

**GUILHERME COELHO LOPES DOS REIS**

**AMINAS BIOATIVAS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM  
COGUMELOS**

Faculdade de Farmácia da UFMG

Belo Horizonte, MG

2014

**GUILHERME COELHO LOPES DOS REIS**

**AMINAS BIOATIVAS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM  
COGUMELOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências de Alimentos.

Orientador: Prof<sup>a</sup> Maria Beatriz de Abreu Glória

Belo Horizonte

Faculdade de Farmácia da UFMG

2014

R375a Reis, Guilherme Coelho Lopes dos.  
Aminas bioativas e atividade antioxidante em cogumelos /  
Guilherme Coelho Lopes dos Reis. – 2014.  
104 f. : il.

Orientadora: Maria Beatriz de Abreu Glória.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais,  
Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciência  
de Alimentos.

1. Cogumelos comestíveis – Análise – Teses. 2. Aminas  
bioativas – Teses. 3. Alimentos – Teses. 4. Antioxidantes – Teses. 5.  
Espermidina – Teses. 6. Agmatina – Teses. I. Glória, Maria Beatriz  
Abreu. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de  
Farmácia. III. Título.

CDD 635.8



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS -PPGCA

**GUILHERME COELHO LOPES DOS REIS**

**AMINAS BIOATIVAS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE  
EM COGUMELOS**

**APROVADA EM 30 DE JUNHO DE 2014**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

**Profa. Dra. INAYARA CRISTINA ALVES LACERDA**

**Profa. Dra. MARIA BEATRIZ ABREU GLÓRIA  
(Orientadora e Presidente da Comissão)**

**Profa. Dra. SILVIA MENDONÇA VIEIRA**

Dedico esse trabalho aos  
meus pais, Nilson e Maria  
das Graças

## AGRADECIMENTOS

A Deus pelo caminho.

Aos meus melhores amigos Nilson e Graça, por serem as bases da minha vida.

Aos meus irmãos Marcello e Christiano pela amizade, apoio e proteção.

A minha sobrinha Marianna pela alegria e carinho.

A Professora Maria Beatriz de Abreu Gloria, pela oportunidade de trabalhar com uma cientista, ser um exemplo de gentileza, humildade e profissionalismo, por acreditar em mim e me iluminar desde a época de graduação.

Ao Laboratório de Bioquímica de Alimentos que desde 2008 é parte da minha vida.

A caridade dos colegas de Laboratório: Edineia, Carol, Warley, Regina, Flávia, Letícia, Patrícia, Ricardo, Paula, José Maria, Raquel, Bruno, Lorrana e Arthur. O tempo que perderam comigo me fez sentir alguém muito importante.

A Arlene por sempre me receber todos os dias nos corredores da faculdade com um sorriso e um bom dia.

Ao produtor Roney (Cogumelos do Caminhante) por sua sensibilidade e apoio a pesquisa.

A FAPEMIG pela concessão da bolsa de mestrado.

A professora Lúcia Peret de Almeida e aos funcionários da Planta Piloto do UNI-BH pela secagem das amostras de cogumelos.

Ao Laboratório de Tecnologia de Alimentos da UFMG pela moagem dos cogumelos secos.

A professora Luci Maria Sant'Ana Dusse pela boa vontade em emprestar o leitor ELISA e ao Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG pelo voto de confiança.

“Tem dias que eu fico pensando na vida  
e sinceramente eu não vejo saída.  
Como é, por exemplo, que dá pra entender:  
A gente mal nasce e começa a morrer.”  
(Vinícius de Moraes)

# SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	10
<b>ABSTRACT</b> .....	11
<b>ABREVIATURAS E SIGLAS</b> .....	12
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	13
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	15
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	19
<b>1. Cogumelos comestíveis</b> .....	19
1.1. Alguns cogumelos comestíveis. ....	20
1.1.1. <i>Agaricus bisporus</i> .....	20
1.1.2. <i>Pleurotus spp.</i> .....	20
1.1.3. <i>Lentinula edodes (Berk.) Pegler</i> .....	22
1.2. Composição química dos cogumelos .....	22
1.2.1. Umidade .....	22
1.2.2. Carboidratos e fibras alimentares .....	22
1.2.3. Proteínas de aminoácidos .....	24
1.2.4. Lipídeos .....	24
1.2.5. Cinzas e minerais .....	24
1.2.6. Vitaminas .....	24
1.2.7. Aminoácidos Bioativos .....	26
1.3. Propriedades funcionais dos cogumelos .....	27
1.3.1. Atividade antioxidante dos cogumelos .....	30
1.3.1.1. Métodos de extração para determinação da atividade antioxidante <i>in vitro</i> .....	30
1.3.1.2. Ensaio antioxidante .....	30
1.3.2. Componentes antioxidantes dos cogumelos .....	37
<b>2. Aminoácidos bioativos</b> .....	38
2.1. Definição e classificação .....	38
2.2. Poliaminas .....	39
2.2.1. Definição .....	39
2.2.2. Biossíntese .....	40
2.2.3. Importância na saúde. ....	41

## SUMÁRIO (continua)

2.2.4.	Atividade antioxidante das poliaminas .....	42
2.3.	Aminas biogênicas .....	44
2.3.1	Ocorrência em alimentos .....	44
2.3.2	Importância na saúde .....	46
<b>3.</b>	<b>Oxidação</b> .....	<b>49</b>
3.1.	Introdução .....	49
3.2.	Radicais livres e espécies reativas .....	50
3.3.	Estresse oxidativo .....	50
3.4.	Importância de alimentos com atividade antioxidante .....	51
3.5.	Oxidação em alimentos .....	52
3.5.1.	Oxidação lipídica .....	53
3.5.2.	Formação de radicais livres e reação em cadeia .....	53
3.5.2.1.	Reação em cadeia na autooxidação lipídica .....	54
3.6.	Antioxidantes .....	55
3.6.1.	Definição .....	55
3.6.2.	Interação entre antioxidantes .....	57
3.6.3.	Atividade antioxidante <i>in vivo</i> .....	58
3.6.4.	Atividade antioxidante <i>in vitro</i> .....	58
3.6.5.1.	Transferência de hidrogênio .....	60
3.6.5.2.	Transferencia de único elétron .....	60
3.6.5.3.	Atividade quelante .....	60
3.6.5.4.	Determinação de compostos fenólicos .....	61
3.6.5.5.	Capacidade antioxidante contra a oxidação lipídica .....	61
3.6.5.6.	Quantificação da atividade antioxidante .....	62
3.6.5.7.	Importância do uso métodos multidimensionais .....	62
	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>64</b>
<b>1.</b>	<b>Material</b> .....	<b>64</b>
1.1.	Amostras .....	64
1.2.	Reagentes .....	65
<b>2.</b>	<b>Métodos de análise</b> .....	<b>65</b>
2.1.	Determinação do teor de umidade .....	66
2.2.	Determinação dos teores de aminas bioativas .....	66

## SUMÁRIO (continua)

2.3.	Determinação de fenólicos totais . . . . .	67
2.4.	Determinação da atividade antioxidante . . . . .	68
2.4.1.	Preparo do extrato antioxidante . . . . .	68
2.4.2.	Determinação do poder de inativação do radical DPPH• . . . . .	68
2.4.3.	Determinação do poder de redução do extrato antioxidante . . . . .	69
2.4.4.	Avaliação da estabilidade oxidativa por Rancimat . . . . .	69
<b>3.</b>	<b>Análise estatística . . . . .</b>	<b>70</b>
	<b>RESULTADO E DISCUSSÃO . . . . .</b>	<b>71</b>
<b>1.</b>	<b>Teores de sólidos totais dos cogumelos . . . . .</b>	<b>71</b>
<b>2.</b>	<b>Aminas em cogumelos . . . . .</b>	<b>71</b>
2.1.	Ocorrência de aminas nos cogumelos . . . . .	71
2.2.	Teores totais de aminas nos cogumelos . . . . .	74
2.3.	Prevalência de aminas bioativas nos cogumelos . . . . .	75
2.4.	Perfil e teores de aminas bioativas nos cogumelos . . . . .	76
2.4.1.	Cogumelo Champignon . . . . .	76
2.4.2.	Cogumelo Portobello . . . . .	76
2.4.3.	Cogumelo Shitake . . . . .	76
2.4.4.	Cogumelo Shimeji Preto . . . . .	77
2.4.5.	Cogumelo Shimeji Branco . . . . .	79
2.4.6.	Cogumelo Salmão . . . . .	80
2.4.7.	Cogumelo Hiratake . . . . .	81
2.4.8.	Cogumelo Eryngii . . . . .	82
2.5.	Teores de aminas em cogumelos . . . . .	83
2.6.	Considerações sobre aminas em cogumelos. . . . .	84
2.7.	Propriedades funcionais dos cogumelos em relação as aminas . . . . .	84
2.8.	Aspectos toxicológicos dos cogumelos em relação as aminas . . . . .	85
<b>3.</b>	<b>Teores de fenólicos totais nos cogumelos . . . . .</b>	<b>86</b>
<b>4.</b>	<b>Atividade antioxidante . . . . .</b>	<b>87</b>
4.1.	Poder antioxidante dos extratos pela inativação do radical DPPH• . . . . .	87
4.2.	Poder redutor pela redução do íon molibdato . . . . .	89
4.3.	Avaliação da adição dos extratos antioxidantes na estabilidade lipídica . . . . .	89
4.4.	Considerações sobre a atividade antioxidante em cogumelos . . . . .	90

## SUMÁRIO (continua)

5.	<b>Correlação entre os compostos com atividade antioxidante e potencial antioxidante dos cogumelos .....</b>	91
	<b>CONCLUSÃO .....</b>	93
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	94
	<b>APÊNDICE .....</b>	100

## RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo investigar os teores de amins bioativas, os teores de fenólicos, a atividade antioxidante e a existência de correlação entre a atividade antioxidante e os teores de poliaminas e fenólicos em oito tipos de cogumelos comestíveis comercializados na região metropolitana de Belo Horizonte MG. As amins foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência com par iônico. A capacidade antioxidante foi investigada pelos métodos de inativação do radical DPPH•, redução do íon Mo (VI) e aceleração da oxidação lipídica por Rancimat®. Também foram determinados os teores de fenólicos totais nos cogumelos pela reação de Folin Ciocateau. Foram detectadas as amins espermidina, putrescina, agmatina, cadaverina, tiramina, triptamina e feniletilamina nas amostras analisadas. A espermidina estava presente em grandes quantidades em todos os cogumelos. O maior teor de espermidina foi encontrado no cogumelo Shimeji Preto (1366,7 mg/kg massa seca). Em 6 dos 8 tipos de cogumelos analisados foi detectada a agmatina. O maior teor dessa amina foi encontrado no cogumelo Salmão (2205,9 mg/kg massa seca). Todos os cogumelos apresentaram baixo teores de amins biogênicas com potencial tóxico. Os teores de fenólicos variaram de 6,15 a 11,74 mg EAG por grama de cogumelo (massa seca). O cogumelo Shimeji Preto apresentou maior teor médio de fenólicos totais (11,74 mg EAG/g). O extrato metanólico da maioria dos cogumelos apresentou atividade antioxidante em todos os métodos antioxidantes avaliados. Apenas os cogumelos Shitake e Eryngii não apresentaram atividade antioxidante no estudo da aceleração da oxidação lipídica por Rancimat. Nenhum cogumelo apresentou atividade antioxidante predominante nos ensaios. Não houve correlação significativa entre os métodos antioxidantes. Foi observada correlação forte dos teores de espermidina nos cogumelos e os resultados do ensaio de inibição DPPH•, e correlação moderada dos teores de espermidina com os teores de fenólicos.

**Palavras chave:** Cogumelos, amins bioativas, atividade antioxidante, espermidina, agmatina.

## ABSTRACT

BIOACTIVE AMINES AND ANTIOXIDANT ACTIVITY IN MUSHROOMS. The objective of this study was to investigate the levels of bioactive amines, phenolics, the antioxidant activity and the existence of correlation between antioxidant activity and the levels of polyamines and phenolics in eight types of edible mushrooms available in Belo Horizonte, MG, Brasil. The amines were determined by ion-par high-performance liquid chromatography. The antioxidant capacity was investigated by the methods of inactivation of radical DPPH•, ion reduction Mo (VI) and acceleration of lipid oxidation by Rancimat. The levels of total phenolics in mushrooms were determined by Folin Ciocateau reaction. The amines spermidine, putrescine, cadaverine, agmatine, tyramine, tryptamine and phenethylamine were detected in the samples. Spermidine was present in large quantities in every mushroom. The highest content of spermidine was found in Shimeji Preto (1366.7 mg/kg dry mass). Agmatine was detected in six of the eight types of mushrooms analyzed, and the highest content was found in Salmão (2205.9 mg/kg dry mass). All mushrooms showed low levels of biogenic amines. The phenolic contents ranged from 6.15 to 11.74 mg EAG/g of mushroom (dry mass). Shimeji Preto showed the highest total phenolics. The metanolic extract of most mushrooms showed antioxidant activity in all the antioxidant methods evaluated. Only Shitake and Eryngii did not have antioxidant activity by Rancimat. There was no predominance of a particular mushroom in the antioxidant tests. There was no significant correlation between results for the antioxidant methods. Strong correlation of the levels of spermidine in mushrooms and the results of DPPH• inhibition was observed. There was a moderate correlation of the levels of spermidine with phenolic contents.

**Key words:** Mushrooms, bioactive amines, antioxidant activity, spermidine, agmatine.

## ABREVIATURAS E SIGLAS

AGM	Agmatina
BHA	Hidroxianisol butilado
BHT	Hidroxitolueno butilado
CAD	Cadaverina
DAO	Diaminoxidase
DMPO	3, 4 - di-hidro-2, 3 - dimetil-2H-pirrol 1 - óxido
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
EAA	Equivalente ácido ascórbico
EAG	Equivalente ácido gálico
EC50%	Concentração máxima efetiva para 50%
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EPD	Espermidina
EPM	Espermina
ERNs	Espécies reativas de nitrogênio
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FEM	Feniletilamina
IMAOs	Inibidores da monoaminoxidase
HAT	Transferência de um átomo de hidrogênio
MAO	Monoaminoxidase
ODC	Ornitina descarboxilase
OPA	Orto-ftalaldeído
PUT	Putrescina
SET	Transferência de único eletron
Spds	Espermidina sintetase
Spms	Espermina sintetase
TBHQ	Terc butil hidro quinona
TCA	Ácido tricloroacético
TIM	Tiramina
TRM	Triptamina

## LISTA DE TABELAS

1	Composição centesimal de alguns cogumelos . . . . .	23
2	Composição de aminoácidos essenciais em alguns cogumelos . . . . .	25
3	Teores de amins em 17 espécies de cogumelos . . . . .	28
4	Atividades terapêuticas de alguns cogumelos comestíveis . . . . .	31
5	Percentual de inibição da absorbância da solução de DPPH pelos extratos de cogumelos comestíveis e dos padrões BHA, BHT e $\alpha$ -tocoferol . . . . .	33
6	Percentual de inibição da formação do composto (DMPO)-OH pelos extratos de cogumelos e pelos padrões BHA e $\alpha$ -tocoferol . . . . .	33
7	Poder de redução dos extratos de cogumelos e padrões BHA, BHT e $\alpha$ -tocoferol sobre o íon férrico pelo método de formação do complexo Azul da Prússia . . . . .	34
8	Percentual de inibição da formação do complexo [Ferrozina-Fe] <sup>2+</sup> dos extratos de cogumelos e dos padrões BHA, BHT e $\alpha$ -tocoferol . . . . .	34
9	Percentual de inibição da peroxidação lipídica do extrato cogumelo <i>Lentinula edodes</i> e do padrão BHA pela reação do malonaldeído com ácido tiobarbitúrico	35
10	Inibição da formação de peróxido pelos cogumelos e dos padrões $\alpha$ -tocoferol, BHA e BHT, na estabilidade oxidativa via reação peróxido, Fe <sup>2+</sup> e tiocianato . . . . .	36
11	Estabilidade oxidativa no Rancimat por cogumelos e pelos padrões TBHQ e BHQ	36
12	Estabilidade oxidativa via método degradação do $\beta$ -caroteno por cogumelos e pelos padrões BHA e BHT . . . . .	37
13	Teores de fenólicos totais em cogumelos comestíveis . . . . .	38
14	Teores de $\beta$ -caroteno, polifenóis totais e $\alpha$ -tocoferol em cogumelos comestíveis	39
15	Efeitos fisiológicos das amins biogênicas . . . . .	47
16	Nível de efeito adverso não observado para amins bioativas por refeição . . . . .	49
17	Relação dos gêneros e os tipos de cogumelos adquiridos . . . . .	64
18	Gradiente de eluição para as fases móveis (B) acetronitrila e (A) solução tampão acetato de sódio:octanosulfonato de sódio utilizado na determinação das amins	67
19	Teores de sólidos totais nos cogumelos Salmão, Hiratake, Shimeji Branco, Shimeji Preto, Portobelo, Shitake e Champignon . . . . .	72
20	Amins bioativas encontradas nos diferentes tipos de cogumelos . . . . .	74
21	Teores de amins em oito tipos de cogumelos <i>in natura</i> . . . . .	86
22	Teores médios de fenólicos totais nos diferentes tipos de cogumelos . . . . .	87

## LISTA DE TABELAS (continua)

23	Valores de atividade antioxidantes dos cogumelos e padrões nos ensaios de inativação do radical DPPH, poder de redução sobre o íon Mo (VI) e avaliação do aumento da estabilidade oxidativa do óleo por Rancimat . . . . .	88
24	Correlação entre os resultados dos teores de fenólicos totais e os métodos que avaliaram a atividade antioxidante nos extratos de cogumelos . . . . .	97
Ap.	Faixa, média, coeficiente de variação e mediana dos teores de amins nos cogumelos . . . . .	101

## LISTA DE FIGURAS

1	Esquema da estrutura macrofungos destacando as hifas, o micélio e o corpo de frutificação . . . . .	19
2	Desenho adaptado do cogumelo <i>Volvariella volvacea</i> , mostrando píleo, guelras, estipe e vulva . . . . .	20
3	Fotos de alguns cogumelos comestíveis . . . . .	21
4	Estrutura química de algumas aminos bioativas . . . . .	40
5	Estrutura química das poliaminas espermidina e espermina em pH fisiológico .	41
6	Biossíntese de poliaminas . . . . .	43
7	Formação de aminos pela descarboxilação de aminoácidos . . . . .	45
8	Reação em cadeia na oxidação lipídica . . . . .	56
9	Fluxograma da atividade antioxidante <i>in vivo</i> . . . . .	59
10	Estrutura química de duas moléculas de EDTA quelando um íon Fe <sup>2+</sup> formando complexo Fe(EDTA) <sup>2-</sup> . . . . .	61
11	Frequência de ocorrência de aminos bioativas em cogumelos . . . . .	73
12	Teores totais médios de aminos bioativas em cogumelos . . . . .	75
13	Percentual de contribuição de cada amina ao teor total nos oito cogumelos estudados . . . . .	75
14	Percentual de contribuição de cada amina ao teor total em diferentes lotes do cogumelo Champignon . . . . .	77
15	Teores de aminos bioativas no cogumelo Champignon . . . . .	77
16	Percentual de contribuição de cada amina ao teor total em diferentes lotes do cogumelo Shitake . . . . .	78
17	Teores de aminos bioativas no cogumelo Shitake . . . . .	78
18	Percentual de contribuição de cada amina ao teor total em diferentes lotes do cogumelo Shimeji Preto . . . . .	78
19	Teores de aminos bioativas no cogumelo Shimeji Preto . . . . .	79
20	Percentual de contribuição de cada amina ao teor total em diferentes lotes do cogumelo Shimeji Branco . . . . .	79
21	Teores de aminos bioativas no cogumelo Shimeji Branco . . . . .	80
22	Percentual de contribuição de cada amina ao teor total em diferentes lotes do cogumelo Salmão. . . . .	80
23	Teores de aminos bioativas no cogumelo Salmão . . . . .	81

## LISTA DE FIGURAS (continua)

24	Percentual de contribuição de cada amina ao teor total em diferentes lotes do cogumelo Hiratake . . . . .	82
25	Teores de aminas bioativas no cogumelo Hiratake . . . . .	82

## INTRODUÇÃO

Estudos têm demonstrado que o consumo regular de cogumelos ou de constituintes isolados bioativos presentes em cogumelos é benéfico à saúde. Esses fungos acumulam uma variedade de metabólitos secundários possivelmente envolvidos em efeitos medicinais e valores funcionais. Diversos estudos comprovaram propriedades terapêuticas em muitas espécies de cogumelos (CHANG & MILES, 2004; LAKHANPAL & RANA, 2005; SOARES et al., 2007; CHEUNG, 2010). Parte das propriedades terapêuticas estão relacionadas com a atividade antioxidante. Os trabalhos de YANG et al. (2002), ELMASTAS et al. (2007), TURKOGLU et al. (2007), SOARES et al. (2007), MOURÃO et al. (2009) e SILVA e JORGE (2011) relataram atividade antioxidante em cogumelos. A atividade antioxidante observada nos cogumelos pode estar relacionada à presença de alguns componentes, como os compostos fenólicos e as poliaminas espermidina e espermina.

As poliaminas são fatores de crescimento que ocorrem nas células de organismos vivos onde desempenham diversas funções fisiológicas. Dessa forma, as poliaminas são úteis em pacientes pós operatórios, durante o crescimento ou desenvolvimento do sistema digestivo. Porém, por serem fatores de crescimento estão associadas também ao crescimento de tumores (SODA, 2011). A atividade antioxidante das poliaminas também tem sido estudada (HA et al., 1988; LOVAAS, 1991; FARRIOL et al., 2003; BELLE et al., 2004; MENDONÇA, 2009) e estas aminas foram identificadas por KALAC et al. (2009) em 17 espécies de cogumelos selvagens.

Outras aminas bioativas conhecidas como aminas biogênicas podem também estar presentes nos cogumelos. Essas aminas são conhecidas por apresentarem atividade vaso e neuroativa. Em altas quantidades nos alimentos as aminas biogênicas podem causar intoxicação alimentar. A histamina e tiramina são as aminas mais relacionadas aos quadros de intoxicação alimentar. Em indivíduos que fazem o uso de alguns fármacos a presença de pequenas quantidades de tiramina no alimento pode levar a crises hipertensivas (EFSA, 2011). Essas aminas também podem ser utilizadas como critérios de qualidade higiênico sanitária em alimentos (GLORIA, 2005). No Brasil, não há dados sobre o perfil e os teores de aminas bioativas em cogumelos. Além de conterem aminas, cogumelos são susceptíveis a formação de aminas por serem ricos em proteínas (CHANG & MILES, 2004; FURLANI & GODOY, 2007; KALAC, 2009). De acordo com KALAC et al. (2009), a deterioração de cogumelos pode levar a formação de aminas bioativas que exercem efeitos

vasoativos e psicoativos, por meio da descarboxilação dos aminoácidos dentre eles, lisina, ornitina, histidina e tirosina.

De acordo com NIKI (2010), o papel dos antioxidantes na manutenção da saúde humana tem atraído a atenção dos cientistas e público em geral quanto à prevenção de várias desordens e doenças, as quais estão relacionadas ao estresse oxidativo. Esse fenômeno ocorre quando há um desequilíbrio entre a quantidade de espécies reativas e as atividades do sistema antioxidante intra e extracelular (DOTAN et al., 2004). Assim a ingestão de antioxidantes exógenos pode minimizar a ação das espécies reativas e reduzir os riscos de doenças (SOARES et al., 2007; SILVA & JORGE, 2011).

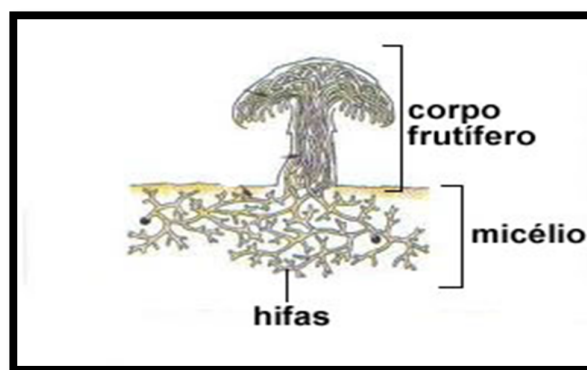
Nesse trabalho foram estudados o perfil e teores de amins bioativas e o potencial antioxidante em oito tipos de cogumelos *in natura* comercializados na região metropolitana de Belo Horizonte, MG, Brasil, dentre eles, Champignon de Paris, Portobello, Shitake, Hiratake, Salmão, Shimeji Branco, Shimeji Preto e Eryngii. Os objetivos foram: (i) investigar o perfil e os teores de amins nos cogumelos; (ii) analisar a atividade antioxidante dos cogumelos e das poliaminas naturais; (iii) determinar os teores de sólidos e fenólicos totais nos cogumelos, e (iv) investigar a existência de correlação entre a atividade antioxidante e o teor de poliaminas e fenólicos em cogumelos.

# REVISÃO DA LITERATURA

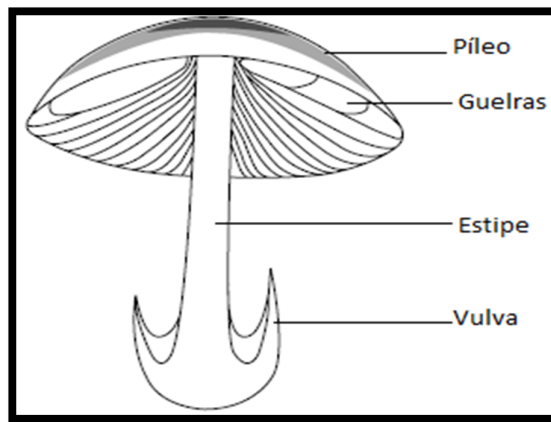
## 1. Cogumelos comestíveis

Cogumelos são macrofungos, com um corpo distinguível de frutificação grande o bastante para serem vistos a olho nu e coletados pelas mãos. Podem ter crescimento acima (epigeous) ou abaixo (hipogeous) do solo. O corpo de frutificação conhecido como cogumelo trata-se apenas de uma estrutura reprodutora de um organismo maior, dividido em estrutura vegetativa e estrutura reprodutora. O tempo de vida do corpo de frutificação pode variar de 10 a 14 dias. A estrutura vegetativa (Figura 1) é conhecida como micélio, formado pela fusão de hifas compatíveis que derivam de diferentes esporos liberados pelos corpos de frutificação (estrutura reprodutora).

Fungos são organismos heterotróficos, que apresentam parede celular de quitina, não apresentam aparelho digestivo e sua nutrição é realizada pela liberação de enzimas capazes de digerir diversos compostos tendo absorção osmótica. Macrofungos ocorrem na classe Basidiomycetes e algumas vezes na classe Ascomycetes. Os cogumelos podem ser comestíveis ou não, venenosos ou medicinais, suculentos ou não suculentos. O tipo mais familiar dos corpos de frutificação dos cogumelos da classe Basidiomycetes apresenta chapéu (píleo), guelra, estipe e, algumas vezes, vulva como no caso do cogumelo da espécie *Volvariella volvacea* (Figura 2) (CHANG & MILES, 2004).



**Figura 1.** Esquema da estrutura macrofungos destacando as hifas, o micélio e o corpo de frutificação.



**Figura 2.** Desenho adaptado do cogumelo *Volvariella volvacea*, mostrando píleo, guelras, estipe e vulva (CHANG & MILES, 2004).

Existem aproximadamente 2.000 espécies de cogumelos potencialmente comestíveis, das quais apenas 25 são normalmente utilizadas na alimentação humana (BONONI, 1999; CHANG & MILES, 2004). No Brasil, as espécies popularmente cultivadas são *Agaricus bisporus*, *Agaricus blazei*, *Lentinula edodes* e algumas espécies do gênero *Pleurotus* (FURLANI & GODOY, 2007). Além destas, ocorrem várias espécies comestíveis nas matas brasileiras, como: *Auricularia fuscossuccinea*, *Auricularia delicata*, *Oudemansia siillacanarii*, *Flavolus brasiliensis*, *Laetiporus sulphureus*, *Agrocybe perfecta*, *Macrolepiota procera*, *Pleurotus ostreatus*, *Lepista nuda*, *Suillus edulis*, *Armillaria mellea*, *Coprinus comatus*, *Agaricus silvaticus*, *Tricholoma pachymeres* e *Fistulina hepatica* (BONONI, 1999).

## 1.1. Alguns cogumelos comestíveis

### 1.1.1. *Agaricus bisporus*

De acordo com CHANG e MILES (2004), nos países ocidentais o *Agaricus bisporus* é o cogumelo cultivado mais popular. No Brasil, esta foi a primeira espécie a ser cultivada (FURLANI & GODOY, 2007). Alguns cogumelos dessa espécie são conhecidos como cogumelo Champignon de Paris e Portobello (Figura 3).

### 1.1.2. *Pleurotus* spp.

O gênero *Pleurotus* apresenta grande variedade de cogumelos comestíveis; esse gênero refere-se a mais de 100 espécies em 25 gêneros relacionados, dos quais, são

reconhecidas apenas 50 espécies. Entre estes estão os cogumelos Shimeji Preto, Shimeji Branco (florida) , Salmão, Hiratake e Eryngii (Figura 3). A espécie mais famosa é a



Champignon  
(*Agaricus sp.*)



Portobello  
(*Agaricus sp.*)



Shimeji Preto  
(*Pleurotus sp.*)



Shimeji Branco ou florida  
(*Pleurotus sp.*)



Salmão  
(*Pleurotus sp.*)



Hiratake  
(*Pleurotus sp.*)



Eryngui  
(*Pleurotus sp.*)



Shitake  
(*Lentinula sp.*)

**Figura 3.** Fotos de alguns cogumelos comestíveis.

*Pleurotus ostreatus* denominada como cogumelo ostra pela semelhança do seu chapéu a uma ostra marinha. Este cogumelo é geralmente encontrado em zonas temperadas e cresce na madeira em condições climáticas quentes e úmidas (CHANG & MILES, 2004).

### **1.1.3. *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler**

A espécie *Lentinula edodes* é conhecida como cogumelo Shiang-gu na China e como Shitake pelos japoneses e brasileiros. É considerado o segundo cogumelo mais importante em termos de produção mundial. É o mais popular cultivado na China, Japão e nos demais países asiáticos. Seu cultivo geralmente é realizado em toros de madeira (CHANG & MILES, 2004; NEVES & GRACIOLLI, 2008).

## **1.2. Composição química dos cogumelos**

Cogumelos, por sua composição química, constituem um alimento de excelente valor nutricional. Esses alimentos apresentam baixo valor energético, contêm altas quantidades de minerais, aminoácidos essenciais, vitaminas e fibras (Tabela 1), sendo considerados como um alimento funcional ou produto nutracêutico (CHANG & MILES, 2004; FURLANI & GODOY, 2007; KALAC, 2009).

### **1.2.1. Umidade**

Os cogumelos são alimentos com alto teor de umidade. Os teores de umidade descritos na literatura variaram em faixa ampla de valores como 73,70 a 93,07% em uma mesma espécie e entre espécies de cogumelos.

### **1.2.2. Carboidratos e fibras alimentares**

Na grande maioria dos cogumelos, com exceção da água, os carboidratos e as fibras são os principais componentes desse alimento. Pentoses, metilpentoses, hexoses, assim como dissacarídeos, açúcares aminados, açúcares alcoólicos e açúcares ácidos, são os principais constituintes de carboidratos em cogumelos (CHANG & MILES, 2003). Em geral, os teores de carboidratos dos cogumelos estão na faixa de 50 a 80% em base seca.

No caso dos cogumelos, boa parte dos teores de fibras pode ser justificada pela parede celular composta de quitina, betaglucanos e manoproteínas (CHEUNG, 2010).

**Tabela 1.** Composição centesimal de alguns cogumelos

Cogumelo	Umidade (%)	Teor (% em base seca)				
		Carboidratos	Fibras	Proteínas (N x 4,38)	Cinzas	Lipídeos
<i>Agaricus bisporus</i> *	78,3–90,5	51,3–62,5	8,0–10,4	23,9–34,8	7,7–12,0	1,7–8,0
<i>Lentinula edodes</i> *	90,0–91,8	67,5–78,0	7,3–8,0	13,4–17,5	3,7–7,0	4,9–8,0
<i>Pleurotus florida</i> *	91,5	58,0	11,5	27,0	9,3	1,6
<i>Pleurotus ostreatus</i> *	73,7–90,8	57,6–81,8	7,5–8,7	10,5–30,4	6,1–9,8	1,6–2,2
<i>Pleurotus eous</i> *	92,2	59,2	12,0	25,0	9,1	1,1
Champignon ( <i>Agaricus bisporus</i> )**	92,00 ± 1,07	54,12 ± 7,42	20,44 ± 2,34	28,45 ± 7,25	11,98 ± 1,54	5,42 ± 1,37
Shitake ( <i>Lentinula edodes</i> )**	91,61 ± 1,62	69,58 ± 2,05	41,92 ± 4,57	18,98 ± 1,16	7,04 ± 1,24	4,39 ± 1,30
Shimeji ( <i>Pleurotus sp.</i> )**	90,77 ± 1,71	65,82 ± 7,86	39,62 ± 13,12	22,22 ± 6,37	7,65 ± 1,20	4,30 ± 1,01

\* Faixa (mínimo e máximo)(CHANG & MILES, 2004 e CHEUNG, 2010)

\*\* Média ± desvio padrão (FURLANI & GODOY, 2007)

Segundo dados da literatura, os teores de fibras em massa seca variam de 7,3% a 41,92% (CHANG & MILES, 2004; FURLANI & GODOY, 2007; CHEUNG, 2010).

### **1.2.3. Proteínas e aminoácidos**

Os teores de proteínas em cogumelos são variados. Em um mesmo trabalho, o teor de proteína em uma única espécie (*Pleurotus ostreatus*) variou de 10,5 a 30,4%. Em geral, pode-se afirmar que os teores de proteína de cogumelos variam de 10 a 35% (CHANG & MILES, 2004; FURLANI & GODOY, 2007; CHEUNG, 2010).

Alimentos de origem animal são boas fontes de aminoácidos essenciais, enquanto alimentos de origem vegetal são restritos nesse quesito. Estudos demonstraram que os cogumelos são excelentes fontes protéicas apresentando variedade no perfil e teores de aminoácidos essenciais (Tabela 2).

### **1.2.4. Lipídeos**

Cogumelos são alimentos com baixos teores de lipídeos. De acordo com a literatura, os teores de lipídeos em geral são menores que 9% em massa seca (CHANG & MILES, 2004; FURLANI & GODOY, 2007; CHEUNG, 2010).

### **1.2.5. Cinzas e minerais**

Cogumelos são boas fontes de minerais. Os minerais presentes nos substratos são retirados pelo micélio até o crescimento dos esporófitos. De acordo com CHANG e MILES (2004), os teores de cinzas em cogumelos não passam de 12,0% em base seca. Os minerais K, P, Na, Ca e Mg constituem 56 a 70% do total das cinzas dos cogumelos. FURLANI e GODOY (2007) investigaram os teores de fósforo nos cogumelos, e encontraram, em média, 89,4 mg/100 g em *Lentinula edodes*, 109,7 mg/100 g em *Pleurotus* e 113,3 mg/100 g em *Agaricus bisporus*.

### **1.2.6. Vitaminas**

Segundo CHANG e MILES (2004), os cogumelos são boas fontes de tiamina (vitamina B), riboflavina (vitamina B2), niacina, biotina, ácido ascórbico e ergosterol.

**Tabela 2.** Composição de aminoácidos essenciais em alguns cogumelos

Espécies	Teor em grama por 100 gramas de proteína bruta									Referência
	Leucin	Isoleucin	Valin	Triptofan	Lisin	Treonin	Fenilalanin	Metionin	Histidin	
	a	a	a	o	a	a	a	a	a	
<i>Agaricus bisporus</i>	7,5	4,5	2,5	2,0	9,1	5,5	4,2	0,9	2,7	CHANG & MILES (2004)
<i>Lentinula edodes</i>	7,9	4,9	3,7	nd	3,9	5,9	5,9	1,9	1,9	
<i>Pleurotus florida</i>	7,5	5,2	6,9	1,1	9,9	6,1	3,5	3,0	2,8	
<i>Pleurotus ostreatus</i>	6,8	4,2	5,1	1,3	4,5	4,6	3,7	1,5	1,7	
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	7,0	4,4	5,3	1,2	5,7	5,0	5,0	1,8	2,2	
<i>Volvariella diplasia</i>	5,0	7,8	9,7	1,5	6,1	6,0	7,0	1,2	4,2	
<i>Volvariella Volvacea</i>	4,5	3,4	5,4	1,5	7,1	3,5	2,6	1,1	3,8	
Ovo*	8,8	6,6	7,3	1,6	6,4	5,1	5,8	3,1	2,4	KALAC (2009)
<i>Cantharellus cibarius</i>	16,3	3,3	3,5	1,7	4,3	4,2	3,2	1,0	-	
<i>Hydnum repandum</i>	14,5	3,2	3,9	1,4	4,2	4,4	3,4	1,0	-	
<i>Tricholoma portentosum</i>	9,4	3,7	7,8	1,0	8,6	9,5	4,4	3,0	-	
<i>Tricholoma terreum</i>	8,2	3,6	8,9	1,1	7,6	9,1	6,6	3,5	-	
<i>Agaricus spp</i>	7,5	5,0	4,4	-	6,5	4,8	4,9	1,3	-	
<i>Russula spp.</i>	8,4	5,3	6,9	-	6,8	5,3	5,3	1,4	-	
Proteína padrão	7,0	4,0	5,0	1,0	5,4	4,0	6,1	3,5	-	

\*Ovo foi citado para efeitos de comparação. - = (Não analisado), nd (não detectado).

Os teores de tiamina variaram de 0,35 mg na espécie *V. volvacea* a 7,8 mg na espécie *L. edodes*. A niacina variou de 54,9 mg na espécie *L. edodes* a 108,4 mg nas espécies *Pleurotus spp.*. Os teores de riboflavina variaram de 1,63 mg na espécie *V. volvacea* a 5 mg de riboflavina na espécie *A. bisporus*. Em relação a vitamina C, o maior valor (9 mg) foi encontrado na espécie *L. edodes* e o maior teor de ergosterol foi encontrado na espécie *V. volvacea* sendo esse 0,47% do total de lipídeos.

FURLANI e GODOY (2007) determinaram os teores de vitamina C em algumas espécies de cogumelos e encontraram valores em média de 6,30 mg (*A. bisporus*), 6,50 mg (*Pleurotus*) e 7,19 mg (*L. edodes*) em 100 g de massa seca. Entretanto, esses autores concluíram que os teores de ácido ascórbico não são expressivos para considerar esses cogumelos como fonte dessa vitamina.

KALAC (2009) destacou a importância do cogumelo como fonte de ergocalciferol, apresentando valores entre 173 mg (*Cantharellus tubaeformis*) a 707 mg (*Suillus granulatus*) em 100 g de massa seca. CHEUNG (2010) citou que os teores de ergosterol estão entre 400 a 600 mg/100 g de massa seca em cogumelos.

### **1.2.7. Aminas bioativas**

O perfil e teores de aminas bioativas nos cogumelos podem estar relacionados com o perfil de aminoácidos e atividade microbiana (DADÁKOVÁ et al., 2009). Esses fatores podem mudar durante a produção, processamento e armazenamento. As aminas biogênicas são resistentes ao tratamento térmico empregado no processamento do alimento. Logo, são consideradas boas indicadoras da qualidade de alimentos frescos e processados, refletindo a qualidade do material utilizado e as condições higiênicas prevalentes durante o processamento (GLORIA, 2005). Em geral, as poliaminas estão naturalmente presentes nos seres vivos como fatores de crescimento. Nos cogumelos, a quantidade e o tipo de poliaminas pode depender da espécie e local de cultivo.

DADÁKOVÁ et al. (2009) investigaram o perfil e os teores de espermidina, espermina, putrescina, tiramina, triptamina e triptamina em 17 espécies de cogumelos colhidos em ambiente selvagem (Tabela 3). Investigaram também as alterações das aminas em função do desenvolvimento dos cogumelos: jovens, maduros (cogumelos no ponto de colheita) e velhos (cogumelos que passaram do ponto de colheita) e em função do estipe, região formadora de esporos e restante do chapéu. Segundo estes autores, a putrescina e a espermidina foram as aminas predominantes nos cogumelos. As aminas espermina, tiramina, feniletilamina e triptamina também foram encontradas em algumas

espécies. Quando quantificadas, tiramina e triptamina apresentaram-se em menores quantidades. O maior teor de tiramina foi encontrado na espécie *Xerocomus badius* (81,2 mg/kg) e o menor (18,2 mg/kg) na espécie *Lepiota procera*. Triptamina estava presente em maior quantidade (77,5 mg/kg) na espécie *Xerocomus badius* e em menor teor (26,5 mg/kg) na espécie *Suillus variegatus*. A feniletilamina foi encontrada em maior quantidade (546 mg/kg) na espécie *Xerocomus subtomentosus* e em menor quantidade (18,1 mg/kg) na espécie *Coprinus comatus*. Dentre as aminas biogênicas, os maiores teores detectados foram de putrescina (1.858 mg/kg) na espécie *Xerocomus chrysenteron* e o menor teor (19,8 mg/kg) na espécie *Armillaria mellea*.

Em relação as poliaminas, DADÁKOVÁ et al. (2009) detectaram maiores teores de espermidina na espécie *Boletus erythropus* (2.219 mg/kg) e o menor (50,2 mg/kg) na espécie *Sparassi crispa*. Em relação a espermina, o maior teor foi encontrado na espécie *Coprinus comatus* (1.102 mg/kg) e menor (19,6 mg/kg) *Boletus edulis*. De acordo com estes autores, os altos teores de espermidina estão relacionados com a formação de esporos pelo cogumelo. Esse fato é comprovado por ter sido encontrado teores mais elevados na região formadora de esporos do cogumelo em relação ao estipe e o restante do chapéu.

### 1.3. Propriedades funcionais dos cogumelos

O uso medicinal dos cogumelos tem uma longa história em países da Ásia (especialmente China, Coréia e Japão), ao passo que a utilização para esse fim é mais recente no ocidente. A atividade medicinal dos cogumelos é caracterizada pela presença de metabólitos primários e secundários com amplas atividades farmacológicas. Em diversos estudos, os cogumelos apresentaram atividade imunoestimulante, antitumoral, hipoglicemiante, hipolipidemiante e antiviral (Tabela 4). Ainda, os cogumelos apresentam efeitos antioxidantes *in vitro* e *in vivo* cujos mecanismos ainda não são totalmente compreendidos (CHANG & MILES, 2004; LAKHANPAL & RANA, 2005; CHEUNG, 2010).

De acordo com CHEUNG (2010), a parede celular fúngica é composta de complexos de quitina,  $\beta$ -glucanos e manoproteínas que não são digeridos no trato gastrointestinal humano, e por essa razão são classificados como fibra alimentar.

Polissacarídeos e complexos polissacarídeos-proteínas isolados de cogumelos, tais como os  $\beta$ -D-glucanos podem estimular o sistema imune não específico e exercer atividade anti-tumoral. Estes compostos são considerados imunomoduladores e têm sido utilizados

**Tabela 3.** Teores de aminos em 17 espécies de cogumelos

Espécie	Ano de colheita	Número de corpos de frutificação	Massa seca (g/kg)	Aminas bioativas (mg/kg massa seca)					
				TIM	FEM	TRM	PUT	EPD	EPM
<i>Xerocomus badius</i>	2006	5	151,7	NQ	121	43,3	630	556	25,5
	2007	7	86,6	28,2	191	77,5	1308	1393	28,2
	2008	6	88,3	81,2	147	74,7	953	610	NQ
<i>Xerocomus chrysenteron</i>	2006	5	159	NQ	224	NQ	770	57,2	NQ
	2007	9	95	NQ	384	NQ	1638	1267	26,4
	2008	8	82,7	33,4	457	51,9	1858	450	22,2
<i>Suillus variegatus</i>	2006	5	124,7	NQ	NQ	NQ	564	297	25,1
	2007	6	71,3	NQ	36,7	NQ	1298	382	39,2
	2008	6	84	26,1	NQ	26,5	795	288	61,8
<i>Suillus grevillei</i>	2006	5	116,2	NQ	NQ	NQ	278	170	31,1
	2007	8	61,8	NQ	NQ	NQ	832	554	36,2
<i>Suillus tridentinus</i>	2008	6	59,4	NQ	NQ	NQ	693	323	40,4
<i>Cantharellus cibarius</i>	2006	5	190	NQ	NQ	NQ	37,3	74,5	24,3
<i>Cantharellus tubaeformis</i>	2008	60	91,6	NQ	29,9	NQ	133	275	138
<i>Lactarius deterrimus</i>	2007	8	68,6	20,6	77,4	NQ	37,3	74,5	24,3
<i>Lactarius pinicola</i>	2007	6	84,5	25,3	73,7	NQ	133	275	138
<i>Amanita Rubescens</i>	2007	6	78,8	33,8	29,7	NQ	48,2	899	NQ
<i>Armillaria mellea</i>	2008	45	119,2	19,9	29	NQ	19,8	317	49,7
<i>Coprinus comatus</i>	2007	7	72,9	NQ	18,1	NQ	NQ	95	1102
<i>Boletus edulis</i>	2006	3	114,3	NQ	158	NQ	935	110	19,6
	2008	1	109,7	NQ	43,3	NQ	894	324	55,9
<i>Boletus erythropus</i>	2006	2	173,2	NQ	26,6	NQ	1073	2219	NQ
<i>Xerocomus subtomentosus</i>	2007	3	70,3	NQ	546	NQ	1207	149	NQ
<i>Lepiota procera</i>	2008	3	127,3	18,2	NQ	NQ	54,9	967	33,7
<i>Sparassis crispa</i>	2008	1	120,9	NQ	NQ	38,8	NQ	50,2	68,1

NQ= Não quantificado. Fonte: adaptado de DADAKOVA et al. (2009). TIM= Tiramina; FEM= Feniletilamina; TRM=Triptamina; PUT= Putrescina; EPD= Espermidina; EPM= espermina

cl clinicamente como adjuvantes no tratamento de tumores (ROP et al., 2009). Além desses polissacarídeos de parede celular, os cogumelos contêm substâncias bioativas de elevado peso molecular, como proteínas, enzimas e compostos de baixo peso molecular como triterpenos e fenólicos (CHANG & MILES, 2004; LAKHANPAL & RANA, 2005; CHEUNG, 2010).

Foi relatada atividade imunoestimuladora, com efeito antiviral e antitumoral, no extrato de cogumelo da espécie *Lentinula edodes* ao constatar a ativação de macrófagos, linfócitos, células T liberadoras de citocinas e interferons, importantes para a defesa do organismo contra vírus. Essa atividade foi atribuída, principalmente, ao polissacarídeo  $\beta$ -D-glucano, exclusivo dessa espécie, comercializado como lentinan® (CHANG & MILES, 2004; LAKHANPAL & RANA, 2005).

Em relação à atividade antitumoral, KIM et al. (2012) constataram efeitos inibitórios de extratos das espécies *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus cornucopiae* e *Pleurotus saumoneostramineus* em culturas de células de carcinoma do colón humano HT-29. FIRENZUOLI et al. (2008) e HETLAND et al. (2008) descreveram, em suas revisões, atividade antitumoral da espécie *Agaricus blazei*, uma vez que ingerido o extrato, causou um aumento da atividade das células NK (*natural killer*), dos monócitos e de macrófagos. MOURÃO et al. (2009) e FØRLAND et al. (2011) observaram atividade anti-inflamatória da espécie *Agaricus blazei* em pacientes humanos com colite ulcerativa e doença de *Crohn* na mucosa do colón.

Atividade antibacteriana de extratos de cogumelo foi relatada por TURKOGLU et al. (2007). De acordo com esses autores, a espécie *Laetiporus sulphureus* inibiu significativamente, em meio de cultura, amplo espectro de bactérias gram negativas, inibiu potencialmente o crescimento das bactérias gram-positivas, *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *M. lutes*, *M. flavours* e apresentou alta atividade contra colônias de *C. albicans*. Esses autores retificaram que a atividade antimicrobiana do *L. sulphureus* não foi tão efetiva comparada às drogas comerciais, contudo o uso de alimentos com essa atividade é relevante uma vez que microrganismos apresentam grande facilidade de desenvolver resistência.

No trabalho de OOI (1996), os extratos das espécies *Grifola frondosa* e *Lentinula edodes* apresentaram atividade hepatoprotetora ao reduzir os níveis das enzimas transaminase pirúvica glutâmica (TGP) e transaminase glutâmica oxálica (GOT) sérica liberadas por danos induzidos no fígado de roedores. A espécie *Pleurotus ostreatus*, em especial, é conhecida por reduzir os níveis séricos das lipoproteínas LDL e VLDL. Ademais, essa atividade foi fundamental para o desenvolvimento do fármaco Lovastatina® a partir de

um polissacarídeo isolado desta espécie (CHANG & MILES, 2004; LAKHANPAL & RANA, 2005).

### **1.3.1. Atividade antioxidante dos cogumelos**

Os efeitos antioxidantes têm sido extensivamente pesquisados em função da atual busca por antioxidantes naturais e alimentos antioxidantes. Os compostos antioxidantes são alternativas para a prevenção ou retardamento de doenças degenerativas associadas ao estresse oxidativo e aumento da estabilidade oxidativa de alimentos e medicamentos (GULÇIN, 2012).

Os cogumelos podem diferir na composição quantitativa e qualitativa dos compostos que exibem propriedade antioxidante. E na maioria das vezes, a influência da composição é desconsiderada ou raramente levada em conta na determinação das propriedades antioxidantes. Água e ácidos naturais (ácidos cítrico, oxálico, ascórbico, málico, succínico e outros) e íons metálicos são bons exemplos de componentes que podem afetar os ensaios antioxidantes (DAWIDOWICZ et al., 2011).

#### **1.3.1.1. Métodos de extração para determinação da atividade antioxidante *in vitro***

Nos trabalhos de YANG et al. (2002), ELMASTAS et al. (2007), TURKOGLU et al. (2007), SOARES et al. (2007), MOURÃO et al. (2009) e SILVA & JORGE (2011) foi investigado o potencial antioxidante dos cogumelos. Em geral, para o preparo da amostra para produção do extrato antioxidante foram empregadas a secagem e a redução do tamanho das amostras de cogumelos. Em todos os trabalhos, o metanol foi utilizado como solvente extrator, os extratos foram concentrados por evaporação rotatória a vácuo e posteriormente foi feita a suspensão desse extrato em metanol para análise da atividade antioxidante.

#### **1.3.1.2. Ensaio antioxidantes**

Diferentes princípios foram utilizados para a avaliação da atividade antioxidante dos extratos de cogumelos, dentre eles, inativação de um radical padrão, sequestro de espécies reativas de oxigênio, poder redutor sobre os íons metálicos, atividade quelante e determinação da estabilidade oxidativa em óleos (GULÇIN, 2012).

**Tabela 4.** Atividades terapêuticas de alguns cogumelos comestíveis

<b>Atividade funcional</b>		<b>Cogumelo</b>	<b>Referência</b>
Hipolipidemiante	Redução dos níveis de colesterol (LDL, VLDL), precursor do fármaco lovastatina®	<i>Pleurotus ostreatus</i>	CHANG & MILES (2004); LAKHANPAL & RANA (2005)
Imunoestimuladora / antiviral	Ativação de macrófagos, linfócitos, células T liberadoras de citocinas e interferons	<i>Lentinula edodes</i>	CHANG & MILES (2004); LAKHANPAL & RANA (2005)
Imunoestimuladora/ antitumoral	Efeitos inibitórios em culturas de células de carcinoma do cólon humano HT-29	<i>Pleurotus ostreatus</i> , <i>Pleurotus cornucopiae</i> e <i>Pleurotus saumoneostramineus</i>	KIM et al. (2009)
Anti-inflamatório	Atividade antitumoral, aumento da atividade das células NK ( <i>natural killer</i> ), monócitos e macrófagos da imunidade nativa	<i>Agaricus blazei</i>	FIRENZUOLI et al. (2008); HETLAND et al. (2008)
	Efeito anti-inflamatório em pacientes com colite ulcerativa e doença de Crohn na mucosa do cólon	<i>Agaricus blazei</i>	FØRLAND et al. (2011) MOURÃO et al. (2009)
Antimicrobiano	Atividade antibacteriana em amplo espectro de bactérias gram negativas e inibiu fortemente o crescimento das bactérias gram-positivas, <i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. cereus</i> , <i>Micrococcus luteus</i> e <i>M. flavours</i> . Além apresentar alta atividade contra <i>Candida albicans</i> .	<i>Laetiporus sulphureus</i>	TURKOGLU et al. (2007)
Hepatoprotetor	Redução dos níveis das enzimas transaminase pururuca glutâmica (TGP) e transaminase glutâmica oxálica (GOT) sérica liberadas por danos induzidos no fígado de ratos.	<i>Grifola froundosa</i> e <i>Lentinula edodes</i>	OOI (1996)
Antioxidante *	-	-	-

\* A atividade antioxidante está descrita nas tabelas 5 a 13.

## A. Ensaio de sequestro/inativação do radical DPPH•

Diversos trabalhos descritos na literatura (YANG et al., 2002; ELMASTAS et al., 2007; SOARES et al., 2007; TURKOGLU et al., 2007; MOURÃO et al., 2009 e SILVA e JORGE, 2011) investigaram a atividade oxidante de extratos de cogumelo pelo método de inativação do radical difenil picril hidrazina (DPPH) (Tabela 5). YANG et al. (2002) observaram atividade antioxidante pelo ensaio de DPPH dos extratos metanólicos de cogumelos na concentração de 6,4 mg/mL, sendo a inibição de 42,9% para a espécie *Flamulina velupites* à 81,8 % para *Pleurotus ostreatus*.

ELMASTAS et al. (2007), usando extratos na concentração de 180 µg/mL, obtiveram atividade antioxidantes que variou de 69,7% (Boletos badius) à 91,3% (*Lepista nuda*) de inibição do radical DPPH. SOARES et al. (2007) avaliaram seus resultados pelo índice de EC50%. De acordo com esses autores, aproximadamente 3 mg/mL dos extratos da espécie *Agaricus blazei* na fase de frutificação jovem e maduro apresentaram capacidade de inibir em 50% a absorção do radical DPPH. MOURÃO et al. (2009) analisaram a atividade antioxidante na espécie *Agaricus blazei* e obtiveram um percentual máximo de inativação do radical DPPH na concentração de 0,2 g/mL do extrato de *Agaricus blazei*.

**Tabela 5.** Percentual de inibição da absorbância da solução de DPPH pelos extratos de cogumelos comestíveis e dos padrões BHA, BHT e  $\alpha$ -tocoferol

Cogumelo / Composto	Inibição (%)	Referência
<i>Pleurotus ostreatus</i> (6,4 mg/mL)	81,8	YANG et al. (2002)
BHA (20 mM)	96,0	
$\alpha$ -tocopherol (20 mM)	95,0	
<i>Lepista nuda</i> (180 µg/mL)	91,3	ELMASTAS et al. (2007)
$\alpha$ -tocopherol (180 µg/mL)	95,4	
BHA (180 µg/mL)	97,4	
<i>Laetiporus sulphureos</i> (800 µg/mL)	86	TURKOGLU et al. (2007)
<i>Agaricus blazei</i> (3 mg/mL)	50,0	SOARES et al. (2007)
<i>Agaricus blazei</i> (0,2 g/mL)	88,1	MOURÃO et al. (2009)
<i>Lentinula edodes</i> (2,5 mg/mL)	92,8	SILVA & JORGE (2011)
<i>Agaricus blazei</i> (2,5 mg/mL)	92,9	

SILVA e JORGE (2011) obtiveram inibição máxima do radical DPPH na concentração de 2,5 mg/mL dos extratos das espécies *Lentinula edodes* e *Agaricus bisporus*. TURKOGLU et al. (2007) observaram atividade máxima na concentração de 800

$\mu\text{g/mL}$  do extrato de *Laetiporus sulphureus*. Além disso a atividade do extrato de *Laetiporus sulphureus* na concentração de 320 mg/mL foi semelhante à atividade de 40  $\mu\text{g}$   $\alpha$ -tocoferol.

### **B. Avaliação da atividade antioxidante pelo método de sequestro/inativação de espécies reativas de oxigênio - Inativação do radical hidroxil pelo método de reação do radical DMPO**

No trabalho de YANG et al. (2002) foi avaliado o percentual de inibição da absorção do composto (DMPO)-OH pelos extratos metanólicos de cogumelos na concentração de 40 mg/mL e os antioxidantes padrões BHA e  $\alpha$ -tocoferol na concentração de 20 mM. A espécie *Pleurotus ostreatus* apresentou 54,3% de inibição enquanto os antioxidantes padrões apresentaram 23% (BHA) e 34% ( $\alpha$ -tocoferol) de inibição da absorção do composto (DMPO)-OH. No trabalho de ELMASTAS et al. (2007), usando este mesmo método, o extrato metanólico na concentração de 50  $\mu\text{g/mL}$  da espécie *Verpa conica*, apresentou 99% de inibição (Tabela 6).

**Tabela 6.** Percentual de inibição da formação do composto (DMPO)-OH pelos extratos de cogumelos e pelos padrões BHA e  $\alpha$ -tocoferol

<b>Cogumelo / Composto</b>	<b>Inibição (%)</b>	<b>Referência</b>
<i>Pleurotus ostreatus</i> (40 mg/mL)	54,3	YANG et al. (2002)
BHA (20 mM)	23,0	
$\alpha$ -tocoferol (20 mM)	34,0	
<i>Verpa conica</i> (50 $\mu\text{g/mL}$ )	99,0	ELMASTAS et al. (2007)

### **C. Avaliação da atividade antioxidante pela redução de íons metálicos - Avaliação da redução do íon férrico pelo método de formação do complexo azul da Prússia**

Nos ensaios de avaliação do poder redutor dos extratos antioxidantes pela formação do complexo Azul da Prússia, YANG et al. (2002), observaram que os extratos de cogumelos nas concentrações de 5 mg/mL (*Pleurotus ostreatus*) e 0,2 mg/mL (*Russula delica*) apresentaram absorvância superior à dos antioxidantes BHA (20 mM) e  $\alpha$ -tocopherol (20 mM). No trabalho de ELMASTAS et al. (2007), na concentração de 200  $\mu\text{g/mL}$ , todos os extratos de cogumelos apresentaram absorvância superior aos padrões BHA e  $\alpha$ -tocoferol. O extrato metanólico na concentração de 20 mg/mL da espécie *Agaricus*

*blazei* (SOARES et al., 2009) apresentou absorção superior ao antioxidante padrão BHT na concentração de 0,2 mg/mL (Tabela 7).

#### D. Avaliação da atividade antioxidante pela complexação de prooxidantes - Poder quelante sob o íon ferroso

O efeito quelante sob o íon ferroso dos extratos metanólicos de cogumelos foi avaliado nos trabalhos de YANG et al. (2002) e ELMASTAS et al. (2007) (Tabela 8). No trabalho de YANG et al. (2002), o extrato metanólico de cogumelo *Pleurotus ostreatus* (1,6 mg/mL) apresentou 81,6% de inibição da formação do complexo [Ferrozina-Fe]<sup>2+</sup>, em comparação com 36% BHA (20 mM) e 92% de  $\alpha$ -tocoferol (20 mM). No trabalho de ELMASTAS et al. (2007), o percentual de inibição do extrato metanólico da espécie *Verpa conica* foi superior, na mesma concentração, aos padrões antioxidantes  $\alpha$ -tocoferol, BHA e BHT.

**Tabela 7.** Poder de redução dos extratos de cogumelos e padrões BHA, BHT e  $\alpha$ -tocoferol sobre o íon férrico pelo método de formação do complexo Azul da Prússia

Cogumelo / Composto	Absorbância (700 nm)	Referência
<i>Pleurotus ostreatus</i> (5 mg/mL)	0,81	YANG et al. (2002)
BHA (20 mM)	0,12	
$\alpha$ -tocopherol (20 mM)	0,13	
<i>Russula delica</i> (0,2 mg/mL)	1,32	
<i>Agaricus blazei</i> (20 mg/mL)	0,80	SOARES et al. (2007)
BHT 0,2 mg/mL	0,70	

**Tabela 8.** Percentual de inibição da formação do complexo [Ferrozina-Fe]<sup>2+</sup> dos extratos de cogumelos e dos padrões BHA, BHT e  $\alpha$ -tocoferol

Cogumelo / Composto	Inibição (%)	Referência
<i>Pleurotus ostreatus</i> (1,6 mg/mL)	81,6	YANG et al. (2002)
BHA (20 mM)	36,0	
$\alpha$ -tocoferol (20 mM)	92,0	
<i>Verpa conica</i> (0,3 mg/mL)	99,1	ELMASTAS et al. (2007)
$\alpha$ -tocoferol (0,3 mg/mL)	45,7	
BHA (0,3 mg/mL)	47,8	
BHT (0,3 mg/mL)	68,5	

## E. Determinação da estabilidade oxidativa em óleos

### E.1. Determinação da peroxidação lipídica pela reação do malonaldeído com ácido tiobarbitúrico

YANG et al. (2002) analisaram a estabilidade oxidativa pela reação do malonaldeído com ácido tiobarbitúrico e verificou que o extrato da espécie *Lentinula edodes* (1,2 mg/mL) teve 75,3 % de inibição da peroxidação lipídica, sendo comparado com 43,9% de inibição por BHA (10 mg/mL) (Tabela 9).

**Tabela 9.** Percentual de inibição da peroxidação lípica do extrato cogumelo *Lentinula edodes* e do padrão BHA pela reação do malonaldeído com ácido tiobarbitúrico

Cogumelo / Composto	Inibição da peroxidação lipídica (%)
<i>Lentinula edodes</i> (1,2 mg/mL)	75,3
BHA (10 mg/mL)	43,9

Fonte: YANG et al. (2002).

### E.2. Determinação da atividade antioxidante pela avaliação da peroxidação lipídica por tiocianato e Fe<sup>2+</sup>

ELMASTAS et al. (2007), para determinar o potencial de antioxidante dos extratos metanólicos de cogumelos em inibir/retardar a peroxidação lipídica, avaliaram a formação de peróxidos por tiocianato e Fe<sup>2+</sup>. Todos os extratos de cogumelos na concentração de 100 µg/mL apresentaram atividade antioxidante superior aos padrões α-tocoferol, BHA e BHT na concentração de 400 µg/mL (Tabela 10).

### E.3. Índice de estabilidade oxidativa do óleo pelo método de oxidação induzida

SILVA e JORGE (2011) utilizaram o método avaliação da estabilidade lipídica por oxidação induzida via equipamento Rancimat para investigar a influência dos extratos metanólicos das espécies *Agaricus blazei* e *Lentinula edodes* no óleo de soja, comparando com padrões BHA, TBHQ e BHT. O controle apresentou estabilidade oxidativa durante 14,75 h, BHT = 15,35 h, *Lentinula edodes* 17,6 = h, *Agaricus blazei* 17,88 = h e TBHQ 29,12 = h (Tabela 11).

**Tabela 10.** Inibição da formação de peróxido pelos cogumelos e dos padrões  $\alpha$ -tocoferol, BHA e BHT, na estabilidade oxidativa via reação peróxido,  $Fe^{2+}$  e tiocianato

<b>Cogumelo / Composto</b>	<b>Concentração</b>	<b>Inibição antioxidante (%)</b>
<i>Russula delica</i>	100 $\mu$ /mL	99,7
<i>Boletus badius</i>		99,2
<i>Agaricus bisporus</i>		98,8
<i>Polyporus squamosus</i>		98,4
<i>Pleurotus ostreatus</i>		98,3
<i>Lepista nuda</i>		97,9
<i>Verpa conica</i>		97,7
$\alpha$ -tocoferol	400 $\mu$ /mL	77,0
BHA		85,0
BHT		97,0

Fonte: adaptado de ELMASTAS et al. (2007).

**Tabela 11.** Estabilidade oxidativa no Rancimat por cogumelos e pelos padrões TBHQ e BHQ

<b>Cogumelo / Composto</b>	<b>Tempo de indução (horas)</b>
<i>Lentinula edodes</i>	17,6
<i>Agaricus blazei</i>	17,88
TBHQ	29,12
BHQ	15,35
Controle	14,75

Fonte: SILVA e JORGE (2011).

#### **E.4. Avaliação da oxidação do ácido linoleico pela degradação do $\beta$ -caroteno**

TORKOGLU et al. (2007) avaliaram a capacidade do extrato da espécie *Laetiporus sulphureus* e dos padrões BHA e  $\alpha$ -tocoferol, em inibir a oxidação do ácido linoleico. Na concentração de 160 mg/mL o extrato apresentou capacidade semelhante aos padrões. No trabalho de SOARES et al. (2007), o extrato de *Agaricus blazei* (10 mg/mL) apresentou capacidade semelhante em inibir a oxidação do ácido linoleico ao padrão BHT (0,2 mg/mL). SILVA e JORGE (2011) encontraram capacidade semelhante para os extratos das espécies *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* na concentração de 2,5 mg/mL (Tabela 12).

**Tabela 12.** Estabilidade oxidativa via método de degradação do  $\beta$ -caroteno por cogumelos e pelos padrões BHA e BHT

Concentração	Inibição (%)	Referência
<i>Laetiporus sulphureos</i> (160 mg/mL)	82,2	TORKOGLU et al. (2007)
BHA (160 mg/mL)	94,4	
$\alpha$ -tocoferol (160 mg/mL)	98,6	
<i>Agaricus blazei</i> (10 mg/mL)	90,0	SOARES (2007)
BHT (0,2 mg/mL)	92,0	
<i>Lentinula edodes</i> (2,5 mg/mL)	96,0	SILVA e JORGE (2011)
<i>Agaricus blazei</i> (2,5 mg/mL)	98,7	

### 1.3.2. Componentes antioxidantes dos cogumelos

#### A. Fenólicos totais

Os fenólicos constituem um grupo de compostos que atuam como antioxidantes primários ou terminadores de radicais livres. Polifenóis apresentam atividade múltipla no sentido que podem atuar como agente redutor, doador do átomo de hidrogênio e sequestrante do oxigênio singlete. Certos polifenóis são também efetivos como antioxidantes. Esses compostos são capazes de quelar íons de metais de transição, que em estado livres, podem induzir a reação tipo Fenton (GULÇIN, 2012).

No trabalho de YANG et al. (2002), os teores de fenólicos totais pelo método de Folin Ciocateau variaram de 8,38 (*Flamulina velupite*, branco) a 15,7 mg/g (*Pleurotus ostreatus*). No trabalho de SOARES et al. (2009), os teores de fenólicos totais na espécie *Agaricus blazei* variaram de 28,82 mg/g para variedade jovem e 29,64 mg/g para o estágio maduro. SILVA e JORGE (2011) avaliaram o extrato aquoso das espécies de cogumelos para determinação dos teores de fenólicos totais que variou de 128,44 mg/g (*Lentinula edodes*) a 134,67 mg/g (*Agaricus blazei*). TURGOKLU et al. (2007) determinaram os teores de fenólicos totais no extrato da espécie de *Laetiporus sulphureus* de 63,8 mg/g equivalentes de pirocatecol e 14,2 mg/g em equivalentes quercetina (Tabela 13).

**Tabela 13.** Teores de fenólicos totais em cogumelos comestíveis

<b>Cogumelo</b>	<b>Teor de fenolicos (mg/g)</b>	<b>Referência</b>
<i>Flammulina velutipes</i> (branco)	8,38	YANG et al. (2002)
<i>Flammulina velutipes</i> (amarelo)	9,26	
<i>Lentinula edodes</i> (a)	6,27	
<i>Lentinula edodes</i> (b)	9,11	
<i>Pleurotus cystidiosus</i>	10,24	
<i>Pleurotus ostreatus</i>	15,7	
<i>Laetiporus sulphureus</i>	63,8 Equivalente pirocatecol 14,2 Equivalente quercetina	TURGOKLU et al. (2007)
<i>Agaricus blazei</i> (jovem)	28,82	SOARES et al. (2007)
<i>Agaricus blazei</i> (maduro)	29,64	
<i>Lentinula edodes</i>	128,44	SILVA & JORGE (2011)
<i>Agaricus blazei</i>	134,67	

## **B. Outros compostos antioxidantes em cogumelos**

Além dos ensaios relatados para avaliar a atividade antioxidante, YANG et al. (2002) determinaram por cromatografia líquida de alta eficiência os teores de  $\alpha$ -tocoferol em cogumelos. Esses teores variaram de 0,12 (*Lentinula edodes*) a 0,45 mg/g (*Pleurotus cystidiosus*), todavia não foi detectada a presença de tocoferol em cogumelos da espécie *Flammulina velutipes*. ELMASTAS et al. (2007) detectaram teores de  $\beta$ -caroteno que variaram de 0,007 (*Russula delica*) à 0,04 mg/g (*Agaricus bisporus*). Nas espécies *Pleurotus ostreatus* e *Lepista nuda* não foi detectado  $\beta$ -caroteno e os teores de  $\alpha$ -tocoferol variam de 0,3 (*Polyporus squamosus*) à 9,0 mg/g (*Agaricus bisporus*) (Tabela 14). Ademais, outros compostos antioxidantes como as poliaminas naturais (espermidina e espermina) podem ser responsáveis pela atividade antioxidante em cogumelos.

## **2. Aminas bioativas**

### **2.1. Definição e classificação**

As aminas bioativas são compostos básicos nitrogenados os quais um, dois ou três átomos do hidrogênio da amônia são substituídos por grupos alquil ou aril. Podem ser classificadas

de acordo com a estrutura química, podendo ser alifáticas (putrescina, cadaverina, agmatina, espermina e espermidina), aromáticas (tiramina, feniletilamina), ou heterocíclicas (histamina, triptamina e serotonina). Quanto ao número de grupamentos amina, podem ser classificadas como monoaminas (tiramina e felietilamina), diaminas (putrescina e cadaverina), ou poliaminas (espermina e espermidina) (Figura 4). De acordo com a via biossintética, as aminas podem ser naturais ou biogênicas. Aminas naturais são formadas pela biossíntese de novo enquanto, as aminas biogênicas são produzidas pela descarboxilação de aminoácidos livres correspondentes. Baseando nas funções fisiológicas, as aminas bioativas podem ser classificadas como poliaminas ou aminas biogênicas (SHALABY, 1997; GLORIA, 2005; KALAC et al., 2009; GARCÍA-RUIZ et al., 2011; ARRIETTA & PRATS-MOYA, 2012; BACH et al., 2012; KALAC, 2014).

**Tabela 14.** Teores de  $\beta$ -caroteno, polifenóis totais e  $\alpha$ -tocoferol em cogumelos comestíveis

<b>Espécie</b>	<b><math>\beta</math>-caroteno (mg/g)</b>	<b>Polifenóis totais (mg/g)</b>	<b><math>\alpha</math>-tocoferol (mg/g)</b>	<b>Referência</b>
<i>Russula delica</i>	0,009	26,0	4,2	ELMASTAS et al. (2007)
<i>Boletus badius</i>	nd	17,5	8,8	
<i>Agaricus bisporus</i>	0,040	13,1	9,2	
<i>Polyporus squamosus</i>	0,020	13,9	0,3	
<i>Pleurotus ostreatus</i>	nd	12,1	0,9	
<i>Lepista nuda</i>	0,007	7,7	1,4	
<i>Verpa conica</i>	0,014	17,2	1,9	
<i>Lentinula edodes(a)</i>	-	-	0,12	YANG et al. (2002)
<i>Lentinula edodes(b)</i>	-	-	0,13	
<i>Pleurotus cystidiosus</i>	-	-	0,45	
<i>Pleurotus ostreatus</i>	-	-	0,24	

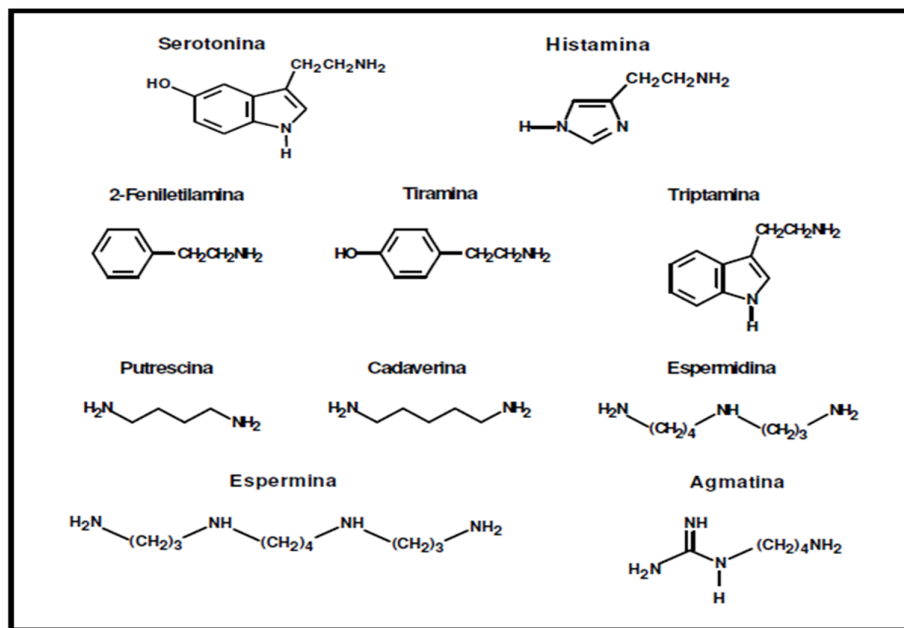
(nd = não detectado; - = não analisado).

## 2.2. Poliaminas

### 2.2.1. Definição

A espermidina e a espermina são aminas bioativas, classificadas como poliaminas naturais (KALAC & KRAUSOVÁ, 2005). Essa classificação é em função do número de grupamentos amina (GLORIA, 2005) e especificidade das funções biológicas das

poliaminas nas células procaríotas e eucariotas (KALAC & KRAUSOVÁ, 2005; KALAC, 2014).

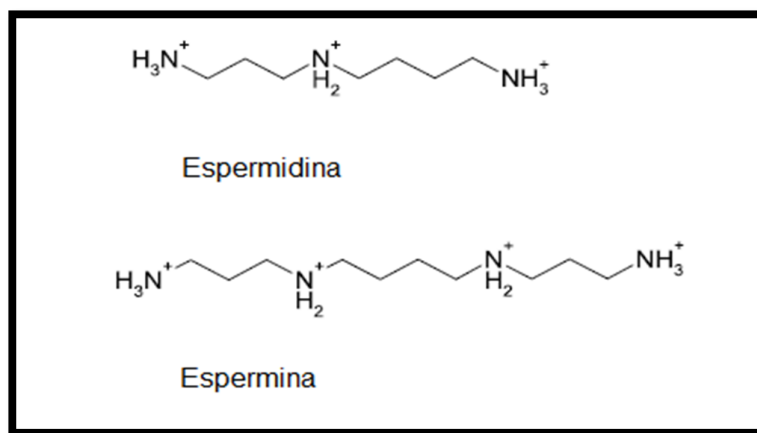


**Figura 4.** Estrutura química de algumas aminas bioativas (SILVA, 2008).

Poliaminas são compostos estáveis hábeis a resistir ao calor, condições ácidas e básicas. Em condições fisiológicas essas aminas lineares são totalmente protonadas e se comportam como policátions naturais, diferente de moléculas inorgânicas ou íons, as cargas das poliaminas são espaçadas em uma cadeia de carbono flexível (MORGAN, 1999) (Figura 5). Esses compostos interagem não especificamente com estruturas carregadas negativamente e, em alguns casos, podem substituir íons metálicos como  $Mg^{2+}$  e  $Ca^{2+}$  (BARDOCZ, 1995; AGOSTINELLI, 2010).

### 2.2.2. Biossíntese

As poliaminas podem ser produzidas pela biossíntese *de novo* ou produzidas pela microbiota do trato gastrointestinal. Em células normais saudáveis, os níveis de poliaminas são controlados por enzimas de biossíntese e catabolismo. A formação de poliaminas naturais (espermina e espermidina) se dá pela descarboxilação do aminoácido ornitina e da S-adenosil-metionina (BARDOCZ et al., 1993; ELIASSEN et al., 2002; KALAC & KRAUSOVÁ, 2005; ALI et al., 2011).



**Figura 5.** Estrutura química das poliaminas espermidina e espermina em pH fisiológico (adaptado de KALAC & KRAUSOVÁ, 2005).

A espermidina é formada via putrescina, através da adição de um grupo aminopropil doado pela descarboxilação da S-adenosil-metionina. Essa reação é catalisada pela enzima aminopropil espermidina sintase (Spds). Em sequência, a síntese de espermina ocorre pela adição de um grupo aminopropil a espermidina, sendo essa reação catalisada pela enzima aminopropil espermina sintase (SpmS). Nas células de mamíferos e fungos primários, a síntese de putrescina ocorre pela descarboxilação da ornitina, catalisada pela enzima ornitina descarboxilase (ODC). A ornitina é produzida pelo ciclo da uréia, células que não apresentam esse ciclo têm a atividade da enzima argilase que assegura a disponibilidade de ornitina para a produção de poliaminas. Em alguns microrganismos e plantas, a síntese de putrescina se dá via agmatina, que é formada pela descarboxilação da arginina pela enzima arginina descarboxilase. A agmatina formada é hidrolisada pela enzima agmatinase para a formação da putrescina (Figura 6).

O catabolismo das poliaminas é pela ação das enzimas espermina (espermidina) acetil transferase, poliamina oxidase (PAO), diamino-oxidase (DAO) e possivelmente outras aminoxidases (MORGAN, 1999; GLORIA, 2005; KALAC e KRAUSOVÁ, 2005; KALAC, 2014).

### 2.2.3. Importância na saúde

Em contraste com os íons metálicos, os quais apresentam cargas localizadas, as poliaminas podem formar pontes entre cargas negativas distantes. Essa propriedade é justificada pela distribuição de cargas positivas ao longo da cadeia de carbonos. Como

resultado, as poliaminas podem apresentar diversas funções fisiológicas. Nas células as poliaminas atuam no controle, iniciação e regulação da tradução do RNAm para formação de proteínas, estimulação dos ribossomos, estabilização da estrutura do RNAt e redução da degradação de RNA, aumentando a síntese de RNA e DNA, estímulo de enzimas como citocromo P450, B-1,3-glucano sintetase, regulação do transporte de membrana, prevenção da perda do controle de envelhecimento na mitocôndria, regulação de vias mediadas por cálcio e sinais de transcrição, e prevenção de danos de radiação e mutações (LOVAAS, 1991; BARDOCZ,1995). Além dessas propriedades intracelulares, as poliaminas ajudam a condensar DNA, a modificar covalentemente proteínas e são importantes para a rigidez e estabilidade das membranas celulares. Em relação ao crescimento celular, a função mais importante das poliaminas, uma das quais não pode ser substituída por qualquer outra molécula carregada positivamente, é agir como mensageira secundária, mediando a ação de hormônios e fatores de crescimentos (BARDOCZ, 1995).

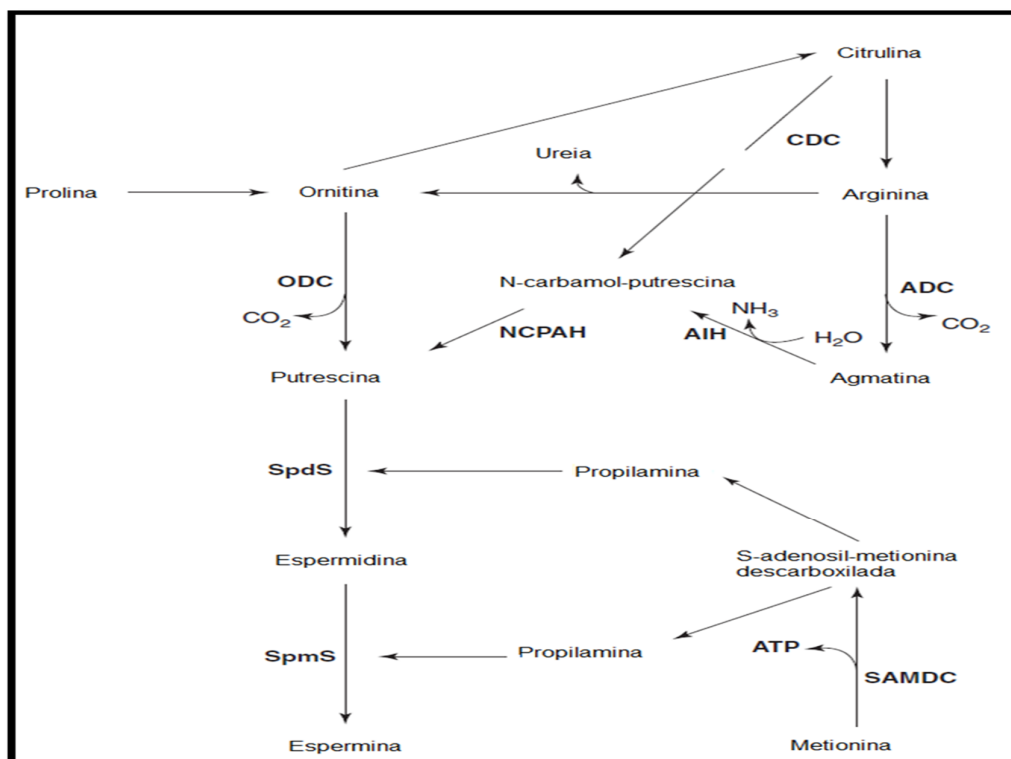
Devido à diversidade de atuação das poliaminas nas vias do metabolismo celular e crescimento, o requerimento de poliaminas é particularmente alto e rápido em tecidos em crescimento. A espermina é citada por ZAHEDI et al. (2010) como reguladora da ativação de macrófagos, linfócitos T e como inibidor da produção de citocinas pro-inflamatórias. MORGAN (1999) citou que as poliaminas podem modular a síntese e liberação de óxido nítrico. Poliaminas também são efetivas na cicatrização de feridas, além de modularem a permeabilidade e renovação da mucosa intestinal, atuando na absorção de nutrientes (KALAC e KRAUSOVÁ, 2005; GLORIA, 2005; ALI et al., 2011; KALAC, 2014). A contribuição das poliaminas para a regeneração celular pode ser considerada indesejável em alguns quadros patológicos.

As poliaminas estão frequentemente presentes em altas concentrações em células de rápida divisão e tecidos em crescimentos, sendo associada ao crescimento de tumores, invasão tumoral e metástase. O motivo deste aumento dos níveis inclui aumento da síntese de putrescina pela ornitina através da ornitina descarboxilase e aumento da ingestão de poliaminas. A restrição de poliaminas e o uso de drogas inibidoras da síntese dessas têm apresentado efeito positivo no tratamento de câncer (GLORIA, 2005; KALAC e KRAUSOVÁ, 2005; AGOSTINELLI et al., 2010; SODA, 2011; KALAC, 2014).

#### **2.2.4. Atividade antioxidante das poliaminas**

Outra atividade importante associada às poliaminas é a antioxidante. As poliaminas podem atuar diretamente na captura/inativação de radicais livres ou indiretamente inibindo

prooxidantes e/ou restaurando o dano provocado pela oxidação (LOVAAS, 1991; HA et al., 1998; MENDONÇA, 2008; AGOSTINELLI et al., 2010).



**Figura 6.** Biossíntese de poliaminas (SILVA, 2008).

Em pH fisiológico, as poliaminas podem ter três (espermidina) ou quatro (espermina) cargas positivas ao longo da cadeia de carbono (KALAC e KRAUSOVÁ, 2005). De acordo com MENDONÇA (2008), a ação antioxidante dessas aminas está correlacionada com a quantidade de grupos amino, aumentando da espermidina para a espermina, e ao comprimento da cadeia da amina que aumenta a estabilidade de complexos de poliaminas com íons metálicos.

LØVAAS (1991) verificou um aumento na concentração de poliaminas no tecido epitelial após a exposição à radiação UVB. De acordo com o autor, o aumento está relacionado à tentativa de minimizar ou evitar o dano oxidativo, pela formação de peróxidos nas camadas lipídicas da pele e membranas celulares induzidas pela radiação UVB. Além disso, esse pesquisador propôs a atividade antioxidante das poliaminas como protetoras do DNA ao ataque de radicais livres.

De acordo com FARRIOL et al. (2003), a atividade antioxidante foi justificada pelos efeitos estabilizantes de membrana, interações eletrostáticas das poliaminas policatiônicas com anions orgânicos os quais modulam a estrutura terciária de proteínas, estabilizam

membranas e protegem o DNA da degradação alcalina, sendo parte do mecanismo antioxidante total da estrutura celular. A espermina ainda pode inibir a geração de radicais superóxidos e as reações catalisadas com metais e assim prevenir a formação de radicais hidroxil.

HA et al. (1998) comprovaram a atividade da espermina como inativadora de radicais livres. Nesse estudo, a espermina inibiu a geração de radicais superóxidos e as reações catalisadas por ferro, prevenindo também a formação de radicais hidroxil. Assim como a espermina, a espermidina é eficiente na proteção da enzima superóxido dismutase ou catalase exposta ao oxigênio singlete. No trabalho de BELLE et al. (2004), o aumento da concentração de poliaminas em cérebro de ratos teve efeito inibitório na produção de ácido quilolínico (metabólito neurológico presente na patogênese de doenças neurológicas humana, que pode estimular a produção radicais livres e peroxidação lipídica).

### **2.3. Aminas biogênicas**

Aminas biogênicas são bases nitrogenadas de baixo peso molecular, formados pela descarboxilação de aminoácidos, naturalmente presentes ou sintetizadas pelo metabolismo de microrganismos, de vegetais e de animais (SILLA-SANTOS, 1996).

As naturalmente presentes podem ser usadas como índice de autenticidade. Podem ter origem endógena em baixa concentrações em alimentos não fermentados como frutas, vegetais, carne, leite e peixe. Ainda, são formadas em grandes quantidades em alimentos pela descarboxilação de aminoácidos durante a maturação e estocagem (SHALABY, 1996; ÖNAL, 2007). São compostos importantes do ponto de vista higiênico-sanitário, uma vez que podem ser agentes causadores de episódios de intoxicação alimentar. As aminas biogênicas mais importantes em alimentos, tanto no aspecto qualitativo e quantitativo, são histamina, tiramina, putrescina, cadaverina e feniletilamina, produtos da descarboxilação da histidina, tirosina, ornitina, lisina e  $\beta$ -fenilalanina (SPANNO et al., 2010).

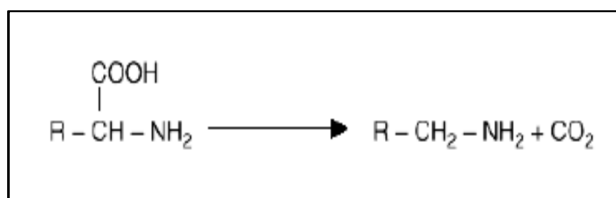
#### **2.3.1. Ocorrência em alimentos**

Em alimentos e bebidas, as aminas biogênicas são geradas pelas enzimas endógenas do alimento ou podem ser geradas pela descarboxilação microbiana de aminoácidos. De modo geral, todos os alimentos que contem proteínas e atividade proteolítica ou aminoácidos livres estão sujeitos à atividade microbiana ou bioquímica e por essa razão a presença de aminas biogênicas pode ser esperada. O perfil e os teores de

aminas formadas no alimento dependem fortemente da natureza do alimento e dos microrganismos presentes (SILLA SANTOS, 1996). As amins estão presentes em uma variedade de alimentos como peixe, produtos de peixe, produtos cárneos, ovos, queijo, chocolates, nozes, vegetais fermentados, produtos à base de soja, cerveja e vinho.

Os fatores que influenciam a formação de amins biogênicas em alimentos incluem a presença de aminoácidos livres, de microrganismos e condições favoráveis para o crescimento e produção de enzimas aminoácido descarboxilase pelo microrganismo. Contudo, usualmente, as amins são formadas durante os processos de decomposição e/ou deterioração, os quais envolvem a formação de aminoácidos livres através da proteólise junto com a atividade bacteriana e ação de aminoácido descarboxilase (SHALABY, 1996; SILLA-SANTOS, 1996; EFSA, 2011).

A descarboxilação de aminoácidos ocorre pela remoção do grupamento  $\alpha$ -carbonil para formar a amina correspondente (Figura 7). As enzimas aminoácido descarboxilases são encontradas em espécies bacterianas do gênero *Enterobacteriaceae*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Morganella*, *Klebsiella*, *Hafnia*, *Proteus* e outras (ÖNAL, 2007). As amins biogênicas são frequentemente encontradas em altas concentrações em alimentos e em produtos derivados do mesmo, especialmente quando estão sujeitos a contaminação bacteriana deliberada ou acidental. É importante notar, como no caso da histamina, que altos níveis tóxicos de amins biogênicas podem ser alcançados antes do alimento aparentar-se deteriorado ou sensorialmente inaceitável (FELDMAN et al., 2005). Além disso, as amins biogênicas são termorresistentes, não sendo degradadas pelo tratamento térmico. O controle de amins biogênicas em alimentos é feito pelo uso de matéria prima de boa qualidade, aplicação de higiene e processos, na produção do alimento, que inibam microrganismos deteriorantes (SILLA-SANTOS, 1997).



**Figura 7.** Formação de amins pela descarboxilação de aminoácidos (GLORIA, 2005).

### 2.3.2. Importância na saúde

As aminas biogênicas são importantes fontes de nitrogênio para síntese de hormônios, alcaloides, ácidos nucleicos e proteínas. Algumas aminas biogênicas têm um importante papel como neurotransmissoras, enquanto outras são necessárias em diversas funções biológicas (Tabela 15). Nas células eucariotas, a biossíntese de aminas biogênicas é essencial, já que funcionam como precursores da síntese de hormônios, alcalóides, ácidos nucleicos e proteínas. Em células procariontes, os mecanismos fisiológicos da síntese de aminas biogênicas estão associados aos mecanismos de defesa como a resistência em ambientes ácidos, uma vez que a descarboxilação aumenta a capacidade de sobrevivência em condições de estresse ácido, através do consumo de prótons e excreção de aminas e CO<sub>2</sub> que ajudam a restaurar o pH interno (SPANNO et al., 2010).

No corpo humano, as aminas biogênicas são geralmente psicoativas, neuroativas ou vasoativas. Aminas psicoativas como histamina e serotonina afetam o sistema nervoso atuando nas transmissões sinápticas no sistema nervoso central. Aminas vasoativas podem atuar diretamente ou indiretamente no sistema nervoso vascular. Certas classes de aminas, como catecolaminas, indolaminas e histamina, cumprem importantes funções metabólicas em humanos, especialmente no sistema nervoso e no controle da pressão arterial. Feniletilamina, tiramina e triptamina provocam aumento na pressão arterial; em contraste, a histamina reduz a pressão arterial. A histamina possui importante função biológica como mediador primário, nos sintomas imediatos notados nas reações alérgicas. Putrescina, cadaverina e agmatina são potencilizadoras dos efeitos das outras aminas por diminuir a metabolização das aminas biogênicas com atividade vaso e neuroativa. Em baixas concentrações as aminas biogênicas são essenciais para muitas funções fisiológicas, entretanto podem ser tóxicas quando consumidas em grande quantidade (SPANNO et al., 2010).

Para exibir efeitos tóxicos, grandes quantidades de aminas precisam ser absorvidas para ter acesso à corrente sanguínea. Em condições normais no organismo humano, aminas exógenas absorvidas dos alimentos são rapidamente metabolizadas pela ação das enzimas aminoxidases, como monoaminooxidase (MAO) e diaminoxidase (DAO) (ARRIETTA & PRATS-MOYA, 2012). Desta forma, a existência desse sistema de detoxicação no trato intestinal dos mamíferos, previne que as aminas biogênicas alcancem a corrente sanguínea. Assim, usualmente, elas não representam risco à saúde dos indivíduos (GARCÍA-RUIZ et al., 2011).

Contudo, a ingestão de altas quantidades de aminas biogênicas, ou metabolização inadequada, por razões genéticas, ou por efeito inibitório por fármacos ou álcool, pode levar ao acesso das aminas biogênicas na circulação sanguínea em concentrações tóxicas, causando a liberação de epinefrina e norepinefrina, provocando secreção gástrica, aumentando débito cardíaco, provocando enxaquecas, taquicardia, aumento da glicemia sanguínea e da pressão arterial (SPANNO et al., 2010). Assim a presença e a quantidade de aminas biogênicas, como histamina, tiramina, triptamina, putrescina e cadaverina, nos alimentos, são de grande interesse aos humanos (ARRIETTA & PRATS-MOYA, 2012).

**Tabela 15.** Efeitos fisiológicos das aminas biogênicas

<b>Amina</b>	<b>Ação</b>
Histamina	Libera adrenalina e noradrenalina Excita o músculo liso do útero, intestino e trato respiratório Estimula neurônios sensoriais e motores Controla secreção gástrica
Tiramina	Provoca vasoconstrição peripleural Aumenta débito cardíaco Causa lacrimação e salivação Aumenta o nível glicêmico Aumenta pressão arterial Libera noradrenalina do sistema nervoso simpático Causa enxaquecas
Putrescina e cadaverina	Potencializa a toxicidade das outras aminas
Feniletilamina	Libera noradrenalina do sistema nervoso simpático Aumenta a pressão sanguínea Causa enxaquecas
Triptamina	Aumenta a pressão sanguínea

Fonte: SHALABY (1997).

A amina mais associada aos casos de intoxicação alimentar é a histamina. Essa amina exerce seus efeitos tóxicos por interagir com dois tipos de receptores (H1 e H2) nas membranas celulares de humanos e outras espécies. Histamina causa dilatação nos vasos sanguíneos peripleurais, capilares e artérias, resultando em hipotensão, vermelhidão e dores de cabeça. No músculo liso do intestino delgado, a histamina provoca cólicas abdominais, diarreias e vômitos. A secreção gástrica é controlada pelo receptor H2 localizado nas células parietais, podendo ser aumentada em casos de intoxicação por

histamina (SHALABY,1996; SILLA-SANTOS,1996). Essa amina é a mais toxica detectada em alimentos como peixes, produtos derivados do peixe, queijos, vinhos e produtos cárneos. Os efeitos toxicológicos e a variação na sensibilidade à histamina dependem da concentração ingerida, da presença de outras aminas digeridas, da atividade das enzimas aminoxidases, de outros constituintes da dieta como álcool e de fármacos da fisiologia de cada indivíduo (GARCÍA-RUIZ et al., 2011).

A ingestão de alimentos com elevada concentração de tiramina pode causar ação vasopressora, aumento da pressão sistólica e ritmo cardíaco, além de náuseas, vômitos, dores de cabeça e enxaquecas. Em casos severos, pode ocorrer crise adrenérgica (ARRIETTA & PRATS-MOYA, 2012). A triptamina e feniletilamina são constituintes endógenos de muitos tecidos, incluindo cérebro. Ambas as aminas podem atravessar facilmente a barreira hematoencefálica. Grandes quantidades de derivados de alimentos podem levar a efeitos adversos de natureza psiquiátrica (GLORIA, 2005).

No trato gastrointestinal de mamíferos existe um sistema eficiente de desintoxicação, o qual é capaz de metabolizar as aminas biogênicas da dieta em condições normais. As aminoxidases são enzimas induzidas na presença de mono ou diaminas. As enzimas mais conhecidas dessa classe são a monoaminoxidase (MAO) e diaminoxidase (DAO). Em humanos as aminas exógenas absorvidas dos alimentos são rapidamente metabolizadas pela ação de aminoxidases ou por conjugação. Entretanto, indivíduos que fazem o uso de fármacos, utilizam substâncias que diminuem o metabolismo das aminas biogênicas, ou quando é ingerida alta quantidade de aminas bioativas, estão aptos a sofrerem o quadro de intoxicação por aminas biogênicas.

Os inibidores da monoaminoxidase (IMAO) foram a primeira classe de fármacos com ação anti-depressiva. Devido ao efeito protetor dos IMAOs nas aminas biogênicas, foram desenvolvidos inibidores seletivos e reversíveis da MAO-A e MAO-B que apresentavam menos efeitos adversos e interações com alimentos e fármacos. A crise hipertensiva decorrente de interações alimentares ou medicamentosas é um dos efeitos tóxicos mais potencialmente fatais associados ao uso de IMAOs. A MAO-A na parede intestinal e MAO-B no fígado normalmente degradam a tiramina na dieta. No entanto, quando a MAO-A é inibida, a ingestão de alimentos que contem tiramina leva ao acúmulo de tiramina nas terminações nervosas e induz a liberação de norepinefrina e epinefrina. As catecolaminas liberadas aumentam a pressão arterial para níveis perigosos. Mesmo quando o paciente é previdente, podem ocorrer imprudências alimentares ou uso de medicamentos prescritos ou de venda livre que contêm compostos simpatomiméticos, o que resulta no quadro de intoxicação por tiramina (GOODMAN & GILMAN, 2012).

Putrescina e cadaverina, produtos da descarboxilação da arginina e lisina, podem aumentar o potencial tóxicos de outras aminas biogênicas por interferir na absorção e nas enzimas de detoxicação e metabolização (SHALABY,1996; SILLA-SANTOS, 1996; GLORIA, 2005; GARCÍA-RUIZ et al., 2011). As aminas secundárias como a agmatina, espermidina, espermina, putrescina e cadaverina, podem formar nitrosaminas pelas reações com nitrito e produzir compostos cancerígenos. Em geral, compostos N-nitrosos podem ser formados pela interação do grupo amino com reagentes nitrosos como nitrito e oxido nítrico durante a estocagem, conservação e cozimento de alimentos (KIM et al., 2012).

É muito difícil de estabelecer níveis toxicológicos de aminas pois dependem da característica individual da amina e presença de outras aminas. De acordo com European Food Safety Authority (EFSA, 2011), não foram observados efeitos adversos em até 50 mg de histamina por refeição. No caso da tiramina, em indivíduos que não fazem uso de IMAOs, não foram observados efeitos adversos em até 600 mg dessa amina por refeição. Em indivíduos que fazem uso de IMAOs de terceira geração não foram observados efeitos adversos na faixa de 50 a 150 mg de tiramina por refeição. No caso de indivíduos que fazem uso de fármacos de primeira geração de IMAOs não foram observados efeitos adversos em até 6 mg de tiramina por refeição (Tabela 16).

**Tabela 16.** Nível de efeito adverso não observado para aminas bioativas por refeição

<b>Amina</b>	<b>Valores</b>
Histamina	50 mg
Tiramina	6 mg *
	50-150 mg **
	600 mg ***

\* Indivíduos que utilizam IMAOs clássicos. \*\* Indivíduos que utilizam IMAOs de terceira geração. \*\*\* Indivíduos que não utilizam IMAOs. Fonte: EFSA, 2011.

### 3. Oxidação

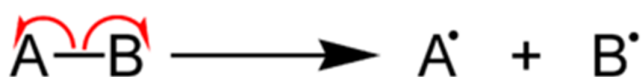
#### 3.1. Introdução

A oxidação é uma reação de transferência de elétrons de um átomo para outro. As reações de oxidação são essenciais para a vida; o ser humano depende dessas para

respirar, se defender de patógenos e por essas razões, possui sistemas pro e antioxidante que garantem a sobrevivência. Quando há um desequilíbrio nesses sistemas, em que a atividade pro-oxidante é superior à antioxidante, é caracterizado o quadro patológico de estresse oxidativo (NIKI, 2010). Esse quadro está associado ao envelhecimento e a diversas patologias como aterosclerose, *Parkinson*, *Alzheimer*, depressão (STEFANESCU & CIOBICA, 2012), hipertensão, diabetes *melitus* e infecções de naturezas bacterianas e virais (ZHANG et al., 2012).

### 3.2. Radicais livres e espécies reativas

Radical livres são definidos como moléculas que possuem elétrons não pareados em seu orbital externo. Desta forma, os radical livres são altamente reativos em razão da necessidade de outro elétron para preencher o seu orbital e se tornar estável. Os radical livres são formados pela perda ou ganho de um elétron de uma espécie não radical. Os dois elétrons de uma ligação covalente podem ser rompidos simetricamente pela quebra homolítica (reação 1), com a formação de radical livres, em razão da presença de elétrons não pareados. Apesar da alta reatividade dos radical livres, ao se tratar da habilidade de oxidar substâncias em sistemas biológicos, nem todo radical livre é capaz de levar a uma reação e existem compostos de natureza não-radicalares capazes de provocar reações de oxidação (ARAUJO, 2011). Por essa razão é mais adequado designar essas substâncias como espécies reativas (CORNELLI, 2009).



**Reação 1:** Quebra homolítica da ligação covalente no composto AB formando os radical A• e B•.

### 3.3. Estresse oxidativo

Estresse oxidativo é um termo comumente utilizado para denotar a desproporção entre as concentrações de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (EROs e ERNs, respectivamente) e os mecanismos de defesa antioxidante do corpo humano (DOTAN et al., 2004). As espécies reativas são geradas em resposta a estímulos endógenos e exógenos. Esses compostos podem reagir com membranas lipídicas, proteínas, e ácidos nucléicos, causando danos ou morte celular. O cérebro humano é particularmente

susceptível ao dano de espécies reativas devido ao alto consumo de oxigênio desse órgão, à pequena concentração de enzimas antioxidantes em relação às espécies reativas e à composição lipídica da bainha de mielina. Evidências de estudos *in vitro* e *in vivo* têm ligado agentes ambientais como radiação, xenobióticos e compostos clorados, como indutores significantes do dano celular via toxicidade mediada por espécies reativas de oxigênio (NIKI, 2010).

O desequilíbrio intracelular de espécies reativas e a defesa antioxidante é resultado do estresse oxidativo crônico. O estresse oxidativo crônico e cumulativo induz modificações deletérias em uma variedade de macromoléculas, como DNA, lipídeos e proteínas. As espécies reativas de oxigênio pode inativar o DNA, principalmente por reagir com outros componentes celulares (fosfolipídeos) resultando na geração de produtos reativos secundários intermediários e ligações irreversíveis à base de DNA, formando adutos. A formação de adutos de DNA é central no processo de carcinogênese, uma vez que adutos escapam dos mecanismos de reparo celular e por isso persistem podendo levar a mutações. Os fosfolipídeos estão presentes em altas concentrações como resíduos de ácidos graxos poli-insaturados e têm sido identificados como alvos primários da oxidação na presença do grupo metileno. Os índices de peroxidação lipídica na formação da proteína-DNA, ligado ao DNA, é um dos mecanismos com o qual o dano oxidativo à proteína é gerado. Evidências recentes sugerem que as proteínas são altamente susceptíveis ao dano oxidativo pela presença de metais exógenos (FUCHS-TARLOVSKY, 2013).

Baseado nas observações de níveis elevados de aldeídos e/ou respectivas macromoléculas adulteradas, os produtos da peroxidação lipídica contribuem para a etiologia de numerosas doenças crônicas, incluindo condições neurodegenerativas, doenças crônicas inflamatórias, desordens cardiovasculares e complicações na diabetes. As defesas antioxidantes enzimáticas endógenas (superóxido dismutase, glutatona e catalase) podem contrabalancear microambientes oxidados por quelar superóxido e vários peróxidos. Também, antioxidantes não enzimáticos endógenos (vitamina E e C, coenzima Q,  $\beta$ -caroteno e glutatona) têm habilidade de eliminar e inativar a atividade de espécies reativas de oxigênio (ROCHA et al., 2012).

### **3.4. Importância de alimentos com atividade antioxidante**

A dieta humana pode conter vários pro-oxidantes incluindo ferro, cobre, hidroperóxidos de lipídeos, aldeídos e nitritos. Elevados níveis de peróxidos de lipídeos têm sido observados no estado pós-prandial. A ativação de fagócitos no intestino pode

aumentar as espécies reativas de oxigênio e as espécies reativas de nitrogênio. O suco gástrico pode promover a formação de pro-oxidantes e em sequência, a peroxidação lipídica que tende a induzir úlceras estomacais, câncer no estômago, no colón e no reto. A maioria dos organismos é bem protegida contra os danos de radicais livres por enzimas oxidativas como a peroxidase e as catalases e por antioxidantes de baixo peso molecular como alfa-tocoferol, ácido ascórbico, carotenoides, polifenóis e glutathione (NIKI, 2010). Parte desses antioxidantes de baixo peso molecular são provenientes do consumo de frutas e vegetais, que tem sido associado com a redução da incidência de doenças crônicas incluindo a arteriosclerose coronariana.

Estudos epidemiológicos demonstraram uma associação inversa entre a ingestão de frutas e vegetais e a mortalidade relacionadas ao envelhecimento, doenças do coração e câncer, fato esse que pode estar relacionado com a ação dos antioxidantes presentes nos alimentos. Os compostos mais bioativos desses alimentos são compostos fenólicos e flavonoides. As propriedades dos compostos fenólicos são responsáveis pela inibição direta da oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (GULCIN, 2012).

### **3.5. Oxidação em alimentos**

A oxidação é um fenômeno natural que ocorre em alimentos e bebidas, sendo responsável por uma série de alterações que levam a perda do valor nutricional, alterações das características sensoriais, rejeição do produto e, eventualmente, formação de compostos tóxicos.

Os produtos da oxidação afetam a maioria dos componentes no alimento. O branqueamento dos pigmentos, a destruição de vitaminas, a formação de *flavour* desagradável e a alteração da textura são resultados bem conhecidos da oxidação em alimentos.

As reações de oxirredução são comuns em sistemas biológicos, sendo algumas benéficas para o alimento (como clareamento da farinha de trigo, efeito bactericida e formação de aromas característicos) (ARAUJO, 2011). Por outro lado, outras possuem efeitos negativos, incluindo a degradação oxidativa de vitaminas, pigmentos e ácidos graxos essenciais, com consequente perda de valor nutritivo, além do desenvolvimento de sabor e odor desagradáveis. A oxidação de proteínas é frequentemente precedida pela oxidação de lipídeos (peróxidos, ou radicais livres formados durante a oxidação), diminuindo sua digestibilidade pela formação de ligações cruzadas entre proteína e proteína e proteína e lipídeos, diminuindo a disponibilidade dos aminoácidos essenciais.

### 3.5.1. Oxidação lipídica

As reações da oxidação em lipídeos estão entre as mais frequentes em alimentos. Essas reações são causadas pelo oxigênio atmosférico, e em menor intensidade por ozônio, peróxido, metais e outros agentes oxidantes. O termo oxidação de lipídeos refere-se a uma série complexa de reações químicas, envolvendo ácidos graxos insaturados e oxigênio. Essa sequência de reações é denominada como reação em cadeia, a qual caracteriza-se por três fases; a inicial, a de propagação e a terminal (FENNEMA et al., 2010).

### 3.5.2. Formação de radicais livres e reação em cadeia

Em sistemas biológicos, a formação de espécies reativas pode acontecer por fotólise, termólise, radiólise e oxirredução. A fotólise ocorre pela ação da luz visível e ultravioleta. No primeiro caso a formação de espécies reativas é devida a ação da luz sob fotossensores como riboflavina, clorofila, mioglobina e hemoglobina, que são capazes de excitar o gás oxigênio do estado fundamental (triplete) ao estado mais energético (singlete). No segundo caso, a luz ultravioleta apresenta energia suficiente para quebrar a ligação covalente de forma homolítica. A termólise é definida como a quebra homolítica de uma ligação covalente pela ação do calor. A radiólise assim como a fotólise consistem na quebra homolítica de uma ligação covalente pela ação da radiação x ou gama. As espécies reativas radicalares podem ser formadas por reações de oxirredução. A reação de Fenton caracteriza esse tipo de reação, por ser a redução do íon férrico pelo peróxido de hidrogênio e posterior formação do radical hidroxil pela doação de elétrons do íon ferroso (reações 2 e 3). A reação em cadeia inicia na etapa mais lenta, denominada como etapa de iniciação, nessa etapa acontece a quebra homolítica de uma ligação covalente, formando dois radicais livres (espécie reativas) (reação 4).

#### Reação de Fenton



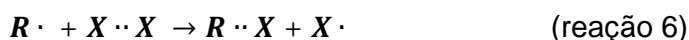
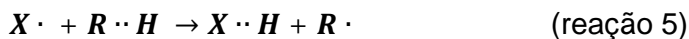
A segunda etapa na reação em cadeia é a propagação, caracterizada pela sequência de ataques da espécie reativa formada (radical livre) sob compostos não radicalares

formando outros tipos de radicais livres que prosseguem atacando (reações 5 e 6). Essa etapa tem caráter cíclico pela baixa energia de ativação da reação em cinética exponencial.

#### Etapa 1: Inicial



#### Etapa 2: Propagação



#### Etapa 3: Terminal



A etapa final da reação é denominada terminação, em que ocorre a reação de dois radicais livres formando um composto estável (reações 7 e 8), esses compostos podem ser de baixo peso molecular como alcoóis, aldeídos e cetonas e de alto peso molecular como polímeros (SOLOMONS & FRYHLE, 2005; FENNEMA et al., 2010; ARAUJO, 2011).

#### 3.5.2.1. Reação em cadeia na autoxidação lipídica

A autoxidação lipídica inicia-se quando o átomo de hidrogênio é removido do grupo metileno do ácido graxo insaturado, formando radical livre. O ataque ao hidrogênio é justificado pelo fato do carbono adjacente as duplas ligações (grupo metileno ativado (-CH<sub>2</sub>-)) representar o alvo para o ataque de radicais livres. A presença de duplas ligações conjugadas, diminui a força da ligação carbono-hidrogênio adjacente as duplas, uma vez que as duplas ligações apresentam maior teor de orbital s, por essa razão os elétrons da última camada, presentes nessa ligação, estão mais próximos do núcleo. Essa característica faz com que as ligações duplas (sp<sup>2</sup>) atraiam a densidade eletrônica da vizinhança, retirando então a densidade eletrônica das ligações adjacentes. Por isso, a ligação carbono e hidrogênio adjacente a duas duplas ligações, apresenta-se mais fraca que as demais e por essa razão, a energia de ativação da reação de auto-oxidação lipídica seja baixa (aproximadamente 4 a 5 Cal/mol).

A reação prossegue na tentativa de estabilização do produto (radical livre) favorecendo os híbridos de ressonância mais estáveis. Os radicais formados atacam os hidrogênios e elétrons mais reativos das moléculas presentes formando novos radicais livres. O termino dessa reação acontece quando duas espécies radicalares reagem entre

si e é formado um composto estável (Figura 8). Devido à alta complexidade dos sistemas biológicos, justificada pela variedade de moléculas biológicas e fenômenos de ressonância, existem várias regiões de quebras, as quais levam a formação de produtos finais de baixo peso molecular (aldeídos, cetonas, alcoóis etc.) que caracterizam a formação de ranço e de produtos de alto peso molecular (polímeros) que levam ao escurecimento no alimento (ARAUJO, 2011).

Em alimentos, uma alternativa para prevenir a oxidação lipídica é o uso de antioxidantes naturais e sintéticos. De acordo com GULÇIN (2012), foi constatado que os antioxidantes sintéticos utilizados na indústria de alimentos, apresentaram potencial carcinogênico em experimentos in vivo. Assim produtos naturais com atividade antioxidante podem ser usados como fonte alternativa para garantir a estabilidade do alimento.

### **3.6. Antioxidantes**

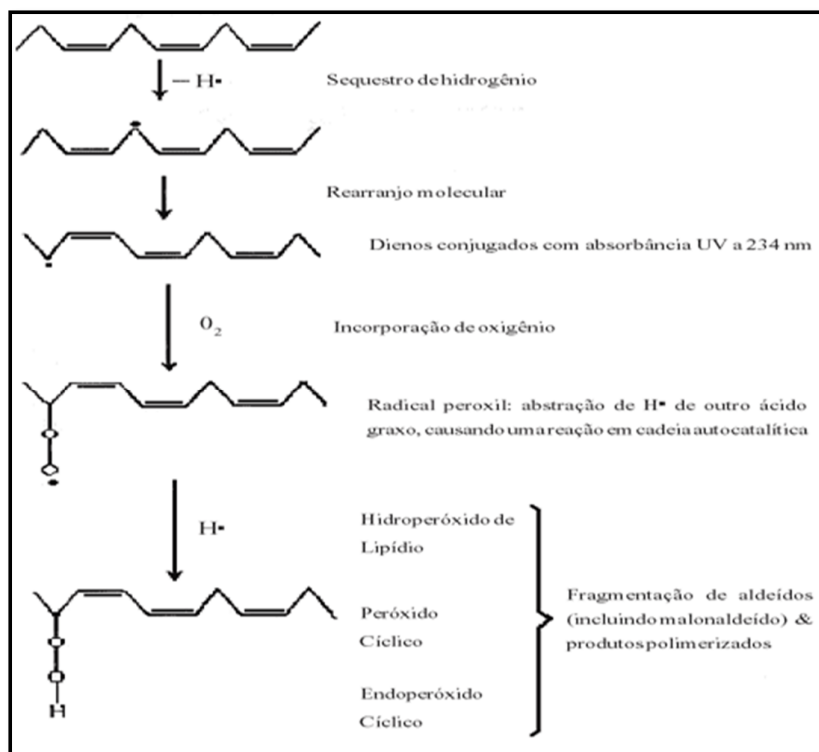
#### **3.6.1. Definição**

Uma forma de adiar/inibir a oxidação é através do uso de antioxidantes. Como descrito anteriormente, os antioxidantes são componentes importantes da dieta para prevenir o envelhecimento precoce e doenças degenerativas. Em relação aos alimentos, a deterioração com o tempo é inevitável. Ainda mais quando ocorrem várias reações de deterioração envolvendo microrganismos e processos químicos nas etapas de produção, processamento, distribuição e armazenamento (ARAUJO, 2011).

Antioxidantes são compostos capazes de inibir a oxidação de outras moléculas, em alimentos são definidos como substâncias que, em menores concentrações que o substrato oxidável, inibem significativamente a oxidação adiando o início ou reduzindo a taxa de oxidação (MENDONÇA, 2009; ARAUJO, 2011; ZHANG, 2012). Os compostos antioxidantes podem captar radicais livres, inativar oxigênio singlete, inativar peróxidos e outras espécies reativas de oxigênio, quelar íons metálicos pró-oxidantes, inativar produtos oxidativos secundários e inibir enzimas pró-oxidantes (ZHONG & SHAHID, 2011). Por essa razão, são usados para aumentar a estabilidade oxidativa de alimentos e quando consumidos podem retardar ou prevenir o aparecimento de doenças crônicas (GULÇIN, 2012).

Para determinar a capacidade antioxidante é necessário conhecer as condições do meio de reação, capacidade de sinergismo com outros antioxidantes e o potencial antioxidante em inativar espécies reativas. Os antioxidantes podem ser classificados

quanto a origem (naturais ou sintéticos), solubilidade (lipofílicos e hidrofílicos), mecanismos de reação (bloqueadores da reação em cadeia e complexantes de metais).

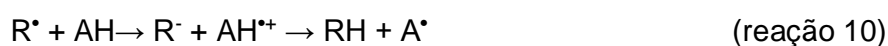


**Figura 8.** Reação em cadeia na oxidação lipídica (MAFRA, 1999).

Os antioxidantes naturais são aqueles encontrados na natureza como os polifenóis, flavonóides, taninos, tocoferóis, ácido ascórbico etc. Os sintéticos são aqueles como butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), butil hidroquinona (TBHQ) e galato de propila. Em relação à solubilidade, os antioxidantes podem ser hidrofílicos ou lipofílicos. Os antioxidantes hidrofílicos estão presentes na fase aquosa enquanto os lipofílicos estão presentes em membranas e lipoproteínas. Alguns antioxidantes lipofílicos situam-se nas superfícies, outros mais profundos no domínio lipídico e suas atividades são afetadas marcadamente pela estrutura química e propriedades físicas do ambiente circundante (NIKI, 2010).

Os antioxidantes hidrofílicos como ácido ascórbico e ácido úrico capturam radicais livres primariamente presentes na fase aquosa, enquanto os lipofílicos tendem a atuar nas membranas. A eficácia da captura de radicais por antioxidantes nas membranas e partículas de lipoproteínas dependem de fatores físicos como a fluidez do meio e mobilidade do antioxidante assim como reatividade química do mesmo.

Em relação aos mecanismos de ação, os antioxidantes podem ser bloqueadores da reação em cadeia (redução/ doação de hidrogênio). O antioxidante (AH) pode atuar de duas maneiras. A primeira, doando diretamente um próton para o radical (R<sup>•</sup>), formando as espécies (RH) e o radical estável A<sup>•</sup> (reação 9). A segunda, o antioxidante (AH) doa um elétron para o radical (R<sup>•</sup>), formando os íons R<sup>-</sup> e AH<sup>•+</sup>, em seguida, acontece uma reação ácido/básica em que o par de elétrons do íon R<sup>-</sup> ataca o hidrogênio da espécie AH<sup>•+</sup>, formando a espécie RH e o radical estável A<sup>•</sup> (reação 10). A estabilidade do radical A<sup>•</sup>, se deve muitas vezes, a capacidade de apresentar vários híbridos de ressonância, dificultando assim a disponibilidade do elétron não pareado para novas reações.



O outro modo de atividade antioxidante é a atividade quelante que é a capacidade complexante com metais de transição (pró-oxidantes clássicos). O efeito quelato é a capacidade de ligantes multidentados formarem complexos metálicos mais estáveis que os formados por ligantes monodentados com estrutura semelhante (HARRIS, 2012). O mecanismo quelante pode ser definido como preventivo, uma vez que não ocorre interação com as espécies radicais. Atuam complexando os íons metálicos, evitando com que metais de transição formem radicais livres.

### 3.6.2. Interação entre antioxidantes

Os antioxidantes inativadores de radicais livres estão localizados em diferentes sítios, alguns no meio intracelular, outros no meio extracelular em domínios aquosos e lipídicos. Essas substâncias trabalham cooperativamente em seus respectivos sítios. Alguns antioxidantes inibem a oxidação de moléculas biológicas por interação direta com outros antioxidantes. Enquanto outros podem inibir a oxidação em uma interação de sinergismo com outro antioxidante não simplesmente por adição.

O exemplo clássico de interação entre antioxidantes é o sinergismo da vitamina E (lipofílico) e a vitamina C (hidrofílico). Esse fenômeno acontece quando a vitamina E inativa radical livre, assim a vitamina E é convertida em radical vitamina E, que pode atacar lipídeos poli-insaturados e induzir reações em cadeia. Nesse caso, a vitamina C reduz os radicais vitamina E, recuperando a vitamina E antes que ocorra a oxidação lipídica induzida pelos radicais livres de vitamina E (NIKI, 2010).

### **3.6.3. Atividade antioxidante *in vivo***

Quando se trata de atividade antioxidante *in vivo* o conceito é mais amplo do que os ensaios *in vitro*. De modo geral, *in vivo*, o antioxidante é qualquer molécula que seja capaz de evitar ou retardar o dano oxidativo. De forma prática, pode-se separar a atividade antioxidante *in vivo* em quatro etapas ou em quatro linhas de defesa (Figura 9).

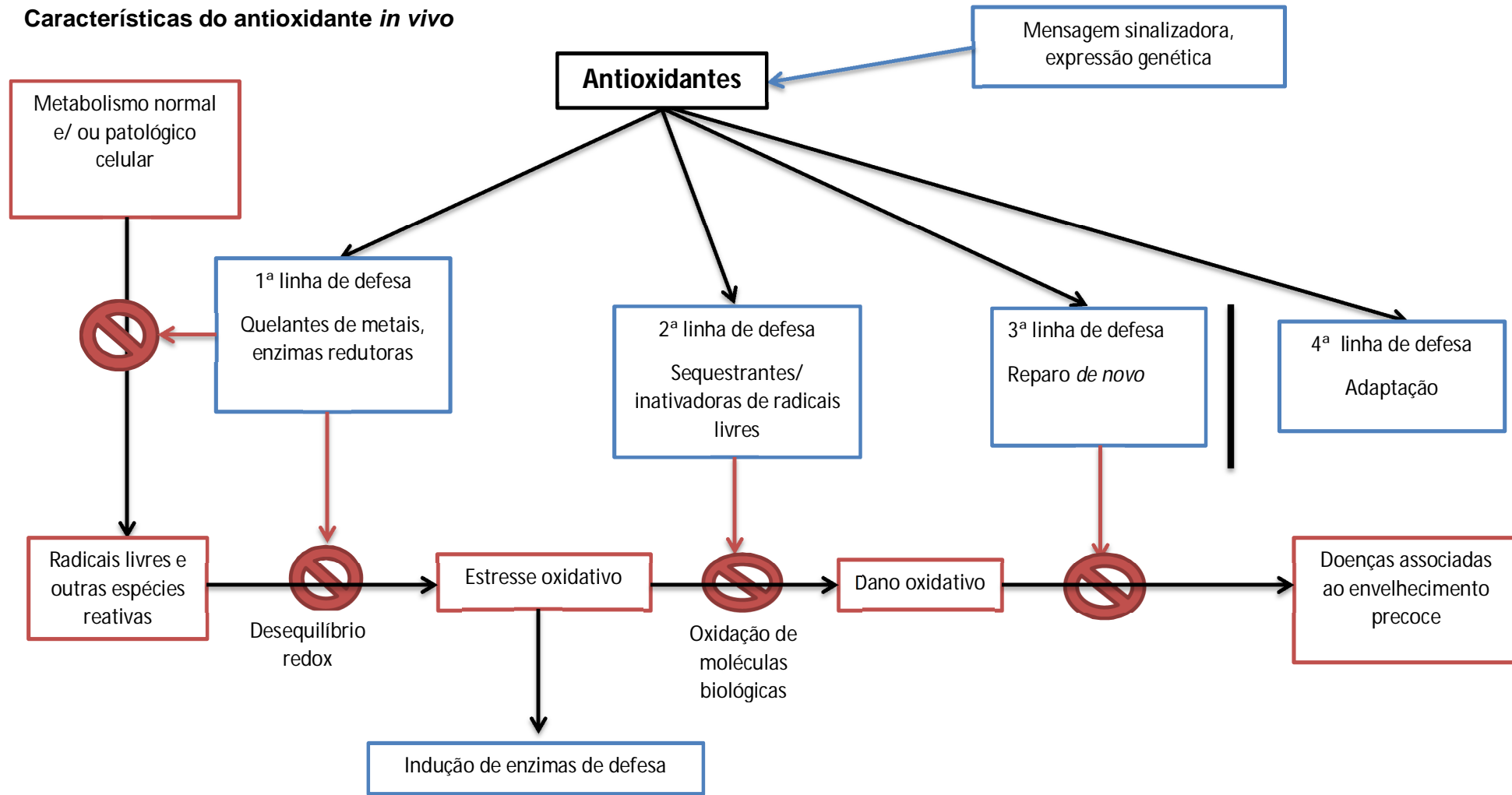
A primeira linha de defesa são as moléculas quelantes de metais de transição (prooxidantes) e as enzimas redutoras (peroxidase e glutathione redutase), as quais evitam ou retardam a produção de espécies reativas pelo metabolismo normal e/ou patológico, além de evitar com que haja desequilíbrio redox. No caso de desequilíbrio redox, a segunda linha de defesa é formada por moléculas sequestrantes e inativadoras de radicais livres que diminuem ou evitam maiores danos às moléculas biológicas. Muitos compostos fenólicos e aminas aromáticas atuam como antioxidante de limpeza (NIKI, 2010).

A terceira linha de defesa é protagonizada pelas moléculas e enzimas que são importantes e/ou essenciais para reparar o dano oxidativo. Várias enzimas funcionais atuam na terceira linha de defesa por reparar danos, e reconstituir a função perdida. Dependendo da gravidade do quadro, esse dano, a longo prazo, pode gerar doenças degenerativas associadas ao envelhecimento precoce, nessa etapa, a quarta linha de defesa refere-se a adaptação do sistema ao quadro. Aparentemente, modificações oxidativas críticas de lipídeos, proteínas, ácidos nucleicos, e carboidratos são induzidas e mediadas não somente por radicais livres, mas também por mecanismos que não envolvam radicais livres (NIKI, 2010).

### **3.6.5. Atividade antioxidante *in vitro***

Para determinar a atividade antioxidante *in vitro*, o ensaio deve medir quimicamente a atividade antioxidante, ser simples, ter definido o ponto final da reação e os mecanismos, ser prático, reproduzível, com fácil disponibilidade de equipamentos e reagentes, adaptável tanto para ensaio hidrofílico quanto para lipofílico e usar recursos de radicais adaptáveis para análises de rotina. Os métodos podem ser classificados baseados na transferência de hidrogênio (HAT), na transferência de um único elétron (SET), métodos que visam a determinação da capacidade quelante, a determinação de compostos fenólicos e antioxidantes conhecidos e a capacidade em retardar ou inibir a oxidação lipídica (PÉREZ-JIMÉNEZ & SAURA-CALIXTO, 2006; CORNELLI, 2009; HALVORSEN & BLOMHOFF, 2010; GÜLÇİN, 2012).

### Características do antioxidante *in vivo*



**Figura 9.** Fluxograma da atividade antioxidante *in vivo* (adaptado de NIKI, 2010).

### 3.6.5.1. Transferência de hidrogênio (HAT)

Métodos baseados na HAT medem a habilidade de um antioxidante em inativar radicais livres pela doação de hidrogênio (reação 11). Esse tipo de reação é independente do pH e solvente e usualmente é rápido, acontecendo tipicamente em segundos a minutos.

A presença de agentes redutores, incluindo metais, é um fator interferente para essa classe de reação que pode levar a uma alta atividade equivocada. A reatividade desse método é determinada pela energia de dissociação da ligação do grupo hidrogênio doador do antioxidante (GÜLÇİN, 2012).

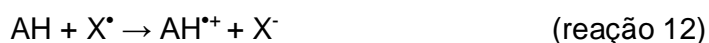
#### Reação:



### 3.6.5.2. Transferência de único elétron (SET)

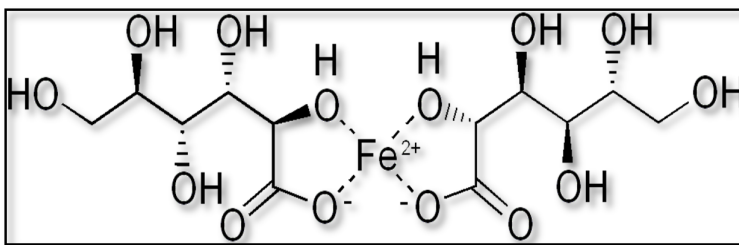
Métodos baseados na transferência de elétrons (SET) detectam a potencial habilidade de transferência de um elétron para reduzir qualquer composto, incluindo metais, carbonís e radicais (reações 12 a 15) (GÜLÇİN, 2012).

#### Reações:



### 3.6.5.3. Atividade quelante

Métodos baseados na atividade quelante, detectam o potencial quelante de um provável antioxidante pela competição com um quelante padrão nas reações de complexação com um íon de metal de transição (Figura 10).



**Figura 10.** Estrutura química de duas moléculas de EDTA quelando um íon  $\text{Fe}^{2+}$  formando complexo  $\text{Fe}(\text{EDTA})^{2+}$ .

#### 3.6.5.4. Determinação de compostos fenólicos

Os fenólicos constituem um grupo de compostos que atuam como antioxidantes primários ou finalizadores de radicais livres. Polifenóis apresentam atividade múltipla, no sentido de atuar como agente redutor, doador do átomo de hidrogênio e sequestrante do oxigênio singlete. Certos polifenóis são também efetivos como antioxidantes capazes de quelar íons de metais de transição que podem induzir a reação tipo *Fenton* em seus estados livres (LAKHANPAL & RANA, 2005).

Os compostos fenólicos podem ser determinados pelo método de Folin Ciocalteu. Esse método fundamenta-se na transferência de elétrons dos compostos fenólicos para o reagente Folin-Ciocalteu em meio alcalino. A química por trás desse ensaio, consiste na transferência de elétrons em meio alcalino dos compostos fenólicos para outras espécies de molibdato e tungstênio, formando compostos com coloração azul, os quais podem ser detectados à 750 - 765 nm (GÜLÇİN, 2012). Outro modo é determinar qualitativamente os compostos por cromatografia em camada delgada e quantitativamente por cromatografia líquida de alta eficiência (SOARES et al., 2007).

#### 3.6.5.5. Capacidade antioxidante contra a oxidação lipídica

Lipídeos de ácidos graxos polinsaturados na forma livre ou esterificada são alvos vulneráveis ao ataque de radicais livres. Estudos têm demonstrado que a peroxidação lipídica induz uma perturbação e alteração nas membranas biológicas e, em alimentos, está relacionada com a perda de compostos benéficos, produção de ranço e consequente deterioração. Além disso, é uma forma para avaliar a capacidade de um extrato ou composto antioxidante, na inibição ou retardamento de uma reação em cadeia.

### **3.6.5.6. Quantificação da atividade antioxidante**

A capacidade antioxidante de um extrato ou composto pode ser medida pela determinação do índice  $EC_{50\%}$ , pela determinação da cinética da reação ou simplesmente pela breve comparação com um antioxidante padrão. Em grande parte dos ensaios *in vitro* a atividade antioxidante é verificada pela diminuição da absorbância em comparação com o experimento controle. O índice  $EC_{50\%}$  é a quantidade de antioxidante adicionada capaz de levar a uma diminuição de 50% na absorbância em comparação com o padrão, nesse índice quanto menor a concentração maior a atividade. Outra forma de avaliar a atividade antioxidante é a construção de uma curva concentração de antioxidante adicionado e absorbância, em que será observada a cinética da reação. Em alguns ensaios (como HAT e HET) quanto maior a inclinação maior a atividade antioxidante, e em outros ensaios (como a capacidade de atrasar a oxidação lipídica) avalia-se o tempo de indução (FRANKEL & MEYER, 2000).

### **3.6.5.7. Importância do uso de métodos multidimensionais**

A significância e relevância da avaliação da atividade antioxidante em alimentos e sistemas biológicos dependem do método teste. Substratos diferentes, composição do sistema e métodos analíticos são empregados nos testes para avaliar efeito dos antioxidantes, por essa razão os dados obtidos por diferentes pesquisas são extremamente difíceis de comparar e interpretar.

A validade dos métodos utilizados para determinar a atividade antioxidante pode ser questionada visto que esses métodos não levam em conta a complexidade da reação antioxidante. A variedade de dados pode ser obtida em muitos desses sistemas teste por negligência da importante composição de alimentos, fenômenos de interferência na concentração, carga e solubilidade de múltiplos componentes em alimentos reais ou sistemas biológicos que afetam fortemente o desempenho antioxidante. Antioxidantes naturais são antioxidantes multifuncionais e o mecanismo dominante em um sistema particularmente de teste depende da condição de oxidação, os quais afetam tanto a cinética da oxidação e a composição do sistema.

A efetividade dos antioxidantes em alimentos heterogêneos, sistemas biológicos e modelos multifaces são afetados por muitos fatores. Incluem-se as propriedades de partição dos antioxidantes entre fases lipídicas e aquosas, condição da oxidação e estado físico e do substrato oxidado. Por essa razão, a influência de todos os parâmetros não

pode ser usada para avaliar pelo uso de um único método de protocolo unidimensional (FRANKEL & MEYER, 2000).

# MATERIAL E MÉTODOS

## 1. Material

### 1.1. Amostras

Foram adquiridos cinco (5) lotes de amostras *in natura* dos cogumelos Champignon, Portobello, Shitake e Shimeji Branco, Shimeji Preto, Hiratake, Salmão e, em razão da disponibilidade limitada foi adquirido um lote do cogumelo Eryngii de distribuidores do mercado consumidor da cidade Belo Horizonte MG, no período de janeiro a março de 2014 (Tabela 17).

**Tabela 17.** Relação dos gêneros e os tipos de cogumelos adquiridos

<b>Gênero</b>	<b>Cogumelos (nome comercial)</b>
<i>Agaricus sp.</i>	Champignon Portobello
<i>Lentinula sp.</i>	Shitake
<i>Pleurotus sp.</i>	Shimeji Preto Shimeji Branco Salmão Hiratake Eryngii

Cada lote era constituído de cerca de 200 g para cada tipo. No momento da aquisição, as amostras apresentavam-se com tamanho, aroma e cor característicos das variedades, estavam frescas e com ausência de lesões, pragas ou doenças. Ao chegar no Laboratório de Bioquímica de Alimentos - LBqA, as amostras foram separadas em dois grupos. No primeiro, os cogumelos *in natura* foram triturados e homogeneizados para as análises de amins bioativas e do teor de umidade no mesmo dia da aquisição. No segundo grupo, os cogumelos foram congelados a -80 °C até completa aquisição de todos os lotes e em seguida foram desidratadas em estufa com circulação de ar a 40 °C durante 48 h. As amostras desidratadas foram analisadas com relação aos teores de fenólicos totais e o potencial antioxidante, utilizando-se as técnicas de sequestro do radical livre DPPH•, poder de redução e avaliação da estabilidade oxidativa do óleo por Rancimat®.

## 1.2. Reagentes

Os reagentes para a análise de aminas bioativas foram adquiridos da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, EUA), dentre eles os padrões de elevada pureza, de aminas bioativas, trihidrocloreto de espermidina, dihidrocloreto de putrescina, sulfato de agmatina, dihidrocloreto de cadaverina, hidrocloreto de serotonina, dihidrocloreto de histamina, tiramina, triptamina e dihidrocloreto de 2-feniletilamina, e o agente derivante orto-ftalaldeído (OPA).

Para o preparo das soluções padrão das 10 aminas, foram pesados separadamente, em béquer de polipropileno, em balança ultra analítica, quantidades suficientes para 0,0100 g (base livre) dos padrões de aminas. Os padrões foram solubilizados em ácido clorídrico 0,1 mol/L, transferidos quantitativamente para balão volumétrico de 100 mL, completado com HCl 0,1 mol/L, resultando na concentração de cada uma das aminas de 100 µg/mL. A partir da solução estoque das dez aminas, foram preparadas soluções padrão de dez aminas em triplicatas, pelas diluições desta solução em HCl 0,1 M, até se obter as concentrações de 0,1; 0,2; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 12,0 µg/mL. Todos os solventes eram de grau analítico, exceto os solventes usados na análise cromatográfica, que eram grau HPLC. Os solventes orgânicos acetonitrila e metanol foram filtrados em membranas HVLP (47 mm de diâmetro e 0,45 µm de tamanho do poro, Millipore Corp., Milford, MA, EUA). As fases móveis aquosas foram filtradas em membranas HAWP, com 47 mm de diâmetro e 0,45 µm de tamanho do poro (Millipore, Corp., Milford, MA, EUA). As fases móveis foram desgaseificadas em aparelho ultrassom (UltraSonic Cleaner, Unique, SP, Brasil).

Os reagentes para as análises de atividade antioxidante incluíram óleo de soja sem adição de conservantes cedidos pela Cargill Alimentos (Uberlândia, MG, Brasil), e os reagentes padrão analítico butil hidroxil tolueno (BHT), molibdato de amônio, fosfato monobásico de sódio (Synth Diadema, SP, Brasil), 2-[3]-t-butil-4-hidroxianisol (BHA), espermidina e espermina, 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), (+)-catequina (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, EUA), ácido L- ascórbico (Nuclear) e ácido sulfúrico (Quimex).

## 2. Métodos de análise

Todos os procedimentos foram realizados no Laboratório de Bioquímica de Alimentos LBqA da UFMG, o qual tem implementada as normas ISO 17025 e tem escopo acreditado pelo INMETRO.

## 2.1. Determinação do teor de umidade

Para a determinação do teor de umidade, em cadinhos de alumínio previamente secos e pesados foram colocados aproximadamente 2,5 g de cada amostra. Cada cadinho com amostra foi seco em estufa a 105 °C até peso constante (AOAC, 2012). O peso final foi determinado e calculado o teor de umidade.

## 2.2. Determinação dos teores de aminos bioativas

Para a determinação das aminos bioativas livres foi utilizado o método descrito por BANDEIRA et al. (2012). A extração das aminos foi feita pesando-se cerca de 3 g de cogumelo *in natura* em tubo de centrifuga de polipropileno, adicionando 7 mL de ácido tricloroacético 5% p/v em cada tubo, e agitando a 250 rpm em mesa agitadora durante 5 min. Em seguida, a amostra foi centrifugada à 8422 g, 4 °C, durante 20 minutos. O sobrenadante foi filtrado em papel de filtro qualitativo Whatman n° 1 e colhido em um balão de 25 mL. O precipitado foi extraído mais duas vezes nas mesmas condições de extração e o balão de 25 mL foi completado com ácido tricloroacético 5% p/v. Antes da injeção no cromatógrafo, o extrato foi filtrado em membrana de HAWP (13 mm de diâmetro e 0,45 µm de tamanho do poro, Millipore, Corp., Milford, MA, EUA).

Foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) da Shimadzu (Kioto, Japão), constituído por três bombas LC-20AD, sistema de derivação pós coluna, conjunto de lavagem automática de pistão, detector espectrofluorimétrico modelo RF-10AXL, forno de coluna modelo CTO-10 ASvp, auto-injetor modelo SIL 20A HT, com Rack para 115 *vials* de 1,5 mL, e unidade de controle das interfaces CBM-20A. Foram utilizadas coluna Nova-pak® C18 de 3,9 x 300 mm, 4 µm e pré coluna Nova-pak® C18 3,9 x 20 mm, 4 µm (Waters, Milford, MA, EUA). As fases móveis usadas para a CLAE foram: fase móvel A - solução tampão de acetato de sódio 0,2 mol/L, octanosulfonato de sódio 15 mmol/L, com ajuste de pH para 4,9 em potenciômetro (Digimed, Brasil) por adição de ácido acético glacial; e fase móvel B - acetronitrila. Foi usado um gradiente de eluição conforme descrito na Tabela 18.

Após a separação, as aminos foram derivadas com OPA, usando-se solução derivante composta de 22 g de hidróxido de potássio, 25 g ácido bórico e 500 mL de água ultrapura, pH ajustado a 10,5 com hidróxido de potássio, acrescida de 0,2 g de OPA dissolvido em 3 mL de metanol previamente filtrado, 1,5 mL de Brij 35 e 1,5 mL de mercaptoetanol, homogeneizada e desgaseificada em aparelho ultra-som (UltraSonic

Cleaner, Unique, SP, Brasil). A detecção das amins foi feita a 340 e 450 nm de excitação e de emissão, respectivamente. As análises cromatográficas foram feitas em sala climatizada a  $22 \pm 1$  °C.

**Tabela 18.** Gradiente de eluição para as fases móveis (B) acetronitrila e (A) solução tampão acetato de sódio:octanosulfonato de sódio utilizado na determinação das amins

Tempo (minutos)	Gradiente fase móvel (%)	
	A (Solução tampão)	B (Acetronitrila)
0,01	95	5
21	80	20
22	95	5
25	95	5
40	76	24
45	76	24
50	65	35
51	95	5

As amins foram identificadas por comparação do tempo de retenção das amins na amostra com as respectivas amins na solução padrão e a confirmação da identidade foi feita pela adição da amina suspeita à amostra. A quantificação das amins foi por interpolação em curva analítica das amins preparada nas concentrações de 0,1; 0,2; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 12,0 µg/mL com coeficiente de correlação  $\geq 0,9982$ .

### 2.3. Determinação de fenólicos totais

Os teores de fenólicos totais foram determinados pela reação de Folin Ciocalteu (SILVA & JORGE, 2011). Em um tubo de centrifuga, foram pesados 5 g do cogumelo desidratado, adicionado de 5 mL de água e agitados em mesa agitadora a 250 rpm durante 120 min. O extrato aquoso foi filtrado em papel de filtro qualitativo e colhido imediatamente para análise.

Em um tubo de ensaio, foram adicionados 1 mL da amostra e 1 mL da solução reagente de Folin Ciocalteu. Após 3 minutos, foram adicionados 1 mL de solução saturada de bicarbonato dissódico e 7 mL de água destilada. A reação foi mantida no escuro durante 90 minutos e a absorvância foi lida a 725 nm em espectrofotômetro UV-Visível 1650 PC

Shimadzu (Kioto, Japão). A quantificação foi feita por interpolação em uma curva de calibração com três repetições em cada nível nas concentrações de 25; 50; 75; 100; 125 mg/L do padrão ácido gálico com coeficiente de correlação = 0,9847.

## **2.4. Determinação da atividade antioxidante**

### **2.4.1. Preparo do extrato antioxidante**

Para as análises da atividade antioxidante, foram utilizadas as amostras de cogumelos desidratadas, pulverizadas em moinho de facas e tamisada em granulometria de 20 mesh. Os lotes de cogumelos secos foram agrupados em dois grupos de cada tipo (exceto o cogumelo *Eryngii*) para se determinar a atividade antioxidante.

Em um tubo de centrifuga foram pesados 5 g de cogumelo desidratado, adicionado de 50 mL de metanol e agitado a 250 rpm em mesa agitadora durante 24 h. O extrato foi filtrado em papel de filtro qualitativo e o resíduo foi extraído mais duas vezes. O extrato final foi concentrado por evaporação rotatória a 40 °C e congelado a -80 °C até o momento da análise antioxidante (YANG et al., 2002; ELMASTAS et al., 2007; TURKOGLU et al., 2007).

### **2.4.2. Determinação do poder de inativação do radical DPPH•**

O potencial de inativação do radical DPPH• foi determinado pelo método descrito por MELENDEZ et al. (2014). Foram preparadas as soluções; reagente de DPPH• em metanol (0,005% p/v), e os extratos metanólicos de cogumelos nas concentrações de 4 a 6 mg/mL e de soluções de BHA (+)-catequina, espermidina e espermina.

Em microplacas para ELISA 96 poços, foram adicionados, em triplicata, os volumes de 20, 30, 40, 60, 100 µL dos extratos metanólicos de cada cogumelo e também dos padrões positivos BHA (40 µg/mL), e (+)-catequina (20 µg/mL). O volume nos poços foi completado para 100 µL com metanol e adicionados de 200 µL da solução metanólica de DPPH• (0,005% p/v). A absorvância máxima foi considerada nos poços com 100 µL de metanol e 200 µL da solução de DPPH•. Como branco utilizou-se nos poços 300 µL de metanol. A microplaca foi fechada, mantida no escuro. Após 30 minutos, a microplaca foi lida por leitor de ELISA Versamax Molecular Devices UV/Visível em 517 nm. O potencial de inativação do radical DPPH• foi avaliado pela regressão linear da relação do percentual de inibição com a quantidade de extrato metanólico de cogumelo (Fórmula 1). Os

resultados da atividade antioxidante foram expressos em EC50% (quantidade suficiente para diminuir em 50% a absorção do radical DPPH).

$$\% \text{ de inibição} = \frac{(Abs \text{ max} - Abs \text{ extrato}) * 100}{Abs \text{ max}} \quad (\text{Fórmula 1})$$

(Abs= absorção; Abs max= absorção DPPH em Metanol)

#### **2.4.3. Determinação do poder de redução do extrato antioxidante**

O poder de redução do extrato antioxidante e das poliaminas espermidina e espermina foi determinado pelo método de redução do íon molibdato (PIETRO et al., 1999). Foram preparadas a solução reagente de molibdato (0,6 M ácido sulfúrico, 28 mM de fosfato de sódio, e 24 mM de molibdato de amônio), as soluções metanólicas do extrato de cogumelo na concentração de 20 mg/mL e as soluções padrões de ácido L-ascórbico nas concentrações de 50, 150, 250, 500 e 1000 µg/mL com coeficiente de correlação igual a 0,9847.

Em tubos de ensaio foram adicionados, em triplicata, 0,4 mL do extrato antioxidante (20 mg/mL) e 3,6 mL da solução reagente de molibdato. Os tubos foram incubados a 95 °C. Após 90 minutos, o extrato foi esfriado à temperatura ambiente e a absorção foi lida a 695 nm em espectrofotômetro UV-Visível 1650 PC Shimadzu (Kioto, Japão). A quantificação foi feita por interpolação em uma curva de calibração com três repetições em cada nível nas concentrações de 50, 150, 250 e 1000 µg/mL do padrão ácido L-ascórbico.

#### **2.4.4. Avaliação da estabilidade oxidativa por Rancimat®**

O equipamento Rancimat 743 Metrohm (Herisau, Switzerland) foi configurado para ensaio na temperatura de 110 °C e a taxa de fluxo de ar de 20 L/h (FARHOOSH, 2007). Em oito tubos de ensaio apropriados para o equipamento Rancimat, foram pesados, para cada tubo, aproximadamente 10 g de óleo de soja sem adição de conservantes. Em seis desses tubos foram adicionados um volume suficiente para 35 mg do extrato metanólico, sendo três tubos para cada grupo. O ensaio iniciou quando o sistema atingiu a temperatura de 110 °C e finalizou quando ocorreu inclinação na curva de condutividade. Para comparação utilizou-se os padrões de espermidina, espermina (0,006 g), BHT e BHA (0,006 g) (MENDONÇA, 2009). Os resultados foram calculados como fator de proteção (Fórmula 2).

$$\text{Fator de proteção} = \frac{\text{Tempo estabilidade (oleo+extrato)}}{\text{Tempo estabilidade (oleo)}} \quad (\text{Fórmula 2})$$

### 3. Análise estatística

Todos os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. Para avaliar a correlação entre os teores de fenólicos totais, os teores de espermidina e os resultados dos ensaios antioxidantes nos cogumelos foi feito a correlação de Pearson. O coeficiente de correlação Pearson (r) varia de -1 a 1. O sinal indica direção positiva ou negativa do relacionamento e o valor sugere a força da relação entre as variáveis. Para interpretação dos dados foi utilizado a seguinte classificação: r = 0,10 até 0,30 (correlação fraca); r = 0,40 até 0,6 (correlação moderada); r = 0,70 até 1 (correlação forte) (FIGUEIREDO FILHO & SILVA JUNIOR, 2009).

# RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 1. Teores de sólidos totais dos cogumelos

Os conteúdos médios de sólidos totais nas amostras de cogumelos analisadas estão apresentados na Tabela 19, com exceção da variedade *Eryngii*, a qual não está indicada na tabela, pois apenas um lote foi analisado, apresentando teores de sólidos totais de  $11,57 \pm 0,15$  g/100 g.

Os conteúdos de sólidos totais dos cogumelos investigados variaram de 8,98 a 10,14 g/100 g. Esses valores estão dentro da faixa de sólidos totais (9,2 a 26,3 g/100 g) encontrada em trabalhos anteriores (CHANG & MILES, 2003; FURLANI & GODOY, 2007). Houve diferença significativa entre os lotes de um mesmo cogumelo. As amostras das espécies *Hiratake* e *Shimeji Branco* apresentaram maior homogeneidade entre os lotes (CV= 15%). Os demais cogumelos apresentaram coeficientes de variação na faixa de 15 a 30%, o que indica uma maior dispersão entre os lotes de cada cogumelo.

## 2. Aminas em cogumelos

Os resultados dos estudos do perfil e teores de aminas em cogumelos estão apresentados de forma completa no apêndice. Pelo método utilizado não foi possível determinar a espermina.

### 2.1. Ocorrência de aminas bioativas em cogumelos

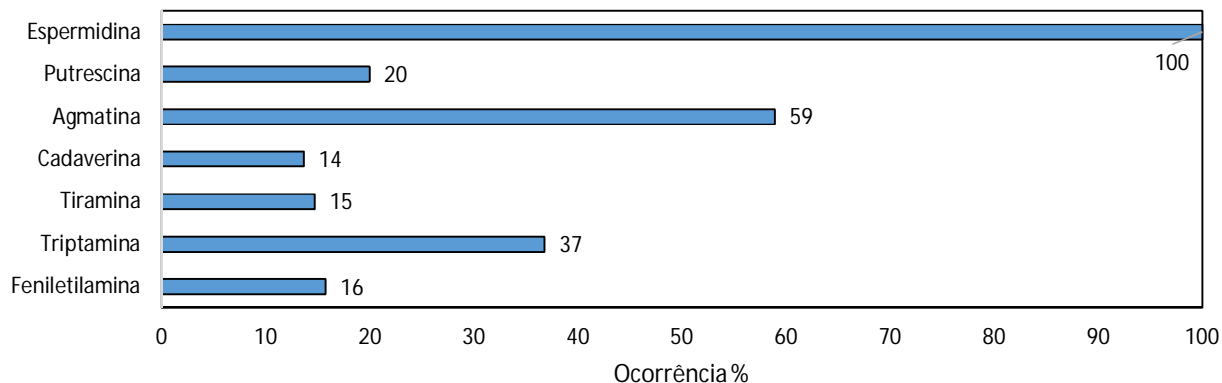
A ocorrência de aminas em cogumelos está indicada na Figura 11. Dentre as nove aminas pesquisadas, foram encontradas sete: espermidina, putrescina, agmatina, cadaverina, tiramina, feniletilamina e triptamina. Histamina e serotonina não foram detectadas em nenhuma das amostras de cogumelo.

A espermidina e a agmatina foram as aminas mais frequentes nos cogumelos analisados. A espermidina foi encontrada em todas as amostras e a agmatina em grande parte (59%). A ocorrência de espermidina em todos os cogumelos analisados é semelhante aos dados de DADÁKOVÁ et al. (2009), em que a espermidina foi detectada em todas as espécies. É de se esperar a presença de espermidina em todas as amostras de cogumelo, uma vez que essa poliamina é importante para a reprodução e desenvolvimento

**Tabela 19.** Teores de sólidos totais nos cogumelos analisados

Lote	Teor de sólidos totais*(%)						
	Salmão	Hiratake	Shimeji Branco	Shimeji Preto	Portobello	Shitake	Champignon
1	8,48 ± 0,19 <sup>c</sup>	10,11 ± 0,14 <sup>b</sup>	8,96 ± 0,43 <sup>c, d</sup>	12,25 ± 0,07 <sup>a</sup>	10,74 ± 0,03 <sup>a</sup>	14,19 ± 0,07 <sup>a</sup>	9,28 ± 0,08 <sup>b, c</sup>
2	10,23 ± 0,24 <sup>b</sup>	12,31 ± 0,69 <sup>a</sup>	9,28 ± 0,13 <sup>c</sup>	8,30 ± 0,05 <sup>d</sup>	9,82 ± 0,07 <sup>b</sup>	8,57 ± 0,05 <sup>b, c</sup>	6,55 ± 0,04 <sup>d</sup>
3	7,90 ± 0,13 <sup>c</sup>	8,31 ± 0,05 <sup>d</sup>	9,86 ± 0,08 <sup>b</sup>	8,56 ± 0,09 <sup>c</sup>	6,44 ± 0,65 <sup>d</sup>	8,35 ± 0,11 <sup>c</sup>	9,62 ± 0,02 <sup>b</sup>
4	12,15 ± 0,76 <sup>a</sup>	10,93 ± 0,14 <sup>b</sup>	8,53 ± 0,13 <sup>d</sup>	10,02 ± 0,06 <sup>b</sup>	10,02 ± 0,06 <sup>b</sup>	9,11 ± 0,05 <sup>b</sup>	14,36 ± 0,13 <sup>a</sup>
5	9,54 ± 0,04 <sup>c</sup>	9,03 ± 0,26 <sup>d</sup>	11,70 ± 0,07 <sup>a</sup>	7,88 ± 0,12 <sup>e</sup>	7,88 ± 0,13 <sup>c</sup>	9,54 ± 1,12 <sup>b</sup>	8,61 ± 0,02 <sup>c</sup>
Média	9,66 ± 1,57	10,14 ± 1,49	9,66 ± 1,16	9,40 ± 1,65	8,98 ± 1,66	9,95 ± 2,28	9,68 ± 2,66
CV (%)	16,2	14,7	12,0	17,6	18,5	22,9	27,5

\*Médias de triplicata ± desvio padrão. Valores expressos em base úmida. Valores com a mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente (teste de Tukey, p > 0,05)



**Figura 11.** Ocorrência de aminas bioativas em oito tipos de cogumelos.

do fungo, por estar envolvida na síntese de RNA, DNA e proteínas e o cogumelo é uma estrutura reprodutora (produtora de esporos).

É importante destacar que as vias de síntese de poliaminas em fungos, principalmente em macrofungos, ainda não está esclarecida (DADÁKOVÁ et al., 2009). De um modo geral, a via principal de formação seria a da ornitina, sendo a putrescina um intermediário obrigatório. A presença de agmatina em grande parte das amostras é um dado novo, uma vez que não existem trabalhos na literatura que investigaram a presença dessa amina em cogumelos. E a presença desta amina em 59% das amostras sugere uma rota adicional de formação das poliaminas via arginina (GLORIA, 2005; KALAC e KRAUSOVÁ, 2005; KALAC, 2014).

A putrescina estava presente em 20% das amostras. Uma vez que esta amina é precursora das poliaminas, a sua ocorrência deveria ser maior nas amostras. Entretanto, os dados obtidos sugerem que a putrescina apesar de ser a via de formação das poliaminas, não se acumula nos tecidos do fungo, ou o faz em baixas concentrações, inferiores ao limite de detecção do método. Segundo DADÁKOVÁ et al. (2009), a putrescina foi encontrada em 15 das 17 espécies de cogumelos investigadas. Ainda, de acordo com esses autores, nas espécies em que foi detectada a putrescina os teores variaram de 19,8 a 1858,0 mg/kg (massa seca).

Com relação as demais aminas, a triptamina foi a mais prevalente, tendo sido detectada em 37% das amostras, a feniletilamina foi detectada em 16%, a tiramina em 15% e a cadaverina em 14% das amostras. A presença dessas aminas biogênicas pode ser inerente as espécies, como metabolito secundário do cogumelo, ou pode ser resultado da descarboxilação dos aminoácidos precursores (triptofano, fenilalanina, tirosina e lisina,

respectivamente) presentes nos cogumelos por enzimas microbianas. DADÁKOVÁ et al. (2009) também identificaram as aminas biogênicas tiramina, triptamina e feniletilamina em cogumelos.

Os tipos de aminas encontradas por cogumelo incluídos neste estudo estão indicados na Tabela 20. A espermidina foi detectada em todos os cogumelos analisados. A agmatina e triptamina foram encontradas em seis cogumelos, a tiramina em cinco, putrescina, cadaverina e feniletilamina em três dos oito cogumelos analisados.

**Tabela 20.** Aminas bioativas encontradas nos diferentes tipos de cogumelos

Cogumelo	Aminas						
	EPD	PUT	AGM	CAD	TIM	TRM	FEM
Champignon	X				X	X	
Eryngii	X		X				
Hiratake	X	X	X	X	X	X	X
Portobello	X						
Salmão	X	X	X	X	X	X	X
Shimeji Branco	X	X	X	X	X	X	X
Shimeji Preto	X		X			X	
Shitake	X		X		X	X	

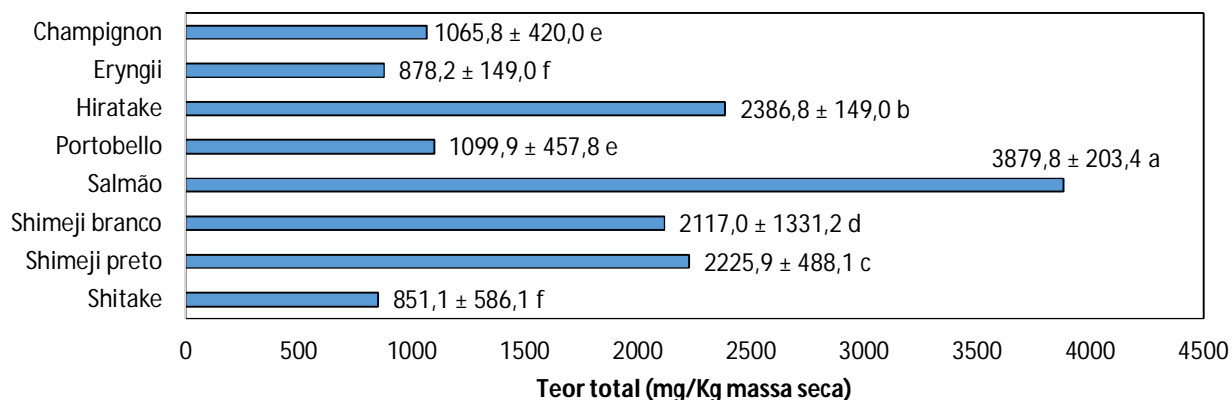
EPD= espermidina; PUT= Putrescina; AGM= Agmatina; CAD= Cadaverina; TIM= Tiramina; TRM= Triptamina; FEM= feniletilamina.

Observa-se que todas as sete aminas foram encontradas nos cogumelos Hiratake, Salmão e Shimeji Branco. Por outro lado, no cogumelo Portobello apenas foi detectada a espermidina. Os demais cogumelos apresentaram número intermediário de aminas, duas em Eryngii, três em Champignon e Shimeji Preto, e quatro em Shitake. DADÁKOVÁ et al. (2009) observaram que a espermidina foi encontrada em todas as espécies, a espermina, putrescina e feniletilamina na maioria e tiramina e triptamina em algumas espécies.

## 2.2. Teores totais de aminas nos cogumelos

Os teores totais de aminas detectados nas amostras de cogumelos analisados estão indicados na Figura 12 e no apêndice. Houve diferença significativa nos teores totais médios de aminas nos diferentes tipos de cogumelos incluídos neste estudo. Os cogumelos Eryngii e Shitake apresentaram os menores teores totais médios (878,2 e 851,1 mg/kg massa seca, respectivamente). Por outro lado, o maior teor médio de aminas foi encontrado no cogumelo Salmão (3879,8 mg/Kg massa seca).

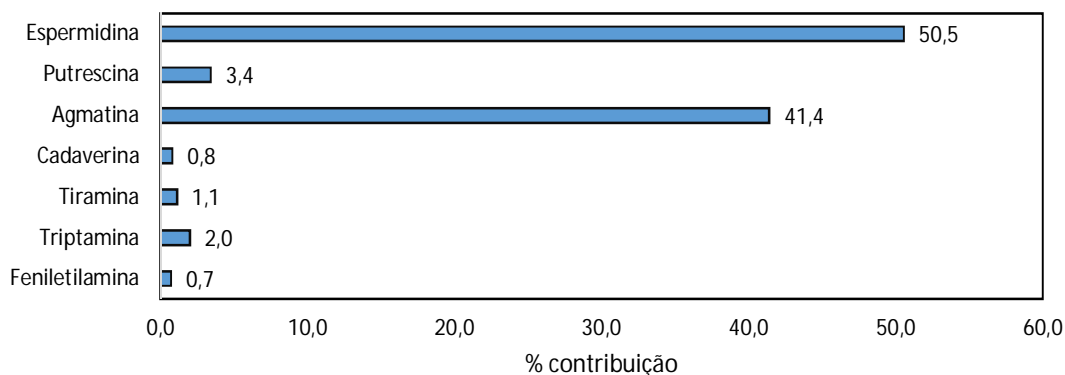
Uma maior variação nos teores totais de aminos foi observada no cogumelo Shitake, o qual apresentou um coeficiente de variação (CV) igual a 47,9%. No cogumelo Eryngii, foi encontrado menor valor de CV, igual a 17,0% (Apêndice). Provavelmente, a diversidade no conteúdo de aminos em um mesmo tipo de cogumelo pode estar associado as diferenças das condições de produção/cultivo, pós-colheita e armazenamento entre os lotes cogumelos.



**Figura 12.** Teores totais médios de aminos bioativas em oito tipos de cogumelos. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ( $p < 0,05$ , teste de Tukey).

### 2.3. Prevalência de aminos bioativas nos cogumelos

A contribuição do teor encontrado de cada amina ao teor total nos oito cogumelos estudados está indicada na Figura 13. As aminos que mais contribuiram para o teor total de cogumelos foram a espermidina (50,5%) e agmatina (41,4%). As demais aminos analisadas tiveram contribuição inferior a 4,0% (cada amina). Tiramina e triptamina, apesar



**Figura 13.** Percentual de contribuição de cada amina ao teor total nos oito cogumelos estudados.

de serem frequentes na maioria das amostras, pouco contribuíram para os teores totais.

## **2.4. Perfil e teores de aminos bioativas nos diferentes tipos de cogumelos**

### **2.4.1. Cogumelo Champignon**

Os percentuais de contribuição de cada amina ao teor total das amostras do cogumelo Champignon estão apresentados na Figura 14. Em todos os lotes desse cogumelo foi detectado espermidina, a tiramina foi detectada em um e a triptamina foi detectada em três. Apesar da detecção dessas aminos, a contribuição foi pequena (<4% cada) para o percentual total.

Os teores de aminos bioativas no cogumelo Champignon estão apresentados na Figura 15. A espermidina apresentou maior teor médio (1049,7 mg/kg massa seca). Os teores de tiramina e triptamina foram discretos.

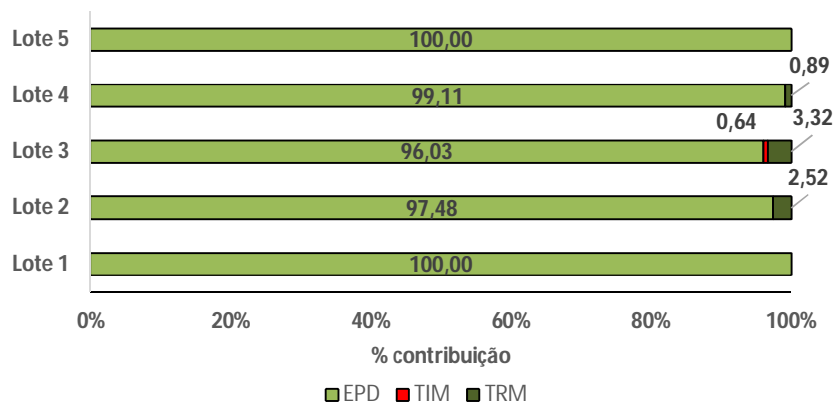
### **2.4.2. Cogumelo Portobello**

No cogumelo Portobello apenas a espermidina foi detectada. Os valores dessa poliamina variaram de 768,4 a 1344,2 mg/kg (massa seca) e o teor médio foi igual a 1099,9 mg/kg (massa seca).

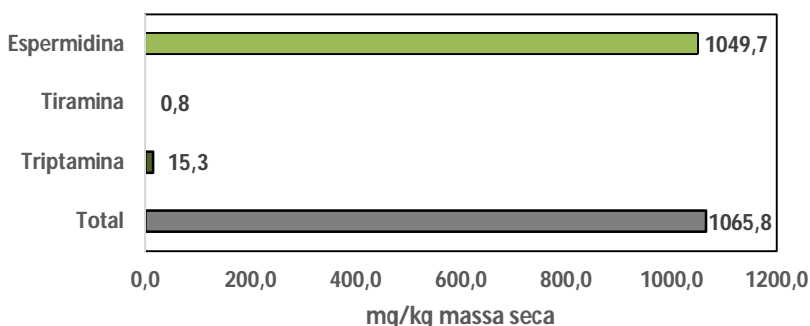
### **2.4.3. Cogumelo Shitake**

Os percentuais de contribuição de aminos ao teor total das amostras do cogumelo Shitake estão apresentados na Figura 16. Nesse cogumelo, a espermidina foi detectada em todos os lotes, a tiramina foi detectada em apenas um lote, assim como a triptamina e agmatina. Apesar da detecção de triptamina e tiramina, a contribuição destas foi pequena (<4% cada) para o teor total.

Os teores de aminos bioativas no cogumelo Shitake estão apresentados na Figura 17. Observa-se que a espermidina apresentou maior teor médio (790,1 mg/kg massa seca). A agmatina apresentou teor de 53,8 mg/kg (massa seca) e os teores de tiramina e triptamina foram baixos (< 6 mg/kg massa seca).



**Figura 14.** Percentual de contribuição de cada amina ao teor total em diferentes lotes do cogumelo Champignon.

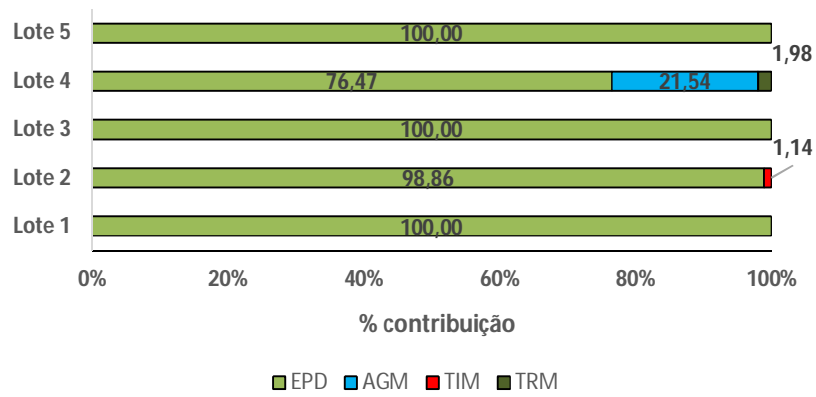


**Figura 15.** Teores médios de aminas bioativas no cogumelo Champignon.

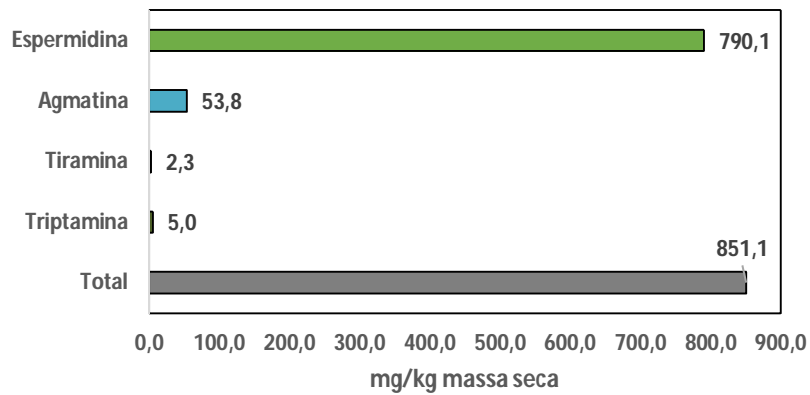
#### 2.4.4. Cogumelo Shimeji Preto

Os percentuais de contribuição de cada amina ao teor total nas amostras de Shimeji Preto estão apresentados na Figura 18. Em todos os lotes desse cogumelo foram detectados espermidina e agmatina e em três lotes foi detectada a triptamina. Nesse cogumelo, a contribuição de cada amina ao teor total variou de 54,32 a 65,68% para espermidina e de 33,29 a 45,18% para agmatina. A tiramina e triptamina apresentaram pequena contribuição ao teor total de aminas.

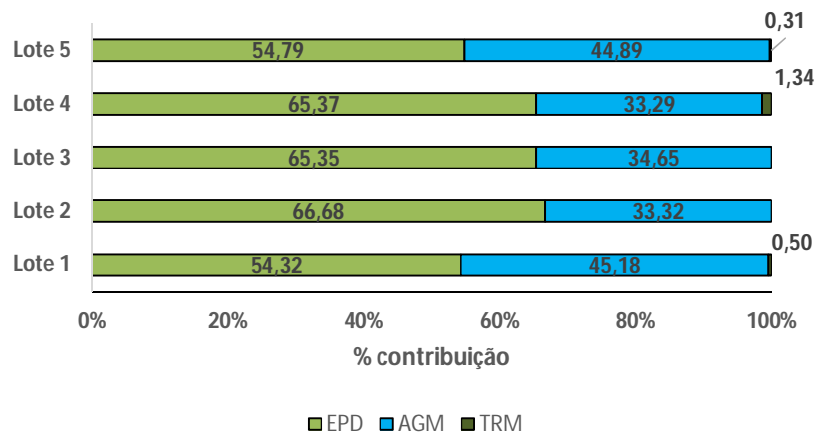
Os teores de aminas bioativas no cogumelo Shimeji Preto estão apresentados na Figura 19. Observa-se que a espermidina apresentou maior teor médio (1351,4 mg/kg massa seca) e a agmatina apresentou teor elevado (851,8 mg/kg massa seca). O teor de tiramina foi baixo (7,7 mg/kg massa seca).



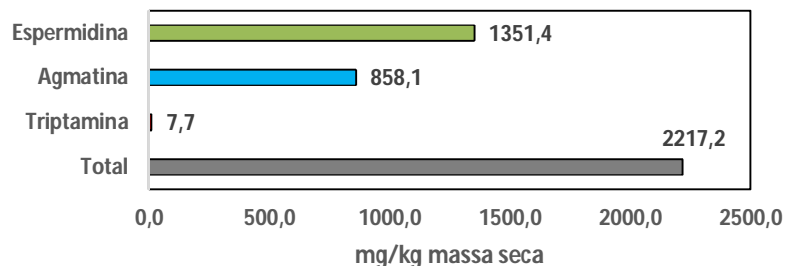
**Figura 16.** Percentual de contribuição de cada amina ao teor total em diferentes lotes do cogumelo Shitake.



**Figura 17.** Teores médios de aminas bioativas no cogumelo Shitake



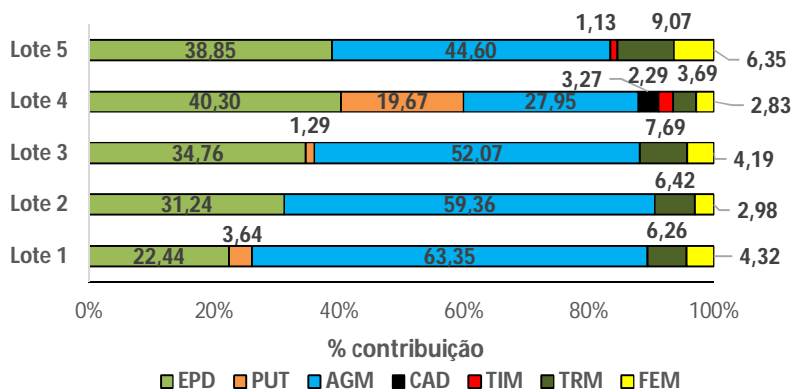
**Figura 18.** Percentual de contribuição de cada amina ao teor total em diferentes lotes do cogumelo Shimeji Preto.



**Figura 19.** Teores médios de aminas bioativas no cogumelo Shimeji Preto.

#### 2.4.5. Cogumelo Shimeji Branco

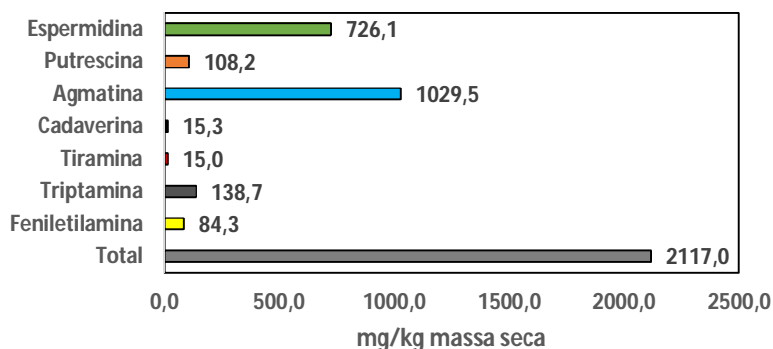
Os percentuais de contribuição de cada amina ao teor total nas amostras de Shimeji Branco estão apresentados na Figura 20. Em todos os lotes desse cogumelo foram detectados espermidina, agmatina, feniletilamina e triptamina. A prevalência destas aminas em todos os lotes pode indicar que essas são inerentes ao perfil bioquímico desse cogumelo. A putrescina foi detectada em três lotes, a tiramina em dois lotes e a cadaverina em um. Nesse cogumelo, as maiores contribuições das aminas ao teor total foram da agmatina (27,95 a 63,35%), espermidina (22,44 a 40,30%). Em um lote a putrescina contribuiu em 19,67%, para os demais em que foi detectada a contribuição foi menor que 5%. Feniletilamina e triptamina, apesar de terem sido detectadas em todos os lotes, tiveram



**Figura 20.** Percentual de contribuição de cada amina ao teor total em diferentes lotes do cogumelo Shimeji Branco.

percentual de contribuição menor que 10%. A tiramina apresentou baixa contribuição ao teor total de aminas (< 3%).

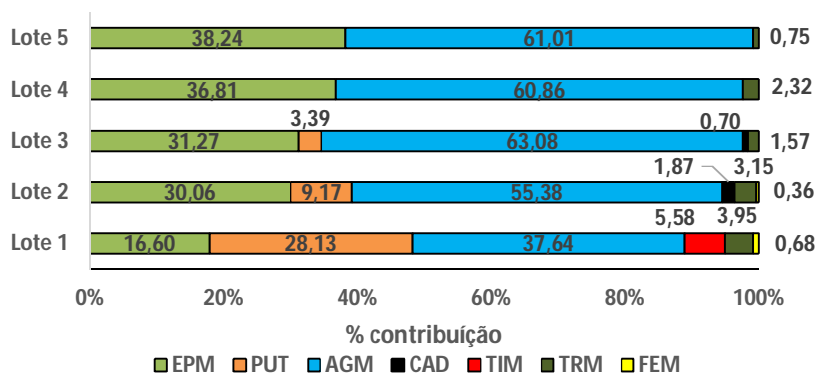
Os teores de aminas bioativas no cogumelo Shimeji Branco estão apresentados na Figura 21. Observa-se que a agmatina e espermidina apresentaram teores médios elevados 1029,5 e 726,1 mg/kg massa seca, respectivamente. Os teores das demais aminas variaram, em massa seca, de 15,0 (tiramina) a 138,7 mg/kg (triptamina).



**Figura 21.** Teores médios de aminas bioativas no cogumelo Shimeji Branco.

#### 2.4.6. Cogumelo Salmão

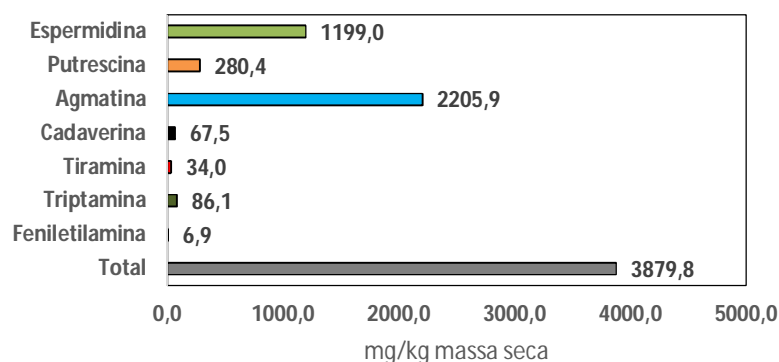
Os percentuais de contribuição de cada amina ao teor total de aminas das amostras de cogumelo Salmão estão apresentados na Figura 22. Em todos os lotes desse cogumelo foram detectados espermidina, agmatina e triptamina. A prevalência destas aminas em todos os lotes pode indicar que essas aminas são inerentes do perfil bioquímico desse cogumelo. A putrescina foi detectada em três lotes, a cadaverina e feniletilamina em dois e a tiramina em um. Nesse cogumelo, as maiores contribuições ao teor total de aminas foi



**Figura 22.** Percentual de contribuição de cada amina ao teor total em diferentes lotes do cogumelo Salmão.

da agmatina (37,4 a 61,0%). Em um lote a contribuição de putrescina (28,1 %) foi superior a de espermidina (16,6 %). A triptamina, feniletilamina e triptamina estavam presentes em baixos percentuais em relação aos teores totais.

Os teores de aminos bioativas no cogumelo Salmão estão apresentados na Figura 23. Observa-se que, assim como o cogumelo Shimeji Branco, agmatina e espermidina apresentaram teores médios elevados (2205,9 e 1199,0 mg/kg em massa seca, respectivamente). Os teores das demais aminos variaram de 6,9 (feniletilamina) a 280,4 mg/kg (massa seca) (putrescina).



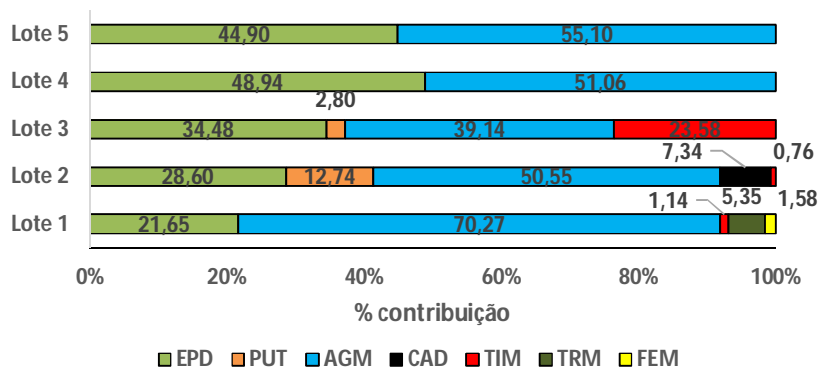
**Figura 23.** Teores médios de aminos bioativas no cogumelo Salmão.

#### 2.4.7. Cogumelo Hiratake

Os percentuais de contribuição ao teor total de aminos das amostras do cogumelo Hiratake estão apresentados na Figura 24. Em todos os lotes do cogumelo Hiratake foram detectados espermidina e agmatina. A tiramina esteve presente em três lotes, a putrescina em dois, a cadaverina, feniletilamina e triptamina em apenas um lote. Em todos os lotes, a agmatina e espermidina foram as aminos que mais contribuíram para o percentual total de aminos. Com relação a tiramina, em um lote essa amina apresentou contribuição elevada ao percentual total de aminos (23,6 %), nos demais lotes em que foi detectada, a tiramina apresentou contribuição discreta (<2%). A contribuição de putrescina, nos lotes em que foi detectada, variou de 2,8 a 12,7%. As demais aminos apresentaram contribuição menor que (10%).

Os teores de aminos bioativas no cogumelo Hiratake estão apresentados na Figura 25. Assim como os cogumelos Shimeji Branco e Salmão, o teor médio de agmatina (1258,0 mg/kg massa seca) foi maior que o teor médio de espermina (922,5 mg/kg massa seca).

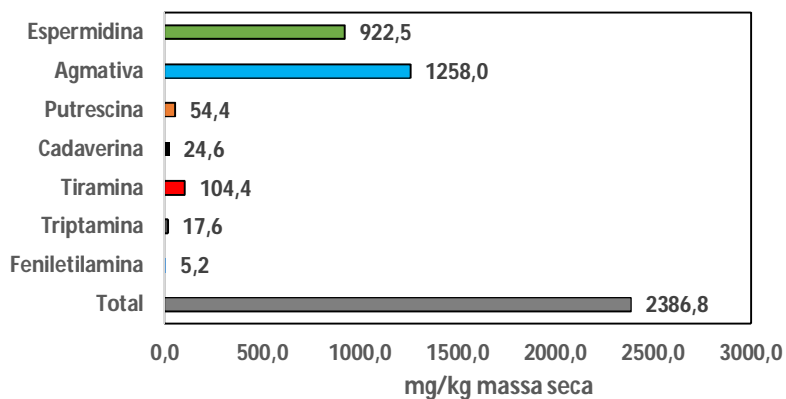
Os teores médios das demais aminas variaram de 5,2 (feniletilamina) a 104,4 mg/kg (massa seca) (tiramina).



**Figura 24.** Percentual de contribuição de cada amina ao teor total em diferentes lotes do cogumelo Hiratake.

#### 2.4.8. Cogumelo Eryngii

No cogumelo Eryngii foi limitada a disponibilidade de amostra, desta forma o resultado se refere a esta amostra apenas. Nesse cogumelo foi detectado apenas as aminas espermidina e agmatina. Os teores médios foram de 202,2 mg/kg para a agmatina e de 675,9 mg/kg (ambos em massa seca) para a espermidina.



**Figura 25.** Teores médios de aminas bioativas no cogumelo Hiratake.

## 2.5. Teores de aminas em cogumelos

Considerando todos os tipos de cogumelos analisados, nas amostras foram detectados teores de espermidina que variaram de 362,1 a 2043,3 mg/kg em massa seca. Houve diferença significativa nos teores médios de espermidina entre os cogumelos. O maior teor médio de espermidina, calculado nos cogumelos Shimeji Preto, não diferiu significativamente dos teores médios das variedades Salmão, Champignon e Portobello. Os cogumelos Shimeji Branco, Shitake, Eryngii e Hiratake apresentaram os menores teores dessa poliamina. No trabalho de DADÁKOVÁ et al. (2009), foi encontrada espermidina em todas as amostras de cogumelos. O maior teor médio desta poliamina foi encontrada na espécie *Boletus erythropus* (2219 mg/kg massa seca).

Em relação à putrescina, a variedade Salmão apresentou maior teor médio de putrescina (280,5 mg/kg massa seca), que não diferiu significativamente do teor médio da variedade Shimeji Branco, entretanto diferiu dos valores não detectados. Os teores médios das variedades Shimeji Branco e Hiratake não diferiram significativamente dos cogumelos em que não foi detectado putrescina. Em apenas uma espécie, no trabalho de DADÁKOVÁ et al. (2009), a putrescina não foi detectada. O maior teor médio de putrescina (1858,0 mg/kg massa seca), relatado por esses autores, encontrado na espécie *Xerocomus chrysenteron*, foi superior ao maior teor médio de putrescina encontrado no cogumelo Salmão no presente trabalho.

Agmatina foi encontrada em todos os tipos de cogumelo analisados, exceto em Portobello e Champignon. Os teores médios de agmatina diferiram significativamente entre os cogumelos, o tipo Salmão apresentou maior teor médio de agmatina (2205,9 mg/kg massa seca). O teor médio de agmatina nos cogumelos Shitake e Eryngii não diferiram significativamente das variedades não detectadas.

A cadaverina foi detectada nos cogumelos Salmão, Hiratake e Shimeji Branco. Apenas no cogumelo Salmão o teor médio (67,5 mg/kg massa seca) foi significativamente superior as amostras não detectadas. Não há dados na literatura em relação a ocorrência de cadaverina em cogumelos.

Os teores médios de tiramina não variaram entre os cogumelos incluindo os valores não detectados. Nas 17 espécies analisadas por DADÁKOVÁ et al. (2009), o maior teor médio de tiramina encontrado (81,2 mg/kg massa seca da espécie *Xerocomus badius*) foi inferior ao teor médio de tiramina do cogumelo Hiratake (104,4 mg/kg massa seca).

Nos cogumelos Portobello e Eryngii não foi detectada a presença de triptamina. Apenas no cogumelo Shimeji Branco, a triptamina foi detectada em todas as amostras

analisadas. Houve diferença significativa entre os teores médios de triptamina, apenas nos cogumelos Shimeji Branco e Salmão os teores médios diferiram significativamente do valor não detectado. O maior teor médio de triptamina (138,7 mg/kg massa seca), encontrado no Shimeji Branco, foi superior ao maior teor médio (77,5 mg/kg massa seca) encontrado por DADÁKOVÁ et al. (2009).

No que se refere a feniletilamina, foram detectados teores dessa amina nos cogumelos Shimeji Branco, Hiratake e Salmão. Apenas no cogumelo Shimeji Branco o teor médio de feniletilamina diferiu significativamente dos valores não detectados. O teor médio de feniletilamina (84,3 mg/kg massa seca) encontrado na variedade Shimeji Branco foi inferior ao maior teor médio (546 mg/kg massa seca), encontrado por DADÁKOVÁ et al. (2009) na espécie *Xerocomus subtmentosus*.

Todos os cogumelos estudados apresentaram teores totais de amins elevados. Os teores totais médios de amins diferiram significativamente entre as amostras. Em ordem decrescente dos teores médios totais de amins seguem a seguinte sequência: Salmão > Hiratake > Shimeji Preto > Portobello = Champignon > Shitake = Eryngii.

## **2.6. Considerações sobre amins em cogumelos**

Quando a prevalência de uma amina por tipo de cogumelo é de 100% com relação aos lotes, levanta-se a hipótese de que esta amina seja inerente à espécie. Nos cogumelos, a prevalência de amins como espermidina (todas as variedades), agmatina e feniletilamina (algumas variedades), pode ser justificada como perfil bioquímico típico do cogumelo. No caso de baixa prevalência de amins nos lotes, pode ser indício de que a formação desta amina foi afetada pelas condições específicas de produção de cada lote, incluindo aspectos relacionados a micélio, nutrientes, condições de temperatura, umidade, tempo de frutificação, pós-colheita e também de condições higiênicas sanitárias prevalentes.

## **2.7. Propriedades funcionais dos cogumelos em relação as amins**

Nesse estudo, os teores médios de espermidina foram elevados em todos os tipos de cogumelos. A presença de poliaminas na dieta pode trazer diversos benefícios à saúde, dentre elas a promoção da saúde interstinal, uma vez que as poliaminas são responsáveis pela maturação e regeneração da mucosa intestinal, sendo que níveis suficientes podem reduzir a intolerância a substâncias alergênicas. Além disso, as poliaminas contribuem para a maturação do sistema imune e da mucosa intestinal em crianças, são eficientes na

cicatrização de feridas, são mediadores anti-inflamatórios e têm atividade antioxidante. Todavia no tratamento contra o câncer deve-se tomar cuidado com ingestão de poliaminas uma vez que estas aminas exógenas podem favorecer o crescimento de tumores (GLÓRIA, 2005; KALAC & KRAUSOVÁ 2005; KALAC, 2014).

Nos cogumelos em que a agmatina foi prevalente, os teores dessa amina foram elevados. A agmatina é formada a partir da descarboxilação do aminoácido arginina. Esse aminoácido apresenta múltiplos efeitos metabólicos e imunológicos benéficos, específicos em situações de estresse. Sabe-se que a espermidina é formada via putrescina e em alguns microrganismos e plantas a síntese de putrescina se dá via agmatina, que é formada pela descarboxilação de arginina (GLÓRIA, 2005). Por essa razão, é possível supor que a síntese de espermidina em algumas das variedades estudadas pode ser via agmatina. Essa hipótese pode ser reforçada por ter sido analisado nesse trabalho as regiões reprodutoras (corpos de frutificação, os cogumelos) em que existe a formação de esporos, ou seja, nessa região há necessidade de teores elevados de poliaminas.

## **2.8. Aspectos toxicológicos dos cogumelos em relação às aminas**

O aumento dos níveis de poliaminas está relacionado com a proliferação celular, decréscimo da apoptose e aumento da expressão de genes que afetam a invasão tumoral e metástase. De forma recíproca, a supressão dos níveis de poliaminas está associada com uma queda no crescimento celular, aumento da apoptose e decréscimo da expressão de genes que afetam a invasão tumoral e metástase (SODA, 2011). Os cogumelos apresentaram altos teores de espermidina variando, em massa seca, de 675,9 (Eryngii) a 1366,7 mg/kg (Shimeji Preto). Por essa perspectiva, deve-se ter precaução com o consumo de cogumelos por pacientes em tratamento contra o câncer.

As aminas biogênicas tiramina, triptamina e feniletilamina são aminas neuro e vasoativas que presentes em grandes quantidades nos alimentos estão associadas a crises hipertensivas, quadros de enxaquecas e outras alterações fisiológicas conforme indicado na Tabela 16. A sensibilidade aos efeitos tóxicos, está diretamente relacionado com biodisponibilidade destas aminas. Pessoas que fazem o uso de drogas da classe IMAOs são mais sensíveis a intoxicação. O álcool também é considerado como potencializador dos efeitos tóxicos das aminas biogênicas por ser antagonista das enzimas monoaminoxidases. Além disso, a presença das aminas putrescina e cadaverina potencializa a toxicidade dessas aminas por apresentarem relação competitiva com as demais aminas biogênicas na reação com as enzimas aminoxidases. A incidência e o

acumulo de algumas amins em alimentos, dentre elas, histamina, tiramina, triptamina, cadaverina, putrescina, feniletilamina, em algumas amostras pode indicar condição higiênico sanitária inadequada (GLORIA, 2005).

Para avaliar a qualidade dos cogumelos *in natura*, os teores médios de amins nos cogumelos estão expressos em base úmida na Tabela 21. Os teores de tiramina nos cogumelos estão abaixo dos valores em que não foram observados efeitos adversos para essa amina relatados por EFSA (2011). Por essa razão todos os cogumelos analisados são seguros para o consumo.

**Tabela 21.** Teores de amins em oito tipos de cogumelos *in natura*

Cogumelos	Amins mg/100g*							
	EPD	PUT	AGM	CAD	TIM	TRM	FEM	TOTAL
Champignon	9,83	nd	nd	nd	0,01	0,13	nd	9,97
Portobello	9,72	nd	nd	nd	nd	nd	nd	9,72
Shitake	7,21	nd	0,49	nd	0,02	0,05	nd	7,77
Shimeji Branco	7,00	0,93	9,91	0,13	0,14	1,37	0,84	20,32
Shimeji Preto	12,40	nd	7,77	nd	nd	0,08	nd	20,25
Hiratake	9,21	0,62	12,68	0,30	0,88	0,18	0,05	23,93
Salmão	11,50	2,48	20,89	0,59	0,29	0,82	0,06	36,64
Eryngii	7,87	nd	2,36	nd	nd	nd	nd	10,23

\*Valores em massa úmida. EPD= Espermidia; PUT= Putrescina; AGM= Agmatina; CAD= Cadaverina; TIM= Tiramina ; TRM= Triptamina; FEM= Feniletilamina.

### 3. Teores de fenólicos totais dos cogumelos

Os resultados dos teores de fenólicos totais nos cogumelos estão na Tabela 22. Os teores de fenólicos totais variaram de 6,15 a 11,74 em miligrama equivalente de ácido gálico (mg EAG) por grama de cogumelo (massa seca). O cogumelo Shimeji Preto apresentou maior teor médio de fenólicos totais (11,74 mgEAG/g). Houve diferenças significativas entre os teores de fenólicos totais nos cogumelos. No cogumelo Salmão os teores diferiram significativamente dos teores de fenólicos dos cogumelos Eryngii, Shitake e Hiratake, entretanto não houve diferença significativa entre os os cogumelos Portobello e Shimeji Branco. Os teores de fenólicos totais nos cogumelos Portobello e Shimeji Branco foram significativamente superiores aos teores do cogumelo Champignon, porém não houve diferenças significativa com os teores dos cogumelos Eryngii, Shitake e Hiratake. Os teores de fenólicos desses três últimos cogumelos não diferiram significativamente com os teores do cogumelo Champignon. Os resultados de fenólicos totais obtidos nos cogumelos foram

similares aos teores de YANG et al. (2002) (6,27 a 15,7 mg EAG/g) e foram inferiores aos teores de fenólicos totais determinados nos cogumelos nos trabalhos de SOARES et al. (2009) e SILVA & JORGE et al. (2011).

**Tabela 22.** Teores médios de fenólicos totais nos diferentes tipos de cogumelos

<b>Cogumelos</b>	<b>mgEAG/g</b>
Champignon	6,15 ± 0,45 <sup>d</sup>
Eryngii	6,72 ± 0,07 <sup>c,d</sup>
Hiratake	6,16 ± 0,49 <sup>c,d</sup>
Portobello	7,24 ± 0,58 <sup>b,c</sup>
Salmão	7,51 ± 0,15 <sup>b</sup>
Shimeji Branco	7,10 ± 0,93 <sup>b,c</sup>
Shimeji Preto	11,74 ± 0,43 <sup>a</sup>
Shitake	6,30 ± 0,22 <sup>c,d</sup>

Teores em miligrama equivalente ácido gálico por grama de cogumelo (massa seca). Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ( $p < 0,05$ , teste de Tukey).

#### 4. Atividade antioxidante

A capacidade antioxidante dos cogumelos foi avaliada por meio de três métodos diferentes: poder redutor pela redução do íon molibdato Mo(VI), sequestro de radicais livres pelo método de inativação do radical DPPH• e avaliação da estabilidade oxidativa do óleo pelo método Rancimat®. O preparo dos extratos antioxidantes seguiu a metodologia de YANG et al. (2002), ELMASTAS et al. (2007) e TURKOGLU et al. (2009). Os resultados dos ensaios antioxidantes estão expressos na Tabela 23.

##### 4.1. Poder antioxidante dos extratos pela inativação do radical DPPH•

Os resultados da capacidade antioxidante de inativação do radical DPPH•, foram expressos em índice EC<sub>50%</sub>. Esse índice significa a quantidade suficiente do extrato para reduzir em 50% a absorção do radical DPPH•, dessa forma quanto menor a quantidade para inibir 50% de absorção, maior a atividade antioxidante. Não foi detectado sinal para os padrões espermidina e espermina. Os padrões BHA e catequina apresentaram os menores índices de EC<sub>50%</sub> e não diferiram significativamente entre si.

**Tabela 23.** Valores de atividade antioxidantes dos cogumelos e padrões nos ensaios de inativação do radical DPPH, poder de redução sobre o íon Mo (VI) e avaliação do aumento da estabilidade oxidativa do óleo por Rancimat

Cogumelos	Resultados antioxidantes		
	DPPH EC50% µg	Mo mgEAA/g	Rancimat Fator de proteção
Champignon	354,83 ± 99,66 <sup>b</sup>	55,90 ± 3,72 <sup>d</sup>	1,48 ± 0,07 <sup>c</sup>
Eryngii	562,55 <sup>c,d</sup>	50,38 ± 3,08 <sup>d</sup>	1,16 ± 0,02 <sup>f,g</sup>
Hiratake	531,62 ± 146,40 <sup>b,c,d</sup>	73,52 ± 3,54 <sup>b,c</sup>	1,51 ± 0,08 <sup>c</sup>
Portobello	369,21 ± 110,51 <sup>b,c</sup>	50,87 ± 6,21 <sup>d</sup>	1,25 ± 0,07 <sup>e,f</sup>
Salmão	396,13 ± 61,42 <sup>b,c</sup>	55,03 ± 9,33 <sup>d</sup>	1,35 ± 0,05 <sup>c,d</sup>
Shimeji Branco	707,62 ± 98,85 <sup>d</sup>	86,29 ± 10,03 <sup>a,b</sup>	1,43 ± 0,20 <sup>c,d</sup>
Shimeji Preto	400,27 ± 81,96 <sup>b,c</sup>	87,49 ± 5,21 <sup>a</sup>	1,31 ± 0,10 <sup>d,e</sup>
Shitake	512,33 ± 7,25 <sup>b,c,d</sup>	68,12 ± 12,72 <sup>c,d</sup>	1,05 ± 0,01 <sup>f,g</sup>
BHA	1,70 <sup>a</sup>	-	-
Catequina	1,30 <sup>a</sup>	-	-
EPM	-	-	2,81 ± 0,13 <sup>a</sup>
EPD	-	-	2,44 ± 0,15 <sup>b</sup>
BHA + BHT	-	-	1,21 ± 0,01 <sup>e,f</sup>
Controle	-	-	1,00 ± 0,01 <sup>g</sup>

EPM=espermina; EPD= espermidina, BHA= butil hidroxi anisol; BHT= butil hidroxi tolueno; EAA= equivalente ácido ascórbico; EC50%= concentração média para 50% de inibição. NA= não avaliado Sem atividade Médias de triplicata ± desvio padrão. Valores com a mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente (teste de Tukey, p > 0,05).

Em relação aos extratos de cogumelos, os valores de EC<sub>50%</sub> variaram nos teores de 707,62 µg (Shimeji Branco) a 354,83 µg (Champignon). Houve diferença significativa entre os valores de EC50%(µg) dos cogumelos. O valor de EC50%(µg) do extrato do cogumelo Champignon não diferiu significativamente dos cogumelos Portobello, Salmão, Shimeji Preto, Shitake, e Hiratake, porém foi menor que Eryngii e Shimeji Branco. Os valores de EC50%(µg) cogumelos Portobello, Salmão e Shimeji Preto não diferiram significativamente do cogumelo Eryngii, mas foram menores que os valores de EC50%(µg) cogumelo Shimeji Branco. Não houve diferenças significativas entre os valores de EC50%(µg) dos cogumelos Hiratake, Shitake e Eryngii. Com relação aos valores de EC<sub>50%</sub> dos extratos metanólicos de cogumelos e dos padrões é possível afirmar que as quantidades dos extratos e padrões são equivalentes entre si. Ou seja, 707,6 µg do extrato metanólico de Shimeji Branco tem

a mesma atividade que 1,7 µg de BHA, para inativar o radical DPPH• dentro das condições desse ensaio.

#### **4.2. Poder redutor pela redução do íon molibdato**

Os valores do poder de redução dos extratos antioxidantes sob o íon Mo (VI) estão representados em miligrama equivalente ácido ascórbico (mg EAA) por grama de cogumelo seco. Todos os extratos de cogumelos tiveram poder de redução sob o íon Mo (VI). Não foi detectado resposta para os padrões espermidina e espermina. O poder redutor variou de 50,38 mgEAA/g (*Eryngii*) a 87,49 mgEAA/g (Shimeji Preto). Houve diferença significativa entre os valores encontrados para os cogumelos.

O maior poder redutor do íon molibdato foi apresentado pelo cogumelo Shimeji Preto que foi significativamente igual ao poder redutor do cogumelo Shimeji Branco, porem superior ao cogumelo Hiratake. Não houve diferenças significativas entre os cogumelos Shimeji Branco e Hiratake, entretanto, ao contrário do cogumelo Hiratake, o cogumelo Shimeji Branco apresentou poder de redutor superior ao cogumelo Shitake que não diferiu significativamente do poder redutor dos cogumelos Salmão, Champignon, Portobello e *Eryngii*.

#### **4.3. Avaliação da adição dos extratos antioxidantes na estabilidade lipídica**

Os resultados da capacidade antioxidante pelo aumento do tempo de indução da oxidação lipídica foram expressos em fator de proteção. As poliaminas espermidina e espermina foram as mais efetivas no aumento do período de indução da oxidação no óleo de soja em relação a associação dos antioxidantes sintéticos BHA e BHT e os extratos metanólicos dos cogumelos.

Os cogumelos Hiratake, Champignon, Shimeji Branco e Salmão não apresentaram diferenças significativas entre si, todavia foram mais efetivas que a associação dos antioxidantes sintéticos BHA e BHT que não diferiu significativamente dos extratos das variedades Shimeji Preto e Portobello. Os extratos de Shitake e *Eryngii* não diferiram significativamente do óleo de soja sem adição de antioxidante (grupo controle). No trabalho de SILVA e JORGE (2011), os extratos metanolicos de cogumelos, na proporção 3,5 g dos extratos por quilograma de óleo, nas condições experimentais de 100 °C e 20 L/h de fluxo de ar, forneceram fatores de proteção de 1,32 para espécie *Lentinula edodes* e 1,35 para espécie *Agaricus blazei*. No presente estudo, o cogumelo Shitake (*Lentinula edodes*) ao

contrário dos estudos de SILVA e JORGE (2011) não apresentou efeito protetor sobre o óleo de soja.

#### **4.4. Considerações sobre a atividade antioxidante em cogumelos**

A atividade antioxidante em sistemas biológicos depende de diversos fatores, dentre eles, o substrato, condições e estágio da oxidação e o perfil dos antioxidantes. Nos métodos *in vitro*, é importante considerar a composição do sistema, o tipo de substrato oxidável, e os métodos para avaliar a oxidação e quantificar a atividade antioxidante. A eficácia antioxidante é determinada pela heterogeneidade e natureza do sistema, o tipo de substrato lipídico, incluindo o estado físico e grau de instauração, os tipos de pro-oxidantes (iniciadores), em especial os metais de transição, e a possível interação com outros componentes. Por essa razão, não pode haver uma abordagem limitada para determinar a atividade antioxidante (FRANKEL & MEYER, 2000).

Nesse trabalho, foram utilizadas três metodologias com mecanismos distintos para avaliar atividade antioxidante de extratos metanólicos de algumas variedades cogumelos e das poliaminas espermidina e espermina. Em todos os ensaios, foram utilizados antioxidantes conhecidos para comparar a atividade antioxidante em cada método, uma vez que é difícil a comparação dos dados obtidos com os dados sobre a atividade antioxidante de cogumelos. Essa dificuldade de comparação é justificada pela diversidade de metodologias tanto na produção do extrato antioxidante quanto na variação de metodologias em um mesmo ensaio antioxidante. Os ensaios de avaliação do poder redutor pela redução do íon Mo (VI) e sequestro de radical livre pela inativação do radical DPPH•, são ensaios em meio hidrofílico que apresentam mecanismo de reação simples, nos quais os fatores tempo, temperatura de incubação e concentração da solução reagente são fatores determinantes da atividade antioxidante (GULCIN, 2011). No ensaio de avaliação da estabilidade lipídica por Rancimat, o meio de reação é hidrofóbico, as reações de oxidação são complexas e variadas, a quantidade de óleo, temperatura e fluxo de ar são determinantes para resolução dos resultados (FARHOOSH, 2007).

As poliaminas espermidina e espermina não apresentaram resposta nos ensaios hidrofílicos, todavia apresentaram maior atividade antioxidante que os extratos de cogumelos e padrões na avaliação da estabilidade lipídica por Rancimat. Provavelmente as poliaminas são antioxidantes mais efetivas em meio lipídico que em meio aquoso.

Em relação aos extratos de cogumelos não houve predominância de um determinado cogumelo nos ensaios antioxidantes, uma vez que a atividade antioxidante foi

variada entre eles nos diferentes métodos. Esse fato pode ser justificado pela provável diversidade de compostos que apresentam diferentes mecanismos antioxidantes presentes nos diferentes tipos de cogumelos.

## 5. Correlação entre os compostos com atividade antioxidante e potencial antioxidante dos cogumelos

Os resultados entre os compostos com atividade antioxidante e potencial antioxidante dos cogumelos estão apresentados na Tabela 24. Entre os métodos apresentados, os teores de fenólicos totais nos cogumelos tiveram correlação fraca ( $r < 0,3$ ) com ensaio de avaliação da estabilidade lipídica por Rancimat e sequestro do radical DPPH, porém, os teores de fenólicos totais nos cogumelos tiveram correlação moderada ( $0,3 < r < 0,7$ ) com ensaio de poder redução sob o íon molibdato e com teores de espermidina nos cogumelos. Os resultados do ensaio de avaliação da estabilidade lipídica por Rancimat tiveram correlação fraca ( $r < 0,3$ ) com os demais ensaios.

A correlação dos resultados do ensaio de poder redução sob íon molibdato e sequestro do radical DPPH foi moderada ( $0,3 < r < 0,7$ ). A correlação negativa do ensaio DPPH é justificada pelo fato de ter sido avaliado o poder antioxidante pelo índice EC50%.

**Tabela 24.** Correlação entre os resultados dos teores de fenólicos totais e os métodos que avaliaram a atividade antioxidante nos extratos de cogumelos

Correlação de Pearson					
	<i>FOLIN</i>	<i>RANCIMAT</i>	<i>DPPH</i>	<i>MOLIBDATO</i>	<i>ESPERMIDINA</i>
<i>FOLIN</i>	1				
<i>RANCIMAT</i>	0,032	1			
<i>DPPH</i>	-0,241	-0,005	1		
<i>MOLIBDATO</i>	0,552	0,274	0,456	1	
<i>ESPERMIDINA</i>	0,696	0,246	-0,789	0,083	1

A correlação moderada para fraca entre os teores de fenólicos totais e os métodos antioxidantes pode estar relacionada com a diversidade de compostos nos tipos de cogumelos que apresentam mecanismos antioxidantes diversificados. Dessa forma a atividade antioxidante nos cogumelos não pode ser somente justificada pelos teores de fenólicos nesse alimento.

A correlação moderada entre os ensaios sequestro do radical DPPH e poder de redutor sob íon molibato pode ser justificada por tratar-se de ensaios hidrofílicos e pela possível diversidade de compostos antioxidantes nos diferentes tipos de cogumelos. A correlação fraca dos ensaios antioxidantes hidrofílicos com o ensaio avaliação da estabilidade lipídica via Rancimat (lipofílicos) pode ser justificada também pela diversidade de compostos antioxidantes nos tipos de cogumelos, em que em alguns tipos de cogumelos pode haver prevalência de compostos com atividade antioxidante em meio lipofílico que hidrofílico e vice-versa.

Os teores de espermidina no cogumelo apresentaram correlação fraca com os resultados do ensaio de avaliação da estabilidade lipídica por Rancimat. Esse fato pode ser justificado pela ausência dessa poliamina nos extratos metanólicos dos cogumelos. Entretanto os teores de espermidina nos cogumelos apresentaram correlação forte com os resultados do ensaio de inibição DPPH• e correlação moderada com os teores de fenólicos. Provavelmente os teores de espermidina estão relacionados com compostos fenólicos e outros compostos que apresentam potencial de sequestro do radical DPPH•.

## CONCLUSÃO

Com relação ao perfil de amins em cogumelos, pode-se afirmar que a espermidina é inerente a todos os cogumelos e a agmatina é inerente aos cogumelos Shitake, Shimeji Branco, Shimeji Preto, Salmão, Hiratake e Eryngii.

Todos os cogumelos analisados podem ser utilizados na dieta como fonte de espermidina. Os altos teores de agmatina encontrados nos cogumelos Salmão, Hiratake, Shimeji Branco e Shimeji Preto, podem indicar que a síntese de poliaminas nesses tipos de cogumelos pode ocorrer também via agmatina.

Em alguns cogumelos foram detectadas as amins vasoconstritoras tiramina, triptamina e feniletilamina. Entretanto estas estavam presentes em quantidades não suficientes para causar efeitos adversos a saúde. Os teores das amins cadaverina, putrescina, tiramina, triptamina e feniletilamina foram discretos com relação aos teores totais.

Todos os cogumelos analisados podem ser utilizados como fonte de compostos fenólicos.

Os extratos de metanólicos de cogumelos apresentaram substâncias doadoras de elétrons e hidrogênios, e promoveram a estabilidade do óleo de soja. Assim, os cogumelos podem ser considerados como fonte antioxidante. Em relação aos extratos de cogumelos não houve predominância de um determinado cogumelo nos ensaios antioxidantes.

As poliaminas espermidina e espermina não apresentaram atividade nos ensaios de sequestro do radical DPPH• e redução do íon Mo (VI), entretanto apresentaram maior fator de proteção no método de oxidação induzida em óleo. Desta forma, as poliaminas são antioxidantes mais efetivas em meio lipídico.

Estudos de correlação sugerem que os teores de espermidina nos cogumelos estão relacionados com compostos fenólicos e outros compostos que apresentam potencial de sequestro do radical DPPH•.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, M.A.; OORTVLIET, E.; STOMBERG, B.; YNGVE, A. Polyamines: total daily intake in adolescents compared to the intake estimated from the Swedish Nutrition Recommendations Objectified (SNO). *Food & Nutrition Research*, v. 14, p. 55–63, 2011.
- AGOSTINELLI, E.; MARQUES, M.P.M.; CALHEIROS, R.; GIL, F.P.S.C.; TEMPERA, G.; VICECONTE, N.; BATTAGLIA, V.; GRANCARA, S.; TONINELLO, A. Polyamines: fundamental characters in chemistry and biology. *Amino Acids*, v. 38, p. 393–403, 2010.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). *Official Methods of Analysis*. 19. ed. Maryland: AOAC v.1, p.3.1, mét. 931.04, 2012.
- ARAUJO, J.M.A. *Química de Alimentos Teoria e Prática*. 2011. 5 ed. Viçosa, MG: UFV, 2011. 601p.
- ARRIETA, M.P.; PRATS-MOYA, M.S. Free amino acids and biogenic amines in Alicante Monastrell wines. *Food Chemistry*, v. 135, p. 1511–1519, 2012.
- BACH, B.; QUERE, S.L.; VUCHOT, P.; GRINBAUM, M.; BARNAVON, L. Validation of a method for the analysis of biogenic amines: histamine instability during wine sample storage. *Analytica Chimica Acta*, v. 732, p. 114–119, 2012.
- BANDEIRA, C.M.; EVANGELISTA, W.P.; GLORIA, M.B.A. Bioactive amines in fresh, canned and dried sweet corn, embryo and endosperm and germinated corn. *Food Chemistry*, v. 131, p. 1355–1359, 2012.
- BARDOCZ, S. The role of dietary polyamines. *European Journal of Clinical Nutrition*, v. 47, p. 683–690, 1993.
- BARDOCZ, S. Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. *Trends in Food Science and Technology*, v. 6, p. 341–346, 1995.
- BELLÉ, N.A.V.; DALMOLIN, G.D.; FONINI, G.; RUBIN, M.A.; ROCHA, J.B.T. Polyamines reduces lipid peroxidation induced by different pro-oxidant agents. *Brain Research*, v. 1008 (2), p. 245–51, 2004.
- BONONI, V.L. *Cultivo de Cogumelos Comestíveis / (São Paulo). Ícone (Ed.)* 2nd ed. p. 11–26, 1999.
- CHANG, S.T.; MILES, P.G. Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. Shu-Ting Chang and Philip G. Miles. 2nd ed. p. 2–47, 2004.
- CHEUNG, P.C.K. The nutritional and health benefits of mushrooms. *British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin*, v. 35, p. 292–299, 2010.
- CORNELLI, U. Antioxidant use in nutraceuticals. *Clinics in Dermatology*, v. 27(2), p. 175–194, 2009.

- DADAKOVA, E.; NOVA, T.P.; KALAC, P. Content of biogenic amines and polyamines in some species of European wild-growing edible mushrooms. *European Food Research and Technology*, v. 230, p. 163–171, 2009.
- DAWIDOWICZ, A.L.; WIANOWSKA, D.; OLSZOWY, M. On practical problems in estimation of antioxidant activity of compounds by DPPH method (Problems in estimation of antioxidant activity). *Food Chemistry*, v. 131(3), p. 1037–1043, 2011.
- DOTAN, Y.; LICHTENBERG, D.; PINCHUK, I. Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. *Progress in Lipid Research*, v. 43(3), p. 200–227, 2004.
- EFSA. European Food Safety Authority. Scientific Opinion on risk based control of biogenic amine formation in. *EFSA Journal*, v. 9, p. 1–93, 2011.
- ELIASSEN, K.A.; REISTADB, R.; RISØENA, R.; RØNNINGA, H.F. Dietary polyamines. *Food Chemistry*, v. 78, p. 273–280, 2002.
- ELMASTAS, M.; ISILDAK, O.; TURKEKUL, I.; TEMUR, N. Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 20 (3-4), p. 337–345, 2007.
- FARHOOSH, R. The effect of operational parameters of the rancimat method on the determination of the oxidative stability measures and shelf-life prediction of soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 84, p. 205–209, 2007.
- FARRIOL, M.; SEGOVIA-SILVESTRE, T.; VENEREO, Y.; ORTA, X. Antioxidant effect of polyamines on erythrocyte cell membrane lipoperoxidation after free-radical damage. *Phytotherapy Research*, v. 17, p. 44–47, 2003.
- FELDMAN, K.A.; WERNER, S.B.; CRONAN, S.; HERNANDEZ, M.; HORVATH, A.R.; LEA, C.S.; AU, A.M.; VUGIA, D.J. A large outbreak of scombroid fish poisoning associated with eating escolar fish (*Lepidocybium flavobrunneum*). *Epidemiology & Infection*, v. 133, p. 29–33, 2005.
- FENEMMA, O.R.; DAMORAN, S.; PARKIN, K.L. *Química de alimentos de Fenemma*. 4. ed. Porto Alegre, RS: Artemed, 2010, 900 p.
- FIGUEIREDO FILHO, D.B.; SILVA JUNIOR, J.A. Desvendando os mistérios do coeficiente de correlação de Pearson (r). *Revista Política Hoje*, v. 18, p. 115–146, 2009.
- FIRENZUOLI, F.; GORI, L.; LOMBARDO, G. The medicinal mushroom *Agaricus blazei* Murrill: review of literature and pharmaco-toxicological problems. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 5 (1), p. 3–15, 2008.
- FØRLAND, D.T.; JOHNSON, E.; SÆTRE, L.; LYBERG, T.; LYGREN, L.; HETLAND, G. Effect of an extract based on the medicinal mushroom *Agaricus blazei* Murrill on

- expression of cytokines and calprotectin in patients with ulcerative colitis and Crohn's disease. *Scandinavian Journal of Immunology*, v. 73, p. 66–75, 2011.
- FRANKEL, E.N.; MEYER, A.S. The problem of using one dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 80, p. 1925-1941, 2000.
- FUCHS-TARLOVSKY, V. Role of antioxidants in cancer therapy. *Nutrition*, v. 29(1), p. 15–21, 2013.
- FURLANI, R.P.Z.; GODOY, H.T. *Nutritional value of edible mushrooms*. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27(1), p. 154–157, 2007.
- GARCÍA-RUIZ, A.; GONZÁLEZ-ROMPINELLI, E.M.; BARTOLOMÉ, B.; MORENO-ARRIBAS, M.V. Potential of wine-associated lactic acid bacteria to degrade biogenic amines. *International Journal of Food Microbiology*, v. 148, p. 115–120, 2011.
- GLORIA, M.B.A. Bioactive amines. In: L.L. Nollet; Y.H. Hui. (Org.). *Handbook of Food Science, Technology and Engineering*. 1ed. NewYork: Taylor and Francis, v. 1, p. 1–15, 2005.
- GOODMAN, L.S.; GILMAN, A. *As bases farmacológicas da terapêutica* (São Paulo). AMGH (Ed.). 12 ed. p. 404, 2012.
- GÜLÇİN, İ. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, v. 86 (3), p. 345–391, 2012.
- HA, H.C.; SIRISOMA, N.S.; KUPPUSAMY, P.; ZWEIER, J.L.; WOSTER, P.M.; CASERO Jr, R.A. The natural polyamine spermine functions directly as a free radical scavenger. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 95, p. 11140–11145, 1998.
- HALVORSEN, B.L.; BLOMHOFF, R. Validation of a quantitative assay for the total content of lipophilic and hydrophilic antioxidants in foods. *Food Chemistry*, v. 127(2), p. 761–768, 2010.
- HARRIS, D.C. *Análise química quantitativa*. 2012. 8. ed. Rio de Janeiro, RJ: LTC, 2012. 897p.
- HETLAND, G.; JOHNSON, E.; LYBERG, T.; BERNARDSHAW, S.; TRYGGESTAD, A.M.A.; GRINDE, B. Effects of the medicinal mushroom *Agaricus blazei* Murill on immunity, infection and cancer. *Scandinavian Journal of Immunology*, v. 68 (4), p. 363–370, 2008.
- KALAC, P. Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. *Food Chemistry*, v. 113, p. 9–16, 2009.
- KALAC, P. Health effects and occurrence of dietary polyamines: A review for the period 2005–mid 2013. *Food Chemistry*, v. 161, p. 27–39, 2014.

- KALAC, P.; KRAUSOVÁ, P.A. A review of dietary polyamines: formation, implications for growth and health and occurrence in foods. *Food Chemistry*, v. 90, p. 219-230, 2005.
- KALAC, P.; KRÍZEK, M.; PELICANOVÁ, T.; LANGOVÁ, M.; VESKRNA, O. Contents of polyamines in selected foods. *Food Chemistry*, v. 90, p. 561–564, 2005.
- KIM, B.; BYUN, B.Y.; MAH, J.H. Biogenic amine formation and bacterial contribution in natto products. *Food Chemistry*, v. 135, p. 2005–2011, 2012.
- LAKHANPAL, T.N.; RANA, M. Characterization and utilization of medicinal and nutraceutical genetic resources of mushrooms. *Plant Genetic Resources*, v. 3(2), p. 288–303, 2005.
- LOVAAS, E. Antioxidative effects of polyamines. *JAOCS*, v. 68, p. 353–354, 1991.
- MAFRA, D.; ABDALLA, D.S.P.; COZZOLINO, S.M.F. Peroxidação lipídica em pacientes com insuficiência renal crônica. *Revista Nutrição de Campinas*, v. 12, p. 205-212, 1999.
- MELÉNDEZ, N. P.; NEVÁREZ-MOORILLÓN, V.; RODRÍGUEZ-HERRERA, R.; ESPINOZA, J. C.; AGUILAR, C. N. A microassay for quantification of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging. *African Journal of Biochemistry Research*, v. 8, p. 14–18, 2014.
- MENDONÇA, A.C. Atividade antioxidante de poliaminas e comparação com produtos naturais e sintéticos. Belo Horizonte: Faculdade de Farmácia da UFMG. 87 p., 2008 (Dissertação, Mestrado em Ciências de Alimentos).
- MORGAN, D.M. Polyamines. an overview: *Molecular Biotechnology*, v. 11, p. 229-250, 1999.
- MOURAO, F.; LINDE, G.A.; MESSA, V.; CUNHA JUNIOR, P.L.; SILVA, A.V.; EIRA, A.F.; COLAUTO, N.B. Antineoplastic activity of *Agaricus brasiliensis* basidiocarps on different maturation phases. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 40, p. 901-905, 2009.
- NEVES, C.F.Q.; GRACIOLLI, L.A. Caracterização da produção em toros do cogumelo comestível *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler na região oeste do Estado de São Paulo. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v. 30, n. 4, p. 487–494, 2008.
- NIKI, E. Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. *Free Radical Biology & Medicine*, v. 49 p. 503–515, 2010.
- ÖNAL, A. A review: current analytical methods for the determination of biogenic amines in foods. *Food Chemistry*, v. 103 (4), p. 1475–1486, 2007.
- OOI, V.E.C. Effect of some edible mushrooms. *Phytotherapy Research*, v. 10, p. 536–538, 1996.
- PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Food Research International*, v. 39, p. 791–800, 2006.

- PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, v. 269, p. 337–341, 1999.
- ROCHA, N.; BRAGA, A.; PEREIRA, G.; NASCIMENTO, J. (2012). Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. *Científica Ciências Biológicas e da Saúde*, v. 14 (4), p. 263–269, 2012.
- ROP, O.; MLCEK, J.; JURIKOVA, T. Beta-glucans in higher fungi and their health effects. *Nutrition Reviews*, v. 67(11), p. 624–631, 2009.
- SHALABY, A.R. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International*, v. 29, n. 7, p. 675–690, 1996.
- SILLA-SANTOS, M.H. Biogenic amines: their importance in foods. *International Journal of Food Microbiology*, v. 29, p. 213–231, 1996.
- SILVA, A.C.; JORGE, N. Influence of *Lentinus edodes* and *Agaricus blazei* extracts on the prevention of oxidation and retention of tocopherols in soybean oil in an accelerated storage test. *Journal Food Science Technology*, v. 16, p. 386–389, 2012.
- SILVA, T.M. Otimização e validação de método para determinação de histamina em pescado. Belo Horizonte: Faculdade de Farmácia da UFMG, 87 p, 2008. (Dissertação, Mestrado em Ciências de Alimentos).
- SOARES, A.A.; SOUZA, C.G.M.; DANIEL, F.M.; FERRARI, G.P.; COSTA, S.M.G.; PERALTA, R.M. Antioxidant activity and total phenolic content of *Agaricus brasiliensis* (*Agaricus blazei* Murril) in two stages of maturity. *Food Chemistry*, v. 112, p. 775–781, 2007.
- SODA, K. The mechanisms by which polyamines accelerate tumor spread. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, v. 30, p. 1–9, 2011.
- SOLOMONS, G.T.W.; FRYHLE, G.B. *Química Orgânica 1*. 2005. 8. ed. Rio de Janeiro, RJ: LTC, 2005. 715 p.
- SPANO, G.; RUSSO, P.; LONVAUD-FUNEL, A.; LUCAS, P.; ALEXANDRE, H.; GRANDVALET, C.; COTON, E.; COTON, M.; BARNAVON, L.; BACH, B.; RATTRAY, F.; BUNTE, A.; MAGNI, C.; LADERO, V.; ALVAREZ, M.; FERNÁNDEZ, M.; P LOPEZ, P.; DE PALENCIA, PF.; A CORBI, A.; TRIP, H.; LOLKEMA, J.S. Biogenic amines in fermented foods. *European Journal of Clinical Nutrition*, v. 64, p. 95–100, 2010.
- STEFANESCU, C.; CIOBICA, A. The relevance of oxidative stress status in first episode and recurrent depression. *Journal of Affective Disorders*, v. 143(1-3), p. 34–38, 2012.

- TURKOGLU, A.; DURU, M.E.; MERCAN, N.; KIVRAK, I.; GEZER, K. Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. *Food Chemistry*, v. 101(1), p. 267–273, 2007.
- YANG, J.H.; LINB, H.C.; MAU, J.L. Antioxidant properties of several commercial mushrooms. *Food Chemistry*, v. 77, p. 229–235, 2002.
- ZAHEDI, K.; HUTTINGER, F.; MORRISON, R.; MURRAY-STEWART, T.; CASERO, R.A.; STRAUSS, K.I. Polyamine catabolism is enhanced after traumatic brain injury. *Journal of Neurotrauma*, v. 27(3), p. 515–525, 2010.
- ZHANG, X.Y.; CHEN, D.C.; XIU, M.H.; TANG, W.; ZHANG, F.; LIU, L.; KOSTEN, T.R. Plasma total antioxidant status and cognitive impairments in schizophrenia. *Schizophrenia Research*, v. 139 (1-3), p. 66–72, 2012.
- ZHONG, Y.; SHAHIDI, F. Antioxidant behavior in bulk oil: limitations of polar paradox theory. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 60, p. 4–6, 2012.

## **APÊNDICE**

**Tabela.** Faixa, média, coeficiente de variação e mediana dos teores de aminos nos cogumelos

Cogumelos	Medidas	Aminas							
		EPD	PUT	AGM	CAD	TIM	TRM	FEM	TOTAL
Champignon	Faixa	458,0 - 1909,1	nd	nd	nd	nd - 10,6	nd - 117,8	nd	511,1 - 1909,1
	Média	1049,7 <sup>abcd</sup>	nd <sup>b</sup>	nd <sup>c</sup>	nd <sup>b</sup>	0,8	15,3 <sup>c</sup>	nd <sup>b</sup>	1065,8 <sup>e</sup>
	CV (%)	40,3	nd	nd	nd	360,6	227,5	nd	39,4
	Mediana	1098,9	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1098,9
Portobello	Faixa	768,4 - 1344,2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Média	1099,9 <sup>abc</sup>	nd <sup>b</sup>	nd <sup>c</sup>	nd <sup>b</sup>	nd	nd <sup>c</sup>	nd <sup>b</sup>	1099,9 <sup>e</sup>
	CV (%)	40,3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	40,3
	Mediana	1098,9	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1108,7
Shitake	Faixa	572,3 - 1381,8	nd	nd - 752,9	nd	nd - 31,9	nd - 69,4	nd	568,7 - 2204,1
	Média	790,1 <sup>cd</sup>	nd <sup>b</sup>	53,8 <sup>c</sup>	nd <sup>b</sup>	2,3	5,0 <sup>c</sup>	nd <sup>b</sup>	851,1 <sup>f</sup>
	CV (%)	26,2	nd	374,2	nd	374,2	374,2	nd	47,9
	Mediana	743,6	nd	nd	nd	nd	nd	nd	743,6
Shimeji Branco	Faixa	362,1 - 1108,5	nd - 531,4	326,4 - 1438,5	nd - 97,1	nd - 82,6	42,3 - 233,5	nd - 160,1	1308,2 - 2910,2
	Média	726,1 <sup>cd</sup>	108,2 <sup>ab</sup>	1029,5 <sup>b</sup>	15,3 <sup>a,b</sup>	15,0	138,7 <sup>a</sup>	84,3 <sup>a</sup>	2117,0 <sup>d</sup>
	CV (%)	29,9	163,3	32,9	207,2	179,7	43,6	64,9	23,1
	Mediana	744,3	33,0	1028,9	nd	nd	119,3	78,5	1982,1
Shimeji Preto	Faixa	631,9 - 1815,2	nd	581,4 - 1255,0	nd	nd	nd - 57,6	nd	760,6 - 2892,9
	Média	1366,7 <sup>a</sup>	nd <sup>b</sup>	851,8 <sup>b</sup>	nd <sup>b</sup>	nd	7,5 <sup>c</sup>	nd <sup>b</sup>	2225,9 <sup>c</sup>
	CV (%)	24,5	nd	36,5	nd	nd	224,4	nd	26,3
	Mediana	1423,5	nd	848,5	nd	nd	nd	nd	2430,3

**Continua... Tabela.** Faixa, média, coeficiente de variação e mediana dos teores de aminos nos cogumelos

Cogumelos	Medidas	Aminas							
		EPD	PUT	AGM	CAD	TIM	TRM	FEM	TOTAL
Hiratake	Faixa	404,8 - 1372,2	nd - 303,5	740,5 - 1678,9	nd - 175,2	nd -721,0	nd - 120,5	nd - 62,4	1672,0 - 3079,5
	Média	922,5 <sup>bcd</sup>	54,4 <sup>b</sup>	1258,0 <sup>b</sup>	24,6 <sup>ab</sup>	104,4	17,6 <sup>c</sup>	5,2 <sup>b</sup>	2386,8 <sup>b</sup>
	CV (%)	39,1	184,5	21,6	238,3	223,3	236,3	346,4	19,2
	Mediana	1099,2	nd	1293,0	nd	6,9	nd	nd	2439,6
Salmão	Faixa	668,3 - 2043,3	nd - 1179,0	1476,7 - 4310,6	nd - 312,7	nd - 245,5	nd - 179,8	nd - 38,2	2674,7 - 6891,0
	Média	1199,0 <sup>ab</sup>	280,5 <sup>a</sup>	2205,9 <sup>a</sup>	67,5 <sup>a</sup>	34,0	86,1 <sup>b</sup>	6,9 <sup>b</sup>	3879,8 <sup>a</sup>
	CV (%)	36,4	147,3	40,7	161,9	254,3	64,7	201,1	34,3
	Mediana	1156,5	153,6	1945,7	30,7	nd	72,4	nd	3436,8
Eryngii	Faixa	611,8 - 740,1	nd	161,0 - 243,5	nd	nd	nd	nd	772,8 - 983,5
	Média	675,9 <sup>d</sup>	nd <sup>b</sup>	202,2 <sup>c</sup>	nd <sup>b</sup>	nd	nd <sup>c</sup>	nd <sup>b</sup>	878,2 <sup>f</sup>
	CV (%)	13,4	nd	28,8	nd	nd	nd	nd	17,0
	Mediana	-	-	-	-	-	-	-	-