Lentinus (Panus) tigrinus*. **Mikrobiologija**, v. 75, n. 5, p. 649-653, 2006.

KALACĚ, 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, n. 2, p. 209–218, 2013.

KELLY, Beth; PEARCE, Erika L. Amino assets: how amino acids support immunity. **Cell metabolism**, v. 32, n. 2, p. 154-175, 2020.

KUMAR, K. *et al.* Edible mushrooms: A comprehensive review on bioactive compounds with health benefits and processing aspects. **Foods**, v. 10, n. 12, p. 2996, 2021.

LI, Fuhua; ZENG, Kaifang; MING, Jian. Redução dos níveis glicêmicos por meio de fatores do trato gastrointestinal: o papel da fibra alimentar, dos polifenóis e de sua combinação. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 65, n. 3, p. 575-611, 2025.

LINDEQUIST, U.; NIEDERMEYER, T. H. J.; JÜLICH, W. The pharmacological potential of mushrooms. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2, n. 3, p. 285-299, 2005.

MAJUMDER, R. *et al.* Mycoprotein: Production and nutritional aspects: A review. **Sustainable Food Technology**, v. 2, n. 1, p. 81-91, 2024.

MEDINA, R. P. *et al.* Botryane terpenoids produced by *Nemania bipapillata*, an endophytic fungus isolated from red alga *Asparagopsis taxiformis-Falkenbergia* stage. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 12318, 2019.

MOURITSEN, O. G. *et al.* Umami taste, free amino acid composition, and volatile compounds of brown seaweeds. **Journal of Applied Phycology**, v. 31, n. 2, p. 1213-1232, 2019.

PATTI, G. J.; YANES, O.; SIUZDAK, G. Metabolomics: the apogee of the omics trilogy. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 13, n. 4, p. 263-269, 2012.

PINTO, M. C. X. *et al.* The Cytotoxic and Proapoptotic Activities of Hypnophilin are Associated with Calcium Signaling in UACC-62 Cells. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 27, n. 11, p. 479-485, 2013.

POLLI, A. D. *et al.* Secondary metabolites of *Curvularia* sp. G6-32, an endophyte of *Sapindus saponaria*, with antioxidant and anticholinesterasic properties. **Natural product research**, v. 35, n. 21, p. 4148-4153, 2021.

ROCHFORT, S. Metabolomics reviewed: a new “omics” platform technology for systems biology and implications for natural products research. **Journal of Natural Products**, v. 68, n. 12, p. 1813-1820, 2005.

ROYSE, D. J.; BAARS, J.; TAN, Q. Current overview of mushroom production in the world. In: *Edible and medicinal mushrooms: technology and applications*. p. 5-13, 2017.

SAGARO, G. G. *et al.* Activity of choline alfoscerate on adult-onset cognitive dysfunctions: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Alzheimer’s Disease**, v. 92, n. 1, p. 59-70, 2023.

SÁNCHEZ, C. Reactive oxygen species and antioxidant properties from mushrooms. **Synthetic and Systems Biotechnology**, v. 2, n. 1, p. 13-22, 2017.

SHANNON, P. *et al.* Cytoscape: A software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. **Genome Res.** v.13, p. 2498–2504, 2003.

SHAVLOVSKAYA, O. A. *et al.* Choline alfoscerate in the correction of cognitive impairment. **Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics**, v. 15, n. 6, p. 128-134, 2023.

SHEN, S. *et al.* Metabolomics-centered mining of plant metabolic diversity and function: Past decade and future perspectives. **Molecular Plant**, v. 16, n. 1, p. 43-63, 2023.

SINGH, Akriti *et al.* Mushrooms as Nutritional Powerhouses: A Review of Their Bioactive Compounds, Health Benefits, and Value-Added Products. **Foods**, v. 14, n. 5, p. 741, 2025.

SOUZA-FAGUNDES, E. M. *et al.* *In vitro* activity of hypnophilin from *Lentinus strigosus*: a potential prototype for Chagas disease and leishmaniasis chemotherapy. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 43, p. 1054-1061, 2010.

SOUSA-GUIMARÃES, D. K. *et al.* Uma filogenia abrangente de *Panus* (Panaceae, Polyporales) e a diversidade brasileira revisitada. **Mycological Progress**, v. 23, n. 1, p. 19, 2024.

VALVERDE, M. E.; HERNÁNDEZ-PÉREZ, T.; PAREDES-LÓPEZ, O. Edible mushrooms: improving human health and promoting quality life. **International Journal of Microbiology**, v. 2015, n. 1, p. 376387, 2015.

WALDBILLIG, A. *et al.* Exploring *Psilocybe* spp. mycelium and fruiting body chemistry for potential therapeutic compounds. **Frontiers in Fungal Biology**, v. 4, p. 1295223, 2023.

WALTHER, C. *et al.* Volatile emission and biosynthesis in endophytic fungi colonizing black poplar leaves. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, v. 17, n. 1, p. 1698-1711, 2021.

WANG, M. *et al.* Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular Networking. **Nature Biotechnology**, v. 34, n.8 p. 828-837, 2016.

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.

YANG, S. W. *et al.* Caryophyllenes from a fungal culture of *Chrysosporium pilosum*. **Journal of natural products**, v. 72, n. 3, p. 484-487, 2009.

YU, C. *et al.* Composition and contents of fatty acids and amino acids in the mycelia of *Lentinula edodes*. **Food Science & Nutrition**, v. 11, n. 7, p. 4038-4046, 2023.