

PRODUÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES POR FUNGOS ENDOFÍTICOS A PARTIR DA MANDIOCA

Paula Gracioso¹, Profa. Dra. Andreia de A. Morandim-Giannetti²

^{1,2} Departamento de Engenharia Química, Centro Universitário FEI

paula.gracioso.pg@gmail.com e preamorandim@fei.edu.br

Resumo: Os fungos endofíticos têm se mostrado importantes fontes para a obtenção de compostos bioativos. Assim, neste trabalho, foi realizada a análise do potencial antioxidante de 20 fungos isolados de caules e folhas de mandioca. Verificou-se um maior potencial nos extratos obtidos a partir de CA3 (84,88 ± 0,45) e CA9 (90,96 ± 0,78). Assim, foram obtidos os extratos hidroalcoólicos e clorofórmicos dos mesmos e, realizados fracionamentos em coluna sendo verificado maior potencial na fração CA9C-80 (94,59 ± 0,22).

1. Introdução

A mandioca é amplamente cultivada no Brasil devido a suas inúmeras características que favorecem seu plantio. Porém, a maior parte da mesma acaba gerando resíduos que, atualmente, não apresentam elevado valor agregado, o que mostra a importância do desenvolvimento de estudos para a reutilização desses resíduos sendo, a obtenção de fungos endofíticos a partir de seus caules e folhas uma alternativa viável [1].

Os mesmos estão sendo muito estudados devido a possibilidade de obtenção de diversas enzimas bem como pela diversidade de moléculas produzidas por microrganismos endofíticos como, por exemplo, os inúmeros compostos aromáticos, polifenólicos, terpênicos e, éteres cíclicos, que apresentam várias atividades como antimalária, bactericida, antimicrobiana, antitumoral, antioxidante, herbicida, larvicida entre outras [2,3].

2. Metodologia

Durante o desenvolvimento do presente trabalho, inicialmente foi realizado o crescimento em meio BDA (batata dextrose agar) e 2 repiques consecutivos de 20 fungos endofíticos isolados a partir de caules e folhas de mandioca e mantidos sob refrigeração em meio BDA (Figura 1).



Figura 1 - Exemplos de fungos utilizados para obtenção dos extratos.

Os fungos foram, então, submetidos ao processo de extração dos compostos bioativos utilizando-se, para isso, etanol 95% e, os extratos etanólicos foram analisados via determinação da atividade antioxidante via espectrofotometria na região do ultravioleta utilizando-se DPPH e via HPLC utilizando-se, para isso, um gradiente metanol:água de 5 % a 100 % e uma coluna de fase reversa phenyl.

Os fungos que mostraram maior potencial antioxidante CA3 (*Cladosporium* sp.) e CA9 (*Diaporthe endophytica*) foram cultivados em meio líquido BDA (batata dextrose agar) durante 10 dias a 25°C e submetidos a um processo de extração com etanol. Os extratos obtidos foram secos e, posteriormente solubilizados em uma mistura metanol:água (80:20) seguido do fracionamento via extração líquido-líquido com hexano e clorofórmio obtendo-se os extratos hexânicos, clorofórmicos e, hidroalcoólicos.

Em seguida, foi realizado um processo de fracionamento em coluna cromatográfica utilizando-se como fase estacionária sílica e, como fase móvel um gradiente clorofórmio:metanol (100 →0).

As frações obtidas foram analisadas via determinação da atividade antioxidante e via HPLC.

Durante a análise da atividade antioxidante utilizou-se o método do DPPH que se baseia na transferência de elétrons entre a substância antioxidante e o DPPH, que é reduzido formando difenil-picril-hidrazina [4,5]. O comprimento de onda utilizado foi de 517 nm e, a atividade antioxidante foi calculada utilizando-se a equação 1

$$\%AA = \left[\frac{Ac - As}{Ac} \right] 100 \quad (1)$$

em que: %AA representa a porcentagem de atividade antioxidante; Ac representa a concentração inicial do DPPH e, As a concentração de DPPH após a reação com a amostra analisada.

3. Resultados

Durante o desenvolvimento do presente trabalho, os fungos avaliados foram: *Microdochium lycopodium* (CA1), *Colletotrichum* sp. (CA2), *Cladosporium* sp. (CA3), *Colletotrichum brevisporum* (CA4), *Alternaria* sp. (CA5), *Phyllosticta elongata* (CA6), *Phomopsis* sp. (CA7), *Diaporthe phaseolorum* (CA8), *Diaporthe endophytica* (CA9), *Vouchered mycorrhizae* (CA10), *Phanerochaete australis* (CA11), *Stenocarpella maydis* (CA13), *Annulohyphoxylon stygium* (CA14),

Sordariomycetes sp. (CA15), *Colletotrichum gloeosporioides* (CA16), *Phanerochaetaceae* sp. (CA17), *Cladosporium xanthochromaticum* (FO1), *Xylaria* sp (FO2), *Phaeosphaeria podocarpi* (FO3), *Peniophora* sp (FO4).

Dentre estes, os que obtiveram melhor resultado durante as análises de atividade antioxidante foram as espécies CA9 ($90,96 \pm 0,78$) e CA3 ($84,88 \pm 0,4$) e, os fungos que não mostraram potencial foram CA8, FO3 e, FO4 (Figura 2).

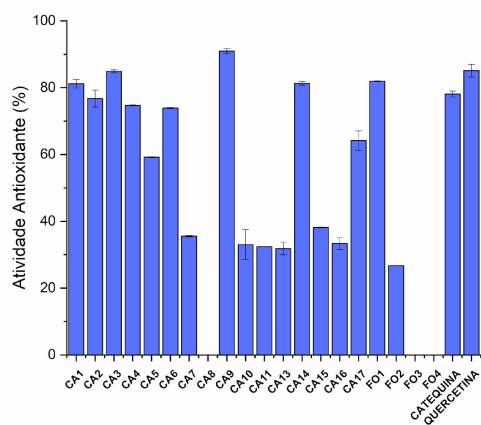


Figura 2 – Comparação da atividade antioxidante dos extratos com os padrões.

Além da análise da atividade antioxidante, também foi realizada uma análise HPLC (Figuras 3 e 4) dos extratos selecionados sendo verificado um menor número de compostos bioativos no extrato obtido a partir de CA3. Salienta-se a presença de compostos de média (região entre 25 e 40 min) a alta polaridade nos extratos (região entre 2 e 10 min).

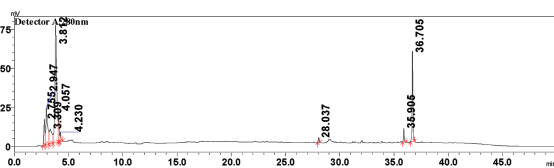


Figura 3- Cromatograma referente ao extrato obtido a partir do fungo CA3

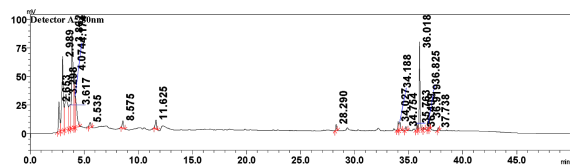


Figura 4- Cromatograma referente ao extrato obtido a partir do fungo CA9

A partir dos resultados anteriores foram obtidos os extratos hidroalcoólicos e clorofórmicos a partir de CA3 e CA9 e, os mesmos também foram analisados através da determinação do potencial antioxidante e, via HPLC.

Através da análise da Figura 5, verifica-se que a fração obtida a partir do extrato clorofórmico eluída com 80% de clorofórmio e 20 % de metanol obtido a partir do fungo CA9 (CA9C-80) apresentou uma maior atividade antioxidante ($94,59 \pm 0,22$).

Através da análise do cromatograma referente a fração CA9C-80 (Figura 6), verifica-se a presença de duas substâncias majoritárias com tempos de retenção de 2,56 min e, 10,16 min. Assim, durante a realização de trabalhos futuros, será realizada uma outra etapa de purificação visando o isolamento e identificação desses biocompostos bem como a avaliação do potencial antioxidante dessas substâncias.

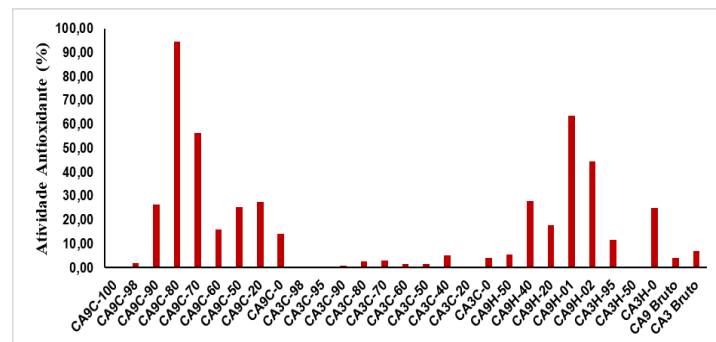


Figura 5- Comparação da atividade antioxidante dos extratos com os extratos brutos.

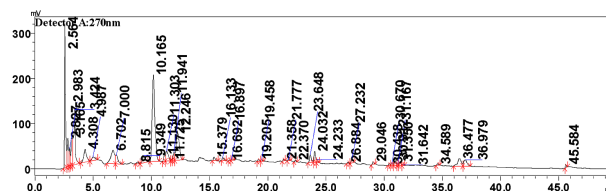


Figura 6- Cromatograma referente a fração CA9C-80 obtida a partir de CA9.

4. Conclusões

Comparando-se os extratos hidroalcoólicos e clorofórmicos obtidos a partir de CA3 e CA9 com os extratos brutos, pode-se concluir que este apresentou resultados significantes, devido a sua alta capacidade de transferência de elétrons para o DPPH (radical livre), comprovando o alto potencial de atividade antioxidante nos extratos.

Porém, é necessária a realização de outras pesquisas para identificar a separar os biocompostos obtidos, visando um melhor aproveitamento dos fungos encontrados na mandioca.

5. Referências

- [1], K.T. Hue et al., *Livestock Science*, **131** (2010) 155-161.
- [2] S.R.M. Ibrahim, *Fitoterapia***129** (2018) 317–365.
- [3] B. Koudelková et al., *Biochemical Systematics and Ecology*, **75** (2017) 21-26.
- [4] P. Palanichamy. et al., *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, **5** (2018) 303-312.
- [5] P. Wang et al., *Fitoterapia***127** (2018) 322–327.

Agradecimentos

Ao Centro Universitário FEI pela realização das medidas ou empréstimo de equipamentos.

¹ Aluno de IC do Centro Universitário FEI. Projeto com vigência de 09/18 à 09/19.