



## Produção de substâncias fenólicas no cultivo micelial submerso de *Pleurotus ostreatus*: avaliação de diferentes suplementos como elicitores

## Phenolic compounds production in submerged mycelial cultures of *Pleurotus ostreatus*: assessing different supplements as elicitors

Jhovana Schmidt Ceccon<sup>1</sup>, Francisco Menino Destéfani Vítola<sup>2</sup>

### RESUMO

*Pleurotus ostreatus* é um dos cogumelos mais consumidos e cultivados no Brasil. Seu custo e praticidade de cultivo instigam cultivadores iniciantes. Conhecido como Shimeji Branco e cogumelo-ostra, entre outras variações de nomes populares e apelidos carinhosos; possui grandes quantidades de nutrientes e vem sendo objeto de amplos estudos. Considerando isso, o presente trabalho propõe uma adaptação de meios de cultivo já conhecidos e usados nos meios científico e comercial, com o objetivo de alterar a concentração dos fenólicos totais apresentados ao final do cultivo, aumentando a produção. Esses fenólicos são de grande interesse na indústria de fármacos, por apresentarem papel relevante no desenvolvimento de medicamentos, como por exemplo seu potencial antioxidante. Embora já sejam produzidos esses ativos de formas sintéticas, há interesse de se obter novos produtos, de formas naturais, explorando diferentes compostos e atividades biológicas distintas. Nesse contexto, a facilidade adaptativa, praticidade de cultivo e sustentabilidade do *Pleurotus ostreatus* o tornam uma escolha promissora. A determinação da concentração de fenólicos totais foi realizada em triplicata e as médias foram comparadas utilizando análise de variância (ANOVA) seguida de pós-teste de Tukey. Dentre os suplementos testados, o que apresentou os melhores resultados foi o extrato de levedura, com uma concentração final de fenólicos totais equivalente a g/L de ácido gálico, um valor mais alto em relação ao controle, para um nível de significância de 5%.

**PALAVRAS-CHAVE:** Fenólicos totais. Meio de Cultivo. *Pleurotus ostreatus*.

### ABSTRACT

*Pleurotus ostreatus* is one of the most consumed and cultivated mushrooms in Brazil. Its cost-effectiveness and ease of cultivation inspire novice growers. Known as White Shimeji and oyster mushroom, among other variations of popular names and endearing nicknames, it boasts high nutrient content and has been the subject of extensive studies. In light of this, the present work proposes an adaptation of already known and utilized cultivation methods in both scientific and commercial contexts, aiming to alter the concentration of total phenolics produced at the end of the cultivation process, thereby increasing production. These phenolics are of great interest in the pharmaceutical industry due to their significant role in drug development, such as their antioxidant potential. While these active compounds are already produced synthetically, there is interest in obtaining new products in a natural way, exploring different compounds and distinct biological activities. In this context, the adaptability, ease of cultivation, and sustainability of *Pleurotus ostreatus* make it a promising choice. The determination of the concentration of total phenolics was performed in triplicate, and the means were compared using analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's post-test. Among the supplements tested, the one that yielded the best results was yeast extract, with a final concentration of total phenolics equivalent to g/L of gallic acid, a higher value compared to the control, with a significance level of 5%.

**KEYWORDS:** Total phenolics. Cultivation medium. *Pleurotus ostreatus*.

<sup>1</sup> Bolsista do Pró-Reitoria de Relações Empresariais e Comunitárias (PROREC). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: jho.ceccon@gmail.com. ID Lattes: 6297570594841700.

<sup>2</sup> Docente no Curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: franciscovitola@utfpr.edu.br. ID Lattes: 9000608840261334.



## INTRODUÇÃO

O Laboratório Vivo de Cultivo de Cogumelos (Lab Vivo), projeto de extensão da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, propõe uma experiência completa para os estudantes, podendo participar desde coleta até testes para aplicações biotecnológicas, além de ter contato direto com fungicultores, que trazem problemas enfrentados em seus cultivos e a visão de como é a produção em maior escala, possibilitando aprimoramento e troca de conhecimentos entre alunos integrantes do projeto e produtores.

Compostos fenólicos são conhecidos por seu potencial antioxidante. Pode-se destacar o uso de fenólicos na indústria dos fármacos. Dessa forma, por ter usos de interesse comercial na saúde humana, estes compostos vêm sendo muito estudados (SALAU et al., 2020; SHAHIDI & AMBIGAIPALAN, 2015).

A maior parte dos fenólicos usados hoje e comercializados são produzidos de forma sintética. Visto que, pode-se obter esses compostos de forma natural, há uma busca por essas substâncias na natureza, possibilitando explorar diferentes compostos e suas atividades biológicas específicas (KUMAR & GOEL, 2019).

Dessa forma, o presente estudo busca uma fonte alternativa natural de compostos fenólicos com o *Pleurotus ostreatus*, um fungo isolado a partir de um espécime oriundo de cultivo comercial, cultivado e agora estudado pelo projeto Lab Vivo. Os meios de cultivo foram variados para avaliar o efeito da adição de diferentes suplementos sobre o desenvolvimento micelial e a produção de compostos fenólicos.

## MATERIAL E MÉTODOS

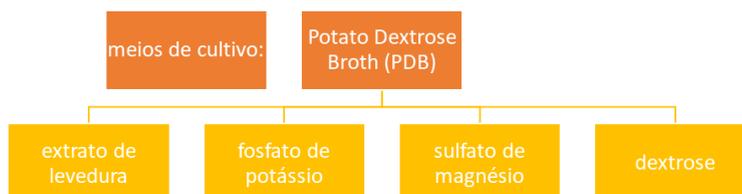
### 2.1 OBTENÇÃO E MANUTENÇÃO DE CULTURA

A cultura de *Pleurotus ostreatus* utilizada nos experimentos foi isolada a partir de um espécime fornecido pelo fungicultor Nathanael Dagostim (Cogumelos Vale do Chopim). O meio de cultivo utilizado para o isolamento e a manutenção do micélio foi Batata Dextrose Ágar (BDA). O desenvolvimento micelial foi realizado em estufa microbiológica a 25°C e a conservação, em geladeira a 10°C, na ausência de luz.

### 2.2 PREPARO DOS MEIOS DE CULTIVO

Como meio de cultivo para a produção de fenólicos foi utilizado *Potato Dextrose Broth* (PDB) com a adição de suplementos variados, como sugere o diagrama abaixo:

Diagrama 01



Fonte: a autora (2023).



Como controle foi utilizado o meio PDB sem adições e modificações, assim conseguindo ter um parâmetro de comparação para os resultados avaliados e se realmente mudanças no meio interferiram nos fenólicos obtidos.

### 2.3 CULTIVO MICELIAL SUBMERSO

Frascos Erlen-Meyer de 250 mL contendo 125 mL de meio de cultivo foram autoclavados a 120 °C por 20 minutos, e na sequência foram inoculados com fragmentos de micélio de culturas puras de *Pleurotus ostreatus*, em câmara de fluxo laminar.

Os meios inoculados foram mantidos em incubadora com agitação orbital (“shaker”), a 120 rpm por 28 horas, e após isso cultivados, de maneira estática, dentro de incubadora BOD (biochemical oxygen demand). As duas etapas foram conduzidas a 25 °C. Após 15 dias, com os micélios já desenvolvidos, foram coletadas amostras dos caldos de cultivo para análise de fenólicos totais.

### 2.4 DETERMINAÇÃO NA CONCENTRAÇÃO DE FENÓLICOS TOTAIS

A análise da concentração de fenólicos totais nas amostras seguiu o método de Folin-Ciocalteu adaptado de Lazzarotto et al. (2020), havendo alteração na solução estoque, que foi diluída na proporção 1:5. Posteriormente, foram feitos nove pontos em uma curva-padrão com diferentes diluições de ácido gálico, na faixa de 1 a 9 mg/L.

Para cada reação foram utilizados 20 uL de amostra/padrão, 100 uL do reagente de Folin e 300 uL de uma solução de carbonato de sódio com concentração de 200g/L. O tempo de reação foi de 30 minutos, na ausência de luz.

Todas as amostras e padrões foram analisados em triplicata. As absorbâncias para o comprimento de onda de 600 nm foram determinadas por espectrofotometria.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

As mudanças de meios no cultivo de *Pleurotus ostreatus* apresentaram resultados surpreendentes e valiosos em relação à quantidade de compostos fenólicos obtidos no final. Os resultados de absorbância para os diferentes tratamentos foram comparados por análise de variância (ANOVA) seguido de teste de Tukey (Tabela 01).

Tabela 01

Tratamento	Média	Desvio padrão
C	0,206 (b)	0,004
1	0,209 (b)	0,034
2	0,245 (ab)	0,039
3	0,305 (a)	0,031
4	0,189 (b)	0,026

Fonte: a autora (2023)

\*\*Médias com letras minúsculas iguais subscritas não diferem ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.



Foi utilizada a equação da curva-padrão, como representado abaixo, para estimar a concentração de fenólicos totais nas amostras de caldos fermentados:

$$y = 7,61 * x + 0,182 \quad (1)$$

Onde y é a absorbância em 600 nm e x é a concentração de ácido gálico (g/L). Os dados resultaram num  $R^2=0,938$ . Os resultados foram expressos em equivalentes de ácido gálico (mg/L de EAG).

O controle foi usado como base para comparações e verificar a eficácia do método. O suplemento que apresentou melhores resultados em relação à produção de compostos fenólicos foi o extrato de levedura, com uma média de equivalência à ácido gálico de 16,163 mg/L, enquanto os demais se aproximam do controle, com equivalência média de 3,109 mg/L não apresentando diferenças significativas.

Isso aponta que mudanças nos meios de cultivo trazem diferenças significativas nos resultados finais de fenólicos e podem ser melhor estudados e lapidados para obtenção de resultados eficientes para os cogumelos substituírem químicos já usados. Estes estudos serão compartilhados com fungicultores regionais, podendo auxiliar na escolha de suplementos mais eficientes para o cultivo e favorecer os consumidores finais, com produtos de qualidade superior.

#### 4. AGRADECIMENTOS

Primeiramente preciso agradecer a minha família, por todo o amor comigo até aqui. Sempre irei lembrar de todo o esforço que tiveram nessa jornada, se hoje eu estou aqui é por vocês. Obrigada pelo incessante apoio.

Agradeço a Pró-Reitoria de Relações Empresariais e Comunitárias (PROREC) pelo fomento de bolsas e por desfrutar da pesquisa com auxílio financeiro. Também, a UTFPR por ser uma instituição que busca preparar profissionais com muitas experiências para o mercado de trabalho, sempre se preocupando com as necessidades de um graduando.

Não posso deixar de citar o professor e doutor Francisco Vítola, por ser um profissional e orientador que além de passar seus conhecimentos e me guiar dentro da jornada como pesquisadora, é uma pessoa inspiradora de muitos princípios. É uma honra ser sua orientada.

#### 5. CONFLITO DE INTERESSE

Não existem conflitos de interesse.

#### 6. REFERÊNCIAS

COIMBRA, E, Compostos fenólicos totais, flavonoides e atividade antioxidante de extratos metanólicos de Senna rugosa. **monografia** - Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019. Disponível em:

<https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/28057/1/trubpotencialingredientecosmeticos.pdf>. Acesso em: 04 jun. 2022.



KUMAR, N., & GOEL, N Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. **Biotechnology Reports**, 24, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00370>. Acesso em: 22 mar. 2023.

KULSHRESHTHA, Shweta; MATHUR, Nupur; BHATNAGAR, Pradeep. Mushroom as a product and their role in mycoremediation. **AMB Express**, v. 4, p. 29, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1186%2Fs13568-014-0029-8>. Acesso em: 20 set. 2022.

LAZZAROTTO, Simone Rosa da Silveira et al. Método de Folin Ciocalteau adaptado para quantificar polifenóis em extratos de erva-mate. **Revista Movimenta**, 2020. Disponível em: <https://www.revista.ueg.br/index.php/movimenta/article/view/10885>. Acesso em: 13 jun. 2022.

SALAU, V.F., ERUKAINURE, O.L., & ISLAM, M.S.. Phenolics: therapeutic applications against oxidative injury in obesity and type 2 diabetes pathology, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815972-9.00029-9>. Acesso em: 06 fev. 2023.

SHAHIDI, F., & AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. **Journal of Functional Foods**, 18, 820-897, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>. Acesso em: 14 mar. 2023.