

ANTIOXIDANTES E BETA-GLUCANAS EM BARRAS DE CEREAIS COM *Agaricus brasiliensis*

KATIELLE R. VONCIK CÓRDOVA *
HERTA STUTZ DALLA SANTA **
OSMAR ROBERTO DALLA SANTA ***
ELISA PEREZ ****
NINA WASZCZYNSKYJ *****

O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade antioxidante, a concentração de compostos fenólicos e de beta-glucanas em barras de cereais com *Agaricus brasiliensis*. As barras de cereais foram elaboradas por delineamento para mistura simplex-centroide para três variáveis: aveia, gergelim e trigo fermentado com *A. brasiliensis*. Os teores de β -glucanas nas amostras variaram de 1,30 a 3,82 g.100 g⁻¹ e os compostos fenólicos de 67,45 a 81,96 mg EAG.100 g⁻¹, constatando-se capacidade antioxidante na faixa de 29,47 a 40,17 mg CAET.100 g⁻¹. A adição de micélio de *Agaricus brasiliensis* em produtos alimentícios pode torná-los mais saudáveis, devido às propriedades nutritivas e compostos bioativos desse micro-organismo.

PALAVRAS-CHAVE: COMPOSTOS FENÓLICOS; GRÃOS DE TRIGO; FERMENTAÇÃO; TROLOX; ÁCIDO GÁLICO; POLISSACARÍDEOS.

-
- * Doutoranda, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Docente, Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO), Guarapuava, PR (e-mail: kvcordova@hotmail.com).
- ** Doutora em Processos Biotecnológicos, Docente, Curso de Engenharia de Alimentos, UNICENTRO, Guarapuava, PR (e-mail: hdalsanta@yahoo.com.br).
- *** Doutor em Tecnologia de Alimentos, Docente, Curso de Engenharia de Alimentos, UNICENTRO, Guarapuava, PR (e-mail: ordallasanta@yahoo.com.br).
- **** Doutora em Química, Docente, Curso de Farmácia, UNICENTRO, Guarapuava, PR (e-mail: eperez@unicentro.br).
- ***** Doutora em Ciências (Bioquímica), Docente Sênior, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, UFPR, Curitiba, PR (e-mail: ninawas@ufpr.br).

1 INTRODUÇÃO

O mercado dos produtos derivados de cogumelos medicinais encontra-se em ampla expansão. Estima-se que o mercado dos derivados de cogumelos medicinais e seus suplementos dietéticos, na última década, contribuiu com seis bilhões de dólares para a economia mundial. Assim, esse ramo tende a ser explorado cada vez mais (PAPASPYRIDIS *et al.*, 2011a).

O cogumelo *Agaricus brasiliensis* tem sido utilizado na prevenção de doenças coronarianas, de câncer e de diabetes, entre outras enfermidades (MIZUNO, 1999). Além de propriedades imunomoduladoras, apresenta substâncias efetivas para a diminuição do colesterol que ocasionam melhoria na hiperlipidemia, reduzem a pressão sanguínea e exercem atividades hipoglicêmica e antioxidante (DALLA SANTA *et al.*, 2010).

As barras de cereais já fazem parte da dieta usual da população. Buscando alternativas que possibilitem a utilização de ingredientes mais saudáveis para a elaboração de barras de cereais, diversas pesquisas vêm sendo realizadas visando o desenvolvimento desses produtos com novos ingredientes alimentícios, nutritivos e/ou funcionais.

O consumo regular de beta-glucanas está relacionado à atenuação da resposta glicêmica e insulínica pós-prandial. Esse polissacarídeo exerce efeito na degradação do amido e do carboidrato disponível e, conseqüentemente, sobre o índice glicêmico dos alimentos ingeridos. Assim, recomenda-se a ingestão de beta-glucana com o objetivo de modular a glicemia e a necessidade de insulina (MIRA, GRAF e CÂNDIDO, 2009). Camellini *et al.* (2005), Ohno *et al.* (2001) e Itoh, Ito e Amano (1994) relataram que as β -glucanas dispõem de elevada atividade anti-tumoral, e por isso podem contribuir de forma importante na elaboração de produtos funcionais.

Biologicamente, antioxidantes podem ser definidos como compostos que protegem os sistemas biológicos contra os efeitos deletérios dos processos ou das reações que levam à oxidação de macromoléculas ou de estruturas celulares. Desta forma, os antioxidantes podem reduzir a incidência de diversas doenças (MOURÃO *et al.*, 2011).

Os compostos fenólicos, substâncias antioxidantes, tem como principal função a proteção dos sistemas biológicos contra os defeitos degradantes dos processos e das reações que causam oxidação das moléculas ou estruturas celulares (VANNUCCHI e MARCHINI, 2007). Exibem grande quantidade de propriedades fisiológicas, mas o principal efeito dos compostos fenólicos tem sido atribuído à sua ação antioxidante em alimentos (ANDREO e JORGE, 2006).

O objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade antioxidante, a concentração de compostos fenólicos e de beta-glucanas em barras de cereais adicionadas de trigo fermentado com *Agaricus brasiliensis*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

Para a elaboração da formulação padrão das barras de cereais foram utilizados os seguintes ingredientes: flocos de arroz tipo *krispis*, aveia em flocos, gergelim branco, coco ralado, gordura vegetal, lecitina de soja, xarope de glicose, açúcar mascavo e sal (LIMA *et al.*, 2010; QUEIROZ *et al.*, 2012; ROBERTO, 2012). Para as demais formulações, acrescentou-se o trigo fermentado com *Agaricus brasiliensis*.

Obeve-se o trigo fermentado mediante cultivo em estado sólido de grãos de trigo, previamente esterilizados e inoculados com *Agaricus brasiliensis* de cepa comercial (DALLA SANTA *et al.*, 2010). Os grãos de trigo foram doados pela Cooperativa Agrária Agroindustrial de Entre Rios, Guarapuava (PR).

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Obtenção do trigo fermentado

Preparou-se o inóculo de *A. brasiliensis* em frascos Erlenmeyer de 1 L, com 500 mL de meio estéril composto por (g.L⁻¹) glicose (20), extrato de levedura (3,95), MgSO₄.7H₂O (0,3) e K₂HPO₄.3H₂O (0,5), sendo o pH ajustado a 6,0 (±0,2) em potenciômetro com NaOH (0,1 M). Inoculou-se o meio em câmara de fluxo laminar, conforme metodologia empregada por Dalla Santa *et al.* (2010), com incubação de sete dias e temperatura de 30°C, sob agitação de 120 rpm. A suspensão de micélio de *A. brasiliensis* foi obtida por filtração em tela (malha de 0,5 mm²), utilizando-se 500 mL de água estéril destilada para lavagem da biomassa. O micélio foi gentilmente quebrado com espátula e passado por peneira, com auxílio de água destilada estéril (na proporção de 1:1 água destilada estéril para cultivo submerso), a fim de se obter suspensão de micélio quebrada (DALLA SANTA *et al.*, 2010) a ser utilizada na inoculação do cultivo em estado sólido.

Realizou-se o cultivo em estado sólido para *A. brasiliensis* com grãos de trigo inteiros. Os grãos foram lavados e deixados de molho em água limpa por 12 horas para absorção da água. Após escoamento do excesso de água, acondicionou-se o substrato em embalagens de polipropileno autoclaváveis, adicionadas de quadrado de espuma na parte superior, amarrado com elástico de borracha, sendo cobertas com papel Kraft e esterilizadas a 121°C (pressão de 1 atm), durante 45 min em autoclave. Depois do processo de esterilização, as embalagens de polipropileno foram colocadas em estufa a 100°C para secagem do papel a fim de se evitar contaminações e, em seguida, resfriadas à temperatura ambiente (25±1°C), conforme Dalla Santa *et al.* (2012). A inoculação ocorreu em câmara de fluxo laminar com o inóculo na concentração de 5% (v/m) de micélio por Kg de trigo. Efetuou-se o cultivo em estado sólido em temperatura de 30°C, durante 21 dias em estufa com temperatura controlada.

O produto resultante do cultivo foi seco em estufa com circulação de ar e temperatura controlada de 55°C por 24 horas, sendo triturado em liquidificador industrial para obtenção da farinha contendo o micélio. Essa farinha passou por peneiramento em sistema vibratório de peneiras com granulometria <0,5 mm.

2.2.2 Elaboração das barras de cereais

O processo de elaboração das barras de cereais consistiu na caramelização da aveia com 50% do açúcar mascavo; aquecimento da calda aglutinante formada por xarope de glicose, 50% do açúcar mascavo, lecitina de soja e gordura vegetal; mistura dos ingredientes secos; mistura da calda aglutinante, da aveia caramelizada e dos ingredientes secos. Efetuou-se a laminação/modelagem do produto usando moldes comerciais para barras de cereais, seguida por resfriamento durante duas horas. Padronizou-se o corte das barras no seguinte formato: comprimento de 900 mm, largura de 300 mm e altura de 150 mm. Após o corte, as barras de cereais foram imediatamente embaladas em papel alumínio e armazenadas em local seco e arejado. Cada barra de cereal pesou, em média, 25 g ± 0,108.

Para a elaboração das barras de cereais com trigo fermentado com *A. brasiliensis* utilizou-se delineamento simplex-centroide para mistura de três componentes (DUTCOSKY *et al.*, 2006), aumentando de pontos, totalizando 10 ensaios (Tabela 1). As variáveis estudadas incluíram as concentrações de aveia em flocos (AV), gergelim branco (GE) e trigo fermentado com *A. brasiliensis* (TR), estipulando-se 20% como nível máximo de cada variável e zero como mínimo (ausência). A aveia e o gergelim foram escolhidos como variáveis de estudo em testes preliminares devido às características sensoriais proporcionadas por esses ingredientes. A formulação controle (amostra 11), elaborada sem o trigo fermentado com *A. brasiliensis*, continha 16,3% de aveia em flocos e 3,7% de gergelim branco.

TABELA 1 – DELINEAMENTO EXPERIMENTAL PARA MISTURAS SIMPLEX-CENTROIDE PARA AS VARIÁVEIS AVEIA, GERGELIM E TRIGO FERMENTADO COM *Agaricus brasiliensis*

| Experimento | Níveis codificados | | | Níveis originais (%) | | |
|-------------|--------------------|----------------|----------------|----------------------|--------|--------|
| | x ₁ | x ₂ | x ₃ | AV | GE | TR |
| 1 | 1,000 | 0 | 0 | 20,000 | 0 | 0 |
| 2 | 0 | 1,000 | 0 | 0 | 20,000 | 0 |
| 3 | 0 | 0 | 1,000 | 0 | 0 | 20,000 |
| 4 | 0,500 | 0,5 | 0 | 10,000 | 10,000 | 0 |
| 5 | 0,500 | 0 | 0,500 | 10,000 | 0 | 10,000 |
| 6 | 0 | 0,500 | 0,500 | 0 | 10,000 | 10,000 |
| 7 | 0,333 | 0,333 | 0,333 | 6,666 | 6,666 | 6,666 |
| 8 | 0,666 | 0,166 | 0,166 | 13,333 | 3,333 | 3,333 |
| 9 | 0,166 | 0,666 | 0,166 | 3,333 | 13,333 | 3,333 |
| 10 | 0,166 | 0,166 | 0,666 | 3,333 | 3,333 | 13,333 |

Nota: AV (aveia), GE (gergelim), TR (trigo fermentado com *A. brasiliensis*).

2.2.3 Determinação de Beta-Glucanas

A determinação de beta-glucanas foi realizada em triplicata, conforme metodologia descrita por Pappaspyridi *et al.* (2011 b) e Park *et al.* (2003), que consiste em hidrólises enzimáticas e químicas.

Determinou-se a porcentagem de β -glucanas quantitativamente, usando kit para determinação de β -glucanas para cogumelos e leveduras K-YBGL 09/2009 da Megazyme (Megazyme Internacional Ireland Ltd., Wicklow, UK) de acordo com as instruções do fabricante (LEE *et al.*, 2011).

Para determinação das glucanas totais, as amostras de trigo *in natura*, trigo fermentado e barras de cereais foram trituradas, pesadas (0,1 g \pm 0,01) e passadas em peneiras vibratórias - *mesh* <0,5 mm (n = 3). A cada amostra pesada, uma amostra par foi armazenada para a determinação de umidade. As amostras foram hidrolisadas com 1,3 M de HCl a 100°C, durante 2h, sendo o pH neutralizado com 2 M de KOH. Para determinação das glucanas totais (α e β) digeriu-se uma alíquota de 0,1 mL com exo-1,3- β -glucanase (100 U.mL⁻¹) e β -glucosidase (20 U.mL⁻¹) em 200 mM de tampão de acetato de sódio (pH 5,0). Os hidrolisados foram incubados com mistura de invertase (500 U.mL⁻¹), glicose oxidase (> 12.000 U.L⁻¹), a 40°C durante 1h. Mediu-se a absorbância da solução em quintuplicata a 510 nm em espectrofotômetro Spectrumlab-22 PC.

As amostras foram dissolvidas em 2 M KOH e hidrolisadas, sendo adicionado 1,2 M de tampão de acetato de sódio (pH 3,8), seguido de banho de gelo sob agitação constante por 20 min. Amiloglucosidase (1630 U.mL⁻¹) e invertase (500 U.mL⁻¹) foram adicionadas às amostras hidrolisadas e essas incubadas a 40°C durante 30 min. Alíquotas da mistura de glicose oxidase (> 12.000 U.L⁻¹) e peroxidase (> 650 U.L⁻¹) foram incubadas a 40°C, durante 20 min. Mediu-se a absorbância das amostras em quintuplicata a 510 nm.

O conteúdo de beta-glucanas foi calculado pela diferença entre o conteúdo de glucanas totais e alfa-glucana (Equação 1):

$$\beta\text{-glucanas} = \text{glucanas totais} - \alpha\text{-glucanas} \quad (\text{Equação 1})$$

2.2.4 Determinação de Antioxidantes

2.2.4.1 Extração etanólica

Adaptou-se a metodologia utilizada para extração etanólica de Larrauri, Rupérez e Saura-Calixto (1997). As amostras de trigo *in natura*, trigo fermentado e barras de cereais trituradas (granulometria inferior a 0,250 mm) foram pesadas (0,1 g, n=6) e extraídas com etanol 50% v/v (1,5 mL) por 5 min em vórtex. Uma amostra de cada pesagem foi armazenada para a determinação de umidade.

A mistura (amostra + etanol) foi centrifugada (19975 x g, 15 min) em microcentrífuga refrigerada, sendo o sobrenadante recolhido em balão volumétrico. A extração foi repetida, com o sobrenadante adicionado ao mesmo balão, completando-se 5 mL com etanol.

2.2.4.2 Determinação do resíduo seco

A quantificação do resíduo seco dos extratos ocorreu por método gravimétrico (IAL, 2008). Cinco alíquotas (5 mL) desses extratos foram colocadas em placas de Petri, devidamente higienizadas e pesadas, e submetidas a 40°C em estufa de secagem por 24h. As placas foram retiradas da estufa, resfriadas em dessecador e pesadas. As placas foram colocadas em estufa por mais 24h, repetindo-se o processo até peso constante, visando obtenção do resíduo seco em mg.mL⁻¹ de extrato. Esses resultados foram usados para expressar o conteúdo de fenólicos totais e a atividade antioxidante em base seca.

2.2.4.3 Capacidade antioxidante total

Determinou-se a capacidade antioxidante total dos grãos de trigo, do trigo fermentado e das barras de cereais elaboradas. Essa análise foi realizada pelo método do fosfomolibdênio, que se baseia na determinação espectrofotométrica da redução do molibdênio Mo⁺⁴ a Mo⁺⁵, com a subsequente formação de fosfato de Mo⁺⁵ que apresenta absorção máxima a 695 nm. Alíquotas de 0,1 mL dos extratos (10 mg.mL⁻¹) dissolvidas em água destilada a 1% (frações) foram combinadas, em tubo Eppendorf, com 1 mL da solução reagente (ácido sulfúrico 600 mM, fosfato de sódio 28 mM e molibdato de amônio 4 mM). Os tubos foram fechados e incubados a 95°C por 90 min. Após resfriamento à temperatura ambiente (25±1°C), determinou-se a absorbância dos extratos etanólicos a 695 nm. Utilizou-se trolox (6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-ácido carboxílico; composto análogo à vitamina E) como padrão, sendo a capacidade antioxidante total expressa como capacidade antioxidante equivalente à do trolox (CAET) por 100 g de resíduo seco (YADAV *et al.*, 2013; PRIETO, PINEDA e AGUILAR, 1999).

2.2.4.4 Determinação de compostos fenólicos totais

Determinou-se o conteúdo de polifenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON e ROSSI, 1965), adaptado por Soares *et al.* (2009).

Cada fração do extrato (0,1 mL) foi misturada com 8,4 mL de água destilada e 0,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu (0,25 M), seguida de agitação e repouso por 3 minutos para reagir. Adicionou-se 1 mL de carbonato de sódio 20% (m/v) ao extrato que foi novamente agitado e mantido em repouso por 1 hora para reagir. Mediu-se a absorbância dos extratos etanólicos a 720 nm, sendo utilizado ácido gálico para a curva analítica (n = 5; 0 – 200 mg.L⁻¹; y = 0,0025454 + 0,00069727 x e R²=0,993). O conteúdo de fenólicos totais foi expresso em mg equivalentes em ácido gálico (EAG) por 100 g de resíduo seco.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 DETERMINAÇÃO DE BETA-GLUCANAS

Na Figura 1 estão ilustrados os resultados obtidos para a determinação de beta-glucanas do

trigo *in natura*, do trigo fermentado com *A. brasiliensis*, e das barras de cereais com trigo fermentado com *A. brasiliensis*.

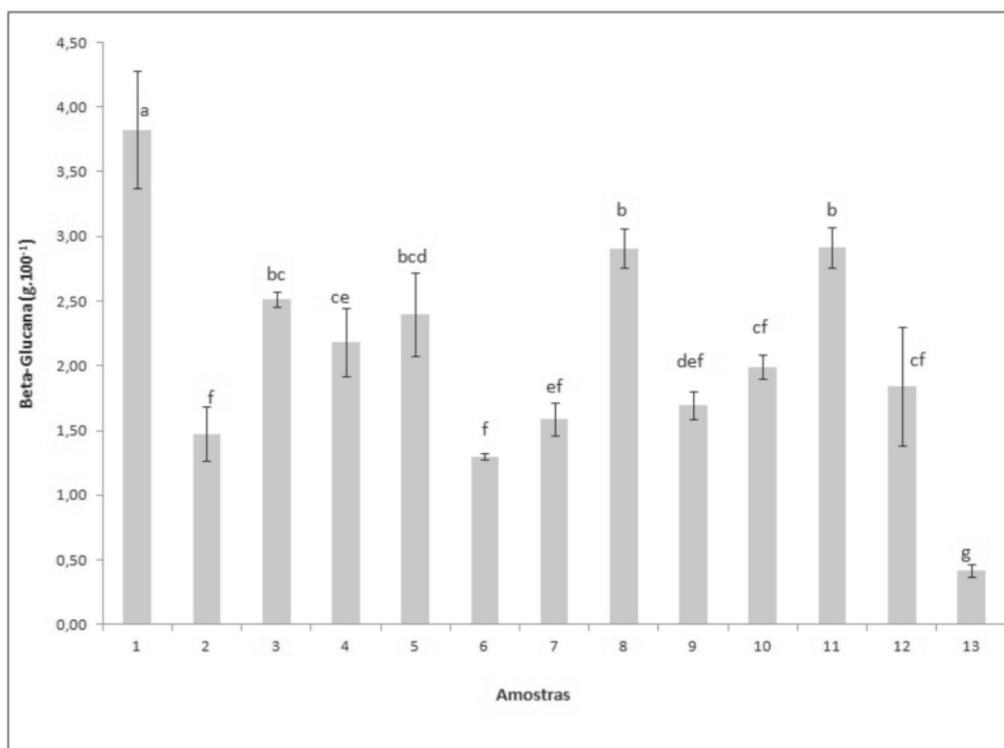


FIGURA 1 - TEORES DE BETA-GLUCANAS DE TRIGO *IN NATURA*, TRIGO FERMENTADO COM *Agaricus brasiliensis* E DAS BARRAS DE CEREAIS COM *Agaricus brasiliensis*

NOTA: Amostra 11 = controle; Amostra 12 = trigo fermentado com *A. brasiliensis*; Amostra 13 = trigo *in natura*. Os resultados obtidos estão apresentados na forma de média \pm desvio padrão (n=3). Letras iguais nas barras não diferem significativamente ($p < 0,05$).

Os teores de β -glucanas nas amostras de barras de cereais com *A. brasiliensis* variaram de 1,30 a 3,82 g.100 g⁻¹. A amostra 1 (20% de aveia) diferiu significativamente das amostras 2 e 3, tendo a amostra 3 (20% trigo fermentado com *A. brasiliensis*) evidenciado aumento significativo em relação à amostra 2 (20% gergelim branco). Destaca-se tal amostra como alternativa interessante quando comparada a outros ingredientes habitualmente incorporados em barras de cereais, uma vez que os agáricos apresentam reconhecidas características nutricionais e medicinais (LOPES, SABAINI e GOMES-DA-COSTA, 2009).

A amostra 13 (trigo *in natura*) apresentou teor médio de 0,42 g.100 g⁻¹ de beta-glucanas e a amostra 12 (trigo fermentado com *A. brasiliensis*) 1,84 g.100 g⁻¹. O valor médio de β -glucanas obtido para o trigo fermentado com *A. brasiliensis* foi 4,38 vezes superior ao resultado observado para o trigo *in natura*. O teor de β -glucanas verificado para o trigo *in natura* mostrou-se próximo ao obtido por Fujita e Figueroa (2003), que relataram valores entre 0,47 a 0,72% em grãos de trigo. Não foram encontrados dados na literatura sobre beta-glucanas em trigo fermentado com fungos.

Gutcoski *et al.* (2007) determinaram β -glucanas em barras de cereais com aveia e observaram que as formulações contendo maiores teores de fibra alimentar também apresentaram os maiores teores de β -glucanas. De acordo com a legislação brasileira vigente, os produtos com o mínimo de 3 g de fibras ou de β -glucanas por 100 g podem ser considerados alimentos com “alto teor” de fibras e “fonte” de fibras, respectivamente. No presente estudo, apenas a amostra 1 (com 20% de aveia) apresentou teor acima de 3 g.100 g⁻¹ de β -glucanas, podendo ser considerada alimento funcional. A aveia tornou-se conhecida por sua alta concentração de beta-glucanas (BRASIL, 2002).

As diferenças no teor de β -glucanas das barras de cereais podem ser explicadas pela variação dos níveis de aveia e trigo fermentado utilizado. Justifica-se o alto teor de β -glucanas (Figura 1) da amostra 1 pelo índice de aveia em flocos contido nessa formulação, considerando que o teor de β -glucanas nesse cereal varia de 4,50 a 6,50% (FUJITA e FIGUEROA, 2003; GUTKOSKI e TROMBETTA, 1999). Saastamoinen, Plaami e Kumpulainen (1992) encontraram teores médios de 1,90 a 5,10% de β -glucanas em aveia. Cho e White (1993) relataram que o conteúdo de β -glucanas em grãos de 243 amostras de aveia mostrou distribuição normal, com a maioria das amostras apresentando em torno de 4,50 a 5,50% de β -glucanas por 100 g de aveia seca.

Shu, Lin e Wen (2007) encontraram valor máximo de 188 mg.g⁻¹ de β -glucanas por biomassa de *Agaricus blazei*. Manzi e Pizzoferrato (2000) verificaram β -glucanas em *Pleurotus ostreatus*, *P. pulmonarius*, *P. eryngii* e *Lentinula edodes*, e constataram valores na faixa de 0,21 a 0,53 g.100 g⁻¹ para cogumelo seco. Sandula *et al.* (1999) detectaram a presença de β -glucanas nas paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae* e de *Aspergillus niger*. Rosli e Aishah (2012) obtiveram em média 3,57 g.100 g⁻¹ de β -glucanas em *Pleurotus sajor-caju* (PSC).

3.2 DETERMINAÇÃO DE ANTIOXIDANTES

O valor médio do resíduo seco dos extratos de trigo *in natura* foi de 0,048±0,005 mg.mL⁻¹; para o trigo fermentado com *A. brasiliensis* de 0,049±0,006 mg.mL⁻¹; e para as barras de cereais de 0,047±0,005 mg.mL⁻¹.

Os resultados da avaliação da capacidade antioxidante total dos grãos de trigo, do trigo fermentado e das barras de cereais elaboradas estão ilustrados na Figura 2.

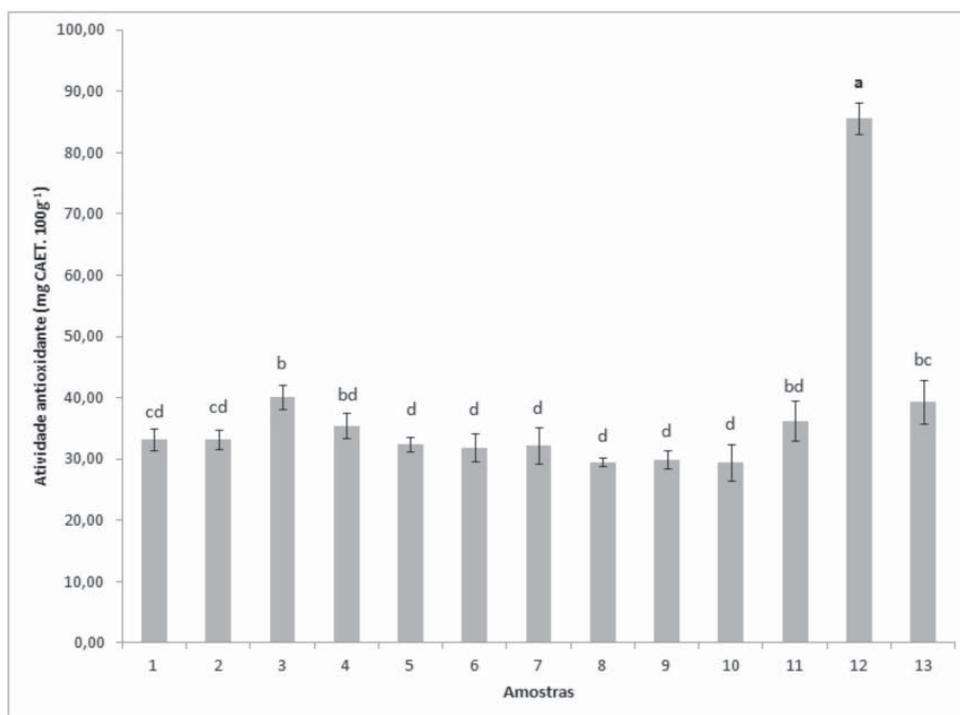


FIGURA 2 - RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL DE TRIGO *IN NATURA*, TRIGO FERMENTADO COM *Agaricus brasiliensis* E DAS BARRAS DE CEREAIS COM *Agaricus brasiliensis*

NOTA: resultados expressos em mg equivalentes de trolox (CAET) e mg por 100 g de resíduo seco. Amostra 11 = controle; Amostra 12 = trigo fermentado com *A. brasiliensis*; Amostra 13 = trigo *in natura*. Os resultados obtidos estão apresentados na forma de média ± desvio padrão (n=3). Letras iguais nas barras não diferem significativamente ($p < 0,05$).

A capacidade antioxidante das amostras de barras de cereais com *A. brasiliensis* (1 a 11) variaram de 29,47 a 40,17 mg CAET.100 g⁻¹, com diferença estatística (p<0,05) entre si. As amostras de trigo fermentado (12) e trigo *in natura* (13) também diferiram significativamente, com elevação de aproximadamente 2,20 vezes nos teores de capacidade antioxidante do trigo fermentado com *A. brasiliensis* (39,33 mg CAET.100 g⁻¹) em relação ao trigo *in natura* (85,65 mg CAET.100 g⁻¹).

A amostra 3 (Tabela 1) da barra de cereais com adição de 20% de trigo fermentado com *A. brasiliensis* diferiu estatisticamente das amostras com 20% de aveia (1) e 20% de gergelim (2), mas não da amostra 13 com trigo *in natura*, embora com acréscimo de 2,13% na capacidade antioxidante. A amostra de trigo fermentado com *A. brasiliensis* (12) evidenciou aumento próximo de 119% na capacidade antioxidante em relação à amostra 13 (trigo *in natura*). As amostras de 4 a 11, compostas por misturas das variáveis, não diferiram estatisticamente entre si.

Liyana-Pathirana e Shahidi (2007) avaliaram a capacidade antioxidante total de grãos de trigo inteiros e derivados, obtendo teor médio de 4,99±0,06 μmol de trolox.g⁻¹ de trigo. Alvarez-Jubete *et al.* (2010) analisaram os antioxidantes de grãos de trigo e constataram teor médio de 44,1±0,4 mg trolox.100 g⁻¹ de trigo, valor próximo ao verificado no presente estudo (39,33 mg CAET.100 g⁻¹).

Zhang *et al.* (2012) avaliaram a atividade antioxidante de trigo (*Triticum aestivum* Linn) e trigo fermentado em estado sólido com *Cordyceps militaris*. Obtiveram 64,52% de atividade antioxidante para o trigo sem o processo fermentativo e 71,21% para o trigo fermentado com concentração de 0,1 mg.mL⁻¹ de amostra, ou seja, aumento de aproximadamente 6,70% na atividade antioxidante após a fermentação. No presente estudo verificou-se aumento de 119% na capacidade antioxidante do trigo fermentado com *A. brasiliensis* em relação aos grãos de trigo *in natura*, o que evidencia o alto poder antioxidante desse cogumelo. Silva *et al.* (2009) também comprovaram a elevada capacidade antioxidante desse cogumelo (28,90%), indicando que os agárlicos constituem promissores agentes antioxidantes naturais.

Alezandro *et al.* (2011) avaliaram a atividade antioxidante de barras de cereais de soja com mel e obtiveram 20 mg CAET. 100g⁻¹, valores inferiores aos constatados no presente trabalho (teor médio de 33,06±3,24).

A quantidade de antioxidantes de cada planta depende de diferentes fatores, incluindo as propriedades coloidais dos substratos, as condições e etapas de oxidação, a formação e a estabilidade dos radicais, assim como a provável localização dos antioxidantes e estabilidade em distintas fases do processamento dos alimentos (ROCKENBACH *et al.*, 2007). As diferenças observadas na atividade antioxidante podem ser ainda maiores quando se analisa alimentos (matriz complexa), cujos componentes podem estabelecer inúmeras e diferentes interações entre si e com os solventes (ROCKENBACH *et al.*, 2008).

Os resultados da determinação de compostos fenólicos totais dos grãos de trigo, de trigo fermentado e das barras de cereais elaboradas são apresentados na Figura 3.

Os resultados dos teores de compostos fenólicos (Figura 3) nas amostras de barras de cereais com *A. brasiliensis* variaram de 67,45 a 81,96 mg EAG.100 g⁻¹. Não foi constatada diferença estatística (p<0,05) entre as amostras 1 a 4, assim como entre as amostras 5 a 11, porém esses dois grupos diferiram entre si e também das amostras 12 e 13.

Moraes *et al.* (2007) elaboraram barras de cereais adicionadas de passas de mirtilo e verificaram teor médio de compostos fenólicos de 23,70±4,70 mg de quercetina.g⁻¹ de produto final. Sun-Waterhouse *et al.* (2010) desenvolveram barra de cereais funcional com adição de extrato de maçã, rico em polifenóis, obtendo teor médio de 2,87 mg CTE.g⁻¹ de barra de cereais (CTE = equivalente catequina).

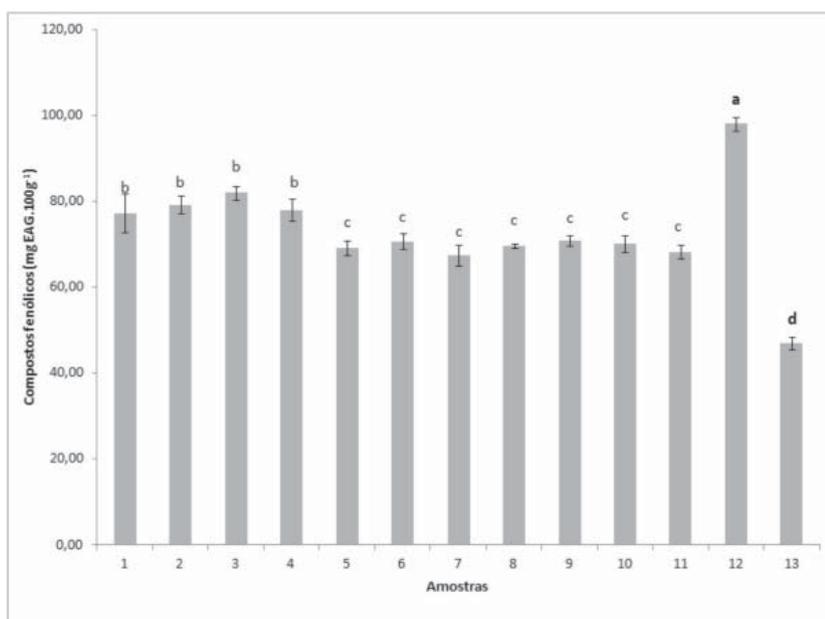


FIGURA 3 - RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS DE TRIGO *IN NATURA*, TRIGO FERMENTADO COM *Agaricus brasiliensis* E DAS BARRAS DE CEREAIS COM *Agaricus brasiliensis*

NOTA: resultados expressos em mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 g de resíduo seco. Amostra 11 = controle; Amostra 12 = trigo fermentado com *A. brasiliensis*; Amostra 13 = trigo *in natura*. Os resultados obtidos estão apresentados na forma de média \pm desvio padrão (n=3). Letras iguais nas barras não diferem significativamente ($p < 0,05$).

As amostras de trigo fermentado (12) e de trigo *in natura* (13) diferiram entre si e das demais quanto aos teores de fenólicos totais (98,03 mg EAG.100 g⁻¹ e 47,03 mg EAG. 100 g⁻¹, respectivamente). A amostra 12 (trigo fermentado com *A. brasiliensis*) mostrou aumento próximo a 108% no teor de compostos fenólicos em relação à amostra 13 (trigo *in natura*), evidenciando a capacidade desse cogumelo em produzir moléculas bioativas. Silva e Jorge (2011), avaliando compostos fenólicos em corpos de frutificação de *A. blazei*, encontraram resultados na faixa de 26,67 a 28,89 mg.g⁻¹ de fenólicos totais, enquanto Soares *et al.* (2009) obtiveram de 28,82 a 29,64 mg.g⁻¹ de fenólicos totais para *A. blazei* em dois estádios de maturação do corpo de frutificação.

Liyana-Pathirana e Shahidi (2007) avaliaram o teor de compostos fenólicos de grãos de trigo inteiros e derivados, e obtiveram valor médio de 1291 \pm 31 μ g de FAE (equivalente ácido ferúlico) por grama de trigo. Alvarez-Jubete *et al.* (2010), analisando antioxidantes em grão de trigo, encontraram teor médio de fenólicos totais de 53,1 \pm 2,8 mg EAG. 100 g⁻¹ de trigo. Os valores de fenólicos relatados por tais pesquisadores foram superiores aos verificados neste estudo, devendo-se considerar a variação de espécie, estresse ambiental a que a planta foi submetida, estágios de crescimento e maturação, além da metodologia analítica empregada para sua determinação (CRUZ *et al.*, 2011).

O enriquecimento de alimentos com compostos fenólicos por meio de fermentação em estado sólido foi relatado para o feijão preto (LEE, HUNG e CHOU, 2008), a soja (LIN, WEI e CHOU, 2006) e o arroz (BHANJA *et al.*, 2008). Liang, Syu e Mau (2009) utilizaram *Phellinus linteus* para fermentação em estado sólido de arroz e obtiveram valor médio de 4,38 \pm 0,03 mg.g⁻¹ fenóis totais (expressos em equivalente em ácido cafeico) para o extrato aquoso e de 4,54 \pm 0,02 mg.g⁻¹ fenóis totais para o extrato etanólico.

A presença de antioxidantes nas barras de cereais, em qualquer quantidade, representa diferencial sob o ponto de vista nutricional, uma vez que a legislação brasileira (BRASIL, 2003) não exige teor mínimo de antioxidantes no produto. Em vista disso, pode-se dizer que as barras de cereais formuladas nesse estudo podem gerar benefícios ao consumidor, pois possibilitam o enriquecimento de sua dieta com antioxidantes para combater o efeito oxidativo e deletério dos radicais livres.

4 CONCLUSÃO

Os teores de β -glucanas nas amostras de barras de cereais com *A. brasiliensis* variaram de 1,30 a 3,82 g.100 g⁻¹. O valor médio de β -glucanas obtido para o trigo fermentado com *A. brasiliensis* foi 4,38 vezes superior ao resultado observado para o trigo *in natura*. A amostra 1 (com 20% de aveia) apresentou teor acima de 3 g.100 g⁻¹ de β -glucanas, podendo essa formulação ser considerada como alimento funcional.

A capacidade antioxidante das amostras de barras de cereais com *A. brasiliensis* variaram de 29,47 a 40,17 mg CAET.100 g⁻¹. A amostra de trigo fermentado com *A. brasiliensis* mostrou aumento próximo de 119% na capacidade antioxidante quando comparada à amostra de trigo *in natura*.

As concentrações de compostos fenólicos nas amostras de barras de cereais com *A. brasiliensis* variaram de 67,45 a 81,96 mg EAG.100 g⁻¹. O trigo fermentado revelou aumento próximo de 108% no teor de compostos fenólicos em relação ao trigo *in natura*.

A adição de micélio de *Agaricus brasiliensis* em produtos alimentícios pode torná-los mais saudáveis, devido às propriedades nutritivas e compostos bioativos desse micro-organismo.

ABSTRACT

ANTIOXIDANTS AND BETA-GLUCAN IN CEREAL BARS WITH *Agaricus brasiliensis*

The aim of this study was to evaluate the antioxidant capacity, phenolic compounds and beta-glucans from cereal bars with *Agaricus brasiliensis*. The cereal bars were prepared by mixing design for simplex-centroid for three variables: oats, sesame and fermented wheat with *A. brasiliensis*. The content of β -glucan varied from 1.30 to 3.82 g.100 g⁻¹, phenolic compounds ranged from 67.45 to 81.96 mg GAE.100 g⁻¹ and showed antioxidant capacity in the range of 29.47 to 40.17 mg TECA.100 g⁻¹. The addition of mycelium of *Agaricus brasiliensis* in food can make them healthier due to its nutritional properties and bioactive compounds of this micro-organism.

KEY-WORDS: PHENOLIC COMPOUNDS; WHEAT GRAINS FERMENTATION; TROLOX; GALLIC ACID; POLYSACCHARIDES.

REFERÊNCIAS

- 1 ALEZANDRO, M. R.; GRANATO, D.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Nutritional aspects of second generation soy foods. **J. Agric. Food Chem.**, v. 59, 5490–5497, 2011.
- 2 ALVAREZ-JUBETE, L.; WIJNGAARD, H.; ARENDT, E. K.; GALLAGHER, E. Polyphenol composition and *in vitro* antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. **Food Chemistry**, v. 119, p. 770–778, 2010.
- 3 ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **B. do CEPPA**, v. 24, n. 2, p. 319-336, 2006,
- 4 BHANJA, T.; ROUT, S.; BANERJEE, R.; BHATTACHARYYA, B. C. Studies on the performance of a new bioreactor for improving antioxidant potential of rice. **LWT – Food Science and Technology**, v. 42, p. 1459-1465, 2008.
- 5 BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução ANVS/MS n. 2 de 07 de janeiro de 2002. Aprova regulamento técnico de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional e ou de saúde. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 9 jan. 2002, Seção 1, p. 191.
- 6 BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução ANVS/MS RDC n. 360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, 26 dez. 2003, Seção 1, p. 251.
- 7 CAMELINI, C. M.; MARASCHIN, M.; MENDONÇA, M. M.; ZUCCO, C.; FERREIRA, A. G.; TAVARES, L. A. Structural characterization of β -glucans of *Agaricus brasiliensis* in different stages of fruiting body maturity and their use in nutraceutical products. **Biotechnology Letters**, v. 27, p. 1295-1299, 2005.
- 8 CHO, K. C.; WHITE, P. J. Enzymatic analysis of beta-glucan content in different oat genotypes. **Cereal Chemistry**, v. 70, n. 5, p. 539-542, 1993.
- 9 CRUZ, A. P. G.; MATTIETTO, R.; DIB TAXI, C.; CABRAL, L. M. C.; DONANGELO, C. M.; MATTA, V. M. Effect of microfiltration on bioactive components and antioxidant activity of açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). **Desalination and Water Treatment**, v. 27, p. 97-102, 2011.

- 10 DALLA SANTA, H. S.; RUBEL, R.; FERNANDES, L. C.; BONATTO, S. J. R.; BELLO, S. R.; MONTEIRO, M. C.; KHALIL, N. M.; DALLA SANTA, O. R.; SOCCOL, C. R.; GERN, J. C.; SANTOS, C. A. M. *Agaricus brasiliensis*-enriched functional product promotes in mice increase in HDL levels and immunomodulate to Th1 CD4+T subsets. *A. brasiliensis* functional product and biological benefits. **Current Trends in Biotechnology and Pharmacy**, v. 4, n. 4, p. 957-970, 2010.
- 11 DALLA SANTA, H. S.; RUBEL, R.; VITOLA, F. M. D.; RODRIGUEZ-LEON, J. A.; DALLA SANTA, O. R.; ALVARÉZ, D. C.; MACEDO, R. E. F.; CARVALHO, J. C.; SOCCOL, C. R. Growth parameters of *Agaricus brasiliensis* mycelium on wheat grains in solid-state fermentation. **Biotechnology**, v. 3, p. 144-153, 2012.
- 12 DUTCOSKY, S. D.; GROSSMANN, M. V. E.; SILVA, R. S. S. F.; WELSCH, A. K. Combined sensory optimization of a prebiotic cereal product using multicomponent mixture experiments. **Food Chemistry**, v. 98, p. 630-638, 2006.
- 13 FUJITA, A. H.; FIGUEROA, M. O. R. Composição centesimal e teor de β -glucanas em cereais e derivados. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 23, n. 2, p. 116-120, 2003.
- 14 GUTKOSKI, L. C.; BONAMIGO, J. M. A.; TEIXEIRA, D. M. F.; PEDÓ, I. Desenvolvimento de barras de cereais à base de aveia com alto teor de fibra alimentar. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 27, n. 2, p. 355-363, 2007.
- 15 GUTKOSKI, L. C.; TROMBETTA, C. Avaliação dos teores de fibra alimentar e de beta-glicanas em cultivares de aveia (*Avena sativa* L.). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 19, n. 3, p. 387-390, 1999.
- 16 INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos.** 4 ed. 1 ed. digital. São Paulo, 2008.
- 17 ITOH, H.; ITO, H.; AMANO, H. Inhibitory action of a (10/6)-b-D-glucan/protein complex (FIII-2-b) isolated from *Agaricus blazei* Murill ('Himematsutake') on Meth A fibrosarcomabearing mice and its antitumor mechanism. **Japanese Journal of Pharmacology**, v. 66, p. 265-271, 1994.
- 18 LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v. 45, p. 1390-1393, 1997.
- 19 LEE, I.; HUNG, Y. H.; CHOU, C. Solid-state fermentation with fungi to enhance the antioxidative activity, total phenolic and anthocyanin contents of black bean. **International Journal Food Microbiology**, v. 121, p. 150-156, 2008.
- 20 LEE, J.; OKA, K.; WATANABE, O.; HARA, H.; ISHIZUKA, S. Immunomodulatory effect of mushrooms on cytotoxic activity and cytokine production of intestinal lamina propria leukocytes does not necessarily depend on b-glucan contents. **Food Chemistry**, v. 126, p. 1521-1526, 2011.
- 21 LIANG, C.; SYU, J.; MAU, J. Antioxidant properties of solid-state fermented adlay and rice by *Phellinus linteus*. **Food Chemistry**, v. 116, p. 841-845, 2009.
- 22 LIMA, J. C.; FREITAS, J. B.; CZEDER, L. P.; FERNANDES, D. C.; NAVES, M. M. V. Qualidade microbiológica, aceitabilidade e valor nutricional de barras de cereais formuladas com polpa e amêndoa de baru. **B. do CEPPA**, v. 28, n. 2, p. 331-343, 2010.
- 23 LIN, C.; WEI, Y.; CHOU, C. Enhanced antioxidative activity of soybean koji prepared with various filamentous fungi. **Food Microbiology**, v. 23, p. 628-633, 2006.
- 24 LIYANA-PATHIRANA, C. M.; SHAHIDI, F. Antioxidant and free radical scavenging activities of whole wheat and milling fractions. **Food Chemistry**, v. 101, p. 1151-1157, 2007.
- 25 LOPES, A.; SABAINI, N. M.; GOMES-DA-COSTA, S. M. Produção de biomassa de cogumelo-do-sol e de shitake em resíduos agroindustriais. **B. do CEPPA**, v. 27, n. 2, p. 183-190, 2009.
- 26 MANZI, P.; PIZZOFERRATO, L. β -glucans in edible mushrooms. **Food Chemistry**, v. 68, n. 3, p. 315-318, 2000.
- 27 MIRA, G. S.; GRAF, H.; CÂNDIDO, L. M. B. Visão retrospectiva em fibras alimentares com ênfase em beta-glucanas no tratamento do diabetes. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 1, p. 11-20, 2009.
- 28 MIZUNO, T. The extraction and development of antitumor active-polysaccharides from medicinal mushrooms in Japan. **Int. J. Med. Mushrooms**, v. 1, p. 9-30, 1999.
- 29 MORAES, J. O.; PERTUZATTI, P. B.; CORRÊA, F. V.; SALAS-MELLADO, M. L. M. Study of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei* Reade) in the process of food products. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 27, supl., p. 18-22, 2007.
- 30 MOURÃO, F.; UMEO, S. H.; TAKEMURA, O. S.; LINDE, G. A.; COLAUTO, N. B. Antioxidant activity of *Agaricus brasiliensis* basidiocarps on different maturation phases. **Braz. J. Microbiol.**, v. 42, n. 1, p. 197-202, 2011.
- 31 OHNO, N.; FURUKAWA, M.; MIURA, N. N.; ADACHI, Y.; MOTOI, M.; YADOMAE, T. Antitumor β -glucan from the cultured fruit body of *Agaricus blazei*. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 24, n. 7, p. 820-828, 2001.
- 32 PAPASPYRIDIS, L.; ALIGIANNIS, N.; CHRISTAKOPOULOS, P.; SKALTSOUNIS, A.; FOKIALAKIS, N. Production of bioactive metabolites with pharmaceutical and nutraceutical interest by submerged fermentation of *Pleurotus ostreatus* in

- a batch stirred tank bioreactor. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 1746-1752, 2011a.
- 33 PAPASPYRIDIS, L. M.; KATAPODIS, P.; GONOU-ZAGOU, Z.; KAPSANAKI-GOTSI, E.; HRISTAKOPOULOS, P. Growth and biomass production with enhanced b-glucan and dietary fibre contents of *Ganoderma australe* ATHUM. 4345 in a batch-stirred tank bioreactor. **Eng. Life Sci.**, v. 11, n. 1, p. 65–74, 2011b.
- 34 PARK, Y. K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L. Determinação da concentração de beta-glucano em cogumelo *Agaricus blazei* Murill por método enzimático. **Ciênc. e Tecnol. Aliment.**, v. 23, n. 3, p. 312-316, 2003.
- 35 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.
- 36 QUEIROZ, V. A. V.; CARNEIRO, H. L.; DELIZA, R.; RODRIGUES, J. A. S.; VASCONCELLOS, J. H.; TARDIN, F. D.; QUEIROZ, L. R. Genótipos de sorgo para produção de barra de cereais. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 47, n. 2, p. 287-293, 2012.
- 37 ROBERTO, B. S. **Resíduo de goiaba: metabolismo em ratos e aplicabilidade em barras de cereais**. 2012. 163 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.
- 38 ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G. L.; RODRIGUES, E.; GONZAGA, L. V.; FETT, R. Atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva das variedades Regente e Pinot Noir (*Vitis vinifera*). **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 66, n. 2, p. 158-163, 2007.
- 39 ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G. L.; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Anceleta. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 28, Supl., p. 238-244, 2008.
- 40 ROSLI, W. I. W.; AISHAH, M. S. *Pleurotus sajor-caju* (PSC) improves nutrient contents and maintains sensory properties of carbohydrate-based products. **International Journal of Medical and Biological Sciences**, v. 6, p. 156-158, 2012.
- 41 SAASTAMOINEN, M.; PLAAMI, S.; KUMPULAINEN, J. Beta-glucan and phytic acid content of oats cultivated in Finland. **Acta Agriculturae Scandinavica**, v. 42, n. 1, p. 6-11, 1992.
- 42 SANDULA, J.; KOGAN, G.; KACURAKOVA, M.; MACHOVA, E. Microbial (1-3)-beta-D-glucans, their preparation, physico-chemical characterization and immunomodulatory activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 38, n. 3, p. 247-253, 1999.
- 43 SHU, C.; LIN, K.; WEN, B. Effects of culture temperature on the production of bioactive polysaccharides by *Agaricus blazei* in batch cultures. **J. Chem. Technol. Biotechnol.**, v. 82, p. 831–836, 2007.
- 44 SILVA, A. C.; JORGE, N. Antioxidant properties of *Lentinus edodes* and *Agaricus blazei* extracts. **Journal of Food Quality**, v. 34, p. 386–394, 2011.
- 45 SILVA, A. C.; OLIVEIRA, M. C.; DEL RE, P. V.; JORGE, N. Utilização de extrato de cogumelo como antioxidante natural em óleo vegetal. **Ciênc. Agrotec.**, v.33, n.4, p. 1103-1108, 2009.
- 46 SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. **American Journal Enology Viticulture**, v. 16, p. 144-158, 1965.
- 47 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, 2009.
- 48 SUN-WATERHOUSE, TEOH, A.; MASSAROTTO, C.; WIBISONO, R.; WADHWA, S. Comparative analysis of fruit-based functional snack bars. **Food Chemistry**, v. 119, p. 1369–1379, 2010.
- 49 VANNUCCHI, H.; MARCHINI, J. S. **Nutrição e metabolismo: nutrição clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. v. 1.
- 50 YADAV, D.; MASSOD, N.; LUQMAN, S.; BRINDHA, P.; GUPTA, M. M. Antioxidant furofuran lignans from *Premna integrifolia*. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 397–402, 2013.
- 51 ZHANG, Z.; LV, G.; PAN, H.; FAN, L.; SOCCOL, C. R.; PANDEY, A. Antioxidants from wheat fermented by *C. militaris*. **Food Technol. Biotechnol.**, v. 50, n. 1, p. 32–39, 2012.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao PPGEAL/UFPR, à UNICENTRO e à CAPES.