

## A PRECIPITAÇÃO SERIADA FAVORECE A PURIFICAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS FÚNGICOS?

Ana Carolina Vaz de Almeida  
almeida1.anacarol@gmail.com  
Fhernanda Ribeiro Smiderle

**INTRODUÇÃO:** Os cogumelos contêm substâncias com potencial terapêutico de suma importância para a ciência. Eles pertencem ao reino *Fungi* e formam um corpo de frutificação, que pode ser consumido e do qual são extraídos seus princípios ativos. Além disso, os cogumelos são alimentos nutritivos, pois são compostos por proteínas que contêm aminoácidos essenciais, fibras, vitaminas, minerais e baixos teores de carboidratos e lipídios. Os polissacarídeos são a principal substância oriunda dos cogumelos que possui atividade biológica. Eles são carboidratos complexos, que apresentam longas cadeias, unidas por ligações glicosídicas. As unidades monoméricas podem ser açúcares neutros, tal como glucose, fucose, manose, galactose e xilose, ou ácidos urônicos (LEONG; YANG; CHANG, 2021). Em destaque estão as  $\beta$ -glucanas, as quais são consideradas os polissacarídeos mais bioativos dos cogumelos, pois atuam como modificadores da resposta biológica, estimulando o sistema imune a potencializar sua ação citotóxica em células tumorais entre outras atividades (STEIMBACH; *et al.*, 2021; RUTCKEVISKI; *et al.*, 2022). Para compreender os mecanismos de ação dos polissacarídeos fúngicos, são estudadas suas características físico-químicas, em razão da influência desses fatores na sua bioatividade. Entre as características de importância estão: tipos de ligação, configuração anomérica, conformação tridimensional bem como o peso molecular ( $M_w$ ). Estudos indicam que maior  $M_w$  pode estar relacionado com melhor desempenho biológico e atividade antitumoral, assim como menor  $M_w$  tem melhor difusão nas barreiras biológicas (HU *et al.*, 2019). Sendo assim, a purificação dos polissacarídeos fúngicos inicia com uma precipitação com etanol absoluto. O método segue o padrão de concentração de 75% de etanol e 25% de extrato para assim, precipitar os polissacarídeos. Porém este padrão resulta num aglomerado de precipitados com  $M_w$  diferentes, sendo necessário, realizar mais procedimentos de purificação para obter as moléculas desejadas. Além disso, estudos indicam que concentrações mais altas de etanol também podem fornecer precipitados de menor  $M_w$ . Portanto, o método de purificação com concentrações de etanol seriadas visa obter pesos moleculares diferentes em cada concentração (XU *et al.*, 2014). Dessa maneira, o estudo seguiu com precipitações seriadas para obter diferentes  $M_w$  e analisar suas respectivas composições. **OBJETIVOS:** Verificar a eficácia da precipitação seriada para otimizar a purificação de polissacarídeos fúngicos e analisar as características físico-químicas de cada fração. **MÉTODOS:** A pesquisa foi desenvolvida com o cogumelo *Pleurotus ostreatus*, utilizando água sob pressão de 1 atm, a 121°C como método de extração de polissacarídeos (HWE). Em seguida, foi realizada uma precipitação com etanol absoluto aumentando gradativamente a sua concentração de 40% até 90% com remoção do precipitado a cada nova adição de etanol. O  $M_w$  dos polissacarídeos de cada concentração etanólica foi obtido através da análise cromatográfica de alto desempenho, acoplada ao detector de índice de refração (HPSEC-RI). **RESULTADOS:** Esta análise forneceu a visualização gráfica do perfil de eluição das moléculas, o qual pode ser comparado com o  $M_w$  das mesmas. Os resultados obtidos nas precipitações em cada concentração etanólica foram: P40 com picos de  $M_w$  113 kDa e 58 kDa; P50 com picos de  $M_w$  17,3 kDa e 14,4 kDa; P60

com  $M_w$  18 kDa; P70 com  $M_w$  44,6 kDa; P80 com  $M_w$  51,8 kDa e enfim P90 com picos de  $M_w$  entre 9,92 e 11,9 kDa. Assim, foi observado que a precipitação com etanol em concentrações seriadas favoreceu a obtenção individual de polissacarídeos com diferentes massas moleculares, o que evidencia sua eficácia na purificação dessas estruturas. **CONCLUSÃO:** Com a avaliação dos picos de  $M_w$  do gráfico da análise HPSEC-RI, nota-se que algumas concentrações de etanol precipitaram moléculas com  $M_w$  em comum e outras obtiveram  $M_w$  específicos. A partir dessa observação foram determinadas as concentrações etanólicas mais adequadas para obter os  $M_w$  desejados, sendo elas: P50 com alto peso molecular (17,3 kDa, 58,6 kDa e 113 kDa), P70 com médio peso molecular (18 a 44,6 kDa) e P90 com baixo peso molecular (11,9 kDa). Logo, a precipitação seriada com etanol favorece a purificação de polissacarídeos fúngicos, uma vez que diminui o número de metodologias para purificação e também economiza tempo. Tendo em vista que o peso molecular é um dos fatores determinantes para a bioatividade dos polissacarídeos fúngicos, determinar as concentrações de etanol ideais para obter polissacarídeos com  $M_w$  separadamente possibilita o estudo individual de sua ação no organismo e o aprimoramento da sua aplicação terapêutica. Portanto, o estudo proporcionou um resultado positivo a cerca da simplificação da purificação de polissacarídeos fúngicos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Purificação polissacarídeos fúngicos, peso molecular,  $\beta$ -glucanas, bioatividade.

#### REFERÊNCIAS:

HU, Y. N.; *et al.* Characterization and antioxidant activities of yellow strain *Flammulina velutipes* (Jinhua mushroom) polysaccharides and their effects on ROS content in L929 cell. **Antioxidants**, [s. l.], v. 8, n. 8, p. 1–15, 2019. Disponível em <https://doi.org/10.3390/antiox8080298>.

LEONG, Y. K.; YANG, F. C.; CHANG, J. S. Extraction of polysaccharides from edible mushrooms: Emerging technologies and recent advances. [S. l.]: **Elsevier Ltd**, 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861720311796>.

RUTCKEVISKI, R.; *et al.* Agaricus bisporus  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6)-d-glucan induces M1 phenotype on macrophages and increases sensitivity to doxorubicin of triple negative breast cancer cells. *Carbohydrate polymers*, **Elsevier Ltd**, v. 278, n. 118917, p.15, Feb. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118917>.

STEIMBACH, L. *et al.* Fungal beta-glucans as adjuvants for treating cancer patients – A systematic review of clinical trials. **Clinical Nutrition**, [s. l.], v. 40, n. 5, p. 3104–3113, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2020.11.029>.

XU, J. *et al.* Structural diversity requires individual optimization of ethanol concentration in polysaccharide precipitation. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 67, p. 205–209, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.03.036>.