

ANÁLISE DE COMPOSTOS DE FENÓLICOS EM EXTRATO DE *Ganoderma lucidum*

Mateus Henrique da Silva MANZONI, Silvia Maria Batista de SOUZA
mateushenriquemanzoni@gmail.com, souzasmb@femanet.com.br

RESUMO:

O *Ganoderma lucidum* é um cogumelo utilizado há muitos anos pela medicina oriental na forma de extrato concentrado. Atualmente, os estudos demonstram que o extrato de *Ganoderma lucidum* possui substâncias bioativas com grande potencial para o desenvolvimento de novos fármacos e produtos nutracêuticos. O *Ganoderma lucidum*, assim como outros cogumelos, contém em sua parede celular, substâncias funcionais importantes, destacando-se, as β -glucanas, compostos fenólicos e os triterpenóides. Existem relatos na literatura de que seus compostos agem no sistema imunológico e nas vias bioquímicas, alterando a resposta celular, principalmente, em relação às suas atividades antitumorais, imunomoduladoras, hepatoprotetoras e anti-hipertensiva. Este trabalho tem por objetivo a quantificação de compostos fenólicos totais em extrato concentrado de *Ganoderma lucidum*. A quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada através do método adaptado de Folin-Ciocalteu descrita por SINGLETON & ROSSI (1976). Os resultados das análises dos compostos fenólicos demonstraram que o extrato bruto 1 apresentou 6,00 mgEAG por mL de extrato e o extrato bruto 2 apresentou 7,43 mgEAG por mL de extrato, sendo esses resultados um indicativo da propriedade antioxidante desse cogumelo. A concentração dos compostos fenólicos no extrato dependerá diretamente dos métodos de cultivo, das condições de cultivo, dos métodos de extração e dos solventes utilizados.

PALAVRAS-CHAVE: Cogumelos; Ganoderma; Compostos fenólicos.

ABSTRACT:

Ganoderma lucidum is a mushroom used for many years by Eastern medicine in the form of concentrated extract. Currently, studies show that *Ganoderma lucidum* extract has bioactive substances with great potential for the development of new drugs and nutraceutical products. *Ganoderma lucidum*, like other mushrooms, contains important functional substances in its cell wall, notably β -glucan, phenolic compounds and

triterpenoids. There are reports in the literature that its compounds act in the immune system and biochemical pathways, altering the cellular response, mainly, in relation to its antitumor, immunomodulatory, hepatoprotective and antihypertensive activities. This work aims at quantifying total phenolic compounds in *Ganoderma lucidum* concentrated extract. The quantification of total phenolic compounds was performed using the Folin-Ciocalteu adapted method described by SINGLETON & ROSSI (1976). The results of the analysis of phenolic compounds showed that crude extract 1 was 6,00 mgEAG per mL of extract and crude extract 2 was 7,43 mgEAG per mL of extract. These results are indicative of the antioxidant property of this mushroom. The concentration of phenolic compounds in the extract will depend directly on the cultivation methods, cultivation conditions, extraction methods and solvents used.

KEYWORDS: Mushrooms; Ganoderma; Phenolic compounds.

1. Introdução

Os cogumelos comestíveis possuem várias propriedades medicinais. Entre os cogumelos comestíveis pode-se citar o *Ganoderma lucidum* que é um cogumelo Basidiomiceto utilizado oficialmente como suplemento alimentar nos Estados Unidos há mais de 7 anos (American Herbal Pharmacopoeia” April – 2006). O *Ganoderma lucidum*, assim como outros cogumelos, contém em sua parede celular, substâncias funcionais importantes, destacando-se as β -glucanas, compostos fenólicos e os triterpenóides (BOH et al, 2007). Atualmente, estudos demonstram que as substâncias presentes no extrato de *Ganoderma lucidum* apresentam grande potencial para o desenvolvimento de novos fármacos e produtos nutracêuticos. Existem ainda relatos na literatura de que seus compostos agem no sistema imunológico e nas vias bioquímicas, alterando a resposta celular, principalmente, em relação às suas atividades antitumorais, imunomoduladoras, hepatoprotetoras e anti-hipertensiva (SANODIYA et al, 2009).

1.1. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são caracterizados como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seu grupo funcional, podendo ser ésteres, ésteres metílicos e glicosídeos, conforme exemplo do ácido gálico apresentado na figura 1 (SARTORI, 2012).

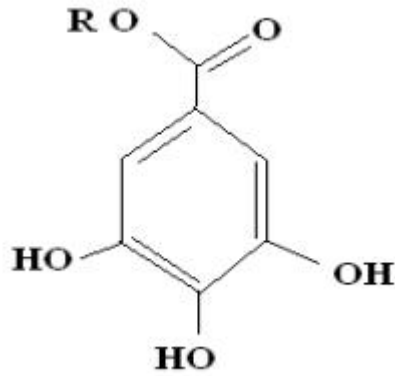


Figura 1: Estrutura do ácido gálico (BARBOSA, 2010)

Os compostos fenólicos fazem parte de um grupo diverso de moléculas classificadas como metabólitos secundários em plantas. Eles podem ser classificados em compostos solúveis em água (ácidos fenólicos, fenilpropanóides, flavonóides e quinonas) e compostos insolúveis em água (taninos condensados, lignina e ácidos hidroxicinâmicos) (RISPAIL; MORRIS; WEBB, 2005). Essas substâncias são sintetizadas durante o desenvolvimento natural da planta, bem como em resposta a diferentes situações, como por exemplo, estresse e radiação ultravioleta, entre outras (NACZK; SHAHIDI, 2004). Muitos dos métodos disponíveis para quantificação dos compostos fenólicos totais em produtos alimentícios ou amostras biológicas são baseados na reação dos compostos fenólicos com um agente colorimétrico, que permite mensuração na fração visível do espectro (MAGALHÃES et al. 2006). Sabe-se ainda que as diferentes formas e condições de extração podem afetar não somente a quantidade de compostos fenólicos extraídos da matriz, mas também, conseqüentemente, a atividade antioxidante resultante (SILVA, 2016).

1.1.1. Efeitos biológicos dos compostos fenólicos

São descritos para estes compostos numerosos efeitos biológicos, como o combate a radicais livres, a modificação da atividade de algumas enzimas, a inibição da proliferação celular, bem como o seu potencial como agente antibiótico, anti-alérgico e anti-inflamatório. De uma forma geral, estes compostos podem proteger os constituintes celulares da sua oxidação e assim limitar o risco de várias doenças associadas à degeneração por oxidação (D'Archivio *et al.*, 2007). A atividade antioxidante dos compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química. Estas características desempenham um papel importante

na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os intermediários formados pela ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias (SOARES, 2002).

Diante da necessidade de estudos e da grande importância das substâncias bioativas presentes nos cogumelos comestíveis, o objetivo deste trabalho foi realizar análises quantitativas de compostos fenólicos presentes em extrato alcoólico bruto de *Ganoderma lucidum*.

2. Materiais e Métodos

Os extratos de *Ganoderma lucidum* foram obtidos através da empresa Juncal Brazil, situada na cidade de Taboão da Serra, na grande São Paulo. Foram utilizados dois diferentes extratos de *Ganoderma lucidum*, obtidos de distintas produções.

2.1. Determinação de compostos fenólicos totais

A determinação dos compostos fenólicos totais foi realizada através do método adaptado de Folin-Ciocalteu descrita por Singleton & Rossi (1976).

2.1.1. Construção da curva padrão de ácido gálico

Para a construção da curva padrão, utilizou-se Folin-Ciocalteu na proporção 1:10 (v/v), solução de carbonato de sódio 4% e uma solução mãe de ácido gálico de 200mg/L, posteriormente diluída em 6 soluções de calibração de acordo com a tabela 1, sendo que o volume final das soluções foi completado com água ultra pura. Ácido gálico foi utilizada como referência, sendo que os resultados foram expressos em mg de ácido gálico por mL do extrato.

Solução	Vi (mL)	Vf (mL)	Concentração de ác. Gálico (mg/mL)
1 (Branco)	0	25	0
2	1,25	25	5
3	2,5	25	10
4	3,75	25	15
5	5,0	25	20
6	6,25	25	25

Tabela 2: Preparo das soluções padrões de calibração

2.1.2. Determinação de compostos fenólicos em extrato de *Ganoderma lucidum*

A quantificação dos compostos fenólicos presentes no extrato bruto de *Ganoderma lucidum* foi realizado em triplicata. A partir do extrato alcoólico bruto de *Ganoderma lucidum* devidamente diluído, transferiu-se quantitativamente 0,25 mL do para cada um dos tubos de ensaio, para o branco utilizou-se água destilada. Em cada tubo adicionou-se 2,5 mL da solução de Folin-Ciocalteu 1:10 (v/v) e aguardou-se 5 minutos. Após adicionou-se em cada tubo 2,0 mL da solução de carbonato de sódio 4% e completou-se o volume com água destilada até o total de 15 mL. Homogeneizou-se o tubos e desgaseificou-se por 5 minutos em banho ultrassom e deixou-se em repouso por 120 minutos na ausência de luz. Após procedeu-se leitura em espectrofotômetro ajustado em absorvância com comprimento de onda de 760 nm.

3. Resultados e Discussão

Com o objetivo de determinar a concentração dos compostos fenólicos presentes nos extratos de *Ganoderma lucidum*, foi realizada a construção da curva de calibração com concentrações conhecidas de ácido gálico. Os valores das concentrações e de suas respectivas absorvâncias estão apresentadas na tabela 3.

Solução	Concentração de ácido gálico (mg/mL)	Absorbância a 760nm
1	0	0
2	5	0,132
3	10	0,270
4	15	0,429
5	20	0,602
6	25	0,764

Tabela 3: Concentrações e absorbâncias obtidas da curva de calibração de ácido gálico

O coeficiente de determinação adquirido na construção da curva de calibração foi $R^2 = 0,9985$ indicando que a curva pode ser utilizada com segurança para a determinação de compostos fenólicos totais nos extratos, sendo que equação de correlação obtida foi $Y = 0,0319.X - 0,0394$, conforme apresentado na figura 4.

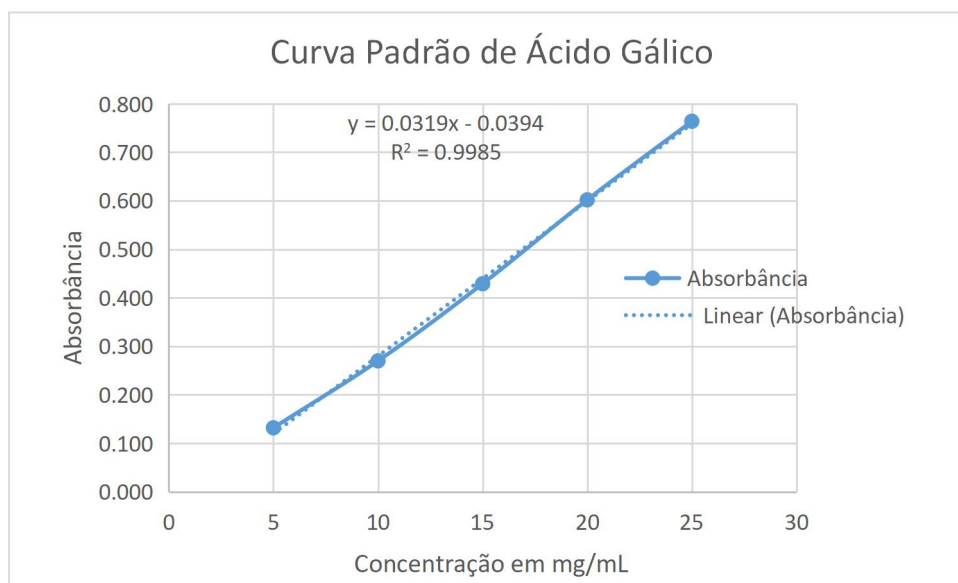


Figura 5: Curva de calibração de ácido gálico

Após as análises quantitativas nos extratos de *Ganoderma lucidum*, os resultados obtidos de compostos fenólicos estão apresentados nas tabelas 4 e 5.

Extrato 1	Absorbância (760nm)	Concentração de fenólicos totais (mgEAG/mL)
1	0,471	6,24
2	0,431	5,75
3	0,454	6,03
Média	0,452	6,00 ± 0,30

Tabela 4: Concentração de fenólicos totais (mg/EAG/mL) presente no extrato 1

Extrato 2	Absorbância (760nm)	Concentração de fenólicos totais (mgEAG/mL)
1	0,578	7,54
2	0,589	7,67
3	0,541	7,09
Média	0,559	7,43 ± 0,22

Tabela 5: Concentração de fenólicos totais (mg/EAG/mL) presente no extrato 2

O extrato 2 apresentou maior quantidade desse composto bioativo, quando comparado com o extrato 1, essa diferença pode estar associada com as formas de cultivo que os cogumelos foram submetidos ou com as condições de extração, visto que foram utilizados o mesmo solvente em ambos os extratos.

Estudos de SOARES (2007) sobre a quantificação de compostos fenólicos em extratos alcoólico (50%) e (70%) do cogumelo *Agaricus blazei* Murrill, utilizando a metodologia de Singleton & Rossi, apresentaram uma concentração de 2,09 mg/mL e 1,94 mg/mL respectivamente. Fazendo uma comparação o cogumelo *Ganoderma lucidum* deste estudo apresentou maiores concentrações de compostos fenólicos que o *Agaricus blazei* Murrill, em função disso também apresenta uma maior capacidade antioxidante no combate aos radicais livres.

Outro estudo realizado por MAGARELLI et.al (2014), sobre a capacidade antioxidante dos cogumelos *Ganoderma lucidum* e *Agaricus blazei*, utilizando a técnica de voltametria de pulso diferencial, mostrou concentrações de fenólicos totais de 7,1 mg g⁻¹ (*Agaricus blazei*) e 8,9 mg g⁻¹ (*Ganoderma lucidum*).

4. Conclusão

Os resultados obtidos nesse trabalho, mostram que o *Ganoderma lucidum* é fonte de grandes quantidades de compostos fenólicos, os quais conferem propriedades antioxidantes para agir no combate aos radicais livres, evitando diversas doenças. A obtenção desses compostos que agem como antioxidantes dependerá dos métodos de extração e dos solventes utilizados, sendo necessário mais estudos relacionados para otimizar as técnicas de extração.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

American Herbal Pharmacopoeia” April - 2006 Editor: Roy Upton Herbalist Post Office Box 66809, Scotts Valley, CA 95067 USA. ISBN: 1-929425-10-4 ISSN: 1538-0297.

BARBOSA, Vanessa de Frias. **Caracterização do perfil da ação do ácido gálico e seus derivados sobre processos oxidativos in vitro e ex vivo**. 89p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, Araraquara, 2010.

BOH B, BEROVIC M, ZHANG J, ZHI-BIN, L., **Ganoderma lucidum and its pharmaceutically active compounds**, Biotechnol. Annu. Rev.;13:265-301, 2007.

D'ARCHIVIO M, FILESI C, DI BENEDETTO R, GARGIULO R, GIOVANNINI C & MASELLA R. **Polyphenols, dietary sources and bioavailability**. Annali dell'Istituto Superiore di Sanità,2007, p.348-361.

MAGALHÃES, L. M.; SEGUNDO, M. A.; REIS, S.; LIMA, J. L.; RANGEL, A. O. Automatic method for the determination of Folin-Ciocalteu reducing capacity in food products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2006, Volume 54, Páginas 5241-5246.

MARGARELLI, Gabriella; SANTOS JÚNIOR, Leoni F; MIRANDA, Camila O; SIMÕES, Marcelo C; URBEN, Arailde F; CASTRO, Clarissa S.P. Avaliação voltamétrica da capacidade antioxidante de cogumelos utilizando-se compostos fenólicos como marcadores de qualidade. **III Congresso Brasileiro de Recursos Genético**, 2014.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, 2004, Páginas 95–111.

RISPAIL, N.; MORRIS, P.; WEBB, K. Phenolic compounds: extraction and analysis. **Lotus Japonicus Handbook**, 2005, Páginas 349–354.

SANODIYA B.S, THAKUR G.S, BAGHEL R.K, PRASAD G.B, BISEN P.S., **Ganoderma lucidum: a potent pharmacological macrofungus**, Curr. Pharm. Biotechnol., 10(8):717-42, 2009.

SARTORI, Caroline Junqueira. **Avaliação dos teores de compostos fenólicos nas cascas de Anadenanthera peregrina (Angico Vermelho)**. 89p. Dissertação para pós graduação – Universidade Federal de Lavras.MG, 2012.

SILVA, Rodrigo Bacila Borges da. **Análise de compostos fenólicos e avaliação da atividade antioxidante de extratos hidroalcoólicos de basidiomicetos**. 49p, Trabalho de Conclusão de Curso (Química) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Paraná, Curitiba, 2016.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. JR. **Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents**. American Journal of Enology and Viticulture, 16, 144-158, 1965.

SOARES, Andréia Assunção. **Atividade antioxidante e compostos fenólicos do cogumelo Agaricus blazei Murrill**. 58p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2007.

SOARES, Sérgio Eduardo. **Ácidos fenólicos como antioxidantes**. Revista de Nutrição, Campinas, v. 15, 1,p. 71-81, 2002.