

## CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE LIPÍDIOS NEUTROS A PARTIR DO CULTIVO DE *Lentinus crinitus*

Luma Hikaru Namiki<sup>1</sup> (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Regina Aparecida Correia Gonçalves<sup>1</sup>, José Eduardo Gonçalves<sup>2</sup>, José Rivaldo dos Santos Filho<sup>1</sup> (Coorientador), Arildo José Braz de Oliveira<sup>1</sup> (Orientador), email: [ajboliveira@uem.br](mailto:ajboliveira@uem.br)

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

<sup>2</sup>Programa de Mestrado em Tecnologias Limpas e Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação – ICETI. Centro Universitário de Maringá.

### Farmácia - Farmacognosia

**Palavras-chave:** Palavras-chave: *Lentinus crinitus*; lipídios neutros; ácidos graxos.

### Resumo:

*Lentinus crinitus* (L.) Fr. é um basidiomiceto comestível encontrado em diversas regiões brasileiras, sendo nativo em Umuarama, estado do Paraná. Seus compostos podem ser utilizados no preparo de diversos produtos. Este trabalho objetivou fracionar e caracterizar quimicamente os lipídios neutros a partir de corpos de frutificação de *Lentinus crinitus*. Para isso foram utilizadas diferentes técnicas cromatográficas como: cromatografia em coluna e cromatografia em fase gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM). Foram identificados na fração contendo os lipídios neutros 22 ácidos graxos, sendo 10 insaturados correspondendo à  $60,57 \pm 0,26\%$ , e 12 saturados, que correspondem à  $39,43 \pm 0,32\%$  dos ácidos graxos totais. Os resultados demonstraram eficiência nos métodos de separação e caracterização química dos lipídios neutros dos corpos de frutificação do *Lentinus crinitus*.

### Introdução

*Lentinus crinitus* (L.) Fr. é um basidiomiceto comestível (*Polyporaceae*), com aplicações medicinais, nutricionais e biotecnológicas (NIEBISCH et al., 2010). É nativo em Umuarama no estado do Paraná (ALMEIDA et al., 2018). Seus compostos podem ser utilizados na preparação de alimentos, cosméticos, e também aplicações farmacêuticas. Este trabalho tem como objetivo isolar, fracionar e caracterizar quimicamente os lipídios neutros a partir de corpos de frutificação de *Lentinus crinitus*.

### Materiais e métodos

### *Extração dos lipídios totais*

Os corpos de frutificação de *Lentinus crinitus* foram cultivados e obtidos no Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Paranaense do Paraná (UNIPAR). O material liofilizado (5 g) de *Lentinus crinitus* foi extraído por maceração por 24 h com 100 mL de isopropanol frio, seguido de re-extração com 100 mL de solução de clorofórmio-metanol (2:1, v/v) por maceração por 24 h. Ambas as frações foram reunidas e os solventes foram evaporados, produzindo o extrato lipídico bruto (EBL; Lipídios totais) (JACOMINI et al., 2015).

### *Obtenção dos lipídios neutros, esterificação e análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM)*

O extrato de lipídios totais foi fracionado por cromatografia em coluna (CC) (JACOMINI et al., 2015, com modificações), usando uma coluna de vidro que continha 10 g de sílica gel 60 (malha 70–230, Merck). Foram utilizados 150 mL clorofórmio, acetona e metanol para a eluição das três frações: lipídios neutros (LNs), glicolipídios (GLs) e fosfolipídios (FLs), respectivamente. Os solventes foram evaporados em evaporador rotativo a 40 °C. A amostra contendo os LNs foi estocada em congelador (-20 °C) até o momento das análises. O EBL e os LNs foram convertidos em ésteres metílicos de ácidos graxos por transesterificação (JACOMINI et al., 2015). Posteriormente foram diluídos em hexano e analisados por CG/EM, pelo professor Dr. José Eduardo Gonçalves, no Laboratório Interdisciplinar de Análises Biológicas e Químicas (LIABQ; UNICESUMAR). Os experimentos foram realizados em triplicata e expressos como média  $\pm$  desvio padrão (DP), sendo analisados estatisticamente por ANOVA seguido pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), utilizando o software SISVAR versão 5.3.

## **Resultados e Discussão**

Posterior a injeção no equipamento cada fração gerou um cromatograma que foi analisado e comparado a padrões de ácidos graxos. Por meio do cálculo de integração foi possível estimar a quantidade de ácidos graxos predominantes nos extratos de *L. crinitus*. Os dados foram apresentados em porcentagem relativa de cada ácido graxo em relação aos ácidos graxos totais, observados abaixo, na tabela 1. No extrato bruto lipídico (EBL) foram identificados 18 ácidos graxos, 7 deles sendo do tipo saturado e 11 do tipo insaturado. Entre os saturados foram identificados os seguintes ácidos graxos: ácido mirístico (C14:0), ácido pentadecanóico (C15:0), ácido palmítico (C16:0), ácido heptadecanóico (C17:0), ácido esteárico (C18:0), ácido heneicosanóico (C21:0) e o ácido lignocérico (C24:0). Quanto aos ácidos graxos insaturados foi observado a presença dos seguintes ácidos graxos: ácido  $\gamma$ -linolênico (C18:3n3), ácido  $\alpha$ -linolênico (C18:3n6), ácido erúxico (C22:1n9), ácido *cis*-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico (C22:6n3),

ácido *cis*-11-eicosanóico (C20:1n9c), ácido *cis*-11,14-eicosadienoico (C20:2), ácido palmitoleico (C16:1), ácido *cis*-10-heptadecanoico (C17:1), ácido Linoleico (C18:2n6c), ácido oleico (C18:1n9c) e o ácido elaídico (C18:1n9t). Nos LNs foram identificados 22 ácidos graxos (12 saturados e 10 insaturados), sendo que 17 deles também estavam presentes no EBL e 5 foram observados somente nos LNs, sendo eles: o ácido tridecanóico (C13:0), ácido araquídico (C20:0), ácido beênico (C22:0), ácido tricosanóico (C23:0) e o ácido pentacosanóico (C25:0)

**Tabela 1.** Comparação da Quantificação relativa dos ésteres metílicos de ácidos graxos (QR<sub>EMAG</sub>) por CG/EM, do Extrato Bruto Lipídico e dos Lipídios Neutros de *Lentinus crinitus*

Substância	t <sub>R</sub>	EBL (%)	LNs (%)
Ácido Tridecanóico (C13:0)	12,74	-	0,24 ± 0,02 <sup>a</sup>
Ácido Mirístico (C14:0)	13,13	0,74 ± 0,03 <sup>b</sup>	1,15 ± 0,0 <sup>a</sup>
Ácido Pentadecanóico (C15:0)	14,50	0,89 ± 0,53 <sup>b</sup>	2,45 ± 0,38 <sup>a</sup>
Ácido Palmitoleico (C16:1)	15,81	0,74 ± 0,03 <sup>b</sup>	1,20 ± 0,21 <sup>a</sup>
Ácido Palmítico (C16:0)	16,29	11,60 ± 0,36 <sup>b</sup>	16,64 ± 0,81 <sup>a</sup>
Ácido <i>cis</i> -10-Heptadecanoico (C17:1)	18,24	0,74 ± 0,04 <sup>a</sup>	-
Ácido Heptadecanóico (C17:0)	21,29	0,74 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,37 ± 0,0 <sup>b</sup>
Ácido Linoleico (C18:2n6c)	21,54	70,22 ± 0,40 <sup>a</sup>	8,52 ± 1,08 <sup>b</sup>
Ácido Oleico (C18:1n9c)	21,77	7,77 ± 0,21 <sup>a</sup>	5,17 ± 0,14 <sup>b</sup>
Ácido Elaídico (C18:1n9t)	22,69	0,81 ± 0,06 <sup>a</sup>	0,61 ± 0,06 <sup>b</sup>
Ácido Esteárico (C18:0)	26,13	0,74 ± 0,03 <sup>b</sup>	3,57 ± 0,12 <sup>a</sup>
Ácido <i>cis</i> -11,14 - eicosadienoico (C20:2)	26,46	0,96 ± 0,14 <sup>a</sup>	0,50 ± 0,13 <sup>b</sup>
Ácido <i>cis</i> -11-eicosanóico (C20:1n9c)	18,95	0,40 ± 0,41 <sup>a</sup>	0,24 ± 0,01 <sup>a</sup>
Ácido Araquídico (C20:0)	26,85	-	0,70 ± 0,08 <sup>a</sup>
Ácido Heneicosanóico (C21:0)	28,4	0,45 ± 0,33 <sup>b</sup>	11,20 ± 0,54 <sup>a</sup>
Ácido <i>cis</i> - 4,7,10,13,16,19 – docosahexaenoico (C22:6n3)	28,64	0,56 ± 0,15 <sup>b</sup>	3,09 ± 0,09 <sup>a</sup>
Ácido γ - linolênico (C18:3n3)	28,92	0,74 ± 0,02 <sup>b</sup>	16,45 ± 0,54 <sup>a</sup>
Ácido α - linolênico (C18:3n6)	29,07	0,92 ± 0,13 <sup>b</sup>	14,76 ± 0,44 <sup>a</sup>
Ácido Erúico (C22:1n9)	29,67	0,73 ± 0,02 <sup>b</sup>	9,04 ± 0,23 <sup>a</sup>
Ácido Beênico (C22:0)	30,13	-	0,78 ± 0,12 <sup>a</sup>
Ácido Tricosanóico (C23:0)	32,31	-	0,16 ± 0,14 <sup>a</sup>
Ácido Lignocérico (C24:0)	35,31	0,88 ± 0,22 <sup>b</sup>	1,44 ± 0,04 <sup>a</sup>
Ácido Pentacosanóico (C25:0)	39,04	-	0,71 ± 0,08 <sup>a</sup>
Total ácidos graxos saturados (AGS)		16,07 ± 0,80 <sup>b</sup>	39,43 ± 0,32 <sup>a</sup>
Total ácidos graxos insaturados (AGI)		83,93 ± 0,99 <sup>a</sup>	60,57 ± 0,26 <sup>b</sup>

t<sub>R</sub>=Tempo de retenção

Em relação aos ácidos graxos saturados, foi observado que a quantidade total é maior nos LNs quando comparado ao EBL, sendo 39,43 ± 0,32 % e 16,07 ± 0,80 %, respectivamente. Foram encontrados no EBL e LNs concentrações elevadas do ácido graxo saturado palmítico com 11,60 ± 0,36% e 16,64 ± 0,81%, respectivamente. Além deste, foi encontrado nos LNs grandes quantidades do ácido graxo saturado heneicosanoico (C21:0)

com  $11,20 \pm 0,54$  %. No EBL verificou-se um predomínio dos ácidos graxos insaturados, correspondendo a  $83,93 \pm 0,99$ , tendo um predomínio do ácido poli-insaturado linoleico com  $70,22 \pm 0,40\%$  e do ácido monoinsaturado oleico com  $7,77 \pm 0,21$ . Para os LNs, os ácidos graxos monoinsaturados encontrados em maiores concentrações foram: o ácido erúcido com  $9,04 \pm 0,23$  % e o ácido oleico com  $5,17 \pm 0,14\%$ . Os graxos poli-insaturados  $\alpha$ -linolênico e  $\gamma$ -linolênico foram encontrados em elevadas porcentagens nos LNs, com  $14,76 \pm 0,44$  % e  $16,45 \pm 0,54$ , respectivamente, sendo seguido pelo ácido poli-insaturado linoleico com  $8,52 \pm 1,08\%$ .

## Conclusões

Os resultados obtidos permitiram concluir que o fracionamento e caracterização química dos lipídios neutros presentes nos corpos de frutificação de *L. crinitus* foi realizada com sucesso, possibilitando avaliar a composição e realizar a quantificação relativa dos ácidos graxos presentes.

## Agradecimentos

Ao CNPq, Capes e Fundação Araucária pelo apoio financeiro. Ao meu orientador, Prof. Dr. Arildo José Braz de Oliveira, e ao meu co-orientador, Me. José Rivaldo dos Santos Filho, pelo suporte e auxílio para o desenvolvimento deste projeto. A Prof. Dr. Regina Aparecida Correia Gonçalves e todo grupo LABIPROS, e ao Professor José Eduardo Gonçalves, coordenador do LIABQ. Por fim, agradeço a Universidade Estadual de Maringá (UEM) e a Universidade Paranaense do Paraná (UNIPAR).

## Referências

ALMEIDA, P. H. et al. Decolorization of remazol brilliant blue R with laccase from *Lentinus crinitus* grown in agro-industrial by-products. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, p. 3463-3473, 2018.

JACOMINI, D. et al. Lipid profile and antiproliferative activity of callus cultures of *Cereus peruvianus* Mill. **Industrial Crops and Products**, v. 69, p. 408-414, 2015.

NIEBISCH, C. H. M. et al. Decolorization and biodegradation of reactive blue 220 textile dye by *Lentinus crinitus* extracellular extract. **Journal of hazardous materials**, v. 180, n. 1-3, p. 316-322, 2010.