



AValiação DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS OBTIDOS DE MICÉLIOS PRODUZIDOS POR FERMENTAÇÃO SUBMERSA

Milena de Azevedo (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Alex Graça Contato (PBC/UEM),
Cristina Giatti Marques de Souza (Co-orientadora), Rosane Marina Peralta
(Orientadora), e-mail: rosanemperalta@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá/Departamento de Bioquímica/Centro de
Ciências Biológicas/Maringá, PR.

Microbiologia - Microbiologia Industrial e de Fermentação

Palavras-chave: basidiomicetos, micélios, antioxidantes.

Resumo:

Existem diferentes variedades de cogumelos comestíveis. A produção excessiva de espécies reativas de oxigênio pode resultar em estresse oxidativo. Compostos fenólicos são metabólitos secundários largamente distribuídos entre os vegetais e cogumelos. O objetivo deste projeto foi avaliar a capacidade antioxidante, através da técnica do ABTS, de micélios de isolados de basidiomicetos. Os melhores resultados foram vistos para *H. fimbriatus* EF41 Contudo, estudos adicionais ainda são necessários para comprovar os efeitos.

Introdução

A oxidação é um processo vital aos organismos vivos para gerar energia a partir dos combustíveis biológicos, porém ela pode gerar estresse oxidativo, o que leva a prejuízos celulares (RECZEK & CHANDEL, 2015). Os Cogumelos produzem compostos antioxidantes capazes de reduzir radicais gerados do metabolismo celular (IVANOVA et al., 2014). O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade antioxidante dos extratos de micélio de alguns isolados de basidiomicetos.

Materiais e métodos

Fungos:





Foram avaliados os seguintes isolados: *Flaviporus venustus* EF30; *Hydnopolyporus fimbriatus* EF41; *Hydnopolyporus fimbriatus* EF44; *Inonotus splitgerberi* EF46; *Lentinula boryana* EF48; *Oudemansiella canarii* EF72; *Perenniporia sp.* EF79; *Phellinus linteus* EF81 e *Pleurotus albidus* EF84.

Manutenção dos fungos e meio de cultivo:

Os fungos foram cultivados em meio ágar - extrato de farelo de trigo. Para a obtenção da biomassa, o micélio foi transferido para o meio líquido do mesmo meio. Os frascos foram agitados por dez dias a 28 °C e 120 rpm.

Preparo da biomassa e obtenção dos extratos:

A biomassa obtida através de filtração foi lavada com água destilada e liofilizada. Extração aquosa foi realizada. O material foi agitado por uma hora a 120 rpm e a 28 °C. O material foi filtrado a vácuo e o resíduo submetido ao mesmo procedimento por duas vezes. Os filtrados foram reunidos e submetidos à liofilização.

Compostos fenólicos totais solúveis:

A um mL do extrato adequadamente diluído (1000 µg) foram misturados 150 µL de Na₂CO₃ (1,9 M) e 50 µL de reagente de Folin – Ciocalteu (1 N). A mistura foi mantida no escuro a temperatura ambiente por 60 min., logo após a absorbância foi lida a 725 nm. O conteúdo de fenólicos foi expresso como microgramas de equivalentes de ácido gálico (EAG) por miligrama de extrato, sendo que o ácido gálico foi utilizado como padrão.

Determinação da atividade antioxidante pelo método de captura do ABTS^{•+}

A atividade de captura de radicais livres foi mensurada usando ABTS [(2,2-Azino-bis-(3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico)]. A porcentagem de sequestro do radical ABTS^{•+} foi calculada como: (%) sequestro do radical ABTS = [(A₀ - A₁ / A₀) x 100], onde A₀ era a absorbância do controle, e A₁ a absorbância da amostra. A concentração de extrato que promove a redução de 50% (CE₅₀) dos radicais ABTS foi calculada a partir do gráfico de atividade de captura do ABTS versus concentração do extrato.





Resultados e Discussão

A Tabela 01 mostra o rendimento, o conteúdo de compostos fenólicos totais solúveis e a capacidade antioxidante avaliada pelo método do ABTS dos nove extratos, sendo que, *H. fimbriatus* EF41 foi o que apresentou o maior conteúdo de fenólicos totais solúveis e de capacidade antioxidante.

Tabela 01. Rendimento, conteúdo de fenólicos totais solúveis e CE₅₀ (mg/mL) avaliado pelo método do ABTS nos extratos aquosos dos micélios de macrofungos avaliados neste estudo.

Macrofungos	Rendimento (%)	Fenólicos Totais (EAG) ^a	CE ₅₀ GraphPad ¹	CE ₅₀ GraphPad 4P ²	CE ₅₀ GraphPad 5P ³
<i>F. venustus</i> EF30	14,45 ± 1,55	8,60 ± 0,79	0,193 ^{b,d}	0,113 ^{f,g}	0,363 ^{i,k}
<i>H. fimbriatus</i> EF41	15,30 ± 1,10	25,85 ± 0,45	0,119 ^{b,c}	0,0955 ^{f,g}	0,0992 ^{i,k}
<i>H. fimbriatus</i> EF44	8,75 ± 1,45	14,58 ± 1,05	0,215 ^{a,c}	0,1701 ^{e,h}	0,2161 ^{i,l}
<i>I. splitgerberi</i> EF46	3,85 ± 0,05	4,47 ± 0,30	0,246 ^{b,c}	0,2094 ^{f,h}	0,2395 ^{i,l}
<i>L. boryana</i> EF48	13,95 ± 3,95	6,51 ± 0,23	0,248 ^{b,c}	0,1771 ^{f,h}	~0,4025 ^{i,l}
<i>O. canarij</i> EF72	9,85 ± 0,45	12,86 ± 1,18	0,181 ^{b,d}	0,1324 ^{f,h}	0,2320 ^{i,l}
<i>Perenniporia</i> sp EF79	11,35 ± 0,05	4,18 ± 0,37	0,360 ^{b,d}	0,3403 ^{f,h}	~0,7723 ^{i,l}
<i>P. linteus</i> EF81	9,85 ± 0,05	6,38 ± 0,30	0,399 ^{b,d}	0,3161 ^{f,h}	~0,6856 ^{i,l}
<i>P. albidus</i> EF84	17,85 ± 2,05	16,67 ± 1,34	0,363 ^{a,c}	0,3092 ^{e,g}	0,4615 ^{i,k}

*Resultados expressos em µg de equivalentes de ácido gálico por mg de extrato; ¹ GraphPad regressão linear; ² GraphPad log (inibidor) vs. modelo de resposta normalizada (inclinação variável); ³ GraphPad modelo de regressão cinco parâmetros; ^a CE₅₀ não difere estatisticamente (p>0,05) em relação ao CE₅₀ do GraphPad 4P; ^b CE₅₀ difere estatisticamente (p<0,05) em relação ao CE₅₀ do GraphPad 4P; ^c CE₅₀ não difere estatisticamente (p>0,05) em relação ao CE₅₀ do GraphPad 5P; ^d CE₅₀ difere estatisticamente (p<0,05) em relação ao CE₅₀ do GraphPad 5P; ^e CE₅₀ não difere estatisticamente (p>0,05) em relação ao CE₅₀ do GraphPad; ^f CE₅₀ difere estatisticamente (p<0,05) em relação ao CE₅₀ do GraphPad; ^g CE₅₀ não difere estatisticamente (p>0,05) em relação ao CE₅₀ do GraphPad 5P; ^h CE₅₀ difere estatisticamente (p<0,05) em relação ao CE₅₀ do GraphPad 5P; ⁱ CE₅₀ não difere estatisticamente (p>0,05) em relação ao CE₅₀ do GraphPad; ^j CE₅₀ difere estatisticamente (p<0,05) em relação ao CE₅₀ do GraphPad; ^k CE₅₀ não difere estatisticamente (p>0,05) em relação ao CE₅₀ do GraphPad 4P; ^l CE₅₀ difere estatisticamente (p<0,05) em relação ao CE₅₀ do GraphPad 4P.

O cálculo do CE₅₀ geralmente é realizado através da análise por regressão linear dos dados obtidos em porcentagem de inibição dos radicais pela concentração do extrato estudado. Porém, evidências mostram que nem





sempre há uma relação linear entre a concentração do antioxidante e a captura do radical, causando assim, um problema para a determinação da CE_{50} . Neste estudo foi realizada a análise dos dados por regressão linear e por regressão não linear através de duas análises: log (inibidor) versus resposta normalizada (inclinação variável) e assimétrica (cinco - parâmetros), conforme Chen et. al (2013). No caso de alguns cogumelos os valores encontrados nos dois tipos de regressão não linear foram precisos. Diferentemente, alguns extratos não apresentaram este perfil, significando que a regressão linear simples é a melhor forma de se encontrar a CE_{50} para os antioxidantes presentes. Para aqueles extratos que apresentaram leve tendência à formação de curva, a análise de quatro parâmetros se mostrou mais adequada que a de cinco parâmetros.

Conclusões

Os dados obtidos mostram que os cogumelos avaliados podem servir de fontes antioxidantes na alimentação com destaque para *H. fimbriatus* EF41. A atividade antioxidante testada sobre o radical ABTS mostrou baixos valores de CE_{50} , quando regressão linear simples foi usada para cálculo deste valor.

Agradecimentos

Ao CNPq pela bolsa de IC concedida a M. de Azevedo.

Referências

CHEN, Z.; BERTIN, R.; FROLDI G. EC_{50} estimation of antioxidant activity in DPPH: assay using several statistical programs. **Food Chemistry**, v. 138, n. 1, p. 414 - 420, 2013.

IVANOVA T. S.; KRUPODOROVA T. A.; BARSHEYN V. Y.; ARTOMONOVA A. B., SHLYAKHOVENKO V. A. Anticancer substances of mushroom origin. **Experimental Oncology**, v. 36, n. 2, p. 58 - 66, 2014.

RECZEK C. R. & CHANDEL N. S. ROS – dependent signal transduction. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 33, n. 8, p. 8 - 13, 2015.

