

Potencial antioxidante e teor de compostos fenólicos em fungos do gênero *Pleurotus* sp.

Antioxidant potential and phenolic compound content in fungals of genre *Pleurotus* sp.

RESUMO

O objetivo de presente trabalho foi validar o cultivo de três espécies de cogumelos do gênero *Pleurotus* sp. em diversos tipos de substratos e em diversas concentrações, além de quantificar as massas dos corpos de frutificação no primeiro ciclo de cultivo para determinar a eficiência biológica e validar e avaliar o método de determinação do potencial antioxidante. Foi utilizado três linhagens de cogumelos, comumente chamado de shimeji-preto (SP), shimeji-branco (SB) e o *Pleurotus djamor* (PD). Foi feito seis testes de crescimento que tiveram como base de cepilho de *Pinus elliottii* suplementado com farelo de trigo; Bagaço da maçã; Milho em grão; Borra de café; Serragem, Extrato com Farelo de Trigo e Casca de Trigo Sarraceno; Serragem, suplemento com farelo de trigo, casca de trigo sarraceno e melhorador do pão da marca Fleishman. Para todos os testes foi completado com calcário de concha e gesso. Todos os testes foram submetidos a uma verificação da eficiência biológica, sendo que o substrato com base em *Pinus elliottii* foi encontrado com o melhor conteúdo biológico. Foi escolhido o substrato com base de *Pinus elliottii* e a cepa de shimeji-branco para análise de potencial antioxidante que em termos de IC50 foi de 0,109mg/mlDPPH.

PALAVRAS-CHAVE: Antioxidante. Fungos. Produtividade. Resíduos.

ABSTRACT

The objective of this work was to validate the cultivation of three species of mushrooms of the genus *Pleurotus* sp. in different substrate types and in different concentrations, besides quantifying the fruiting body masses in the first cultivation cycle to determine the biological efficiency and to validate and evaluate the antioxidant potential determination method. Three mushroom strains were used, commonly called blue-oyster (SP), grey-oyster (SB) and *Pleurotus djamor* (PD). Six growth tests were carried out based on *Pinus elliottii* cepillo supplemented with wheat bran; Apple pomace; Corn in grain; Coffee grounds; Sawdust, Wheat Bran Extract and Buckwheat Bark; Sawdust, wheat bran supplement, buckwheat hull and Fleishman bread improver. For all tests was completed with shell limestone and plaster. All tests were subjected to a biological efficiency check, and the *Pinus elliottii* based substrate was found to have the best biological content. The substrate based on *Pinus elliottii* and the grey-oyster strain was chosen for antioxidant potential analysis which in IC50 was 0.109mg / mlDPPH.

KEYWORDS: Antioxidant. Fungi. Productivity. Waste.

Leandro Inagaki Oshiro

leandro.i.oshiro@hotmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Ponta Grossa, Ponta Grossa, Paraná, Brasil.

Alessandra Cristine Novak

Sydney
alessandrac@utfpr.edu.com.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Ponta Grossa, Ponta Grossa, Paraná, Brasil.

Adriane Almeida Gonçalves

adrianealmeida@hotmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Ponta Grossa, Ponta Grossa, Paraná, Brasil.

Recebido: 19 ago. 2019.

Aprovado: 01 out. 2019.

Direito autorial: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



INTRODUÇÃO

O Brasil é um país agrário sendo um dos maiores produtores de produtos agrícolas mundialmente. Segundo o IBGE, a safra nacional para cereais, leguminosas e oleaginosas totalizou cerca de 226,5 milhões de toneladas em 2018 (IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA), 2019). A usual destinação dos resíduos agrícolas, as biomassas, geralmente é a queima, sendo que na produção da cana de açúcar cerca de 95% do bagaço é utilizada como combustível para fornalhas (CACURO; WALDMAN, 2015). Novas destinações às biomassas geradas por essas indústrias agropecuárias podem ser exploradas, a fim de agregar valor através de uma bioconversão de microrganismos, principalmente do reino *fungi* (FIGUEIRÓ; GRACIOLLI, 2011).

Os fungos são os recicladores de materiais biológicos da natureza, que por meio da produção de enzimas quebram e dissolvem diversos materiais biológicos (NWE; FURUIKE; TAMURA, 2011). Dentre dos diversos fungos existentes, destaca-se os basidiomicetos pertencentes às ordens Agaricales e Polyporales, que nos quais, os mecanismos de digestão de consiste em produção de enzimas extracelulares oxidativas (lacases e peroxidases), que convertem materiais insolúveis em solúveis para que as hifas do dito basidiomicetos possam usar como nutrientes (ABREU et al., 2007; NWE; FURUIKE; TAMURA, 2011).

Os fungos têm recebido muita atenção dos pesquisadores ultimamente, pelas suas propriedades nutraceuticas, sendo comprovados que possuem compostos antioxidantes, antitumorais, anti-hipertensivas, imunoestimulação, auxílio na redução de stress e bom para diabéticos, além de forma geral, têm baixos teores de gordura saturada e são fontes de fibras alimentares (BELLETTINI et al., 2016).

Os substratos obtidos para os testes do presente trabalho são gerados em diversos setores, desde caseiro até a agroindústria, que seriam descartados possivelmente de forma não sustentável, sendo assim damos uma destinação mais apropriada para esses resíduos gerados.

O fungo *Pleurotus ostreatus* é um fungo que possui um crescimento rápido em resíduos agroindustriais não compostados, além de ser caracterizado como um fungo de podridão branca pelo seu micélio ser branco (BELLETTINI et al., 2016), (ALANANBEH; BOUQELLAH; AL KAFF, 2014). Esse cogumelo, além da possibilidade de crescer em vários tipos de substratos, é rico em diversos minerais como fósforo, cálcio, ferro, potássio e sódio, além disso, é rico em proteínas e contém todos os aminoácidos essenciais para o ser humano adulto e contém glucanos que possuem atividades probióticas (YAMAUCHI et al., 2018), (SULISTIANY; SUDIRMAN; DHARMAPUTRA, 2016).

O presente trabalho visa avaliar o cultivo do cogumelo *Pleurotus ssp.* em diferentes resíduos agroindustriais com diferentes proporções entre eles, além de analisar o rendimento entre eles entre a produção do cogumelo e o substrato e analisar o potencial antioxidante da extração feita com o corpo de frutificação do cogumelo.

MATERIAIS E MÉTODOS

LINHAGENS

As cepas usadas para os experimentos foram as de *Pleurotus ostreatus* tanto as variedades comumente chamadas de Shimeji-preto (SP) como Shimeji-branco (SB) e do *Pleurotus djamor* (PD).

SUBSTRATOS

Para avaliação de crescimento micelial dos cogumelos, foram-se utilizados como principal via de nutrição do cogumelo os substratos com base de cepilho de *Pinus elliottii* (CP), bagaço da maçã (BM), borra de café (BC), milho em grão (MG), casca de trigo sarraceno (CTS) e serragem (S).

Para a suplementação, foi utilizado calcário de conchas (CC), gesso (G), farelo de trigo (FT) e melhorador de pão da marca Fleishman (MPF).

PRODUÇÃO DE CORPOS DE FRUTIFICAÇÃO

Todos os substratos foram padronizados com a umidade em base seca de 75% (BELLETTINI et al., 2016).

O Quadro 1 mostra as diferentes misturas realizadas, variando-se a composição percentual de cada componente.

Quadro 1. Composições dos substratos.

Número do teste	Composição do teste	Peso em cada saquinho (g)
Teste 1	78% CP, 20% FT, 1% CC e 1% G.	250g
Teste 2	98% BM, 1% CC e 1% G.	500g
Teste 3	98% MG, 1% CC e 1% G.	500g
Teste 4	98% BC, 1% CC e 1% G.	500g
Teste 5	68% S, 20% FT, 10% CTS, 1% CC e 1% G.	350g
Teste 6	67,5% S, 20% FT, 10% CTS, 1% CC, 1% G e 0,5% MPF.	350g

Fonte: Autoria própria (2019).

Todos os substratos foram esterilizados usando a autoclave (121°C) por 30 minutos. A inoculação foi feita com “sementes” previamente preparadas de SP, SB e PD e incubados em uma BOD a 25 °C por pelo menos 1 semana. Após o micélio ter tomado todo o substrato, fez-se uma incisão no saquinho em formato de “x”, que foi então colocado em condições de frutificação. No ambiente de frutificação é necessário que haja boa ventilação, incidência de luz média-baixa e alta umidade.

O cálculo da eficiência biológica (BE) foi realizado com a primeira frutificação usando a seguinte equação:

$$BE\% = \frac{\text{peso do corpo de frutificação}}{\text{peso molhado do substrato}} \times 100 \quad (1)$$

DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Para a determinação de atividade antioxidante, foi utilizado um método adaptado de DPPH proposto pela Embrapa (RUFINO et al., 2007).

A partir do extrato obtido, foi preparado em tubos de ensaio seis diluições diferentes em duplicata. Em ambiente escuro, foi transferida uma alíquota de 0,1 mL de cada diluição do extrato para tubos de ensaio com 3,9 mL da solução de DPPH e homogeneizado em agitador de tubos. Foi utilizado 0,1 mL da solução controle com 3,9 mL da solução de DPPH e homogeneizado. As leituras foram realizadas em 515nm.

Após a leitura, calcular para cada concentração testada a % de inibição obtida e gerar uma equação que descreva a tendência do comportamento da amostra. Utilizar a equação encontrada para encontrar o IC₅₀, que é a concentração de extrato que fornece inibição de 50% dos radicais livres gerados na reação do DPPH.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

PRODUÇÃO DE CORPOS DE FRUTIFICAÇÃO

Os testes de composição de substrato para produção das três cepas trabalhadas resultaria em um número muito grande de experimentos, e por isso escolheu-se selecionar apenas alguns testes de substrato por fungo estudado.

Com os corpos de frutificação coletados, foi possível medir a sua massa úmida e calcular as suas eficiências biológicas. A tabela 1 mostra a eficiência biológica obtida usando a equação (1).

Tabela 1. BE% dos substratos com cada cepa.

BE% dos substratos em cada cepa			
Substrato	SB	SP	PD
Teste1	13,9±4,5	11,5±3,2	17,1±DI
Teste2	10,5±1,1	DI	DI
Teste3	DI	6,6±3,5	DI
Teste4	2,8±1,1	4,7±0,8	DI
Teste5	11,8±3,5	11,0±0,8	DI
Teste6	11,7±1,9	DI	DI

Fonte: Autoria própria (2019).

Legenda: DI - dados insuficientes;

BE - Eficiência Biológica;

SB – Shimeji Branco;

SP – Shimeji Preto;

PD – *Pleurotus djamor*.

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A determinação de antioxidante foi realizada com uma das amostras em duplicata do Teste1 com a cepa de SB, procurando-se validar a metodologia para aprimorar os ensaios posteriormente.

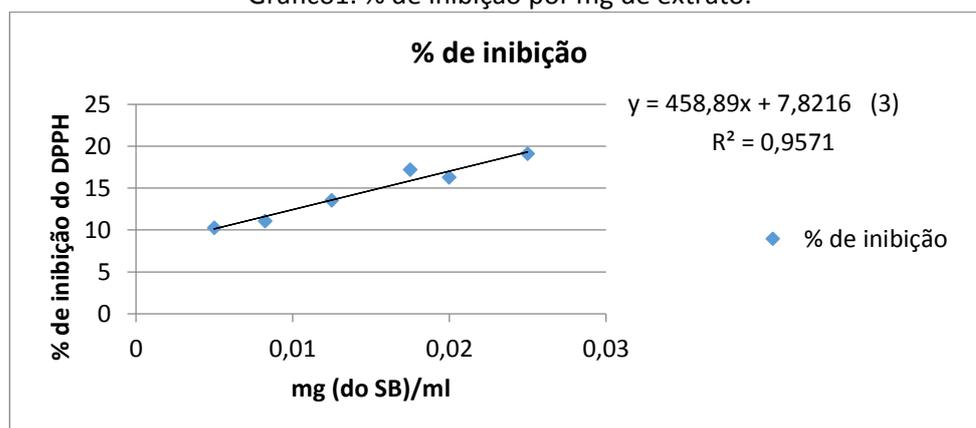
A absorbância inicial do da solução de DPPH medida á 515nm é de 1,364. A concentração de extrato que proporciona inibição dos radicais livres gerados pelo DPPH em 50% pode ser calculada pela equação (2).

$$\%inib.=\frac{AbsBranco-AbsAmostra}{AbsBranco} \quad (2)$$

Legenda: %inib – porcentagem de inibição;
AbsBranco – Absorbância do branco da amostra;
AbsAmostra – Absorbância da amostra.

Assim, calculando a porcentagem de inibição obtida em cada concentração testada possibilita a confecção da seguinte equação (3):

Gráfico1. % de inibição por mg de extrato.



Fonte: Autoria própria (2019).

A amostra obteve um IC_{50} de 0,109mg/ml_{DPPH}. Para discutir esse resultado, é importante salientar que quanto menor a concentração de IC_{50} de uma amostra, melhor é o seu potencial antioxidante, já que com uma quantidade menor de amostra inibe-se 50% dos radicais livres gerados na reação do DPPH. Isso indica que o valor obtido foi muito melhor do que em outros trabalhos similares, em que, por exemplo, encontrou-se um IC_{50} de 0,45mg/ml com outro cogumelo do gênero *Pleurotus* (SULISTIANY; SUDIRMAN; DHARMAPUTRA, 2016).

CONCLUSÕES

Foi possível testar inúmeras combinações de substrato e calcular as eficiências biológicas de produção de cogumelos versus diferentes substratos. Assim, dentro dos experimentos executados, pode-se dizer que para o shimeji-branco shimeji-preto e o *Pleurotus djamor* o melhor substrato foi o preparado à base de cepilho de *Pinus elliottii*, no entanto, recomenda-se que os demais testes que não foram realizados durante o período desse projeto sejam feitos, para que se possam encontrar as melhores composições de cultivo e obtenção de cogumelos possível.

Além disso, foi possível validar a metodologia de determinação de potencial antioxidante para os cogumelos, que mostrou um grande potencial antioxidante do shimeji branco cultivado em cepilho de *Pinus* com farelo de trigo além de mostrar um grande potencial antioxidante.

REFERÊNCIAS

- ABREU, L. D.; MARINO, R. H.; MESQUITA, J. B.; RIBEIRO, G. T.; SERGIPE, U. F. DE. Degradação Da Madeira De Eucalyptus Sp . Por podridão branca. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, p. 321–328, dez. 2007.
- ALANANBEH, K. M.; BOUQELLAH, N. A.; AL KAFF, N. S. Cultivation of oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* on date-palm leaves mixed with other agro-wastes in Saudi Arabia. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 21, n. 6, p. 616–625, 2014.
- BELLETTINI, M. B.; FIORDA, F. A.; MAIEVES, H. A.; TEIXEIRA, G. L.; ÁVILA, S.; HORNUNG, P. S.; JÚNIOR, A. M.; RIBANI, R. H. Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 2016.
- CACURO, T. A.; WALDMAN, W. R. Cinzas da queima de biomassa: aplicações e potencialidades. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 2154–2165, jul. 2015.
- FIGUEIRÓ, G. G.; GRACIOLLI, L. A. Influência da composição química do substrato no cultivo de *Pleurotus florida*. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 35, n. 5, p. 924–930, 2011.
- IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=72415>>.
- NWE, N.; FURUIKE, T.; TAMURA, H. Production, Properties and Applications of Fungal Cell Wall Polysaccharides: Chitosan and Glucan. **Advanced Computer Simulation Approaches For Soft Matter Sciences I**, n. September 2016, p. 188–203, 2011.
- RUFINO, M. DO S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. DE; MORAIS, S. M. DE; SAMPAIO, C. DE G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. In: **Comunicado Técnico 127**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007. p. 0–3.
- SULISTIANY, H.; SUDIRMAN, L. I.; DHARMAPUTRA, O. S. Production of Fruiting Body and Antioxidant Activity of Wild *Pleurotus*. **HAYATI Journal of Biosciences**, v. 23, n. 4, p. 191–195, 2016.
- YAMAUCHI, M.; SAKAMOTO, M.; YAMADA, M.; HARA, H.; MAT TAIB, S.; REZANIA, S.; MOHD FADHIL, M. D.; MOHD HANAFAI, F. H. Cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on fermented moso bamboo sawdust. **Journal of King Saud University - Science**, p. 0–4, 2018.