

EXTRAÇÃO DE ANTIMICROBIANOS DE COGUMELOS *Lentinula edodes*, CULTIVADOS EM REJEITOS AGROINDUSTRIAIS

Lilianne Tassinari Braga

Acadêmica do curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Pampa.

lilianne_tassinari@yahoo.com.br

Eng.^a Carina Molins Borba

Mestranda em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande.

carinamolinsborba@yahoo.com.br

Cleber Klasener da Silva

Acadêmico do curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Pampa.

cleber.klasener@yahoo.com

Prof.^a Dr.^a Ana Paula Manera

Professora do curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Pampa.

ana.manera@unipampa.edu.br

Prof.^a Dr.^a Caroline Costa Moraes

Professora do curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Pampa.

caroline.moraes@unipampa.edu.br

Resumo. *Os metabólitos produzidos por diversas espécies de cogumelos apresentam ação antimicrobiana contra grupos de bactérias de alta importância para a indústria de alimentos como os pertencentes ao gênero Staphylococcus. Este trabalho teve por objetivo obter extratos a partir do esclerócio de Lentinula edodes e submetê-los a testes que confirmem a existência da ação antimicrobiana, além de testar a interferência da temperatura de extração e do tipo de solvente sobre este potencial. Os extratos apresentaram capacidade inibidora sobre os micro-organismos patogênicos testados, em ambas as temperaturas, formando halos inibitórios de até $15,73 \pm 2,69$ mm.*

Palavras-chave: Cogumelos. *Lentinula edodes*. Antimicrobiano.

1. INTRODUÇÃO

O cogumelo *Lentinula edodes* (shiitake), é conhecido por exibir qualidades tanto nutricionais como medicinais, além de ser considerado uma excelente fonte de

alimento devido ao seu valor nutricional. Estudos já comprovaram que o shiitake tem potencial na produção de substâncias com ação antitumoral, antiviral, antitrombótica, antifúngica e antibacteriana (TONUCCI, 2004).

Antes de isolar qualquer composto é necessária a obtenção do extrato de *Lentinula*. As técnicas empregadas são das mais variadas, sendo escolhida a que melhor se adapta ao meio de cultivo empregado e ao tipo de substâncias que se quer obter (GODOY, 2008).

O presente trabalho objetivou verificar a existência de ação antimicrobiana frente a microrganismos patogênicos de extratos obtidos a partir do cogumelo comestível *Lentinula edodes*, cultivado por fermentação em estado sólido, utilizando como substrato palha e farelo de arroz. Avaliou-se também a influência da temperatura e do tipo de solvente empregados na extração.

2. METODOLOGIA

O esclerócio utilizado foi o de *Lentinula edodes*, cedido pelo Laboratório de

Cogumelos Comestíveis e Medicinais da Universidade Federal de Santa Catarina, mantido em ágar Batata Dextrose acidificado a 4°C até o momento do uso.

2.1. Inóculo

L. edodes foi inoculado no meio palha/farelo. Este inóculo foi preparado seguindo a metodologia descrita por Györfi et al. (2010) com modificações, no qual grãos de arroz parboilizado foram cozidos por 20 minutos e escorridos. Em erlenmeyer de 250 mL foram pesados 15 g de arroz. Esse material, depois de esterilizado, foi inoculado com pedaços de aproximadamente 1x1 cm de ágar batata dextrose acidificado contendo esclerócio do cogumelo. Os erlenmeyer foram mantidos em estufa bacteriológica a 25°C por 10 dias no escuro.

2.2 Meio de cultivo e fermentação

O meio de cultivo utilizado foi obtido da mistura de palha de arroz obtida nas lavouras da região de Bagé e de farelo de arroz fornecido pela Indústria Ceolin Alimentos. A palha foi moída em moinho de facas e em embalagens plásticas de polipropileno foram colocados 1kg de palha e 300 g de farelo. O meio de cultura foi então umedecido e autoclavado.

As sementes produzidas foram inoculadas nos sacos plásticos contendo o meio de cultivo já esterilizado. Esses sacos foram fechados e levados para estufa ajustada com temperatura de 25°C e umidade de 90% por 40 dias para colonização do substrato.

2.3. Extração de compostos com ação antimicrobiana

Para a extração dos compostos antimicrobianos, foram utilizados como solventes água destilada esterilizada e etanol.

Em erlenmeyer colocou-se palha contendo esclerócio e os solventes na proporção de 10mL de solvente para cada 1g

de palha. Uma parte dos recipientes foram levados para mesa agitadora (sem controle de temperatura), com rotação de 150rpm e a outra para banho termostatizado à temperatura de 60°C durante 24 horas, para verificação da influência da temperatura sobre a extração.

2.4. Teste de inibição

Foram utilizadas 2 espécies bacterianas como agentes patogênicos nos testes de atividade antimicrobiana, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, cedidos pelo Laboratório de Micro-organismos de Referência da Fundação Oswaldo Cruz.

A atividade antimicrobiana foi avaliada seguindo o descrito na NCCLS (2003). Assim, discos de papel filtro, com 7 mm de diâmetro, foram embebidos nos extratos e posteriormente dispostos em placas de Petri esterilizadas e levados a estufa de circulação de ar, a temperatura de 35°C durante 24 horas para total evaporação do solvente.

Após o período de evaporação do solvente, placas com Ágar Müller Hinton foram inoculadas com 0,1 mL de caldo BHI, com turbidez de 56 NTU, contendo os micro-organismos padrões. Foi realizado também teste controle, onde foram colocados discos somente com os solventes, para garantir que os mesmos haviam sido evaporados.

As placas foram então incubadas em estufa microbiológica com temperatura de 35°C por um período de 24 horas. Os halos produzidos pela inibição dos micro-organismos foram medidos com auxílio de paquímetro digital. Para realização dos testes inibitórios nas placas de Petri, foram feitas réplicas, totalizando assim 9 discos de cada solvente, para cada temperatura estudada.

Os resultados obtidos foram analisados através de Teste t com nível de significância de 5% em softwares.

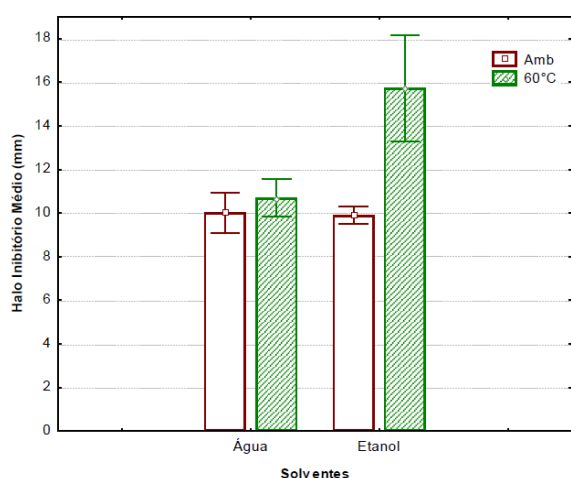
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Capacidade inibitória sobre *Escherichia coli*

Os halos inibitórios médios, com os respectivos desvio-padrão, obtidos quando se testou o extrato de *Lentinula edodes* extraído utilizando-se os solventes água e etanol frente ao patógeno *Escherichia coli*, estão apresentados no Gráfico 1.

Nas extrações a temperatura ambiente os halos inibitórios médios para água e etanol foram $10,02 \pm 1,02$ mm e $9,88 \pm 0,43$ mm respectivamente.

Gráfico 1- Teste de inibição de *E. coli* por extrato de *Lentinula edodes*.



Para extração em temperatura de 60°C os halos inibitórios médios foram $0,68 \pm 0,95$ mm para água e $15,73 \pm 2,69$ mm para etanol. Para essa temperatura, as médias apresentaram diferença estatística, sendo assim o extrato obtido a essa temperatura possui maior capacidade inibitória quando se utiliza como solvente o etanol.

Utilizando o cogumelo *Laetiporus sulphureus*, que assim como a *Lentinula edodes*, cresce em troncos de árvores Türkoglu et al. (2007), obtiveram halos de inibição para *Escherichia coli* de aproximadamente 10 mm, utilizando como solvente o álcool etílico, valores 66,6% superiores ao obtido com a extração em temperatura ambiente, porém quando a extração foi realizada com temperatura de 60°C os resultados do presente trabalho foram aproximadamente 57% superiores.

Hearst, et al. (2009), testaram a ação de extratos de *Lentinula edodes*, utilizando

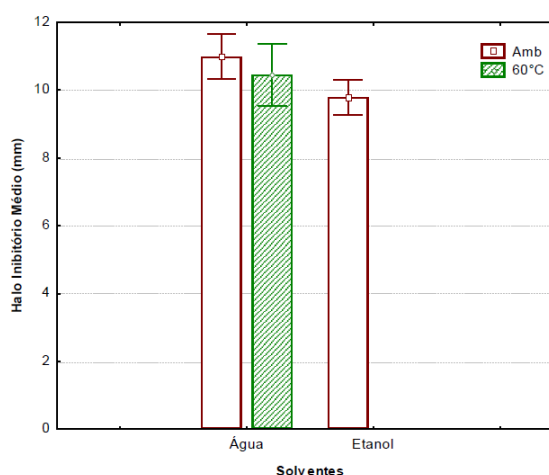
como solvente água em temperatura de 4°C , sobre diferentes micro-organismos entre eles 3 cepas de *Escherichia coli*. Os testes de inibição apresentaram halos de 9, 10 e 12 mm para as diferentes cepas, valores esses próximos ao encontrado para a extração a 60°C utilizando-se o mesmo solvente.

3.2. Capacidade inibitória sobre *Staphylococcus aureus*

O gráfico 2 apresentam os halos inibitórios médios, com os respectivos desvio-padrão, obtidos quando se testou o extrato de *L. edodes*, utilizando-se os solventes água e etanol frente ao patógeno *S. aureus*.

Nas extrações a temperatura ambiente os halos inibitórios médios para água e etanol foram $10,98 \pm 0,99$ mm e $9,79 \pm 0,70$ mm respectivamente. Para essa temperatura, as médias apresentaram diferença estatística, sendo assim o extrato obtido a essa temperatura possui maior capacidade inibitória quando se utiliza como solvente a água.

Gráfico 2- Teste de inibição de *S. aureus* por extrato de *Lentinula edodes*.



Para extração em temperatura de 60°C os halo inibitório médio foi $10,45 \pm 1,47$ mm para água. Não havendo inibição para a extração utilizando etanol.

Turkoglu et al. (2007), obteve halos de inibição do *Staphylococcus aureus* de aproximadamente 9 mm, utilizando como solvente o álcool etílico, com a técnica de difusão em ágar com Ágar Nutriente, sendo que com a extração a quente realizada pelo presente trabalho, alcançou-se halos 75% maiores.

Os extratos testados por Hearst et al. (2009) demonstraram halos de inibição de 12 mm contra as cepas *S. aureus* (MSSA) 25923 e *S. aureus* (MRSA) 43300, utilizando-se como solvente a água.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A observação da capacidade inibitória desses extratos vai ao encontro dos resultados de outros estudos já publicados, fortalecendo a necessidade de se continuar a pesquisar tanto a ação antimicrobiana quanto outras características funcionais, aplicáveis na indústria de alimentos, desses organismos, para que assim, seja possível no futuro tornar a aplicação desses agentes antimicrobianos de origem natural viável em escala industrial.

Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPERGS e CNPq pela concessão das bolsas de iniciação científica.

5. REFERÊNCIAS

GODOY, M. de F. P. **Atividade antimicrobiana de extratos e frações do cultivo *in vitro* de *Lentinula edodes* contra *Xanthomonas axonopodis* pv *passiflorae*, *Guignardia citricarpa*, *Colletotrichum sublineolum* e *Tobacco misa virus*.** Tese Doutorado (Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz) Universidade de São Paulo, Piracicaba – SP, 2008. 126p.

HEARST, R.; NELSON, D.; MCCOLLUM, G.; MILLAR, B. C.; MAEDA, Y.; GOLDSHIMIT, C. E.; ROONEY, P. J.;

LOUGHREY, A.; RAO, J. R.; MOORE, J. E. An examination of antibacterial and antifungal properties of constituents of Shiitake (*Lentinula edodes*) and Oyster (*Pleurotus ostreatus*) mushrooms. **Complementary Therapies in Clinical Practice**. N.15, p. 5-7, 2009.

NCCLS. **Padronização dos testes de sensibilidade a antimicrobianos por disco-difusão: Norma Aprovada** – Oitava Edição, v. 23, n.1, 2003.

TONUCCI, N. M. **Efeito de extratos aquosos do basidiocarpo e micélio de *Lentinula edodes* (shiitake) sobre *Colletotrichum sublineolum*, *Alternaria solani*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* e *Tobacco virus* (TMV).** Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, 2004.

TURKOGLU, A.; DURU, M. E.; MERCAN, N.; KIVRAK, I. GEZER, K. Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murril. **Food Chemistry**. N.101, p. 267-273, 2007.