



# UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR

Recredenciada pela Portaria – MEC n.º 747, de 10/09/2020 – D.O.U. 11/09/2020

**Mantenedora: UNIPAR – SOCIEDADE EMPRESARIAL LTDA.**

**Coordenação de Pós-Graduação *Stricto Sensu* e Pesquisa**

**Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura**

**Maria Eduarda Guimarães dos Santos**

**Atividades biológicas da biomassa micelial de *Lentinus berteroi***

**Umuarama  
2025**

**Maria Eduarda Guimarães dos Santos**

**Atividades biológicas da biomassa micelial de *Lentinus berteroi***

Dissertação apresentada como parte das exigências para a obtenção do grau de mestre em Biotecnologia Aplicada à Agricultura pela Universidade Paranaense - UNIPAR.

Orientadora: Profa. Dra. Juliana Silveira do Valle

Umuarama  
2025

### Ficha Catalográfica

S237a Santos, Maria Eduarda Guimarães dos.

Atividades biológicas da biomassa micelial de *Lentinus berteroi* / Maria Eduarda Guimarães dos Santos. – Umuarama: Universidade Paranaense – UNIPAR, 2025.

37 f.

Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Juliana Silveira do Valle.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Paranaense – UNIPAR.

1. Antioxidante. 2. Fator de proteção solar. 3. Fenóis. 4. Melanina. 5. Anti-tirosinase. I. Universidade Paranaense – UNIPAR. II. Título.

Bibliotecária Responsável Regiane Luiza Campaneli CRB 9/2194

**Atividades biológicas da biomassa micelial de *Lentinus berteroi***

Dissertação aprovada como requisito obrigatório para obtenção do Grau de Mestre no Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura da Universidade Paranaense – UNIPAR, pela seguinte banca examinadora:

---

Prof. Dr. José Eduardo Gonçalves  
Universidade UniCesumar

---

Profa. Dra. Maria Graciela Iecher Faria Nunes  
Universidade Paranaense - UNIPAR

---

Profa. Dra. Juliana Silveira do Valle  
Orientadora

Universidade Paranaense – UNIPAR

Umuarama, 28 de fevereiro de 2025

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar, gostaria de expressar minha profunda gratidão a Deus, que me capacitou e preparou todas as circunstâncias necessárias para que eu pudesse realizar este mestrado, mesmo antes de eu ter consciência desse desejo. Sua presença constante em minha vida me deu forças nos momentos de desafio e incerteza, e por isso sou eternamente grata.

Aos meus pais, Sirlei e Lupércio, meu agradecimento vai além das palavras. Vocês sempre estiveram ao meu lado, oferecendo apoio incondicional e incentivo em cada passo desta jornada. O amor e os valores que me transmitiram foram fundamentais para que eu pudesse chegar até aqui. Sem o suporte emocional e ter vocês sempre acreditando em meu potencial, essa conquista não seria possível.

Meu esposo, Richard, também merece um reconhecimento especial. Sua paciência, amor e encorajamento foram essenciais durante todo o processo. Agradeço por ter sido meu pilar, sempre disposto a me ouvir e a servir como minha banca nas apresentações que fiz para vocês antes das defesas oficiais. Seu apoio me proporcionou a confiança necessária para enfrentar esse desafio.

Por fim, quero dedicar um agradecimento especial à minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Juliana do Valle. Sua paciência e compreensão ao longo de toda essa etapa foram fundamentais para meu desenvolvimento acadêmico e pessoal. Sua orientação cuidadosa, críticas construtivas e apoio constante foram cruciais para que eu pudesse aprimorar meu trabalho e alcançar os objetivos que estabeleci.

A todos vocês, meu sincero agradecimento, é com gratidão que passo esta fase da minha vida, ciente de que cada um teve um papel essencial nessa conquista.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b>	6
<b>ABSTRACT</b>	7
<b>CAPÍTULO I</b>	8
<b>INTRODUÇÃO</b>	9
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	12
Cultivo para produção de inóculo	12
Cultivo em meio líquido para produção de biomassa micelial	12
Produção de extratos miceliais	12
Quantificação de fenóis totais	12
Quantificação de flavonoides totais	13
Identificação de compostos fenólicos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência	13
Determinação das atividades antioxidantes	14
<i>Método de sequestro dos radicais DPPH•</i>	14
<i>Método de sequestro dos radicais ABTS•+</i>	15
<i>Método de redução do ferro (FRAP – Ferric Reducing Antioxidant Power)</i>	15
Determinação da atividade anti-tirosinase	15
Determinação do fator de proteção solar (FPS) <i>in vitro</i>	16
Determinação da razão UVA/UVB e comprimento de onda crítico	16
Análise estatística	18
<b>RESULTADOS</b>	19
Cultivo em meio líquido para produção de biomassa micelial	19
Fenóis e flavonoides totais nos extratos do micélio	19
Atividades antioxidantes dos extratos da biomassa micelial	19
Atividade anti-tirosinase dos extratos da biomassa micelial	21
Fator de proteção solar (FPS) <i>in vitro</i> dos extratos da biomassa micelial	22
<b>DISCUSSÃO</b>	25
Cultivo em meio líquido para produção de biomassa micelial	25
Compostos fenólicos da biomassa micelial	26
Flavonoides na biomassa micelial	26
Atividade antioxidante dos extratos da biomassa micelial	27
Atividade anti-tirosinase dos extratos da biomassa micelial	29
Fator de proteção solar do extrato micelial de <i>L. berteroi</i>	29
<b>CONCLUSÕES</b>	31
<b>AGRADECIMENTOS</b>	32
<b>REFERÊNCIAS</b>	33

Maria Eduarda Guimarães dos Santos

Atividades biológicas da biomassa micelial de *Lentinus berteroi*

RESUMO:

Os fungos são uma fonte promissora de compostos fenólicos com potencial para a formulação de protetores solares, devido às suas características estruturais e propriedades antioxidantes. O fungo *Lentinus berteroi*, um basidiomiceto pertencente aos fungos de podridão branca da madeira, é conhecido por produzir metabólitos bioativos com atividades antiproliferativas e imunossupressoras. Contudo, ainda existem poucas informações sobre outras atividades biológicas desta espécie. Este estudo teve como objetivo investigar as atividades biológicas do micélio de *L. berteroi*, com foco no teor de compostos fenólicos e flavonoides, atividade antioxidante, potencial fotoprotetor e inibição da enzima tirosinase. A produção da biomassa micelial foi realizada por cultivo em meio líquido com extrato de malte, seguida de recuperação do micélio por filtração, secagem em estufa e trituração em nitrogênio líquido. O extrato hidroalcoólico foi utilizado para quantificar os compostos fenólicos totais pelo método de Folin-Ciocalteu, flavonoides por colorimetria com cloreto de alumínio, e a atividade antioxidante foi avaliada pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP. Além disso, a atividade anti-tirosinase foi medida pela inibição da oxidação da L-DOPA. Os resultados mostraram que o extrato de *L. berteroi* apresentou teor de fenóis e flavonoides totais de  $171,20 \pm 0,94$  mg EAG/g e  $143,56 \pm 1,80$  mg EQ/g, respectivamente. A atividade antioxidante foi determinada por diversos testes, com valores de IC<sub>50</sub> de  $142,90 \pm 3,56$  µg/mL para o teste DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazi),  $11,92 \pm 0,33$  µg/mL para o teste ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico), e um poder redutor de ferro FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) de  $23,72 \pm 0,51$  µmol Fe<sup>2+</sup>/g. A atividade anti-tirosinase foi expressa por valor de IC<sub>50</sub> de  $13,61 \pm 1,34$  µg/mL. Para a determinação do fator de proteção solar, o extrato foi analisado por espectrofotometria, revelando resultados promissores tanto para proteção anti-UVB quanto anti-UVA. Os resultados obtidos demonstraram que *L. berteroi* é uma fonte de compostos bioativos com grande potencial antioxidante, inibidor de tirosinase e promissor para aplicações em fotoproteção. Esse estudo contribui para o conhecimento sobre o fungo *L. berteroi*, com implicações para o desenvolvimento de produtos e processos biotecnológicos, ampliando as possibilidades de uso desse basidiomiceto em produtos cosméticos e farmacêuticos, especialmente em formulações de protetores solares.

**Palavras-chave:** Antioxidante. Fator de proteção solar. Fenóis. Melanina. Anti-tirosinase.

Maria Eduarda Guimarães dos Santos

Biological activities of the mycelial biomass of *Lentinus berteroi*

ABSTRACT:

Fungi are a promising source of phenolic compounds with potential for sunscreen formulation due to their structural characteristics and antioxidant properties. The fungus *Lentinus berteroi*, a basidiomycete belonging to the white rot wood fungi, is known for producing bioactive metabolites with antiproliferative and immunosuppressive activities. However, there is still limited information on other biological activities of this species. The aim of this study was to investigate the biological activities of the mycelium of *L. berteroi*, focusing on the content of phenolic compounds and flavonoids, antioxidant activity, photoprotective potential, and inhibition of the enzyme tyrosinase. The production of mycelial biomass was carried out by liquid cultivation in malt extract medium, followed by recovery of the mycelium through filtration, oven drying, and grinding in liquid nitrogen. The hydroalcoholic extract was used to quantify the total phenolic compounds using the Folin-Ciocalteu method, flavonoids by colorimetry with aluminum chloride, and antioxidant activity was evaluated using the DPPH, ABTS, and FRAP methods. Additionally, tyrosinase activity was measured by inhibiting the oxidation of L-DOPA. The results showed that the *L. berteroi* extract had total phenolic and flavonoid contents of  $171.20 \pm 0.94$  mg EAG/g and  $143.56 \pm 1.80$  mg EQ/g, respectively. The antioxidant activity was determined by several tests, with IC<sub>50</sub> values of  $142.90 \pm 3.56$  µg/mL for the DPPH test (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl),  $11.92 \pm 0.33$  µg/mL for the ABTS test (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)), and a Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) of  $23.72 \pm 0.51$  µmol Fe<sup>2+</sup>/g. The tyrosinase inhibitory activity was expressed by an IC<sub>50</sub> value of  $13.61 \pm 1.34$  µg/mL. To determine the sun protection factor, the extract was analyzed by spectrophotometry, revealing promising results for both anti-UVB and anti-UVA protection. The obtained results demonstrated that *L. berteroi* is a source of bioactive compounds with significant antioxidant potential, tyrosinase inhibition, and promising applications in photoprotection. This study contributes to the knowledge about *L. berteroi*, with implications for the development of biotechnological products and processes, expanding the possibilities for the use of this basidiomycete in cosmetic and pharmaceutical products, especially in sunscreen formulations.

**Keywords:** Antioxidant, Sun protection factor, Phenolics, Melanin, Anti-tyrosinase.

## CAPÍTULO I

### Atividades biológicas da biomassa micelial de *Lentinus berteroi*

#### RESUMO:

O fungo *Lentinus berteroi*, um basidiomiceto da podridão branca da madeira, é conhecido por produzir compostos bioativos com atividades antiproliferativas e imunossupressoras, mas poucos estudos exploram suas outras propriedades biológicas. Este estudo teve como objetivo investigar as propriedades do micélio de *L. berteroi*, com foco no teor de compostos fenólicos e flavonoides, atividade antioxidante, fotoproteção e inibição da enzima tirosinase. A biomassa micelial foi cultivada em meio líquido com extrato de malte, seguida de recuperação por filtração, secagem e trituração. O extrato hidroalcolólico foi utilizado para quantificar os compostos fenólicos totais e flavonoides, além de avaliar a atividade antioxidante nos testes DPPH, ABTS e FRAP. A inibição da tirosinase foi analisada pela oxidação da L-DOPA. Os resultados mostraram que o extrato de *L. berteroi* apresentou  $171,20 \pm 0,94$  mg EAG/g de compostos fenólicos e  $143,56 \pm 1,80$  mg EQ/g de flavonoides. A atividade antioxidante foi expressa por IC<sub>50</sub> de  $142,90 \pm 3,56$  µg/mL no teste DPPH e  $11,92 \pm 0,33$  µg/mL no ABTS. A inibição da tirosinase foi observada com IC<sub>50</sub> de  $13,61 \pm 1,34$  µg/mL. Além disso, a análise espectrofotométrica revelou que o extrato tem potencial fotoprotetor contra os danos causados pela radiação UVA e UVB. Este estudo destaca *L. berteroi* como uma fonte promissora de compostos bioativos, com grande potencial para aplicações antioxidantes e fotoprotetoras, especialmente para o desenvolvimento de produtos cosméticos e protetores solares.

**Palavras-chave:** Antioxidantes. Fator de proteção solar. Fenóis. Flavonoides. Anti-tirosinase.

## INTRODUÇÃO

Fungos basidiomicetos são amplamente utilizados como alimento devido às suas propriedades organolépticas e ao alto teor de nutrientes essenciais, fundamentais para uma dieta saudável. São excelentes fontes de aminoácidos, ácidos graxos, vitaminas, esteróis e minerais, que desempenham papéis vitais no funcionamento do organismo e na promoção da saúde (Ergönül *et al.*, 2013; Zhou *et al.*, 2019). Além disso, representam uma fonte promissora de compostos bioativos com potencial aplicação nas indústrias farmacêutica, cosmética, química e alimentícia (Lu *et al.*, 2020). Esses fungos produzem metabólitos secundários, como ácidos fenólicos, flavonoides, glucanas, peptídeos, terpenos e diversos ácidos graxos (Halabura *et al.*, 2023; Elkhateeb & Daba, 2024), conferindo-lhes propriedades antitumorais, imunomoduladoras, anti-inflamatórias (Wu *et al.*, 2024), antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas (Bertéli *et al.*, 2022), entre outras.

O micélio vegetativo pode ser uma fonte estratégica desses compostos. Isso porque a produção de micélio vegetativo *in vitro* em biorreatores é mais rápida, menos sujeita à contaminação, de fácil recuperação e o processo é escalonável, podendo representar uma opção para a produção de material rico em componentes bioativos (Berger *et al.*, 2022).

Compostos com potencial para aplicação como antioxidantes, fotoprotetores e clareadores da pele são uma demanda atual na indústria farmacêutica e de cosméticos, que têm uma produção cada vez maior de produtos a partir de extratos naturais (Martins *et al.*, 2023). Apesar do amplo conhecimento sobre o potencial antioxidante de extratos derivados de cogumelos (Łysakowska; Sobota; Wirkijowska, 2023; Varghese *et al.*, 2019), dados sobre o potencial fotoprotetor e clareador de extratos derivados de cogumelos (Lim *et al.*, 2022) e micélio (Saraswat; Mathur; Sanyal, 2020) são menos comuns.

Compostos naturais derivados de fungos como flavonoides, ácidos fenólicos e terpenoides têm sido explorados por suas propriedades fotoprotetoras devido à sua alta capacidade de absorção de ampla faixa de radiação ultravioleta (UV) (Oliveira *et al.*, 2021). Esses compostos também atuam reduzindo os danos induzidos pela radiação UV na pele, como o envelhecimento precoce e o risco de câncer cutâneo, ao neutralizar radicais livres produzidos como resultado da exposição solar e reduzirem a inflamação (Tropa *et al.*, 2024).

A tirosinase é uma enzima chave na biossíntese da melanina, responsável pela conversão da tirosina em dihidroxifenilalanina (DOPA) e pela oxidação da DOPA em dopaquinona que polimeriza formando a melanina (Slominski *et al.*, 2022). A tirosinase também é encontrada em vários alimentos como frutos e legumes. Diante de dano celular a tirosinase oxida monofenóis para as o-quinonas correspondentes, que polimerizam espontaneamente para formar pigmentos responsáveis pelo escurecimento enzimático indesejado em frutas e sucos e que afeta negativamente a qualidade e o valor econômico dos alimentos (Wen *et al.*, 2021).

Por isso, inibidores de tirosinase são um tópico de interesse e os extratos de cogumelos são considerados bons candidatos (Taofiq *et al.*, 2016). Compostos fenólicos têm demonstrado atividade anti-tirosinase, sugerindo seu potencial no controle da produção de melanina na pele e possível aplicação na indústria cosmética para o tratamento de hiperpigmentação cutânea e outros distúrbios relacionados à produção de melanina (Machado-Carvalho *et al.*, 2023). Além disso, podem ser utilizados na indústria de alimentos prevenindo o escurecimento (Moon *et al.*, 2020).

*Lentinus berteroi* (Fr.) Fr. (Polyporaceae), também conhecido como *Lentinus bertieri* (Fr.) Fr. é um fungo basidiomiceto produtor de cogumelos comestíveis que fazem parte da dieta tradicional de povos Yanomami da Amazônia brasileira (Nishikido, 2019). Este fungo produz metabólitos secundários bioativos com atividades antiproliferativas e imunossupressoras (ROSA *et al.*, 2009). Assim como outras espécies do gênero *Lentinus*, *L. berteroi* é um fungo da podridão branca da madeira, capaz de produzir um conjunto de enzimas para degradação dos componentes da parede celular vegetal (Negrão *et al.*, 2014; Polesso *et al.*, 2022), além da produção de enzima para degradação de fatores antinutricionais como o fitato (Batistela *et al.*, 2023). As ligninases de *L. berteroi* foram capazes de promover a descoloração de corantes e a detoxificação de efluentes coloridos (Moreira-Neto *et al.*, 2013). Porém, há escassez de estudos referentes às atividades biológicas desta espécie, especialmente em relação ao teor de compostos fenólicos, atividade antioxidante, fator de proteção solar e inibição da enzima tirosinase. Investigar as atividades biológicas do micélio de *L. berteroi* é importante, pois pode contribuir para o desenvolvimento de produtos e processos de interesse biotecnológico, além de ampliar o conhecimento sobre essa espécie ainda pouco explorada na literatura científica.

O objetivo deste estudo foi investigar as atividades biológicas do micélio do fungo *Lentinus berteroi*, incluindo a quantificação do teor de fenóis e flavonoides totais e

identificação dos compostos fenólicos, determinação da atividade antioxidante, avaliação do fator de proteção solar (FPS) *in vitro* e investigação da capacidade de inibição da enzima tirosinase.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Cultivo para produção de inóculo**

O basidiomiceto *Lentinus berteroi* (U21-2), pertencente à coleção de culturas do Laboratório de Biologia Molecular da UNIPAR, Umuarama-Paraná, foi utilizado neste estudo. A linhagem foi cultivada em meio sólido ágar-extrato-de-malte (AEM) a 20 g/L a  $28 \pm 1$  °C, na ausência de luz, para a produção de inóculo. Seis discos de 6 mm de diâmetro, contendo micélio sem setoriamento, foram utilizados para inocular os meios de cultivo líquido.

### **Cultivo em meio líquido para produção de biomassa micelial**

O cultivo para produção de micélio vegetativo foi realizado em frascos Erlenmeyer (250 mL), contendo 100 mL de meio líquido extrato de malte (20 g/L), previamente autoclavado (121 °C por 20 minutos) (Halabura *et al.*, 2023). Após a inoculação, os frascos foram mantidos por 21 dias a  $28 \pm 1$  °C em estufas BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio), na ausência de luz.

A biomassa micelial foi separada do meio no último dia de cultivo. O micélio foi recuperado por filtração e mantido em estufa com circulação de ar a 60 °C até a massa constante. Após a secagem, a biomassa foi congelada em nitrogênio líquido e triturada em almofariz até a obtenção de um pó fino, que foi utilizado para a obtenção dos extratos.

### **Produção de extratos miceliais**

Os extratos foram produzidos segundo Saltarelli *et al.* (2009). Uma amostra de 3 g de biomassa seca e pulverizada foi adicionada à 15 mL de uma solução etanol:água (80:20, v/v), e a mistura foi mantida a 50 °C por 60 minutos. A mistura foi centrifugada a 4400 g por 20 minutos e o sobrenadante foi transferido para um novo tubo. O precipitado foi submetido a mais uma extração com etanol:água e centrifugado conforme descrito. Os sobrenadantes das duas extrações foram combinados e mantidos a -20°C até o momento das análises (Halabura *et al.*, 2023).

### **Quantificação de fenóis totais**

A quantificação de compostos fenólicos no extrato hidroalcoólico do micélio foi realizada pelo método Folin-Ciocalteau (Singleton; Orthofer; Lamuela-Raventós, 1999).

O extrato a 100 mg/mL foi diluído em etanol:água (80:20, v/v) até concentrações de 20, 40, 60 e 80 mg/mL, sendo 100 mg/mL a máxima concentração avaliada. Uma alíquota de 0,3 mL foi misturada com 2,5 mL de solução aquosa do reagente Folin-Ciocalteu 10% (v/v) e 2,0 mL de carbonato de sódio 7,5 g/L. A mistura foi mantida a 50 °C por 15 minutos, e a variação da absorvância foi determinada a 760 nm em leitor de microplacas SpectraMax Plus 384 (Molecular Devices, San Jose, EUA). A mistura de etanol e água foi utilizada como controle analítico. As concentrações de fenóis foram calculadas a partir de uma curva padrão de ácido gálico (10 - 700 µM), e os resultados foram expressos em µg equivalentes de ácido gálico (EAG) por mg de micélio.

### **Quantificação de flavonoides totais**

O teor de flavonoides totais dos extratos dos micélios foi determinado pelo método colorimétrico com cloreto de alumínio, segundo Alves e Kubota (2013). Os extratos foram ressuspensos em etanol: água (80:20 v/v) para obtenção a 40, 60 e 80 mg/mL, sendo 100 mg/mL a maior concentração avaliada. Uma alíquota de 0,5 mL de extrato foi misturada a 0,5 mL de solução de cloreto de alumínio 2% (m/v) em metanol e mantida à temperatura ambiente por 10 minutos. A variação da absorvância foi determinada a 425 nm em leitor de microplacas SpectraMax Plus 384 (Molecular Devices, San Jose, EUA). A solução de cloreto de alumínio foi usada como controle analítico. A concentração de flavonoides foi calculada de acordo com curva padrão de quercetina (5 – 40 µg/mL). Os resultados foram expressos em µg equivalentes de quercetina (EQ) por 100 mg de extrato de micélio.

### **Identificação de compostos fenólicos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência**

A identificação dos compostos fenólicos foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) utilizando-se um sistema Shimadzu (LC-20A Prominence) acoplado a um detector UV-Vis (Shimadzu, SPD-20A), no Departamento de Bioquímica, no Campus de Umuarama da Universidade Estadual de Maringá (UEM). O extrato (40 mg/mL) foi filtrado em membrana com poros de 0,22 µm e uma amostra de 20 µL foi injetada no equipamento. Os compostos foram detectados a 280 e 320 nm, segundo Palacios *et al.* (2011). Empregou-se um gradiente de solventes composto por uma fase móvel composta pelo solvente A (ácido acético glacial 0,1% em água) e solvente B (ácido acético glacial 0,1% em acetonitrila).

O gradiente foi executado conforme o seguinte perfil: inicialmente foi empregado 100% de solvente A; no intervalo de 0 a 2 minutos, a composição foi ajustada para 95% de solvente A e 5% de solvente B; em seguida, entre 2 e 27 minutos, a proporção foi de 70% de solvente A e 30% de solvente B; no intervalo de 27 a 50 minutos, a composição foi alterada para 10% de solvente A e 90% de solvente B; em seguida, durante 50 a 60 minutos, foi utilizado 100% de solvente B; finalmente, no período de 60 a 63 minutos, a composição retornou a 100% de solvente A. Durante todo o processo cromatográfico, o fluxo foi mantido constante a 1 mL/min, e temperatura mantida a 40 °C.

Os compostos fenólicos foram caracterizados de acordo com seus espectros UV e tempos de retenção e comparados com padrões autênticos. Para análise quantitativa, curvas de calibração foram preparadas utilizando os diferentes compostos padrão (ácido benzoico, ácido gálico, ácido *p*-cumárico, ácido protocatecuico, ácido siríngico; catequina, miricetina, quercetina e vanilina) e os resultados foram expressos em µg/g de micélio (base seca).

### **Determinação da atividade antioxidante**

A determinação da atividade antioxidante dos extratos do micélio foi conduzida pelos métodos de sequestro dos radicais livres DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e ABTS•+ (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolína-6- sulfônico)) e pelo método de redução de ferro (FRAP, do inglês *Ferric Reducing Antioxidant Power*).

#### *Método DPPH*

Os extratos foram diluídos em etanol:água (80:20 v/v) até concentrações de 20, 40, 60 e 80 mg/mL, sendo 100 mg/mL a máxima concentração avaliada. Uma alíquota de 0,01 mL foi misturada a 0,29 mL de DPPH (60 µM), preparado em metanol no momento do uso. A mistura foi mantida por 30 minutos a 22 °C no escuro. A variação da absorvância foi medida a 515 nm em leitor de microplacas SpectraMax Plus 384 (Molecular Devices, San Jose, EUA). Um controle analítico foi preparado substituindo-se o extrato por 0,01 mL de etanol. A quantidade de amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH (effective concentration = EC<sub>50</sub>) foi calculada (Rufino *et al.*, 2007a).

### *Método ABTS•+*

A atividade antioxidante foi determinada conforme descrito por Rufino *et al.* (2007b). A solução de ABTS foi preparada pela mistura de 5 mL de ABTS 7 mM e 0,088 mL de persulfato de potássio 140 mM. A solução foi mantida no escuro a 25°C por 16 h. O radical foi diluído em etanol a 95% e a absorvância foi ajustada para  $0,7 \pm 0,05$  nm em comprimento de onda de 734 nm. As reações foram preparadas misturando-se a solução de ABTS•+ e extrato e mantidas no escuro à temperatura ambiente por 30 min. A absorvância foi determinada a 734 nm em leitor de microplacas SpectraMax Plus 384 (Molecular Devices, San Jose, EUA) e o percentual de atividade antioxidante foi calculado em relação à curva padrão de Trolox (0 - 2000  $\mu$ M). Foi determinada a quantidade de amostra necessária para reduzir em 50% a concentração do ABTS•+ (*effective concentration* = EC<sub>50</sub>).

### *Método de redução do ferro (FRAP)*

Inicialmente, foi preparado o reagente FRAP, misturando-se 25 mL de tampão acetato (300 mM, pH 3,6), 2,5 mL de solução aquosa de TPTZ (2,4,6-Tri(2-piridil)-s-triazina, 10 mM) e 2,5 mL de solução aquosa de cloreto ferroso (20 mM). O extrato hidroalcoólico (10  $\mu$ L) foi adicionado a 290  $\mu$ L de reagente FRAP, homogeneizado vigorosamente e mantido a 37 °C por 30 minutos. A absorvância foi determinada a 595 nm em leitor de microplacas SpectraMax Plus 384 (Molecular Devices, San Jose, EUA), e o percentual de atividade antioxidante foi calculado em relação à curva padrão de sulfato ferroso (2000  $\mu$ M) (Rufino *et al.*, 2006).

### **Determinação da atividade anti-tirosinase**

A determinação do potencial do extrato em inibir a oxidação da L-DOPA em dopacromo pela tirosinase foi avaliada segundo Macrini *et al.* (2009) com modificações. A tirosinase (EC 1.14.18.1) foi diluída em tampão fosfato (100 mM, pH 6,8) até a concentração de 250 U/mL. As reações enzimáticas foram preparadas utilizando-se L-DOPA (0,5 mg/mL em tampão fosfato) como substrato enzimático. Em placas de 96 poços foram adicionados 40  $\mu$ L de extrato, 80  $\mu$ L de tampão fosfato e 40  $\mu$ L de tirosinase. As placas foram mantidas a 30 °C por 15 min, em seguida 40  $\mu$ L de solução de L-DOPA foram adicionados e após 10 min a absorvância foi determinada a 475 nm em leitor de microplacas SpectraMax Plus 384 (Molecular Devices, San Jose, EUA). A mistura de

todos os componentes reacionais menos o extrato e a mistura de todos os componentes menos o substrato foi utilizado como controles analíticos. O ácido kójico foi usado como controle positivo. A porcentagem de inibição da tirosinase foi determinada segundo a equação (1):

$$\% \text{ de inibição} = \frac{(AbsC - AbsE)}{AbsC} \times 100 \quad (1)$$

Onde: AbsC = absorvância do controle positivo e AbsE = absorvância da amostra com extrato.

### **Determinação do fator de proteção solar *in vitro***

O extrato foi utilizado na determinação do fator de proteção solar (Oliveira et al., 2021). O extrato foi diluído em etanol para obtenção de concentrações de 0,2, 2, 5, 10 e 15 mg/mL. A absorvância de cada diluição foi determinada em três repetições nos comprimentos de onda de 290 a 320 nm, com incrementos de 5 nm, em leitor de microplacas SpectraMax Plus 384 (Molecular Devices, San Jose, EUA). O etanol foi usado como controle analítico. O cálculo do valor do FPS foi baseado na equação (2):

$$FPS = CF \sum_{290}^{320} EE(\lambda) I(\lambda) Abs(\lambda) \quad (2)$$

Onde:

CF = 10 (fator de correção)

EE( $\lambda$ ) = espectro de efeito eritematoso

I( $\lambda$ ) = espectro de intensidade solar

Abs( $\lambda$ ) = absorvância da amostra no comprimento de onda  $\lambda$

Os valores de EE( $\lambda$ ) x I( $\lambda$ ) são constantes (Mansur *et al.*, 1986).

### **Determinação da razão UVA/UVB e comprimento de onda crítico**

A razão UVA/UVB é a razão entre a área abaixo da curva do espectro de absorção UVA (320–400 nm) e a área abaixo da curva do espectro de absorção UVB (290–320 nm) (Wu *et al.*, 2020). Quanto mais próxima a proporção estiver da unidade, maior será a classificação de proteção anti-UVA.

Para determinação da razão UVA/UVB o extrato foi diluído em etanol:água (80:20) para obtenção de concentrações de 10, 20, 40, 60, 80 mg/mL e 100 mg/mL. O espectro de absorção de cada diluição foi determinado em triplicata nos comprimentos de onda de 290 a 400 nm, com incrementos de 5 nm, em leitor de microplacas SpectraMax Plus 384 (Molecular Devices, San Jose, EUA). O etanol foi usado como controle analítico. As razões UVA/UVB foram calculadas de acordo com a equação (3):

$$UVA/UVB = \frac{\int_{320}^{400} A(\lambda)d(\lambda) / \int_{320}^{400} d(\lambda)}{\int_{290}^{320} A(\lambda)d(\lambda) / \int_{290}^{320} d(\lambda)} \quad (3)$$

Onde:

$A(\lambda)$  é a absorvância média em cada comprimento de onda

$d(\lambda)$  é o intervalo de comprimento de onda entre as medições

Os extratos foram classificados de acordo com os níveis de proteção anti-UVA do sistema *Boot's star rating* (Boots, 2008), conforme descrito na Tabela 1.

**Tabela 1.** Graus de proteção anti-UVA segundo o sistema *Boot's star rating*.

		<b>Limites UVA/UVB</b>					
		0 – 0,2	0,21 – 0,4	0,41 – 0,6	0,61 – 0,8	0,81 – 0,9	> 0,91
Proteção anti-UVA	Muito baixa	Moderada	Boa	Superior	Máxima	Ultra	

O espectro de absorção também foi utilizado na determinação do comprimento de onda crítico, que representa o comprimento de onda abaixo do qual se encontra 90% da curva de absorvância. Comprimento de onda crítico maior ou igual a 370 nm indica proteção solar de amplo espectro (Wang *et al.*, 2008).

### **Análise estatística**

Os ensaios seguiram o delineamento inteiramente casualizado (DIC), consistindo de um tratamento com 50 repetições para a produção de biomassa. Todos os ensaios analíticos foram conduzidos em três repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as diferenças entre as médias ( $p \leq 0,05$ ) foram determinadas pelo teste de Scott-Knott, com auxílio do software Sisvar 5.6 (Ferreira, 2014). Determinou-se o coeficiente de correlação de Pearson ( $r$ ) entre a concentração de extrato e o percentual de inibição da tirosinase, o FPS e a razão UVA/UVB.

## **RESULTADOS:**

### **Cultivo em meio líquido para produção de biomassa micelial**

O cultivo submerso de micélio vegetativo oferece uma alternativa eficiente para a produção de biomassa micelial, permitindo a obtenção mais rápida de substâncias biotecnológicas e eliminando a necessidade de esperar pelos corpos de frutificação. Essa abordagem facilita a recuperação do micélio e possibilita a identificação de compostos bioativos com perfis químicos distintos dos encontrados nos cogumelos (Rathore et al., 2019; Corrêa et al., 2015; Vallavan et al., 2020). Embora o cultivo de cogumelos seja afetado por fatores sazonais e exigências rigorosas de temperatura, umidade e gás carbônico (Redin, 2021; Berger et al., 2022), o cultivo submerso pode superar essas limitações. Contudo, faltam dados sobre o cultivo e produção de cogumelos de espécies nativas dos biomas brasileiros, destacando a necessidade de mais estudos para ampliar as possibilidades biotecnológicas dessas espécies.

### **Fenóis e flavonoides totais nos extratos do micélio**

A quantificação de fenóis totais na biomassa micelial de *L. berteroi* resultou em  $1711,72 \pm 9,40$   $\mu\text{g}$  EAG/g de biomassa seca. Já a determinação do teor de flavonoides totais resultou em concentração de flavonoides de  $1435,66 \pm 18,10$   $\mu\text{g}$  EQ/g de biomassa seca.

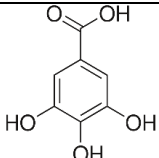
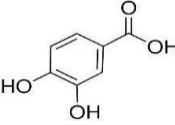
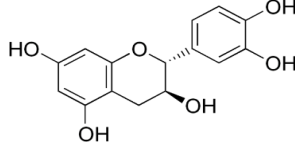
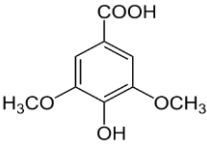
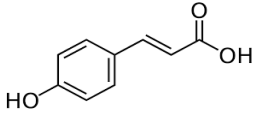
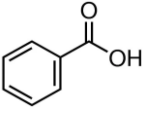
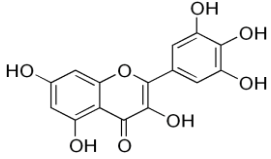
A análise do extrato hidroalcoólico do micélio de *L. berteroi* por CLAE permitiu a identificação e quantificação de ácidos fenólicos e flavonoides (Tabela 2). Ao todo foram identificados cinco ácidos fenólicos e três flavonoides. O ácido protocatecuico foi o composto com maior concentração no extrato ( $310,19 \pm 24,85$   $\mu\text{g/g}$ ).

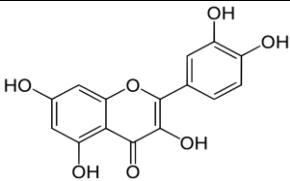
### **Atividades antioxidantes dos extratos da biomassa micelial**

Os resultados da atividade antioxidante do extrato de *L. berteroi* estão descritos na Tabela 3. Estes resultados são os primeiros a relatar a atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico da biomassa micelial de *L. berteroi*. A atividade antioxidante pelo método FRAP foi a mais expressiva, indicando poder redutor 2,2 vezes superior ao controle positivo Trolox. A capacidade do extrato da biomassa em sequestrar radicais DPPH• e ABTS•+ foi menor que os controles positivos quercetina e Trolox. Este resultado era esperado uma vez que os compostos usados como controle positivo são compostos

isolados com elevada atividade antioxidante, enquanto o extrato do micélio é uma mistura complexa.

**Tabela 2.** Compostos fenólicos identificados no extrato hidroalcoólico de *Lentinus berteroi* U21-2 por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

Composto	TR (min)	Estrutura	Concentração ( $\mu\text{g/g}$ de biomassa seca)
Ácido gálico	8,460		$108,00 \pm 6,30$
Ácido protocatecuico	11,549		$310,19 \pm 24,85$
Catequina	15,371		$12,84 \pm 0,88$
Ácido siríngico	17,800		$8,84 \pm 0,54$
Ácido <i>p</i> -cumárico	21,223		$5,31 \pm 0,15$
Ácido benzóico	24,696		$37,21 \pm 0,25$
Miricetina	28,203		$8,00 \pm 0,08$

Quercetina	32,873		171,12 ± 9,17
------------	--------	---	---------------

TR= tempo de retenção.

**Tabela 3.** Atividade antioxidante do extrato da biomassa micelial de *Lentinus berteroi* U21-2 determinada pelos métodos poder antioxidante redutor de íon férrico (FRAP) e de captura dos radicais livres 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•) e 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS•+).

Método	Atividade antioxidante	Controle positivo
FRAP ( $\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g}$ )	23,72 ± 0,51	Trolox = 10,5 ± 0,9
DPPH• (IC <sub>50</sub> ) (mg/mL)	35,42 ± 1,12	Quercetina = 0,02 ± 0,1
ABTS•+ (IC <sub>50</sub> ) (mg/mL)	11,78 ± 1,10	Trolox = 0,003 ± 0,0

Os resultados são expressos como média ± desvio padrão de três repetições. IC<sub>50</sub> = metade da concentração inibitória máxima.

#### Atividade anti-tirosinase dos extratos da biomassa micelial

O potencial do extrato de *L. berteroi* inibir a atividade da tirosinase foi determinado e os resultados encontram-se na Tabela 4. Estes são os primeiros relatos da atividade anti-tirosinase de *L. berteroi*. O índice de correlação de Pearson demonstrou uma correlação positiva muito forte ( $r = 0,96$ ) entre a concentração de extrato e o percentual de inibição da tirosinase, indicando que quanto maior a concentração do extrato, maior a inibição da enzima. O extrato foi avaliado em concentrações entre 4 e 20 mg/mL e a porcentagem média de inibição enzimática variou de 63,48% a 79,57%, respectivamente. A maior concentração de extrato inibiu a tirosinase significativamente com redução de  $79,27 \pm 1,52$  % na atividade enzimática.

A  $IC_{50}$  do extrato do micélio ( $13,61 \pm 1,34$  mg/mL) foi superior à do controle positivo ácido kójico. Contudo, é importante destacar que mesmo sendo uma mistura complexa de compostos e não um composto isolado, a inibição da enzima foi superior a 60%, mesmo na menor concentração.

**Tabela 4.** Atividade anti-tirosinase do extrato hidroalcolico da biomassa micelial de *Lentinus berteroi* U21-2.

Extrato (mg/ml)	Inibição da tirosinase (%)
4	$63,48 \pm 0,22^d$
8	$62,30 \pm 0,25^d$
12	$70,20 \pm 0,75^c$
16	$74,95 \pm 1,11^b$
20	$79,57 \pm 1,52^a$
<b><math>IC_{50}</math> (mg/ml)</b>	<b><math>13,61 \pm 1,34</math></b>

Os resultados são a média  $\pm$  desvio padrão de três repetições. Médias indicadas por letras diferentes diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ ) de acordo com o teste de Scott-Knott.  $IC_{50}$  = metade da concentração inibitória máxima. Ácido kójico (controle positivo):  $IC_{50} = 0,004 \pm 0,001$  mg/mL; % inibição a 0,005 mg/mL =  $82,0 \pm 0,6\%$

#### *Fator de proteção solar (FPS) in vitro dos extratos da biomassa micelial*

Os resultados desse estudo são os primeiros a reportar a capacidade de proteção contra raios UV do extrato micelial de *L. berteroi*. Os resultados da determinação do FPS, razão UVA/UVB e comprimento de onda crítico do extrato do micélio encontram-se na Tabela 5.

Os valores de FPS variaram de 7,77 (10 mg/mL) a 39,34 ( $\geq 60$  mg/mL). O índice de correlação de Pearson demonstrou uma correlação positiva forte ( $r = 0,87$ ) entre a concentração de extrato e o FPS, indicando que quanto maior a concentração do extrato, maior a proteção contra raios UVB (290 – 320 nm), intervalo de absorvância usado na determinação do FPS. Em concentrações de extrato superiores a 60 mg/mL o FPS não apresentou diferenças significativas, alcançando o limite de determinação do teste *in vitro* com 80 mg/mL de extrato.

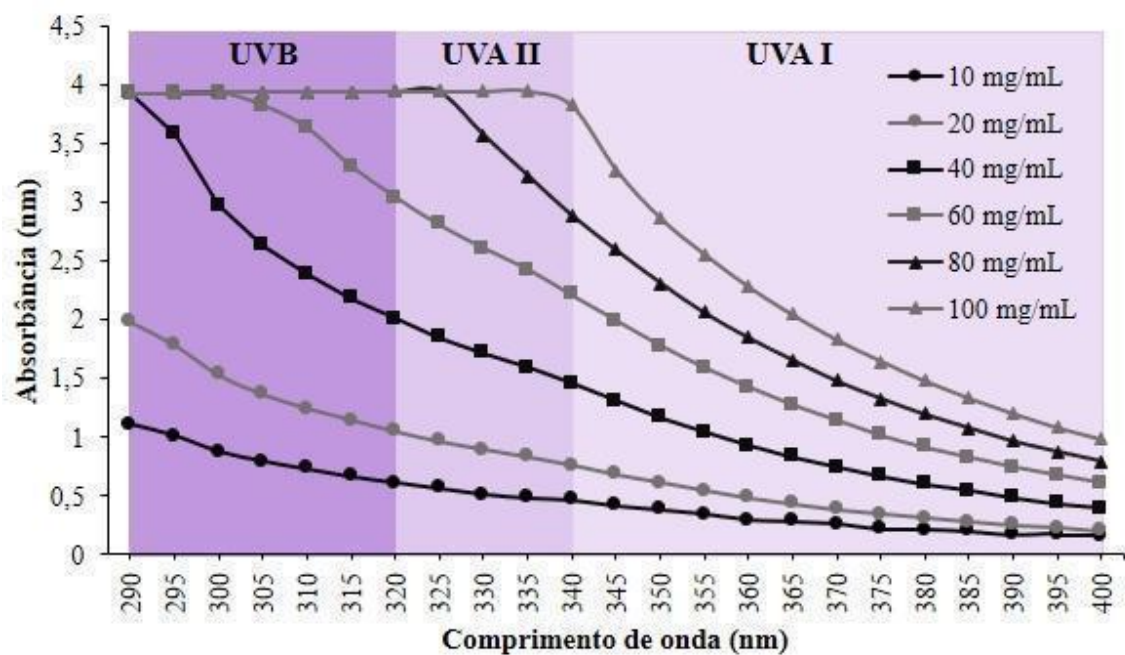
**Tabela 5.** Fator de proteção solar (FPS), razão UVA/UVB, proteção anti-UVA e comprimento de onda crítico do extrato do extrato micelial de *Lentinus berteroi* U21-2.

<b>Extrato (mg/mL)</b>	<b>FPS</b>	<b>Razão UVA/UVB</b>	<b>Proteção anti-UVA</b>	<b>Comprimento de onda crítico (nm)</b>
10	7,77 ± 0,29 <sup>d</sup>	1,07 ± 0,12 <sup>c</sup>	Ultra	368
20	18,83 ± 2,76 <sup>c</sup>	1,00 ± 0,00 <sup>d</sup>	Ultra	368
40	33,26 ± 0,62 <sup>b</sup>	0,98 ± 0,00 <sup>d</sup>	Ultra	365
60	39,21 ± 0,11 <sup>a</sup>	1,14 ± 0,02 <sup>c</sup>	Ultra	370
80	39,34 ± 0 <sup>a</sup>	1,41 ± 0,01 <sup>b</sup>	Ultra	370
100	39,34 ± 0 <sup>a</sup>	2,68 ± 0,02 <sup>a</sup>	Ultra	373

Os resultados são a média ± desvio padrão de três repetições. Médias na mesma coluna indicadas por letras distintas diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ ) de acordo com o teste de Scott-Knott. Classificação da proteção anti-UVA segundo o *Boot's star rating* (Boots, 2008). Comprimento de onda crítico  $\geq 370$  nm indica proteção solar de amplo espectro.

A razão UVA/UVB do extrato de *L. berteroi* variou de 1,07 (10 mg/mL) a 2,68 (100 mg/mL) (Tabela 5), permitindo a classificação das diferentes concentrações quanto à proteção anti-UVA como ultra proteção (razão UVA/UVB  $>0,91$ ). A correlação de Pearson entre a concentração e a razão UVA/UVB foi positiva muito forte ( $r = 0,89$ ), indicando que quanto maior a concentração do extrato de *L. berteroi*, maior a proteção contra raios UVA (320 – 400 nm).

O comprimento de onda crítico é usado para classificar a proteção solar como amplo espectro. Comprimento de onda crítico igual ou superior a 370 nm indica proteção solar de amplo espectro (Wang *et al.*, 2008). Os extratos de *L. berteroi* com concentração igual ou superior a 60 mg/mL apresentaram comprimento de onda crítico  $\geq 370$  nm (Tabela 5), indicando o amplo espectro de proteção antirradiação UV do extrato micelial de *L. berteroi*.



**Figura 1.** Espectro de absorção de diferentes concentrações do extrato de *Lentinus berteri* nos comprimentos de onda da radiação ultravioleta.

## DISCUSSÃO

Há uma deficiência significativa na literatura quanto às atividades biológicas de *L. berteroi*. Sabe-se que ele é capaz de produzir metabólitos secundários bioativos com atividades antiproliferativas e imunossupressoras (Rosa *et al.*, 2009) e capaz de produzir um conjunto de enzimas para degradação dos componentes da parede celular vegetal (Negrão *et al.*, 2014; Polesso *et al.*, 2022), além da produção de enzima para degradação de fatores antinutricionais como o fitato (Batistela *et al.*, 2023). As ligninases de *L. berteroi* são capazes de promover a descoloração de corantes e a detoxificação de efluentes coloridos (Moreira-Neto *et al.*, 2013).

Este trabalho é inovador na investigação das propriedades biológicas dessa espécie com foco em aplicações biotecnológicas, destacando seu potencial para uso em diferentes setores industriais. Nele são apresentados os níveis de compostos fenólicos totais e flavonoides na biomassa desse basidiomiceto, bem como sua atividade antioxidante, capacidade de proteção solar e potencial para inibir as enzimas tirosinase.

### **Cultivo em meio líquido para produção de biomassa micelial**

O cultivo submerso de micélio vegetativo ao invés do cultivo de cogumelos, é uma alternativa para a obtenção de substâncias de interesse biotecnológico. Essa abordagem permite a produção de biomassa micelial em menor tempo, eliminando a necessidade de aguardar o desenvolvimento dos corpos de frutificação (Rathore *et al.*, 2019). Outra vantagem é a possibilidade de recuperar de forma simples o micélio produzido (Corrêa *et al.*, 2015). Além disso, os metabólitos sintetizados pelo micélio muitas vezes apresentam perfis químicos distintos daqueles encontrados nos cogumelos, abrindo novas perspectivas para a identificação de compostos bioativos (Vallavan *et al.*, 2020). O atual trabalho demonstra que a biomassa micelial tem aplicação biotecnológica, atividades biológicas de interesse biotecnológico

Cogumelos são fungos que possuem corpo de frutificação visível a olho nu (Redin, 2021). A coleta ou o cultivo de cogumelos são limitados pela sazonalidade e pela necessidade de controle rigoroso de temperatura, umidade e teor de gás carbônico (Berger *et al.*, 2022). Vargas-Isla e Ishikawa (2008) ressaltam que a maioria dos fungos decompositores de madeira em regiões temperadas possuem um intervalo de temperatura ideal entre 25°C e 30°C, dificultando seu cultivo e produção de cogumelos sem controle

ambiental rigoroso como temperatura, teor de gás carbônico, umidade e luminosidade. Porém, dados sobre o cultivo e a produção de cogumelos de espécies nativas dos biomas brasileiros são escassos.

### **Compostos fenólicos da biomassa micelial**

Diversos níveis e tipos de compostos fenólicos podem ser observados entre diferentes espécies fúngicas e em distintos estágios de desenvolvimento como micélio e basidiocarpo (Halabura *et al.*, 2023). Em uma revisão da literatura Cogumelos contêm grandes quantidades de polifenóis, com concentrações na faixa de 6,25 a 3,62 mg/mL (RAMESH; PATTAR, 2010; YAGI, 1970).

Neste estudo, a análise dos fenóis totais revelou que o extrato de *L. berteroi* contém  $1711,72 \pm 9,40$  µg EAG/g de biomassa micelial seca. O composto fenólico identificado por CLAE mais abundante no extrato micelial hidroalcoólico de *L. berteroi* foi o ácido protocatecuico ( $310,19 \pm 24,85$  µg/g). De acordo com estudos, os cogumelos contêm compostos fenólicos, particularmente, ácido *p*-cumárico, *p*-hidroxibenzóico e ácido protocatecuico capazes de eliminar radicais livres (Finimundy *et al.*, 2018). Nesse contexto, os resultados estão alinhados com os dados já relatados na literatura sobre os cogumelos de maneira geral.

Comparando os resultados obtidos com achados referentes a outras espécies de cogumelos *Yanomamis*, os dados deste estudo corroboram com os demais relatos de que esses fungos produzem compostos fenólicos. Os resultados obtidos neste estudo com *L. berteroi* são similares inferiores aos obtidos para os extratos hidroalcoólicos da biomassa micelial de *L. crinitus* ( $2200 \pm 20$  µg EAG/g) (Halabura *et al.*, 2023). O extrato etanólico micelial de *L. berteroi* apresenta maior teor de fenóis totais em comparação a *Panus strigellus* com  $1622,0 \pm 5,93$  µg EAG/g (Ribeiro, 2024). A concentração encontrada de fenóis  $1711,72 \pm 9,40$  µg EAG/g de biomassa micelial seca é significativa.

### **Flavonoides na biomassa micelial**

A biomassa micelial apresentou teor de flavonoides de  $1435,66 \pm 18,10$  µg EQ/g de biomassa seca. Não há registros anteriores na literatura sobre os níveis de flavonoides na biomassa micelial de *L. berteroi*, sendo este estudo o primeiro a relatar resultados nessa área. Apesar deste método de determinação de flavonoides não avaliar diretamente a

capacidade antioxidante, ele possibilita a quantificação deste grupo específico de compostos fenólicos (Silva, 2015). Comparando nossos resultados com achados referentes a outras espécies de fungos, o extrato etanólico micelial de *L. berteroi* apresenta menor teor de flavonoides em comparação ao extrato *Boletus edulis* (4320 µg ECE/g extrato) e ao extrato *A. cylindracea* (13,8 - 15,9 mg ECE/g extrato) (Silva, 2015).

Os flavonoides são polifenóis resultantes da metabolização secundária de plantas utilizando-se do mecanismo de biossíntese através da via dos fenilpropanoides (SIMÕES *et al.*, 2000) e definidos quimicamente como substâncias compostas por um núcleo comum de fenilcromanona com substituição em uma ou mais hidroxilas, incluindo derivados ligados à açúcares. Esses compostos têm tido destaque devido a sua diversidade de ações terapêuticas (BIRT, HENDRICH, WANG, 2001; MACHADO, 2008; MORAES, 2022).

Assim como com os fenóis, a quantidade de flavonoides em um extrato é importante para avaliar seu potencial antioxidante os resultados obtidos sobre os fenóis  $171,20 \pm 0,94$  mg EAG/g e flavonoides  $143,56 \pm 1,80$  mg EQ/g no extrato do micélio de *L. berteroi* mostram seu potencial como uma fonte rica de compostos bioativos com propriedades antioxidantes.

### **Atividade antioxidante dos extratos da biomassa micelial**

Extratos derivados de fungos representam uma fonte promissora devido às suas atividades biológicas diversificadas, incluindo potencial antioxidante (Smith; Doyle; Murphy, 2015). Os cogumelos têm sido estudados pela sua atividade anticancerígena, imunomodulador e antioxidante (Seo *et al.*, 2019). Propriedades antioxidantes são relatadas em uma ampla gama de cogumelos, e os compostos antioxidantes podem ser encontrados desde os corpos de frutificação até o micélio e meio de cultivo (Sánchez, 2017). Metabólitos secundários produzidos pelos cogumelos possuem grande importância farmacêutica, produzindo atividade antitumoral, antiviral, anti-inflamatória, imunomoduladora, antimicrobianas, efeito cardioprotetor, antiparasitário e antioxidante (Santos; Carvalho, 2021).

No método ABTS a atividade antioxidante apresentou IC<sub>50</sub> foi de  $11,92 \pm 0,33$  mg/mL, indicando que o extrato possui uma boa capacidade antioxidante comparando a outras espécies como *Pleurotus ostreatoroseus* o ABTS tem uma média de  $98,21 \pm 11,47$  mg/mL, *Lentinula edodes*  $53,29 \pm 5,04$  mg/mL (Sousa, 2012) os resultados deste estudo

são aparentemente superiores, porém, a comparação é limitada pela variedade de métodos utilizados para obtenção de extratos.

No ensaio de captura do radical livre DPPH•, o extrato micelial de *L. berteroi*, apresentou  $IC_{50} = 142,90 \pm 3,56$  mg/mL. Os resultados obtidos neste estudo são superiores em comparação ao *Agaricus bisporus*  $IC_{50} = 484 \pm 7$  mg/mL (Sousa, 2012). Este valor de  $IC_{50}$  representa a concentração do extrato necessária para reduzir pela metade a atividade do radical DPPH, sendo que valores menores de  $IC_{50}$  refletem uma maior eficácia antioxidante.

A atividade antioxidante determinada por meio do método FRAP avalia exclusivamente a capacidade de um composto antioxidante transferir um elétron individual para reduzir íons férricos e tem sido utilizada na determinação da capacidade antioxidante de alimentos, bebidas, fluidos biológicos e extratos vegetais e fúngicos (Prior; Wu; Schaich, 2005). O teste FRAP foi realizado para avaliar a capacidade antioxidante do extrato micelial de *L. berteroi*, que foi capaz de reduzir o ferro férrico ( $Fe^{3+}$ ) a ferroso ( $Fe^{2+}$ ).

O valor obtido para a atividade antioxidante foi de  $23,72 \pm 0,51$   $\mu\text{mol } Fe^{2+}/g$ , indicando que, para cada grama de extrato, houve a formação de 23,72 micro mols de  $Fe^{2+}$ . A medição foi realizada utilizando concentrações conhecidas de sulfato ferroso para a curva padrão, que mostrou uma relação direta entre a concentração de  $Fe^{2+}$  e a absorbância, permitindo calcular a atividade antioxidante do extrato. Esse valor sugere que o extrato possui um potencial antioxidante significativo, especialmente quando comparado a outros estudos. Quando comparados com outras espécies de gêneros distintos, nossos resultados foram superiores aos encontrados no estudo de Ribeiro (2024), que avaliou a biomassa de *P. strigellus* e obteve um valor de  $10,13 \pm 0,13$   $\mu\text{mol } Fe^{2+}/g$  de biomassa micelial. Esses dados reforçam o potencial antioxidante do extrato de *L. berteroi* em comparação com outras espécies de fungos.

Além disso, a maior eficácia do extrato do micélio de *L. berteroi* em sequestrar radicais livres em comparação com outros basidiomicetos, como *Hemileccinum epilatium* e *Neoboletus erythropus*, sublinha a relevância do micélio como uma fonte promissora de antioxidantes. O micélio, devido à sua capacidade de ser cultivado em grandes quantidades por meio de fermentação em biorreatores, pode oferecer uma vantagem significativa na produção de compostos bioativos em comparação com os basidiocarpos.

### **Atividade anti-tirosinase dos extratos da biomassa micelial**

A tirosinase (EC 1.14.18.1), também denominada de polifenoloxidase, é uma glicoproteína localizada na membrana dos melanossomas envolvida na síntese de melanina, sendo encontrada em mamíferos, bactérias, plantas e fungos (Agarwal *et al.*, 2019). O excesso de melanina é responsável pela hiperpigmentação cutânea e pelo escurecimento enzimático de alimentos, sendo a inibição da tirosinase um importante mecanismo de controle enzimático da pigmentação (Şöhretoğlu *et al.*, 2018).

Investigações têm sido realizadas para a busca de inibidores da tirosinase oriundos de fontes naturais, os extratos vegetais são fontes naturais de inibidores da tirosinase (REF), mas atualmente, investigações têm sido realizadas para a busca de novos compostos oriundos de outras fontes naturais, como os extratos fúngicos (Chang, 2009; Zaidi *et al.*, 2019).

O extrato hidroalcoólico de *L. berteroi* demonstrou atividade moderada de inibição da tirosinase. O valor de IC<sub>50</sub> foi 13,61 mg/mL, o que indica que 13,61 mg/mL do extrato são necessários para inibir 50% da atividade da tirosinase. Comparado ao ácido kójico, o extrato de *L. berteroi* apresentou menor potência IC<sub>50</sub> 60,2 ± 1,83 mg/mL, (Zilles, 2022). No entanto, ele ainda mostra potencial como agente natural anti-tirosinase, com aplicações em cosméticos clareadores.

### **Fator de proteção solar do extrato micelial de *L. berteroi***

A razão UVA/UVB é usada como parâmetro para determinação da proteção contra raios UVA e é determinada com base no espectro de absorção do extrato nos comprimentos de onda do UV (Figura 1). Além disso, a razão UVA/UVB permite a classificação da proteção solar entre muito baixa e ultra (Tabela 1) (Boots, 2008).

Os compostos fenólicos, por suas características estruturais, podem absorver uma ampla faixa de radiação ultravioleta diminuindo a sua penetração na pele, o que torna esses compostos potenciais componentes de protetores solares (Oliveira *et al.*, 2021). A radiação UV é a radiação causadora de danos da pele, a qual pode ser dividida em três faixas: UVA (320-400 nm), com comprimento de onda de maior alcance, que penetra na pele, provocando lesões na derme, causando fotoenvelhecimento, mutação gênica e pigmentação da pele. A UVB (280-320 nm) é a radiação que possui energia maior, entre as que atingem a superfície terrestre, e que promove a maior absorção pela epiderme,

causando eritemas (vermelhidão) e queimaduras. E a UVC (100-280 nm) é a radiação absorvida pela camada de ozônio (Nascimento, 2014).

Os extratos do micélio de *L. berteroi* mostraram um potencial significativo de fotoproteção, medido através de parâmetros como o FPS (proteção anti-UVB), a razão UVA/UVB (proteção anti-UVA) e o comprimento de onda crítico. O FPS atingido pelo extrato em diferentes concentrações foi expressivo (FPS 7,77) mesmo na concentração mais baixa avaliada (10 mg/mL), atingindo FPS 33,26 no extrato 40 mg/mL. Nas concentrações de 60, 80 e 100 mg/mL, obteve-se o valor máximo que o método *in vitro* permitiu detectar FPS em maiores concentrações, como 60 mg/mL, o FPS chegou a 39,21. Esse valor elevado é relevante, pois foi obtido a partir de um extrato natural de fungo. Um produto é considerado adequado para utilização em cosméticos fotoprotetores quando expressa um FPS igual ou maior que 6,0 (Sarruf *et al.*, 2014).

Ao comparar os resultados do extrato micelial de *L. berteroi* com outras espécies, verificou-se que o FPS do extrato é superior à espécie *Amanita muscaria* que apresentou FPS superior à 6 em 0,15 mg/mL (Della Torre, 2022).

A razão UVA/UVB reflete a capacidade de um composto de oferecer fotoproteção também na faixa de radiação UVA, enquanto o método de Mansur, utilizado para determinar o FPS, concentra-se principalmente na faixa de UVB. Os resultados obtidos para a razão UVA/UVB mostram que o extrato de *L. berteroi* oferece uma proteção na faixa de UVA classificada como ultra proteção em todas as concentrações avaliadas, sugerindo um amplo espectro de absorção, capaz de proteger tanto contra radiações UVB quanto UVA (Boots, 2008).

Outro parâmetro avaliado é o comprimento de onda crítico, que também apresenta resultados significativos. Esse parâmetro, que indica a amplitude da proteção do extrato no espectro UV, alcançou 373 nm na concentração de 100 mg/mL. Um fotoprotetor, para ser indicado como adequado na proteção à radiação UVA, deve apresentar valor de comprimento de onda crítico ( $\lambda_c$ ) maior que 370 nm. Quanto maior o valor de comprimento de onda crítico, maior será a proteção com relação à radiação UVA. No entanto, o comprimento de onda crítico não leva em consideração a intensidade de todo espectro, possibilitando que um filtro com proteção inferior possa apresentar mesmo valor de  $\lambda_c$  que outro, com proteção superior (Rai; Srinivas, 2007). Esses resultados destacam o extrato de *L. berteroi* como um ingrediente promissor para protetores solares naturais, oferecendo proteção balanceada contra radiações UVA e UVB.

## CONCLUSÕES

Os resultados apontam que o micélio de *L. berteroi* possui um grande potencial como fonte de compostos bioativos. O extrato apresentou quantidades significativas de fenóis ( $1711,72 \pm 9,40 \mu\text{g EAG/g}$ ) e flavonoides ( $1435,66 \pm 18,10 \mu\text{EQ/g}$ ), indicando uma boa capacidade antioxidante. Os testes de atividade antioxidante, como ABTS, DPPH e FRAP, confirmam que o extrato tem uma atividade antioxidante significativa, com destaque para o valor de FRAP ( $23,72 \pm 0,51 \mu\text{g/mL}$ ). A capacidade de inibição da enzima tirosinase foi moderada.

O extrato também demonstrou potencial fotoprotetor, com FPS de 39,34 para a concentração de 60 mg/mL, sugerindo sua viabilidade para formulações de protetores solares naturais. O comprimento de onda crítico de 373 nm e a razão UVA/IVB demonstram sua eficácia contra a radiação UVA, tornando promissor para a proteção da pele contra os danos solares. Em conclusão, *L. berteroi* se destaca como uma fonte de compostos bioativos com potencial para aplicações biotecnológicas, especialmente em produtos antioxidantes, fotoprotetores e clareadores de pele. O estudo abre caminho para o uso do micélio de *L. berteroi* na indústria cosmética e biotecnológica, com a necessidade de mais pesquisas para explorar e confirmar todo o seu potencial.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à CAPES, UNIPAR, Fundação Araucária e ao CNPq pelas bolsas e pelo financiamento de pesquisa, que foram fundamentais para a realização deste trabalho.

## REFERÊNCIAS

- AGARWAL, P. *et al.* Microbial tyrosinases: a novel enzyme, structural features, and applications. **Applied Microbiology and Bioengineering**, p. 3-19, 2019.
- ALVES, Elizângela; KUBOTA, Ernesto Hashime. Conteúdo de fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante de amostras de própolis comerciais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 1, 2013.
- BATISTELA, Aline Maria Pereira *et al.* Phytase production by white-rot fungi cultivated in liquid medium with particulate agro-industrial byproducts. **Concilium**, v. 23, n. 5, p. 250-264, 2023.
- BERGER, Ralf G. *et al.* Mycelium vs. fruiting bodies of edible fungi — A comparison of Metabolites. **Microorganisms**, v. 10, n. 7, p. 1379, 2022.
- BERTÉLI, Míria Benetati Delgado *et al.* Basidiocarp structures of *Lentinus crinitus*: an antimicrobial source against foodborne pathogens and food spoilage microorganisms. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 5, p. 74, 2022.
- BIRT, D. F.; HENDRIC, S.; & WANG, W. Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 90, n. 2-3, p. 157–177, 2001.
- BOOTS THE CHEMIST. Measurement of UVA: UVB Ratio according to the Boots star rating system (2008 Revision). **The Boots Co.**, Nottingham, UK, 2008.
- CHANG, T. An updated review of tyrosinase inhibitors. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 10, n. 6, p. 2440-2475, 2009.
- CORRÊA, R. C. G. *et al.* Bioactive formulations prepared from fruiting bodies and submerged culture mycelia of the Brazilian edible mushroom *Pleurotus ostreatoroseus* Singer. **Food & Function**, v. 6, n. 7, p. 2155-2164, 2015.
- DELLA TORRE, Olavo Henrique Petrucci. **Bioprospecção de macrofungos brasileiros cultivados e selvagens: Investigação in vitro das atividades antixanthomonas, antiglicante, fotoprotetora, antioxidante e antiviral.** 2022.
- ELHUSSEINY, Shaza M. *et al.* Antiviral, cytotoxic, and antioxidant activities of three edible agaricomycetes mushrooms: *Pleurotus columbinus*, *Pleurotus sajor-caju*, and *Agaricus bisporus*. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 8, p. 645, 2021.
- ELKHATEEB, Waill A.; DABA, Ghoson. Nameko Mushroom (*Pholiota microspore*), Hiratake Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) and Shimeji Mushrooms (*Lyophyllum shimeji*): Bioactive Compounds as a Source. **Journal ISSN**, v. 2766, p. 2276, 2024.
- ERGÖNÜL, Pelin Günç *et al.* Fatty acid compositions of six wild edible mushroom species. **The Scientific World Journal**, v. 2013, 2013.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.
- FINIMUNDY, T. C. *et al.* Multifunctions of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer: A highly nutritious food and a source for bioactive compounds. **Food Chemistry**, n. 245, p. 150–158, 2018.
- OLIVEIRA, George Azevedo de. **Estudo de constituintes químicos e atividade antioxidante da espécie *Pleurotus ostreatus* var.** Florida cultivada com diferentes suplementos artesanais e comerciais. 2024.

- HALABURA, Marisangela Isabel Wietzikoski *et al.* Light conditions affect the growth, chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the white-rot fungus *Lentinus crinitus* mycelial biomass. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 22, n. 3, p. 669-686, 2023.
- LIM, Hui Sin *et al.* Photoprotective activities of *Lignosus rhinocerus* in UV-irradiated human keratinocytes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 299, p. 115621, 2022.
- ŁYSAKOWSKA, Paulina; SOBOTA, Aldona; WIRKIJOWSKA, Anna. Medicinal mushrooms: their bioactive components, nutritional value and application in functional food production—a review. **Molecules**, v. 28, n. 14, p. 5393, 2023.
- LU, Hongyun *et al.* Macrofungi: A review of cultivation strategies, bioactivity, and application of mushrooms. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 19, n. 5, p. 2333-2356, 2020.
- MACRINI, Daclé Juliani *et al.* Extracts from Amazonian plants have inhibitory activity against tyrosinase: an *in vitro* evaluation. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, p. 715-721, 2009.
- MACHADO-CARVALHO, Liliana *et al.* Antioxidant, antibacterial, and cosmeceutical potential of four common edible mushrooms. **Applied Sciences**, v. 13, n. 13, p. 7357, 2023.
- MARTINS, Tânia *et al.* Antioxidant, antimicrobial and cosmeceutical potential of wild mushroom extracts. *Applied Microbiology*, v. 3, n. 2, p. 562-579, 2023.
- MOON, K. M. *et al.* Recent trends in controlling the enzymatic browning of fruit and vegetable products. **Molecules**, v. 25, n. 12, p. 2754, 2020.
- MOREIRA-NETO, S. L. *et al.* Decolorization of salt-alkaline effluent with industrial reactive dyes by laccase-producing basidiomycetes strains. **Letters in Applied Microbiology**, v. 56, n. 4, p. 283-290, 2013.
- NEGRÃO, Djanira Rodrigues *et al.* Biodegradation of *Eucalyptus urograndis* wood by fungi. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 89, p. 95-102, 2014.
- OLIVEIRA, M. B. S. *et al.* Photoprotective and antiglycation activities of non-toxic *Cocos nucifera* Linn. (Arecaceae) husk fiber ethanol extract and its phenol chemical composition. **Industrial Crops and Products**, v. 162, p. 113246, 2021.
- PALACIOS, I. *et al.* Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in edible mushrooms. **Food Chemistry**, v. 128, n. 3, p. 674-678, 2011.
- RAMESH, C. H.; PATTAR, Manohar G. Propriedades antimicrobianas, atividade antioxidante e compostos bioativos de seis cogumelos comestíveis selvagens de Ghats Ocidentais de Karnataka, Índia. **Pharmacognosy Research**, v. 2, n. 2, p. 107, 2010.
- RAHMAN, A.; AL-REZA, S. M.; SIDDIQUI, S. A.; CHANG, T.; KANG, S. C. Antifungal potential of essential oil and ethanol extracts of *Lonicera japonica* Thunb. against dermatophytes. **Journal of EXCLI**, v. 13, p. 427-436, 2014.
- RAI, Reena; SRINIVAS, C. R. Photoprotection. **Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology**, v. 73, p. 73, 2007.
- RATHORE, H. *et al.* Medicinal importance of mushroom mycelium: Mechanisms and applications. **Journal of Functional Foods**, v. 56, p. 182-193, 2019.

- REDIN, E. **Ciências rurais em foco**. 1. ed. v. 5. Belo Horizonte: Poisson, 2021. 176 p.
- ROSA, Luiz H. *et al.* Cytotoxic, immunosuppressive, trypanocidal and antileishmanial activities of Basidiomycota fungi present in Atlantic Rainforest in Brazil. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 95, p. 227-237, 2009
- RIBEIRO, Bruna Milagres. Atividades Biológicas da biomassa micelial de *Panus strigellus* com alicações em produtos cosmeticos. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura), Universidade Paranaense, 2024.
- RUFINO, M. D. S. M. *et al.* Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2007.
- RUFINO, M. D. S. M. *et al.* Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS. **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2007b.
- RUFINO, M. D. S. M. *et al.* Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2006a.
- RUFINO, M. D. S. M. *et al.* Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas no sistema beta-caroteno/ácido linoléico. **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2006b.
- SARASWAT, A.; MATHUR, P.; SANYAL, D. Assessing cosmeceuticals properties of some macrofungi for improved skin care. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 12, n. 2, p. 15-19, 2020.
- SALTARELLI, Roberta *et al.* Biochemical characterisation and antioxidant activity of mycelium of *Ganoderma lucidum* from Central Italy. **Food Chemistry**, v. 116, n. 1, p. 143-151, 2009.
- SANTOS, G. S.; CARVALHO, C. M. A Systematic Review on Bioactivity of Brazilian Mushrooms (Agaricomycetes). **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 23, n. 11, p. 27-36, 2021.
- SEO, Y.-R., Patel, D. K., Shin, W.-C., Sim, W.-S., Lee, O.-H., & Lim, K.-T. (2019). Structural Elucidation and Immune-Enhancing Effects of Novel Polysaccharide from *Grifola frondosa*. **BioMed Research International**, 2019, 7528609.
- SARRUF, Fernanda Daud *et al.* Assessment of in vitro Sun Protection Factor (SPF) and rheological profile of commercial infant sunscreens. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 1, 2013.
- SILVA, N. G. **Estudo da capacidade antioxidante de cogumelos comestíveis**. 2015. 74 f. Dissertação (Mestrado em Segurança Alimentar) - Universidade de Coimbra, 2015.
- SINGLETON, Vernon L.; ORTHOFER, Rudolf; LAMUELA-RAVENTÓS, Rosa M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. In: *Methods in Enzymology*. Academic Press, 1999. p. 152-178.
- SLOMINSKI, Radomir M. *et al.* Melanoma, melanin, and melanogenesis: The Yin and Yang relationship. **Frontiers in Oncology**, v. 12, p. 842496, 2022.

SMITH, Helen; DOYLE, Sean; MURPHY, Richard. Filamentous fungi as a source of natural antioxidants. **Food Chemistry**, v. 185, p. 389-397, 2015.

SOUSA, Jessica Maria Silva. **Análise de compostos fenólicos e avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos aquosos de cogumelos comestíveis produzidos no Brasil**. 2012. Tese de Doutorado. [sn].

ŞÖHRETOĞLU, D.; SARI, S.; BARUT, B.; ÖZEL, A. Tyrosinase inhibition by some flavonoids: inhibitory activity, mechanism by in vitro and in silico studies. **Bioorganic Chemistry**, v. 81, p. 168-174, 2018.

SUN, L.; ZHUANG, Y.; BAI, X. Effects of boiling and microwaving treatments on nutritional characteristics and antioxidant activities of *Agaricus blazei* Murril. **International Journal of Food Science and Technology**, v.46, n.6, p.1209-1215, 2011.

TREPA, Monika *et al.* Therapeutic potential of fungal terpenes and terpenoids: application in skin diseases. *Molecules*, v. 29, n. 5, p. 1183, 2024.

TAOFIQ, O *et al.* Mushrooms extracts and compounds in cosmetics, cosmeceuticals and nutricosmetics—A review. **Industrial Crops And Products**, v. 90, p. 38-48, 2016.

VALLAVAN, V. et al. A review on antistaphylococcal secondary metabolites from basidiomycetes. **Molecules**, v. 25, n. 24, p. 5848, 2020.

VARGAS-ISLA, R.; Ishikawa, N.K. 2008. Optimal conditions of *in vitro* mycelial growth of *Lentinus strigosus*, an edible mushroom isolated in the Brazilian Amazon. **Mycoscience**, 49: 215-219.

VARGHESE, Ruby *et al.* Historical and current perspectives on therapeutic potential of higher basidiomycetes: an overview. **3 Biotech**, v. 9, p. 1-15, 2019.

WANG, Steven Q.; STANFIELD, Joseph W.; OSTERWALDER, Uli. In vitro assessments of UVA protection by popular sunscreens available in the United States. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 59, n. 6, p. 934-942, 2008.

WEN, Y. *et al.* Effect of ascorbic acid on tyrosinase and its anti-browning activity in fresh-cut Fuji apple. **Journal of Food Biochemistry**, v. 45, n. 12, p. e13995, 2021.

WU, Sijia *et al.* Ganoderma lucidum: a comprehensive review of phytochemistry, efficacy, safety and clinical study. **Food Science and Human Wellness**, v. 13, n. 2, p. 568-596, 2024.

WU, Y. et al. Light color dihydroxybenzophenone grafted lignin with high UVA/UVB absorbance ratio for efficient and safe natural sunscreen. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 59, n. 39, p. 17057-17068, 2020.

ZHOU, Rong *et al.* Research progress of bioactive proteins from the edible and medicinal mushrooms. **Current Protein and Peptide Science**, v. 20, n. 3, p. 196-219, 2019.

ZILLES, Júlia Capp. Nanoemulsões contendo dipalmitato de ácido kójico e óleo de rosa mosqueta como potencial tratamento para melasma. 2022.