

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE QUÍMICA
CURSO SUPERIOR DE QUÍMICA**

IAGO MONTANHINI GIL

**CULTIVO SUBMERSO DO FUNGO *Hericium erinaceus*: AVALIAÇÃO DO
MEIO DE CULTIVO NA PRODUÇÃO DE BIOMASSA MICELIAL E
EXOPOLISSACARÍDEO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**PATO BRANCO
2023**

IAGO MONTANHINI GIL

CULTIVO SUBMERSO DO FUNGO *Hericium erinaceus*: AVALIAÇÃO DO MEIO DE CULTIVO NA PRODUÇÃO DE BIOMASSA MICELIAL E EXOPOLISSACARÍDEO

SUBMERGED CULTURE OF THE FUNGUS *Hericium erinaceus*: EVALUATION OF THE CULTURE MEDIUM IN THE PRODUCTION OF MYCELIAL BIOMASS AND EXOPOLISSACCHARIDE

Trabalho de conclusão de curso, apresentado à Comissão de Diplomação do Curso de Bacharelado em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Pato Branco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientador: Prof. Dr. Mário Antônio Alves da Cunha

**PATO BRANCO
2023**



Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



Ministério da Educação

Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Pato Branco

Departamento de Química

Curso de Bacharelado em Química



TERMO DE APROVAÇÃO

CULTIVO SUBMERSO DO FUNGO *Hericium erinaceus*: AVALIAÇÃO DO
MEIO DE CULTIVO NA PRODUÇÃO DE BIOMASSA MICELIAL E
EXOPOLISSACARÍDEO

por

Iago Montanhini Gil

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado(a) em 16 de Junho de 2023 às 15 horas e 50 minutos como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Química. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho Aprovado.

Mario Antonio Alves da Cunha
Prof. Orientador

Simone Beux
Membro titular

Marcelo Luis Kuhn Marchioro
Membro titular

Nota: O Documento original e assinado pela Banca Examinadora encontra-se no SEI processo 23064.027281/2023-01 e documento 3511321.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos os meus amigos e familiares que estiveram ao meu lado, dos momentos mais felizes até os momentos mais difíceis, em especial ao Éder Gomes, Rodrigo Perassolli, Ricardo Furlan e ao Danilo Urzulin, que pude contar em todos os momentos dessa minha jornada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pela saúde, família, amigos e principalmente pela força a mim concedida para chegar ao fim desta caminhada.

Ao meus pais, Luiz Fernando Pimenta Gil e Sandra Regina Montanhini Gil, aos meus avós, Maria Pimenta Gil, Vilobaldo Gil e Izildinha Aparecida Celino, minhas tias Renata Gil e Franciele Celino Montanhini, por todo amor e carinho. Obrigado por todo apoio nessa caminhada.

Aos meus amigos, Silvana Cristina, Danilo Damico Brauna Avanso Urzulin, que estiveram ao meu lado desde o início do curso, compartilhando as alegrias e frustrações. Ao Rodrigo Perassolli, amigo que fiz durante a caminhada do curso de Química, por todos os momentos que esteve ao meu lado. Obrigado aos amigos e professores Raquel Dalla Costa da Rocha e Rodrigo Brackmann. Agradeço pelos conhecimentos transmitidos e pela amizade, que foram de fundamental importância para meu desenvolvimento humano e profissional.

Agradeço aos colegas e amigos Vitor Seiji Ueda, Daiane Meneguzzi e Marcelo Luis Kuhn Marchioro, pelos auxílios nas análises e tratamentos de dados do presente trabalho e também ao professor Celso Ferraz Bett qual cedeu gentilmente a amostra da cepa a qual foi analisada.

E por fim agradeço ao meu Professor orientador Doutor Mário Antônio Alves da Cunha, pelos ensinamentos e auxílio despendidos em meu Trabalho de Conclusão de Curso e Estágio Curricular. Sou grato pela paciência e companheirismo que foram de suma importância para minha formação.

E a todos os meus colegas e professores que de alguma forma contribuíram nesses anos de aprendizado e crescimento humano, muito obrigado.

*"Estou entre aqueles que acham
que a ciência tem uma grande beleza."*
Marie Curie

RESUMO

GIL, Iago. CULTIVO SUBMERSO DO FUNGO *Hericiium erinaceus*: AVALIAÇÃO DO MEIO DE CULTIVO NA PRODUÇÃO DE BIOMASSA MICELIAL E EXOPOLISSACARÍDEO. 40 páginas. Universidade Tecnológica Federal do Paraná 2023.

O fungo *Hericiium erinaceus* tem despertado interesse na pesquisa em função de suas propriedades terapêuticas e bioativas, que incluem atividade anti-hiperglicêmica, anticarcinogênica, anti-inflamatória e efeitos positivos no sistema cognitivo, especialmente em patologias como as doenças de Parkinson e Alzheimer. O presente estudo teve como objetivo avaliar a produção de biomassa micelial e exopolissacarídeos (EPS) pelo fungo *Hericiium erinaceus* (AT-BIO-301 cepa 107001) em diferentes meios de cultivo. Cultivos submersos usando os meios Mínimo de Vogel, Mineral Basal e Melaço de Cana-de-açúcar foram conduzidos em frascos agitados em incubadora shaker (20 °C, 150 rpm por 144 horas). Os resultados demonstraram que o fungo foi hábil em crescer em todos os meios de cultivo estudado, havendo maior crescimento micelial nos meios Mínimo de Vogel e Mineral Basal. Por outro lado, apenas o Meio Mineral Basal proporcionou a produção de exopolissacarídeo (EPS) pelo fungo (0,8 g/L). Elevado conteúdo de proteínas (15,2 g/L) e minerais (5,38 g/L) e reduzido conteúdo de lipídeos (0,2 g/L) foram encontrados na biomassa micelial produzida. Bandas de absorção na região do infravermelho (IV) típicas de carboidratos (3450 cm⁻¹, 3300 cm⁻¹, 2960 cm⁻¹, 2928 cm⁻¹, 2852 cm⁻¹, 1651 cm⁻¹, 1462 cm⁻¹, 844 cm⁻¹, 618 cm⁻¹ e 543 cm⁻¹) foram encontradas na análise por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier. Os resultados da análise de IV sugerem que os monossacarídeos presentes no EPS possivelmente estejam unidos por ligações glicosídicas com configuração β. A produção do EPS pelo fungo estudado parece estar associada a composição do meio de cultivo, sendo necessário estudos mais detalhados para a elucidação de tal fenômeno.

Palavras-chave: *Hericiium erinaceus*; Exopolissacarídeos; Fermentação Submersa; Biomassa.

ABSTRACT

GIL, Iago. SUBMERGED CULTURE OF THE FUNGUS *Hericium erinaceus*: EVALUATION OF THE CULTURE MEDIUM IN THE PRODUCTION OF MYCELIAL BIOMASS AND EXOPOLISSACCHARIDE. 40 pages. Completion of course work (B.A. in Chemistry) Federal Technological University of Paraná, 2023.

The fungus *Hericium erinaceus* has aroused interest in research due to its therapeutic and bioactive properties, which include antihyperglycemic, anticarcinogenic, anti-inflammatory activities and positive effects on the cognitive system, especially in pathologies such as Parkinson's and Alzheimer's diseases. The present study aimed to evaluate the production of mycelial biomass and exopolysaccharides (EPS) by the fungus *Hericium erinaceus* (AT-BIO-301 strain 107001) in different culture media. Submerged cultures using Vogel's Minimum, Mineral Basal and Sugarcane Molasses media were carried out in shaken flasks in a shaker incubator (20 °C, 150 rpm for 144 hours). The results showed that the fungus was able to grow in all culture media studied, with greater miscellaneous growth in Vogel's Minimum and Mineral Basal media. On the other hand, only the Basal Mineral Medium provided the production of exopolysaccharide (EPS) by the fungus (0.8 g/L). High content of proteins (15.2 g/L) and minerals (5.38 g/L) and low content of lipids (0.2 g/L) were found in the produced mycelial biomass. Absorption bands in the infrared (IR) region typical of carbohydrates (3450 cm⁻¹, 3300 cm⁻¹, 2960 cm⁻¹, 2928 cm⁻¹, 2852 cm⁻¹, 1651 cm⁻¹, 1462 cm⁻¹, 844 cm⁻¹, 618 cm⁻¹ and 543 cm⁻¹) were found in the Fourier transform infrared spectroscopy analysis. The results of the FTIR analysis suggest that the monosaccharides present in EPS are possibly linked by glycosidic bonds with β configuration. The production of EPS by the fungus studied seems to be associated with the composition of the culture medium, requiring more detailed studies to elucidate this phenomenon.

Keywords: *Hericium erinaceus*. Exopolysaccharides. Submerged fermentation. Biomass.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Frutificação (basidioma/basidiocarpo) fresco e fungo inoculado.....	32
Figura 2 - Preparo do inóculo do fungo <i>Hericiium erinaceus</i>	33
Figura 3 - Coloração do meio reacional na determinação de açúcares totais pelo método Fenol-sulfúrico	36
Figura 4 - Diagrama de Pareto do efeito de padronização da produção de biomassa e exopolissacarídeos	40
Figura 5 - Perfil fermentativo da produção de biomassa e EPS em meio mineral basal.....	41
Figura 6 - Análise Infravermelho do exopolissacarídeo produzidos em Meio Mineral Basal.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Preparo da Curva Padrão de Glicose	35
Tabela 2 – Perfil cinético do cultivo do <i>Hericiium erinaceus</i> nos diferentes meios de cultivo	39
Tabela 3 – Composição proximal da biomassa micelial do <i>Hericiium erinaceus</i> em Meio Mineral Basal	42

LISTA DE ACRÔNIMOS

g/g	Gramas produto produzido por grama de substrato consumido;
g/L	Gramas por litro;
g/L.h	Gramas por litro de produto produzido por hora;
°C	Graus Célsius;
h	Horas;
µm	Micrômetro;
nm	Nanômetros;
ml	Mililitro;
m/v	Razão entre massa e volume;
MMV	Meio mínimo de Vogel;
EPS	Exopolissacarídeo;
mol/L	Mol por litro;
P _X	Produção de biomassa;
P _F	Produção de exopolissacarídeo;
Q	Efeito quadrático;
Q _P	Produtividade volumétrica em exopolissacarídeo;
Q _S	Taxa global de substrato consumido;
Q _X	Produtividade volumétrica em biomassa micelial;
rpm	Rotações por minuto;

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	23
2 OBJETIVOS.....	25
2.1 Objetivo geral	25
2.2 Objetivos específicos	25
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	26
3.1 Alimentação, Sociedade e Cultura.....	26
3.2 Super Alimentos.....	27
3.4 Cogumelo Juba de Leão (<i>Hericiium erinaceus</i>).....	28
3.5 Exopolissacarídeos.....	30
4 MATERIAL E MÉTODOS	32
4.3.1 Preparo do inóculo	33
4.3.2 Cultivos em Meio Mínimo de Vogel, Meio Mineral Basal e Meio a Base de Caldo de Cana-de-Açúcar	33
4.3.3 Perfil Fermentativo do Fungo <i>Hericiium erinaceus</i> no Meio Pré-Selecionado	34
4.4.1 Quantificação da biomassa micelial e exopolissacarídeo (EPS)	34
4.4.2 Determinação do Conteúdo de Açúcares Totais	35
4.4.3 Determinação da composição proximal da biomassa micelial	36
4.4.4 Parâmetros Fermentativos.....	36
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	39
5.1 Produção de Biomassa Micelial pelo fungo <i>Hericiium erinaceus</i>	39
5.2 Estudo Cinético do Cultivo Submerso do <i>Hericiium erinaceus</i> Em Meio Mineral Basal.....	41
5.3 Composição proximal da biomassa micelial.....	42
5.4 Análise Infravermelho do exopolissacarídeo	43
6 CONCLUSÃO	45
REFERÊNCIAS.....	46

1 INTRODUÇÃO

O Fungo basidiomiceto *Hericiium erinaceus*, também conhecido como cogumelo juba de leão, cabeça de macaco, *Yamabushitake* ou barba branca (LI et al., 2018), tem recebido destaque em estudos na área de alimentos por sua versatilidade para inserção em produtos alimentícios e propriedades terapêuticas, as quais incluem benefícios ao sistema nervoso central, imunológico e gastrointestinal (MIZUNO, 1999). O fungo apresenta potencialidades biológicas como atividades antitumorais, anti-hiperglicêmicas, anti-oxidativas e neuroregenerativas, o que tem atraído a atenção no âmbito industrial (WANG; LUO; LIANG, 2004). A produção de moléculas bioativas como lactonas, esteroides, alcaloides, hericerinas, glicoproteínas, β -glucanas, α -glucanas tem sido reportada por HE et al., (2017) em diferentes meios de cultivos. Esses autores também relatam mais de trinta e cinco polissacarídeos isolados do corpo frutificado e micélio do fungo *H. erinaceus*.

O consumo frequente do cogumelo (corpo de frutificação) *Hericiium erinaceus* promove diferentes benefícios à saúde (MIZUNO, 1999). Pesquisas têm associada a produção de substâncias bioativas semelhantes à indutores neurotróficos, os quais são aplicados em tratamentos de doenças neurodegenerativas como Alzheimer, Parkinson, esclerose múltipla, entre outras (LI et al., 2018).

Outro aspecto que merece destaque em relação a potencialidades de uso do fungo é a biofortificação, uma estratégia que busca aumentar o conteúdo de nutrientes em alimentos. A biofortificação comumente tem sido obtida através de práticas agrícolas e modificação genética das culturas. Mais recentemente, biomassas microbianas enriquecidas com diferentes nutrientes têm sido obtidas a partir de cultivos submersos em meios contendo elevados conteúdos de tais nutrientes. Neste contexto, a prospecção do fungo *Hericiium erinaceus* tem se tornado uma área de interesse. O cogumelo já é sugerido como uma nova fonte viável para biofortificação de Selênio, onde pesquisas buscam combinar as propriedades regenerativas neurotransmissoras inerentes ao fungo, com o aumento de desempenho de processos fisiológicos celulares provindos do Selênio (HU et al., 2020).

O trabalho propôs avaliar diferentes meios de cultivo do fungo *Hericium erinaceus* em cultura submersa e caracterizar a composição proximal dessa biomassa. O trabalho também avaliou a produção de exopolissacarídeo pelo fungo.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar diferentes meios de cultura para o cultivo submerso do fungo *Hericiium erinaceus* visando crescimento micelial e produção de exopolissacarídeo.

2.2 Objetivos específicos

- Selecionar meio de cultivo para melhor crescimento micelial;
- Avaliar o potencial do *Hericiium erinaceus* para produção de exopolissacarídeo em meio mínimo de Vogel, meio mineral basal e meio a base de melaço de cana-de-açúcar;
- Caracterizar a biomassa produzida pelo *Hericiium erinaceus* em meio de cultivo selecionado quanto a sua composição proximal;
- Caracterizar o exopolissacarídeo produzido por espectrometria na região do infravermelho.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Alimentação, Sociedade e Cultura

No Brasil pode-se identificar os primeiros sinais de deficiência na saúde pública durante o governo de Getúlio Vargas, na segunda metade da década de 1930, época que foi associada com a extrema pobreza e práticas alimentares irregulares para os grupos de maior risco (SILVA, 1995). Em 1940 é observada as primeiras iniciativas para controlar e satisfazer as necessidades do trabalhador e sua família. Para isso foram promovidos serviços para instalação de refeitórios em empresas maiores, também preços menores de alimentos para os trabalhadores e em 1950 foi elaborado programas de enriquecimentos alimentares básicos apoiados pela indústria de alimentos. Nesses programas pode-se notar apoio para campanhas de merendas escolares, sob controle do Ministério da Educação (SILVA, 1995).

A influência de alimentos industrializados volta a ser discutido a partir de 2011, onde foi observado o aumento de consumo de alimentos com altos níveis de açúcares, sódio, gordura, etc. por pré-escolares. Essa educação alimentar é reflexo da influência de estilo de vida parental, onde a desinformação da alimentação saudável é repassada pela mídia, escolas e entre outras vias de comunicação de jovens, conseqüentemente a educação alimentar da população se torna negligenciada (MARQUES; BEZERRA; SOUSA, 2020). A partir de 2016 é decretado estado de alerta em países de primeiro mundo pelo consumo desenfreado de *fast foods*, alimentos ricos em sódio e açúcares, e o reflexo dos alimentos industrializados são observados no aumento significativo da taxa de obesidade populacional, principalmente de crianças e adolescentes.

Para Paola Stefanutti, Klauck e Gregory (2018), a alimentação se destaca como sendo uma das atividades humanas mais importantes, uma vez que, além da necessidade fisiológica humana de se alimentar, este hábito também está envolvido com aspectos sociais, culturais e econômicos (STEFANUTTI; KLAUCK; GREGORY, 2018). O distanciamento humano em relação ao hábito alimentar vem se tornando destaque em discussões políticas, econômicas e sociais, observando que a industrialização é responsável pelo desinteresse

humano pela alimentação saudável, buscando assim a alimentação rápida e prática; o *fast food*. Em uma sociedade marcada pelo desempenho, resultados rápidos, ritmos de vida acelerados e a adoção de cultura do imediatismo, os alimentos processados tomaram espaço nas dispensas de todas as famílias (MARQUES; BEZERRA; SOUSA, 2020).

Uma pesquisa qualitativa acompanhada pela pesquisadora Gwen Chapman, associa alimentos ultraprocessados, popularmente conhecidos como *Junk Foods* ao ganho de peso, prazer e amigos. Enquanto alimentos saudáveis; *Healthy Foods*; são associados com perda de peso e família (SILVA *et al.*, 2010). Essa associação é reflexo do individualismo social que vem sendo empregado na cultura imediatista global. Alimentos naturais perdendo espaço em prateleiras para embalagens com propagandas chamativas, preços consideravelmente maiores em produtos minimamente processados se tornam menos atrativos aos baixos preços de alimentos superprocessados, entre outras situações que ilustram a adoção da cultura imediatista patrocinados por indústrias, empresas e outros que capitalizam o tempo da sociedade moderna (PELLERANO, 2017).

3.2 Super Alimentos

A busca do consumidor em um estilo de vida mais saudável vem aquecendo o interesse do mercado mundial desde o início do século XXI. Países da América Latina se comprometeram em reduzir a porcentagem da subnutrição da população onde o cenário de insegurança alimentar se agravou durante a pandemia ocasionada pelo COVID-19, aumentando em, aproximadamente, 15% até 2021 em países da América do Sul. Em contrapartida, também é observada a luta relacionada ao excesso de peso onde foi observado também o crescente aumento de pessoas com obesidade na América Central e do Sul desde 2015 (LUCAS *et al.*, 2022a).

No mundo contemporâneo, a procura por métodos saudáveis visando saúde e estética vem se destacando, assim como pesquisas relacionadas aos riscos do sedentarismo, subnutrição e obesidade, tópicos que desde 1950, início da terceira revolução industrial, vem tomando importância na pesquisa (REIS *et al.*, 2022).

Alimentos ricos em compostos bioativos, antioxidantes, minerais e vitaminas, conhecidos como superalimentos, vêm se destacando entre a pesquisa alimentícia desde 2015, como o açaí, ora-pro-nóbis, mirtilo, bagas goji, etc (LUCAS *et al*, 2022b). Juntamente com as pesquisas envolvendo os benefícios dos superalimentos, vêm se destacando a técnica de biofortificação, técnica que consiste em melhorar, por meio de engenharia genética, a produção de determinado nutriente no alimento ou até inserir a característica de produção no produto alvo. Podem ser citados como exemplos alimentos típicos da cultura local como o feijão que, além de ser um item fundamental na mesa do brasileiro, é um alimento com uma excelente fonte de ferro, zinco e proteínas. Através dessa informação, a pesquisadora Thaisse Kessiane Teixeira Freitas analisou a viabilidade da biofortificação do feijão-caupi para aumentar seu valor nutricional para atender a demanda de alimentos com ferro e zinco e reverter a deficiência desse consumo para a população brasileira (FREITAS *et al*, 2022).

3.3 Cogumelo Juba de Leão (*Hericium erinaceus*)

Os cogumelos comestíveis tem sido considerados como um tipo de superalimento em função das diferentes funcionalidades biológicas (LIU *et al* 2021). (HAMZA *et al* 2023). Neste contexto, o ser humano tem buscado uma vida saudável, composta por métodos e alimentos mais naturais. Como uma consequência, é nítido o crescimento regular da população idosa no Brasil e no mundo.

Com o aumento da expectativa de vida e envelhecimento da população, casos de demência tem ocorrido em maior escala, como constatado pela Organização Mundial da Saúde em 2018. A principal queixa no começo da demência é a falta de memória, não percebida pela própria pessoa, mas pelos indivíduos mais próximos (LARSON *et al.*, 2016).

Em casos de demência, diagnosticada na forma mais avançada, os medicamentos são utilizados apenas para controlar os sintomas, ou seja, é uma patologia irreversível nesse nível. Diante disso, novas terapias medicamentosas

têm sido empregadas, pela possibilidade de retardamento ou diminuição das manifestações (MARMOL *et al.*, 2020).

O Cogumelo Juba de Leão trata-se de um basicomiceto comestível chinês, vastamente empregado na medicina tradicional oriental há séculos, como remédio natural para inúmeros problemas de saúde. Há alguns anos, estudiosos e pesquisadores observaram que, esse cogumelo possui propriedades nutricionais e medicinais que auxiliam na melhoria da saúde e da função cognitiva do ser humano (ARAÚJO *et al.*, 2022).

Seus benefícios para o homem se evidenciam em possuir impressionantes propriedades nootrópicas (“*smart drugs*” ou drogas da inteligência, são substâncias com ação cerebral, propícias a intensificar o foco, a memória, raciocínio e a atenção) para o cérebro, e sendo cada dia mais utilizado, no Ocidente, destacando-se como um remédio natural em chás, alimento e também suplementos (GHOSH *et al.*, 2021).

Uma pesquisa divulgada na revista *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, em 2008, trouxe a descoberta de que o Cogumelo Juba de Leão possui compostos estimuladores do crescimento de células nervosas. Outro estudo do mesmo ano, propagado pelo *Journal of Agricultural and Food Chemistry* apontou que esse cogumelo pode proteger as células nervosas de substâncias tóxicas (neurotoxicidade) como o glutamato (MATOS, 2023).

Em 2018, Frederic Meunierum da Austrália, responsável pelo estudo realizado em laboratório, o qual foi publicado na revista *Food and Function*, revelou que o extrato do cogumelo em questão, pode revigorar a memória e o aprendizado em camundongos. O extrato de cogumelo e seus componentes ativos ampliam o tamanho dos cones de crescimento, importantes para as células cerebrais sentirem seu ambiente e estabelecerem novas conexões com outros neurônios (MARMOL *et al.*, 2023).

O estudo *in vitro* realizado com células de ratos, com a coautoria do Dr. Ramon Martinez-Marmol, constatou que o extrato desse cogumelo colaborou para diminuir os males gerados pela proteína beta-amiloide aos neurônios, um dos principais fatores da doença de Alzheimer. Tal descoberta mostrou que esse cogumelo pode ter eficácias antioxidantes e neuroprotetores em ratos. Contudo, é necessária a intensificação de pesquisa com humanos, embora já exista um

caminho positivo a ser percorrido em busca do tratamento de patologias neurológicas (MARMOL *et al.*, 2023).

Não é apenas para a memória que o Cogumelo Juba de Leão é benéfico. Segundo estudo divulgado pelo *Journal of Agricultural and Food Chemistry* há inúmeros outros benefícios, inferindo que o cogumelo é antibiótico, anti-inflamatório, anti-senescente, antidiabético, nefroprotetor, anti-hiperlipidêmico, cardioprotetor, anticarcinogênico e antifadiga, além de reforçar o sistema imunológico e ser hepatoprotetor (MATOS, 2023).

Muitos estudos e pesquisas referentes aos benefícios supracitados foram e estão sendo realizados, uns somente em laboratórios, outros com seres humanos como, por exemplo, em 2019, em se tratando do tratamento de transtorno de humor. Os participantes possuíam dimensões corporais maiores, problemas com alimentação compulsiva, transtorno de sono e humor e consumiram por dois meses o Cogumelo Juba de Leão. Ao final desse período, foi revelado que o cogumelo foi benéfico para os indivíduos com transtornos de humor referente à depressão e ansiedade e ainda ajudou na qualidade do sono dos mesmos (ARAÚJO *et al.*, 2022).

O Cogumelo Juba de Leão tem sido investigado por meio de estudos científicos como suporte à saúde geral do homem, como tratamento de inúmeros problemas voltados ao sistema nervoso e ao funcionamento cognitivo; contudo, para utilizá-lo deve-se ter acompanhamento de profissionais da saúde, pelo fato de muitas de suas propriedades ainda necessitarem de mais pesquisas e estudos, principalmente se o indivíduo fizer uso de outros medicamentos ou mesmo tiver alguma comorbidade; para realmente se confirmar como benéfico à qualidade de vida e bem estar do mesmo. Em suma, o uso do cogumelo pode não ser adequado para todos. Mas, o futuro da pesquisa a respeito do Cogumelo Juba de Leão é extraordinário.

3.4 Exopolissacarídeos

Existem na natureza plantas e micro-organismos que segregam polímeros chamados Exopolissacarídeos (EPS). Os polissacarídeos incluem os homopolissacarídeos e heteropolissacarídeos. Os homopolissacarídeos são

normalmente glicanas neutras, formados por apenas um tipo de monossacarídeo, como a levana ou a dextrana. Por outro lado, os heteropolissacarídeos são constituídos por diferentes unidades monoméricas e são em grande parte polianiônicos, em virtude da existência de ácido urônico. Estes formados por inúmeros tipos de monossacarídeos, como as gomas gelana e xantana, que integram a maior parte dos exopolissacarídeos (EPS) bacterianos (DONOT *et al.*, 2012).

Os EPS mais investigados são os de origem microbiana em razão de certas vantagens de obtenção no que se referem às demais gomas, como: produção independente das situações climáticas, viabilidade de uso de matérias-primas regionais, maior agilidade na obtenção do produto acabado e necessidade de menor espaço de produção. Além do mais, exibem maior constância em suas propriedades físico-químicas pelo fato da particularidade do microrganismo empregado e a perspectiva de um austero controle do processo de fermentação, taxa de aeração, velocidade de agitação, pH, temperatura, tempo de fermentação e composição do meio de cultivo (SOUZA; GARCIA-CRUZ, 2004).

Produzir EPS a partir de microrganismos é proveitoso, visto que produtos oriundos de microalgas precisam de energia solar e aqueles produzidos com base em plantas demoram de 3 a 6 meses. Já a produção de EPS por microrganismos ocorrem em curto espaço de tempo, além dos EPSs serem excretados para o meio extracelular, o que auxilia no processo de recuperação (isolamento) (FREITAS *et al.*, 2011).

Os EPSs podem ser utilizados nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia, graças às suas diferentes propriedades bioativas e tecnológicas. Essas propriedades incluem atividade antimicrobiana, antioxidante, antitumoral e funcionalidade reológica, melhorando características como textura e viscosidade (YILDIZ; KARATAS, 2018).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Microorganismo e Matéria-prima

No presente estudo foi utilizado o fungo *Hericium erinaceus* AT-BIO-301 cepa 107001 (juba de leão) comercializada pela companhia Tyholer Glückspilze, Áustria e fornecido por produtor local de cogumelos.

Os reagentes utilizados na pesquisa foram fornecidos pelo grupo de pesquisa em Bioprocessos e Tecnologia de Alimentos (GTBio). Foram utilizados reagentes com grau de pureza adequados em cada ensaio experimental.

4.2 Isolamento do Fungo

Uma pequena porção do corpo de frutificação (basidioma/basidiocarpo) fresco (Figura 1a) do fungo foi inoculado em placas de Petri contendo meio Ágar Batata Dextrose (BDA). As placas foram cultivadas a 20°C por 4 dias em incubadora orbital (shaker) com refrigeração. Repiques sucessivos para meio novo foram conduzidos de forma a ser obtida uma cultura pura (Figura 1b).

Figura 1 - Corpo de frutificação (a) e micélio (b) do fungo *Hericium erinaceus* cultivado em meio BDA



Fonte: (a) <https://loja.fungiperfect.com/products/kits-juba-leao> e (b) Autoria própria (2023).

4.3 Cultivo Submersos do Fungo *Hericium erinaceus*

4.3.1 Preparo do inóculo

Uma alçada de micélio fúngico cultivada em meio BDA foi transferida para frascos Erlenmeyer contendo 100 mL Meio Mínimo de Vogel (MMV) e 20 g/L de glicose. Os frascos foram cultivados em shaker por 144 horas, 20°C e 150 rpm de agitação. O micélio crescido nos frascos (Figura 2a) foi separado do caldo fermentado por centrifugação à 1500 x g por 20 minutos e lavado com água esterilizada (Figura 2b). A biomassa micelial foi suspensa em água esterilizada e homogeneizada em liquidificador.

Figura 2 – Preparo do inóculo do fungo *Hericium erinaceus*: (a) cultivo submerso do micélio; (b) Biomassa micelial centrifugada



Fonte: Autoria própria (2023).

A biomassa micelial homogeneizada foi diluída com água destilada esterilizada até a obtenção de leitura de 0,4 a 0,5 a 400 nm em espectrofotômetro (Perkin Elmer, Waltham, USA).

4.3.2 Cultivos em Meio Mínimo de Vogel, Meio Mineral Basal e Meio a Base de Caldo de Cana-de-Açúcar

Cultivos submersos em Meio Mínimo de Vogel (MMV), Meio Mineral Basal (MMB) e Meio a Base de Caldo de Cana-de-açúcar (MBC) foram conduzidos para avaliar o crescimento micelial e possível produção de exopolissacarídeo pelo fungo.

As fermentações foram conduzidas em frascos Erlenmeyer de 250 mL, contendo 100 mL do meio em estudo e 10 mL de inóculo padronizado (item 4.3.1). Os Meios Mínimo de Vogel e Mineral Basal foram suplementados com 10% (v/v) de solução de glicose 200 g/L. O meio à base de melaço de cana-de-açúcar foi obtido pela diluição do melaço pré-clarificado até concentração de açúcares totais em torno de 20 g/L. Os frascos foram incubados em incubadora orbital à 20°C por 144 horas sob agitação de 150 rpm. No final do processo a biomassa micelial foi separada por centrifugação (1500 x g, 30 minutos) do caldo fermentado. A presença de exopolissacarídeo (EPS) foi indicada pela precipitação da macromolécula. O EPS foi seco à 70°C até massa constante e quantificada gravimetricamente.

O Meio Mínimo de Vogel (VOGEL, 1956) foi preparado pela diluição 1:10 do meio concentrado. O Meio Mineral Basal foi constituído de 2 g/L de KH_2PO_4 , 2 g/L de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e 2 g/L de Peptona.

4.3.3 Perfil Fermentativo do Fungo *Hericium erinaceus* no Meio Pré-Selecionado

Após seleção do meio mais adequado para o crescimento micelial e produção de exopolissacarídeo pelo fungo estudado foram conduzidas fermentações submersas com objetivo de avaliar o perfil cinético do consumo do substrato, crescimento micelial e produção de EPS. As fermentações foram conduzidas em frascos Erlenmeyer de 250 mL em incubadora orbital (20°C, 150 rpm por 144 dias) contendo 100 mL do meio pré-selecionado suplementado com glicose (20 g/L) e 10 mL de inóculo padrão. A cada 24 horas foram tomadas amostras (frascos de sacrifício em duplicada) e foram quantificadas biomassa micelial e EPS.

4.4 Protocolos Analíticos

4.4.1 Quantificação da biomassa micelial e exopolissacarídeo (EPS)

As biomassas miceliais obtidas nas fermentações foram lavadas com água esterilizada e secas até massa constante à 70°C para quantificação

gravimétrica. O sobrenadante de cada fermentação (30 mL) foi misturado com etanol 96°GL (90 mL) e mantido sob refrigeração de 5°C por 24 horas para precipitação do EPS, o qual após a filtração foi quantificado gravimetricamente após secagem (70°C) até massa constante.

4.4.2 Determinação do Conteúdo de Açúcares Totais

O consumo de substrato nas fermentações foi estimado através da determinação do conteúdo de açúcares totais (AT) nos caldos fermentados. O conteúdo de AT foi determinado pelo método Fenol-Sulfúrico (DUBOIS *et al.* 1956).

Curva padrão de glicose foi inicialmente preparada conforme Tabela 1:

Tabela 1 – Preparo da Curva Padrão de Glicose

Tubos	Padrão glicose (µL)	Água destilada (µL)	Fenol 5 % (µL)	Ác. sulfúrico concentrado (mL)	Concentração glicose (µg)
Branco	-	500	500	2,5	0
1	100	400	500	2,5	10
2	200	300	500	2,5	20
3	250	250	500	2,5	25
4	300	200	500	2,5	30
5	400	100	500	2,5	40
6	500	-	500	2,5	50

Padrão glicose (0,01g/100mL); Fenol 5 % (m/v)

Fonte: Autoria própria (2023).

As leituras de cada ponto foram realizadas em espectrofotômetro a 490 nm.

Figura 3 – Coloração do meio reacional na determinação de açúcares totais pelo método Fenol-sulfúrico



Fonte: Autoria própria (2023).

4.4.3 Determinação da composição proximal da biomassa micelial

Para caracterização da biomassa micelial foram realizadas análises físico-químicas da umidade, atividade de água, resíduo mineral (cinzas), lipídeos e proteínas.

A umidade foi determinada em triplicata, onde 5 g da biomassa foi seca em estufa à 105°C até peso constante (AOAC, 2016). A quantidade de resíduo mineral (cinzas) foi determinada após incineração da amostra em mufla à 550°C, através do método gravimétrico (AOAC, 2016). A quantidade de proteína foi determinada pelo método Kjeldahl, descrito por AOAC INTERNATIONAL, 2016, utilizando o fator de conversão nitrogênio-proteína de 6,25. A determinação de lipídeos foi determinada pelo método de extração Soxhlet (AOAC, 2016).

4.4.4 Parâmetros Fermentativos

No estudo cinético do cultivo submerso do fungo no meio selecionado foram determinados os parâmetros fermentativos conforme as equações abaixo:

- 1) Fator de conversão de substrato em biomassa (rendimento) ($Y_{x/s}$)

Determinado pela razão entre a quantidade de biomassa celular produzida (X) e o consumo do substrato (S).

$$Y_{\frac{X}{S}} = \frac{\text{Biomassa celular} \left(\frac{g}{L} \right)}{\text{consumo de substrato} \left(\frac{g}{L} \right)}$$

- 2) Fator de conversão do substrato em exopolissacarídeo (rendimento) ($Y_{p/s}$)

Determinado pela razão entre a quantidade de exopolissacarídeos produzida (P) e o consumo de substrato (S).

$$Y_{\frac{P}{S}} = \frac{\text{Exopolissacarídeos } \left(\frac{g}{L}\right)}{\text{consumo de substrato } \left(\frac{g}{L}\right)}$$

- 3) Produtividade volumétrica em biomassa micelial (Q_x)

Determinado pela a razão da biomassa celular produzida e o intervalo de tempo correspondente.

$$Q_x = \frac{\text{biomassa celular } \left(\frac{g}{L}\right)}{\text{tempo de fermentação } (h)}$$

- 4) Produtividade volumétrica de exopolissacarídeo (Q_p)

Determinado pela razão entre a quantidade de exopolissacarídeos produzida e o intervalo de tempo correspondente.

$$Q_p = \frac{\text{exopolissacarídeos } \left(\frac{g}{L}\right)}{\text{tempo de fermentação } (h)}$$

- 5) Percentual do consumo do substrato (Y_c)

Determinado pela razão do consumo do substrato ao longo do processo de fermentação e a quantidade de substrato inicial.

$$Y_c = \left(\frac{\text{consumo de substrato } \left(\frac{g}{L}\right)}{\text{substrato inicial } \left(\frac{g}{L}\right)} \right) \times 100$$

- 6) Taxa total do consumo de substrato (Q_s)

Determinado pela razão do consumo de substrato e o intervalo de tempo correspondente.

$$Q_s = \frac{\text{consumo de substrato } \left(\frac{g}{L}\right)}{\text{tempo de fermentação } (h)}$$

4.4.4 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (IV-TF)

O espectro de Infravermelho com transformada de Fourier da amostra de exopolissacarídeo produzido foi obtido em espectrofotômetro Frontier (Perkin Elmer, USA) na faixa de região de 4000 a 400 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} , com 32 varreduras. Foi utilizado a técnica de dispositivo de discos de KBr.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Produção de Biomassa Micelial pelo fungo *Hericium erinaceus*

A Tabela 2 e Figura 4 apresentam os resultados analíticos referentes à produção de biomassa do fungo *Hericium erinaceus* em Meio Mínimo de Vogel (MMV), Meio Mineral Basal (MMB) e Meio de Melaço de Cana-de-açúcar (MMC).

O fungo *Hericium erinaceus* cresceu em todos os meios de cultivo, destacando os Meios Mínimo de Vogel e Mineral Basal, com produções de 9,95 g/L e 9,86 g/L de biomassa micelial, respectivamente. Em contrapartida, a menor produção de biomassa micelial foi observada em Meio a base de Melaço de Cana-de-açúcar (6,92 g/L). Interessante destacar que foi observado produção de exopolissacarídeo somente no meio MMB, sendo verificado um rendimento de EPS de 0,04 g/g (Tabela 2). Este comportamento sugere que a composição do meio de cultivo além de ter influência no crescimento micelial influencia diretamente a produção de exopolissacarídeo.

Diferentes trabalhos reportam que a composição do meio de fato tem grande influência tanto no crescimento micelial fúngico, quanto na produção de exopolissacarídeo. Fonseca et al, (2020) verificou que tanto a fontes de carbono e nitrogênio presentes no meio influenciaram a produção de um exopolissacarídeo pelo fungo *Neodeighthonia phoenicum* CMIB-151. Esses autores também relataram que não observaram uma correlação direta entre crescimento micelial e produção de EPS.

Tabela 2 - Perfil cinético do cultivo do *Hericium erinaceus* nos diferentes meios de cultivo

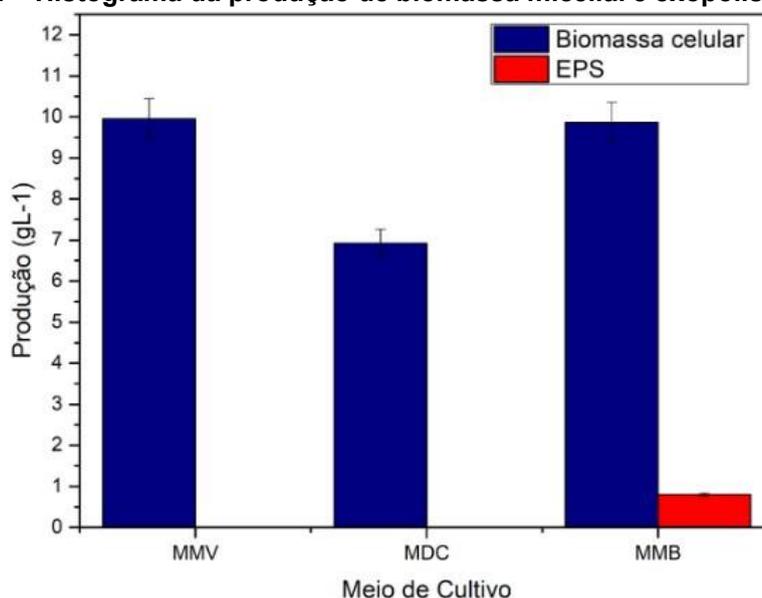
Parâmetros fermentativos	Meios de cultivo	MMV	MMB	MMC
P_x (g/L)		9,95 ^a	9,86 ^a	6,92 ^b
P_F (g/L)		0,00	0,8	0,00
$Y_{P/S}$ (g/g)		0,00 ^b	0,04 ^a	0,00 ^b
$Y_{X/S}$ (g/g)		0,52 ^a	0,51 ^a	0,46 ^b
Q_x (g/Lh ⁻¹)		0,07 ^a	0,07 ^a	0,05 ^b
Q_P (g/Lh ⁻¹)		ND	0,006	ND

Q_s (g/Lh ⁻¹)	0,13 ^a	0,13 ^a	0,10 ^b
Y_c (%)	95,1 ^a	91,4 ^b	93,6 ^a

MMV: Meio Mínimo de Vogel; MMB: Meio Mineral Basal; MMC: Meio básico de Melaço de Cana-de-Açúcar. P_x : Produção de biomassa micelial; P_F : produção e exopolissacarídeo $Y_{x/s}$: Fator de conversão de substrato em biomassa; $Y_{p/s}$: Fator de conversão do substrato em exopolissacarídeo; Q_x : Produtividade volumétrica em biomassa micelial; Q_p : Produtividade volumétrica de exopolissacarídeo Y_c : Percentual do consumo do substrato; Q_s : Taxa total do consumo de substrato. Letras iguais na mesma linha indicam que não há diferença estatística ao nível de 95% ($p < 0,05$).

Fonte: Autoria própria (2023).

Figura 4 – Histograma da produção de biomassa micelial e exopolissacarídeos



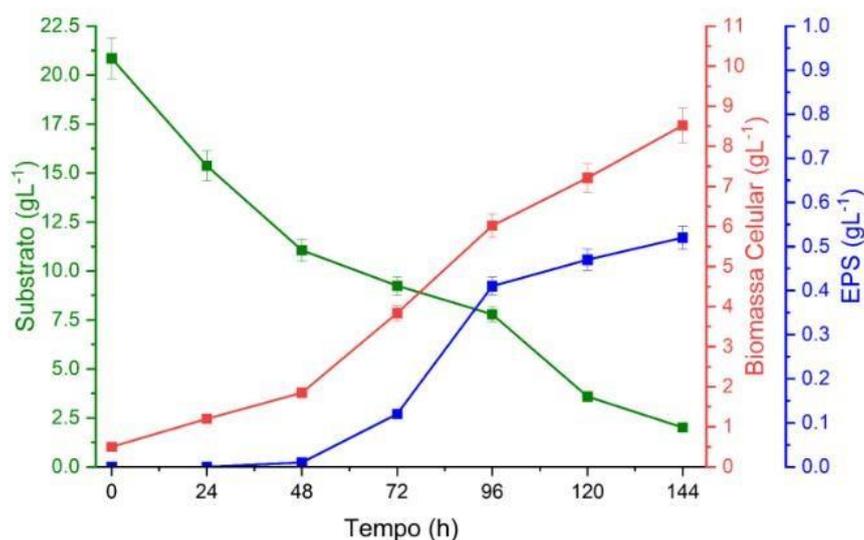
Fonte: Autoria própria (2023).

Similarmente ao observado com o crescimento micelial, os maiores rendimentos em biomassa micelial ($Y_{x/s}$) foram verificados nos meios MMV (0,52 g/g) e MMB (0,51 g/g). Maior produtividade volumétrica em biomassa micelial (Q_x) também foi encontrada em tais meios (0,7 g/Lh⁻¹). Em relação ao consumo do substrato (fonte de carbono) a partir do parâmetro Y_c descrito na Tabela 2 observa-se que o fungo foi eficiente na assimilação dos açúcares independentemente do meio de cultivo. Consumos superiores a 90% do conteúdo inicial de açúcares totais foram encontrados em todos os meios. Este comportamento indica que o fungo é hábil em consumir tanto glicose como sacarose, visto que glicose é o açúcar presente nos meios MMV e MMB e a sacarose é o principal açúcar presente no MMC.

5.2 Estudo Cinético do Cultivo Submerso do *Hericium erinaceus* Em Meio Mineral Basal

O perfil fermentativo da produção de biomassa micelial e exopolissacarídeo pelo *Hericium erinaceus* cultivado em Meio Mineral Basal (MMB) é mostrado na Figura 5.

Figura 5 – Perfil fermentativo da produção de biomassa e EPS em Meio Mineral Basal.



Fonte: Autoria própria (2023).

Observa-se rápida assimilação dos substratos, sendo verificado um consumo de 44,3% nas primeiras 48 horas de cultivo. A assimilação do substrato continuou efetiva até o final do processo fermentativo em 144 horas, quando foi verificado um consumo de 90,4%. Observando as curvas de crescimento micelial e produção de EPS parece haver certa correlação entre crescimento da biomassa e biossíntese do EPS. Um perfil quase linear de crescimento celular é observado ao longo do cultivo com máxima produção de biomassa celular em 144 horas (8,52 g/L). Em relação a produção e exopolissacarídeo, não foi observada a produção nas primeiras 24 horas de cultivo. Apenas um pequeno de acúmulo de EPS (0,01 g/L) no meio foi verificado após 48 horas de cultivo. A produção de EPS ocorre, de fato, após 48 horas, com máxima produção sendo verificada em 144 horas (0,52 g/L). Este comportamento possivelmente pode ser justificado em função da composição do meio de cultivo. Muitos fungos passam a produzir exopolissacarídeos em condições de menor disponibilidade de

nitrogênio ou mesmo de limitação. Considerando o efetivo de crescimento celular e o consumo de substrato nas primeiras 48 horas, de fato a partir de 48 horas poderia ter ocorrido certa limitação de nitrogênio no meio.

5.3 Composição proximal da biomassa micelial

A composição proximal da biomassa micelial obtida no Meio Mineral Basal (meio selecionado) está descrita na Tabela 3. Elevado conteúdo de umidade (47,36 g/ 100 g) foi encontrado na amostra liofilizada. Este elevado conteúdo sugere elevada higroscopicidade da biomassa. Apreciável conteúdo de proteína (15,20 g/ 100 g) e baixo conteúdo de lipídeo (2,0 g/ 100 g) também foi verificado. Conteúdos de até 25,45% de proteína e 6,44% de lipídeos tem sido descrito no corpo de frutificação do fungo *Hericium erinaceus*. LIU et al (2022). Importante destacar que há carência de dados sobre a composição proximal de biomassa micelial de *H. erinaceus* cultivado em meio submerso.

A biomassa micelial também mostrou ser rica em componentes minerais sendo verificado um conteúdo de 5,38 g/ 100g. Conteúdo similar tem sido encontrado em corpo de frutificação do fungo (SILVA 2021).

Tabela 3 - Composição proximal da biomassa micelial do *Hericium erinaceus* em Meio Mineral Basal

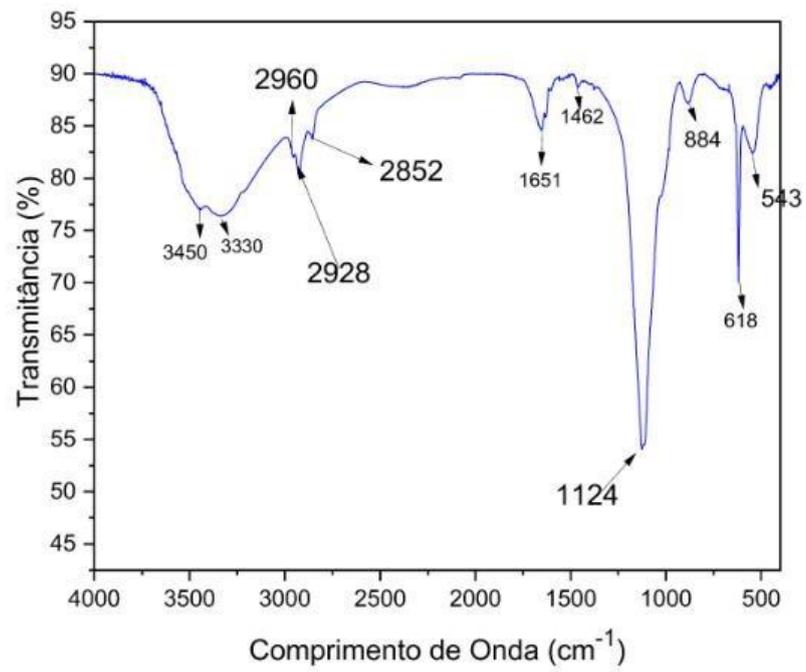
Parâmetros	Resultados obtidos
Umidade (g/ 100 g)	47,36 ± 0,31
Proteínas (g/ 100 g)	15,20 ± 0,17
Lipídeos (g/ 100 g)	2,0 ± 28,8
Resíduo mineral (g/ 100 g)	5,38 ± 0,28
Carboidratos totais (g/ 100 g)	30,06 ± 0,91

Fonte: Autoria Própria (2023)

5.4 Análise Infravermelho do exopolissacarídeo

Bandas de absorção típicas de polissacarídeo (EPS) na região entre 400 cm^{-1} e 4000 cm^{-1} foram observadas na amostra de EPS produzidas pelo fungo *Hericium erinaceus* (HOU *et al*, 2015) (Figura 6). A banda de forte intensidade nas regiões de 3330 cm^{-1} e 3450 cm^{-1} é designada à vibração de estiramento de grupo de hidroxila, grupo este característico em amostra de carboidratos (FONSECA *et al*, 2020) (ACOSTA *et al*, 2020).

As bandas de absorção nas regiões de 2928 cm^{-1} e 2852 cm^{-1} são atribuídas a estiramento simétrico e assimétrico de grupo metileno (C-H) (ACOSTA *et al*, 2020), (FONSECA *et al*, 2020), (HOU *et al*, 2015), respectivamente. A banda em 1651 cm^{-1} é atribuída a vibração de estiramento C=O e a banda 1462 cm^{-1} é causada pela vibração de estiramento C-H (ERMIŞ *et al*, 2020). A banda em 1651 cm^{-1} também pode estar associada à vibração de flexão do grupo hidroxila da água adsorvida no polissacarídeo (ACOSTA *et al*, 2020), (HOU *et al*, 2015). Na região de 1124 cm^{-1} uma banda de alta intensidade é observada e sugere que a estrutura monomérica (monossacarídeo) do EPS é constituída por um anel de piranose (vibração de estiramento C-O, e deformação C-O-H) (HOU *et al*, 2015), (NISSOLA *et al*, 2021). A absorção fraca na região de 884 cm^{-1} é atribuída à ligação glicosídica, possivelmente com configuração β (C-1-H(β)) (ACOSTA; *et al*, 2020), (CALEGARI *et al*, 2019), (MUHIDINOV *et al*, 2020). A banda em 618 cm^{-1} também pode estar associada à configuração beta, característica em subunidades de açúcar. A banda em 543 cm^{-1} é atribuída ao anel de piranose (C=O) e sua deformação assimétrica (MA *et al*, 2018).

Figura 6- Análise Infravermelho do exopolissacarídeo produzidos em Meio Mineral Basal

Fonte: Autoria própria (2023)

6 CONCLUSÃO

Os diferentes meios de cultivo estudados demonstraram potencial para o cultivo submerso do fungo *Hericium erinaceus* (cepa 107001) O Meio Mínimo de Vogel e o Meio Mineral Basal contribuíram para maior crescimento celular comparado ao Meio de Melaço de Cana-de-açúcar. Produção de exopolissacarídeo também foi verificada, entretanto, apenas no Meio Mineral Basal. A biomassa micelial obtida apresentou elevado conteúdo de proteínas e minerais e um conteúdo relativamente baixo de lipídeos. A análise por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier mostrou bandas típicas de carboidratos na amostra e sugere que os monossacarídeos presentes no EPS possivelmente estejam unidos por ligações glicosídicas com configuração β . A produção do EPS pelo fungo estudado parece estar associada a composição do meio de cultivo, sendo necessário estudos mais detalhados para a elucidação de tal fenômeno.

REFERÊNCIAS

ACOSTA, Silvia Barbosa Pecin; et al. **Valorization of Soybean Molasses as Fermentation Substrate for the Production of Microbial Exocellular β -Glucan**. *Journal of Polymers and the Environment*, v. 28, n. 8, p. 2149–2160, 1 Ago 2020.

ARAÚJO, Sávio Nogueira de et al. **Propriedades e benefícios no uso do cogumelo juba de leão (*hericium hericaceus*) no declínio cognitivo e demência em adultos e idosos: revisão bibliográfica descritiva**. 2022. Disponível em: https://www.editorarealize.com.br/editora/anais/cieh/2022/TRABALHOCOMPLETO_EV179_MD4_ID145_TB156_30062022114208.pdf. Acesso em: 12 mai. 2023.

CALEGARI, Gabrielle Cristina; et al. **Sulfonated (1 \rightarrow 6)- β -d-Glucan (*Lasiodiplodan*)**. *Food technology and biotechnology*, v. 57, n. 4, p. 490–502, 2019.

DONOT, F., Fontana, A., Baccou, J. C., & Schorr-Galindo, S. (2012). **Microbial exopolysaccharides: Main examples of synthesis, excretion, genetics and extraction**. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), 951–962. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2011.08.083>

ERMIŞ, Ertan; et al. **Optimization of exopolysaccharide production of *Lactobacillus brevis* E25 using RSM and characterization**. *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, v. 24, n. 1, p. 151–160, 1 Fev 2020.

FONSECA, Michel da Silva; et al. **Neodeightonia phoenicum CMIB-151: Isolation, Molecular Identification, and Production and Characterization of an Exopolysaccharide**. *Journal of Polymers and the Environment*, v. 28, n. 7, p. 1954–1966, 1 Jul 2020.

FREITAS, Filomena; ALVES, Vitor D.; REIS, Maria A. M. **Advances in bacterial exopolysaccharides: From production to biotechnological applications**. *Trends in Biotechnology*, v. 29, p. 388-398, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21561675/>. Acesso em: 05 mai. 2023.

FREITAS, Thaise Kessiane Teixeira; et al. **Potential of cowpea genotypes for nutrient biofortification and cooking quality**. *Revista Ciência Agronômica*, v. 53, p. e20218048, 6 Jun. 2022. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/rca/a/QS3xpnkMjDYTh9wn6qYnnBJ/?lang=en>. Acesso em: 16 maio 2023.

GHOSH, Sandipta; et al. **Prospecting medicinal properties of Lion's mane mushroom**. *Journal of Food Biochemistry*, v. 45, n. 8, p. e13833, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34169530/>. Acesso em: 12 mai. 2023.

HE, Xirui; et al. **Structures, biological activities, and industrial applications of the polysaccharides from *Herichium erinaceus* (Lion's Mane) mushroom**:

A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 97, p. 228–237, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28087447/>. Acesso em: 9 maio 2023.

HOU, Yiling e DING, Xiang e HOU, Wanru. **Composition and antioxidant activity of water-soluble oligosaccharides** from *Hericium erinaceus*. *Molecular Medicine Reports*, v. 11, n. 5, p. 3794–3799, 1 Maio 2015. Acesso em: 9 maio 2023.

HU, Ting; et al. **Selenium biofortification in *Hericium erinaceus* (Lion's Mane mushroom) and its in vitro bioaccessibility**. *Food Chemistry*, v. 331, p. 127287, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32563801/>. Acesso em: 9 maio 2023.

LARSON, Eric B. et al. **Evaluation of cognitive impairment and dementia**. UpToDate. Waltham, MA: UpToDate, 2016. Disponível em: <https://www.uptodate.com/contents/evaluation-of-cognitive-impairment-and-dementia>. Disponível em: 23 abr. 2023.

LI, I-Chen; et al. **Neurohealth Properties of *Hericium erinaceus* Mycelia Enriched with Erinacines**. *Behavioural Neurology*, v. 2018, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29951133/>. Acesso em: 9 maio 2023.

LUCAS, Bárbara Franco; et al. **Extruded snacks enriched with açai berry: physicochemical properties and bioactive constituents**. *Food Science and Technology*, v. 42, p. e14822, 2 Maio 2022. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/cta/a/LdcwMPVpBHcGpbCWmcXT7zD/?lang=en>. Acesso em: 16 maio 2023.

MA, Yuhan; et al. **Assessment of Polysaccharides from Mycelia of genus *Ganoderma* by Mid-Infrared and Near-Infrared Spectroscopy**. *Scientific Reports*, v. 8, n. 1, 1 Dez 2018. Disponível em: [/pmc/articles/PMC5758644/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32563801/). Acesso em: 14 jun 2023.

MARMOL, Ramon Martinez et al. **Hericerin derivatives activates a pan-neurotrophic pathway in central hippocampal neurons converging to ERK1 /2 signaling enhancing spatial memory**. *Journal of Neurochemistry* (2023). Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jnc.15767>. Acesso em: 18 mai. 2023.

MARMOL, Ramon Martinez et al. **Hericerin derivatives from erinaceus exert BDNF-like neurotrophic activity in central hippocampal neurons and enhance memory**. *bioRxiv*, 2020. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.08.28.271676v1.full>. Acesso em: 18 mai. 2023.

MARQUES, Maria Alcía Viana; BEZERRA, Keila Cristiane Batista; SOUSA, Giancarlo da Silva. **Influence of industrialized food consumption in child overweight and obesity: a review**. *Research, Society and Development*, v. 9, n. 11, p. e4799119964–e4799119964, 2020. *Research, Society and Development*. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/9964>. Acesso em: 10 maio 2023.

MATOS, Diliagni Tellez. “**Cogumelo Juba de Leão: Os Surpreendentes Benefícios Para a Saúde do Cérebro**”. 2023. Disponível em: <https://saudezen.com/cogumelo-juba-de-leao-os-surpreendentes-beneficios-para-a-saude-do-cerebro/>. Acesso em: 18 mai. 2023.

MIZUNO, T. Bioactive Substances in *Herichium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. (Yamabushitake), and Its Medicinal Utilization. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 1, n. 2, p. 105–119, 1999. Begel House Inc. Disponível em: <https://www.dl.begellhouse.com/journals/708ae68d64b17c52,467a6b9619790c8f,59f1eb340de50d3a.html>. Acesso em: 9 maio 2023.

MUHIDINOV, Zayniddin K.; et al. **Characterization of two types of polysaccharides from *Eremurus hissaricus* roots growing in Tajikistan**. *Food Hydrocolloids*, v. 105, p. 105768, Ago 2020. Acesso em: 9 maio 2023.

NISSOLA, Candida; et al. Hydrogel containing (1 → 6)- β -D-glucan (lasiodiplodan) effectively promotes dermal wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 183, p. 316–330, 31 Jul 2021. Acesso em: 9 maio 2023.

PELLERANO, J. A. (2017). **Industrialização e alimentação: Impactos da Revolução Industrial moderna em produção, distribuição, preparo e consumo de alimentos**. *Anais Da ReACT - Reunião de Antropologia Da Ciência e Tecnologia*, 3(3). <https://ocs.ige.unicamp.br/ojs/react/article/view/2764> Acesso em: 9 maio 2023.

REIS, Tallyne Mayara Pacheco dos; et al. Effect of açai supplementation (*Euterpe Oleracea* Mart.) associated with exercise in animals and human: a scoping review. **Revista de Nutrição**, v. 35, p. e210266, 14 Nov. 2022. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/rn/a/Z5SzpkRcCzrQVfFRnxKVVjr/?lang=en>. Acesso em: 16 maio 2023.

SILVA, Alberto Carvalho da. De Vargas a Itamar: **políticas e programas de alimentação e nutrição**. **Estudos Avançados**, v. 9, n. 23, p. 87–107, 1995. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/ea/a/QjM4tDxH67FXSf7dvJ5k5qN/?lang=pt>. Acesso em: 10 maio 2023.

SILVA, Juliana Klotz.; et al. Alimentação e cultura como campo científico no Brasil. *Physis: Revista de Saúde Coletiva*, v. 20, n. 2, p. 413–442, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/physis/a/sHqKVTLdSdxwrHt4wfYBG4Q/abstract/?lang=t>. Acesso em: 10 maio 2023.

SILVA, Suelen Dias da. **Montagem, anotação e análise estrutural do genoma de *Pleurotus ostreatoroseus* DPUA 1720**. 2022. 120 f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal - BIONORTE) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus (AM), 2021. Acesso em: 9 maio 2023.

SOUZA, Daniela Maria de; GARCIA-CRUZ, Crispin Humberto. **Produção fermentativa de polissacarídeos extracelulares por bactérias**. Semina: ciências agrárias, Londrina, v. 25, p. 331-340, 2004. Disponível em: <https://ojs.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/download/2259/1939/7420>. Acesso em: 24 mai. 2023.

SOUZA, Victor Hugo Alves de et al. **Aspectos sustentáveis da biomassa temas livres como recurso energético**. 2015. Disponível em: <file:///C:/Users/larina/Downloads/894-2397-3-PB.pdf>. Acesso em: 23 mai. 2023.

STEFANUTTI, Paola; KLAUCK, Samuel; GREGORY, Valdir. Reflexões para uma abordagem alimentar: sociedade, cultura e fronteiras. DEMETRA: Alimentação, **Nutrição & Saúde**, v. 13, n. 3, p. 519–533, 2018. Disponível em: <https://www.e-publicacoes.uerj.br/index.php/demetra/article/view/31183>. Acesso em: 10 maio 2023.

WANG, Zhaojing; LUO, Dianhui; LIANG, Zhongyan. **Structure of polysaccharides from the fruiting body of *Hericium erinaceus* Pers. Carbohydrate Polymers**, v. 57, n. 3, p. 241–247, 2004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861704001432>. Acesso em: 9 maio 2023.

YILDIZ, Hilal; KARATAS, Neva. **Microbial exopolysaccharides: Resources and bioactive properties**. Process Biochemistry, v. 72, n. 6, p. 41–46, set. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1359511317317166>. Acesso em: 24 mai. 2023.