



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

ESCOLA DE ENGENHARIA

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO EM

ENGENHARIA QUÍMICA



JULIANO SEVERO LUNARDI

**CULTIVO DE *PLEUROTUS OSTREATUS* UTILIZANDO
BAGAÇO DE MALTE, SERRAGEM E CASCA DE ARROZ**

Porto Alegre

2019

JULIANO SEVERO LUNARDI

**CULTIVO DE *PLEUROTUS OSTREATUS* UTILIZANDO BAGAÇO
DE MALTE, SERRAGEM E CASCA DE ARROZ**

**Trabalho de
conclusão de curso de
graduação na Universidade
Federal do Rio Grande do Sul
para a obtenção do diploma de
Engenheiro Químico.**

ORIENTADORES:

**DANIELE MISTURINI ROSSI
DÉBORA JUNG LUVIZETTO FACCIN**

**Porto Alegre
2019**

AGRADECIMENTOS

Agradeço à instituição por todo o suporte dado durante minha vida acadêmica na graduação.

Agradeço à minha mãe, que sempre me deu o suporte em toda minha jornada acadêmica, não apenas nessa etapa desenvolvendo este trabalho e esteve me incentivando cada vez mais a atingir os meus objetivos pessoais e profissionais.

Gostaria de agradecer ao meu pai por aumentar meu entusiasmo sobre o assunto e por me ajudar a produzir o substrato que utilizamos neste trabalho fazendo a cerveja que produziu o bagaço de malte.

Agradeço ao Marcos, um pai para mim, que sempre esteve presente apesar da distância física atualmente, sem ele eu não estaria aqui hoje.

Gostaria de agradecer aos meus orientadores Daniele, Débora e Diego. Cada um com características diferentes, todos com disponibilidade e boa vontade de me ajudar e auxiliar no que precisasse durante esta etapa.

Agradeço à três amigos que posso chamar de irmãos “Caio”, “Yan” e “Pedro”, que se fazem presentes em todos os momentos de minha vida, e junto comigo também aprenderam sobre o assunto e participaram em vários momentos em conversas sobre o tema.

RESUMO

Anualmente uma quantidade expressiva de resíduos é gerada e mal destinada, por muitas vezes queimada, não aproveitando o potencial energético destes materiais. O cultivo de cogumelos é uma alternativa muito interessante para a destinação dos resíduos agroindustriais, visto que o material gerado neste segmento é rico em composição lignocelulósica, e pode ser utilizado como substrato para o crescimento de cogumelos. O Rio Grande do Sul é particularmente um grande gerador de casca de arroz, assim como produz uma grande quantidade de bagaço de malte e serragem, que são resíduos muito comuns ao longo de todo o Brasil. Diversas espécies de cogumelos são cultivadas ao redor do mundo, e a aceitação ao paladar humano tem aumentado nos últimos anos. Levando em consideração este cenário, este trabalho teve como objetivo o cultivo de cogumelos utilizando resíduos agroindustriais. A princípio, o objetivo do trabalho foi avaliar a produção de cogumelo pelo fungo *P. ostreatus*, através de um planejamento central composto, onde foram avaliadas a influência da quantidade de bagaço de malte (BDM) complementado com serragem (SE), casca de arroz (CA), e quantidade de CaCO_3 , tendo como variável resposta a eficiência biológica (EB). Após haver falhas experimentais relacionadas ao tempo de incubação, com controle de umidade e de iluminação na frutificação, não foi possível produzir uma quantidade significativa de cogumelos, então se optou por fazer uma discussão a respeito dos dados obtidos. Foi possível observar que há um potencial enorme para a produção de cogumelos utilizando os resíduos agroindustriais, devendo o substrato e a técnica serem específicas para o fim desejado com o material disponível. Com bagaço de malte, serragem e casca de arroz, junto com carbonato de cálcio foram feitos 13 ensaios para cultivo. No período de dois meses, apenas um tratamento com porcentagem de CaCO_3 de 4,40 %, de BDM de 18,70 %, 38,45 % de CA e 38,45 % de SE, com razão C/N de 74, gerou cogumelos saudáveis. O fungo utilizado estava armazenado por mais de um semestre. A colonização no substrato e a frutificação tiveram uma demora maior do que indica a literatura, dando indícios de que a vitalidade do fungo foi um fator importante para o falta de sucesso da maioria dos tratamentos cultivados no período imposto ao trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	iii
SUMÁRIO	iv
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE SÍMBOLOS	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS	3
2.1.1. BAGAÇO DE MALTE.....	4
2.1.2. CASCA DE ARROZ.....	6
2.1.3. SERRAGEM.....	7
2.2. FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO (SSF).....	8
2.3. COGUMELOS.....	10
2.3.1. BASIDIOMICETOS E ASCOMICETOS.....	13
2.3.2. CRESCIMENTO.....	15
2.3.3. CULTIVOS	15
2.3.4. ALGUMAS TENDÊNCIAS TECNOLÓGICAS	17
2.3.5. <i>PLEUROTUS OSTREATUS</i>	18
3. MATERIAIS E MÉTODOS	25
3.1. MICRORGANISMO	25
3.2. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL	25
3.3. RESÍDUOS UTILIZADOS	26
3.4. PREPARO DO SUBSTRATO	27
3.5. INOCULAÇÃO	28
3.6. PROPAGAÇÃO DO MICÉLIO	29
3.7. FRUTIFICAÇÃO	30

4.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	32
4.1.	INCUBAÇÃO.....	32
4.2.	FRUTIFICAÇÃO	35
4.3.	DISCUSSÃO FINAL DO CULTIVO	37
5.	CONCLUSÃO	39
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
	APÊNDICE I.....	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Corte longitudinal do grão de cevada.....	5
Figura 2 - Camadas do grão de arroz.	7
Figura 3 - Cogumelos: (A) <i>Agaricus bisporus</i> (Champignon); (B) <i>Pleurotus ostreatus</i> (cogumelo ostra); (C) <i>Lentinula edodes</i> (shiitake); (D) <i>Auricularia auricula</i> (Orelha de judas); (E) <i>Flammulina velutipes</i> ; (F) <i>Volvariella volvacea</i>	11
Figura 4 – Representação de um cogumelo do filo <i>Basidiomycota</i>	12
Figura 5 - Basidiomicetos: (A) <i>Entoloma-hochstetteri</i> ; (B) <i>Cyptotrama asprata</i> ; (C) <i>Rhodotus Palmatus</i>	13
Figura 6 - Ascomicetos: (A) <i>Morchella esculenta</i> ; (B) <i>Cookeina tricholoma</i> ; (C) <i>Gyromitra esculenta</i>	14
Figura 7 - (A) Representação de um asco com os ascósporos, característico de um ascomiceto. (B) Representação de um basídio com os basidiósporos, característico de um basidiomiceto.....	14
Figura 8 - Corpo de frutificação do <i>Pleurotus ostreatus</i> crescido em árvore.....	19
Figura 9 - Ciclo de vida do <i>Pleurotus ostreatus</i>	21
Figura 10 –Saco de polipropileno contendo 400g de substrato, com cano de PVC e bucha de algodão no topo.	27
Figure 11 – Batelada de sacos sendo autoclavada.....	28
Figura 12 - Placa colonizada de <i>Pleurotus ostreatus</i>	28
Figura 13 - Um dos três discos de fungo inoculados no substrato através do cano de PVC.....	29
Figure 14 - Arranjo do ambiente na etapa de incubação dentro da geladeira.	30
Figura 15 - (A) Arranjo do ambiente na etapa de frutificação, com lâmpada; (B) Corte em formato de cruz realizado nos sacos	31
Figura 16 - Tratamentos que não colonizaram na etapa de incubação (sacos 3, 4, 5, 6 e 8).....	33
Figura 17 - Tratamentos que houve colonização, porém com uma densidade fúngica menor que os demais.	34
Figura 18 - Tratamentos que colonizaram, porém que ainda remanesceu substrato intacto dentro dos sacos (sacos 9, 10, 11, 12 e 13).....	34
Figura 19 - Único tratamento (saco 2) com densidade de fungo elevada visualmente após 30 dias.	35

Figura 20 – (A) Primórdios do saco 2; (B) Primórdios do saco 9; (C) Cogumelos do saco 2; (D) Cogumelos do saco 9.	36
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Delineamento central composto 2². Com os valores codificados à esquerda e as variáveis independentes à direita (XC_{CaCO3} e XBDM). 26

Tabela 2 - Tabela demonstrativa dos tratamentos do experimento, representando através de cores o desenvolvimento na incubação em função das composições. Em vermelho, os ensaios que não cresceram. Em amarelo, os ensaios que cresceram de maneira pouco densa no substrato. Em azul, ensaios que cresceram de maneira visualmente densa porém ainda deixaram substrato intacto nos sacos. Em verde, o ensaio que colonizou de maneira satisfatória, mostrando uma densidade de fungo maior que dos outros. 32

Tabela 3 – Representação dos ensaios com os valores codificados e valores reais das variáveis independentes do experimento (XBDM e XC_{CaCO3}), assim como o complemento colocado em cada ensaio de XCA e XSE. Ao lado direito a razão C/N calculada de cada ensaio. 49

Tabela 4 - Composição do bagaço de malte, casca de arroz e serragem, junto com fatores de conversão para N (no caso das proteínas) e C (no caso de celulose, hemicelulose e lignina) por Oliveira (2018). 49

LISTA DE SÍMBOLOS

C	Carbono
N	Nitrogênio

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BDA	Meio de cultivo batata-dextrose-ágar
BDM	Bagaço de malte
CA	Casca de arroz
SE	Serragem
CaCO ₃	Carbonato de cálcio
XBDM	Fração mássica de bagaço de malte
XCA	Fração mássica de casca de arroz
XSE	Fração mássica de serragem
XCaCO ₃	Fração mássica de carbonato de cálcio
CO ₂	Gás carbônico
C/N	Relação entre as massas de carbono e de nitrogênio
pH	Potencial Hidrogeniônico
EB	Eficiência Biológica
LED	Lâmpada de LED (Light Emitting Diode – Diodo Emissor de Luz)
PVC	Policloreto de vinila
SSF	Fermentação em estado sólido
LDF	litter-decomposing fungi
WDF	wood-decomposing fungi
DNA	ácido desoxirribonucleico

1. INTRODUÇÃO

Uma enorme quantidade de resíduos de colheita, da agroindústria e pecuária são gerados anualmente, sendo a maior parte material lignocelulósico (KUHAD et al. 1997). Apesar dos resíduos agroindustriais possuírem compostos benéficos, o seu valor aparente é menor do que o custo com coleta, transporte e processamento para o uso. Contudo, se forem utilizados para a indústria alimentícia, não serão mais considerados resíduos, mas sim novas fontes de matéria prima. Um número grande de resíduos agroindustriais como palhas, cascas, poeiras e serragem, têm sido aproveitado em processos de fermentação em estado sólido (SSF) para a produção de cogumelos, utilizando fungos basidiomicetos para a produção de metabólitos valiosos, tais como esteróis, ácidos graxos e ácidos orgânicos, celulasas, amilases, lipases, proteinases, pectinases penicilina, cefalosporina, ciclosporina, estatina e outros. (RAJARATHNAM et al. 1998, HOWARD et al. 2003, HÖLKER et al. 2004).

O cultivo de cogumelo tem se mostrado uma área com bastante potencial de exploração ao se utilizar resíduos florestais e agroindustriais (MOORE & CHIU, 2001). Diversos cultivos são realizados ao redor do mundo com diferentes técnicas, dependendo dos materiais disponíveis em cada local, necessitando experimentalmente de uma avaliação para a determinação do melhor substrato e condições para o fungo utilizado.

No Rio Grande do Sul, a indústria arroseira é líder no aspecto nacional e a quantidade em número de cervejarias também. Neste trabalho se utilizou três resíduos gerados em grandes quantidades na agroindústria: bagaço de malte, serragem e casca de arroz, três materiais lignocelulósicos que podem ser utilizados pelos cogumelos como fonte de energia. O bagaço de malte possui um maior conteúdo de nitrogênio que a casca de arroz e a serragem, podendo misturar esses materiais para obter uma condição ideal de cultivo de cogumelos em relação C/N.

Dando continuidade ao trabalho de Oliveira (2018) no seguimento de cultivo de cogumelos com resíduos, em que avaliou a eficiência biológica em cultivos com casca de arroz/bagaço de malte e serragem/bagaço de malte, sem avaliar a influência do carbonato de cálcio, o presente trabalho teve como objetivo inicial avaliar a eficiência biológica na produção de cogumelos pelo fungo *P. ostreatus*, utilizando um planejamento central composto 2^2 , totalizando 13 experimentos. As variáveis utilizadas foram o percentual de bagaço de malte e o percentual de CaCO_3 . Durante a fase experimental, ocorreram problemas durante o cultivo do fungo. Com isso, este trabalho versará sobre uma

discussão a respeito da produção de cogumelos e os experimentos serão mostrados e avaliados apenas de forma discursiva.

2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

De acordo com Mande (2005), existem dois tipos de resíduos gerados na agroindústria: resíduos de colheita (gerados no campo) e resíduos de processo (gerados na indústria). Os resíduos de colheita, que são materiais de vegetais deixados para trás no campo depois da colheita do produto principal, possuem diferentes tamanhos, formatos e densidades como palhas, caules, gravetos, folhas, restolho, material fibroso, raízes, ramos e galhos. Estes são produzidos a partir de várias fontes como culturas de campo e colheita de semente (incluindo palha ou restolho de cevada, feijão, arroz, centeio, trigo, milho, algodão, sorgo, gramíneas, cana-de-açúcar, soja e alfafa), fruta, noz, vegetais ou culturas energéticas (podas de pomar, brotos de videira ou folhas restantes no chão depois da colheita), e esterco de gado.

Resíduos de processo são subprodutos gerados na limpeza, debulha, peneiramento e esmagamento. Estão na forma de casca, poeira, caules, etc. Resíduos de processo de alimentos que vêm de plantas são cascas, sementes, caroços, polpas, farelos, bagaço, maltes, lúpulo e uma variedade de outros subprodutos dos processos de produção em massa de alimentos. Alguns exemplos desses materiais são subprodutos do processamento de café, bagaço de cana-de-açúcar, cascas de cereais, farinha de milho, farinha de sementes e outros. Esta categoria compreende ainda a resíduos de madeira produzidos a partir do processamento primário ou de fabricantes (produção de casca, lascas, serragem, resíduos grosseiros e aparas de madeira). Na serragem de um tronco, aproximadamente 50% do volume inicial da tora é convertido em produto e 50% em resíduo (ALDERMAN 1998).

Em 2008, estima-se que a produção da biomassa lignocelulósica anual seja maior que 200×10^9 tons. Da quantidade de resíduos de colheita produzida no mundo anualmente, de 27 colheitas alimentícias, estima-se 4×10^9 tons, os quais 3 bilhões de toneladas são de resíduos lignocelulósicos de cereais (REDDY & YANG, 2005; ZHANG, 2008; LAL, 2005, 2008).

2.1.1. BAGAÇO DE MALTE

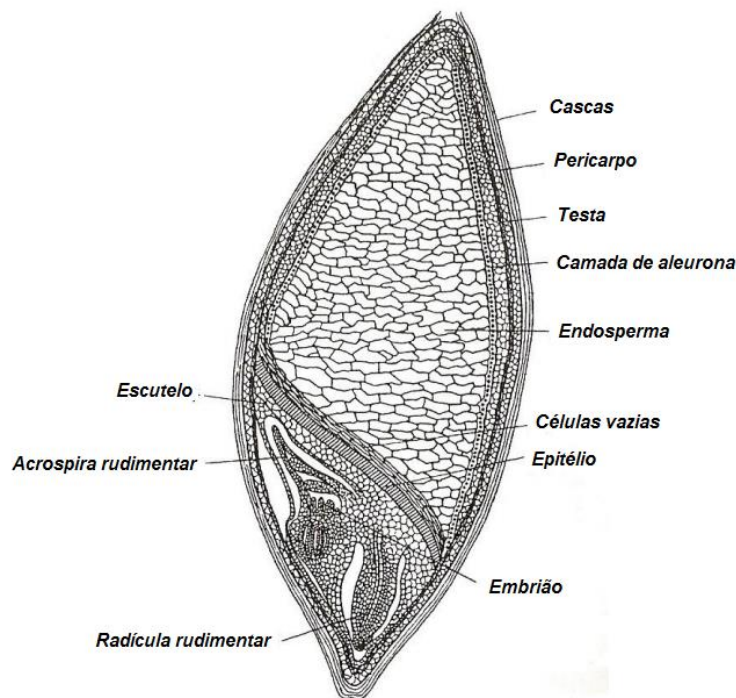
A cevada, de onde se origina o malte, assume a posição de quarto cereal mais importante no mundo depois de trigo, milho e arroz (AKAR et al. 2004).

Cerca de 90% da cevada brasileira, que é utilizada principalmente para a produção cervejeira, é da variedade BR-2. Nacionalmente, são geradas 270 mil toneladas de malte por ano, cujo valor não supre a necessidade produtiva nacional que é em torno de 1 milhão de toneladas por ano (SANTOS et al., 2001). A cada 100 kg de grãos utilizados para o processo, cerca de 125 a 130 kg de bagaço úmido são gerados com umidade em torno dos 80%, correspondendo aproximadamente entre 14 a 20 kg de bagaço a cada hectolitro de cerveja produzida (FILLAUDEAU et al., 2006). O bagaço de malte é o maior resíduo da indústria cervejeira, totalizando cerca de 85% do total de resíduos produzidos em uma cervejaria. É produzido em grandes quantidades durante todo ano, com baixo ou com nenhum custo pela sua aquisição, e apresenta um enorme valor nutricional (ALIYU & BALA, 2011; LIMA, 2010).

A cevada (*Hordeum vulgare* L.) é um cereal que pertence ao gênero *Hordeum* e a família das Gramíneas (KENT, 1987). É basicamente constituído de três elementos fundamentais em sua parte interna envolvida pela casca: embrião, endosperma e envoltório (ZSCHOERPER, 2009).

O embrião representa de 3 a 4% do peso do grão (isento de água), é composto por aproximadamente 10% de proteínas, 25% de lipídeos, 10% de sacarose e 5% de minerais. O envoltório está abaixo da casca e é composto por duas camadas: pericarpo e testa (TSCHOPE, 1999). Basicamente, o objetivo do envoltório é proteger o embrião. Em épocas de colheita até o fim da malteação, o envoltório permite a umidificação da parte interna do grão, protege contra perigos mecânicos e contra insetos e microrganismos (ZSCHOERPER, 2009).

Cerca de 50 a 63% da cevada é composta por amido, sendo o componente mais importante do grão. O amido é formado no amadurecimento do grão, pela fotossíntese na assimilação e seguinte condensação da glicose, e fica armazenado sob forma de grânulos no endosperma (KUNZE, 1999). A principal função do amido é servir de reserva energética para o embrião, até o momento em que a planta consiga suprir a necessidade energética através da fotossíntese (TSCHOPE, 1999). O grão de cevada é representado como mostra a Figura 1.

Figura 1 - Corte longitudinal do grão de cevada.

Fonte: Adaptado de Kunze, 1999.

O grão de cevada possui uma quantidade pequena de enzimas insuficiente para a produção cervejeira; a maior parte das enzimas é produzida após a germinação no processo de malteação (KUNZE, 1999).

A celulose presente no grão está principalmente na casca da cevada, podendo também ser encontrada em quantidades menores em outros locais (ZSCHOERPER, 2009). As enzimas do malte, não conseguem quebrar as cadeias de celulose, desta forma, após o processo de malteação elas saem intactas (KUNZE, 1999), assim como no processo cervejeiro de mosturação.

O processo de malteação é feito em três etapas: maceração, germinação e secagem. Primeiramente os grãos limpos de cevada são umidificados, colocando-os em reservatórios com água na temperatura entre 5 e 18 °C, onde são mantidos por 2 dias com trocas sucessivas de água durante um intervalo de 6 a 8 horas. Após este tempo, o teor de umidade do grão chega a 42 a 48 %, induzindo assim o metabolismo à germinação. Após a maceração os grãos são colocados para germinar em ambientes com passagem de ar úmido pelo leito de cevada, mantendo a temperatura entre 15 e 21 °C. Nesta segunda etapa, ocorre a ativação de enzimas do malte como as amilases, proteases e glucanases.

Terminando a germinação, após 6 ou 7 dias, ocorre a secagem do malte em temperatura entre 40 e 60 °C até chegar em um teor de umidade de 4 a 5 %, evitando desta forma algum tipo de contaminação. Após estas etapas ocorre o armazenamento do malte em silos por mais de 3 semanas para homogeneizar a umidade de toda a amostra. (LIZARAZO; de FRANCISCO, 2003; TSCHOPE, 2001; VENTURINI FILHO; CEREDA, 2001).

Na cervejaria, primeiramente, o malte de cevada é moído, para ser colocado em uma tina de mosturação, quando ocorre o arriamento do malte. Os grãos moídos da cevada são misturados com água, sendo a mistura aquecida durante um determinado período de tempo com temperatura variando entre 37 e 78 °C em formas de rampas descontínuas. Nesta etapa ocorre principalmente a hidrólise do amido em açúcares fermentáveis, como maltose e maltotriose, e não fermentáveis como dextrinas. A etapa seguinte é a filtração deste mosto, em que é separada a parte líquida (utilizada para posterior fervura e fermentação, originando a cerveja) da parte sólida que é o bagaço de malte (DRAGONE, 2007; LINKO et al. 1998).

2.1.2. CASCA DE ARROZ

O arroz é um vegetal pertencente à família das gramíneas e do gênero *Oryza*. Dentre as mais de vinte espécies existentes a mais cultivada é a *Oryza sativa* (JULIANO, 1993). O longo histórico de cultivo do *Oryza sativa* o tornou bastante adaptado a diversos ambientes e condições, desde ambientes completamente inundados a encostas montanhosas secas (LU & CHANG, 1980).

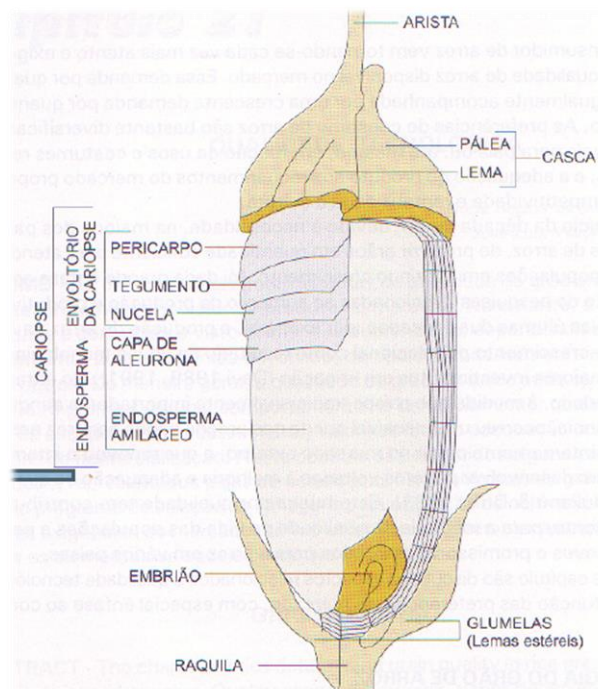
Em 2016, o Brasil obteve a colocação de nono maior produtor do mundo no ramo arroseiro, com a participação de 1,7 % da produção mundial e produção de 11,1 milhões de toneladas na safra de 2015/2016 (FAOSTAT, 2018).

No Brasil, o arroz é cultivado em todas as regiões. O destaque nacional de produção arroseira é o estado do Rio Grande do Sul, responsável por mais de 50 % da produção nacional (ANÁLISE ECONÔMICA, 2009). Na safra de 2016/2017 este valor foi de 70,8 %, representando 12,3 milhões de toneladas (CONAB, 2018), superando a safra nacional de 2015/2016 citada anteriormente.

O grão de arroz é composto de fora para dentro respectivamente pela casca (constituída pela pálea e lema), envoltório do cariopse (constituído pelo pericarpo,

tegumento e nucela), endosperma (constituído pela capa de aleurona e pelo endosperma amiláceo) e embrião (VIEIRA; CARVALHO, 1999), como mostrado na Figura 2.

Figura 2 - Camadas do grão de arroz.



Fonte: VIEIRA, RABELO, 2006

O arroz em casca é um arroz que não passou por nenhum processo tecnológico. O arroz beneficiado é um arroz que amadureceu e que passou por algum processo de beneficiamento, no mínimo a remoção de sua casca. O arroz integral passou apenas pelo processo de remoção da casca (BRASIL, 2009).

Fontoura (2015), na safra de 2014/2015, estimou no Rio Grande do Sul uma produção de 1,74 milhões de toneladas de casca de arroz, o qual foi considerado o valor de 20% do peso do arroz, representando a proporção da casca.

2.1.3. SERRAGEM

A serragem é formada por pequenas partículas de madeira que geram um volume considerável de resíduos na indústria madeireira. É um produto da passagem da serra de redução na madeira. A serragem não é um resíduo que desperta muito interesse para aproveitamento no Rio Grande do Sul, devido a sua alta quantidade de impurezas, que a

inviabiliza para aplicações em outros produtos à base de madeira, não é um combustível bom, a não ser quando em forma de briquetes ou quando associado a outro resíduo de madeira sólida. Possui uma biodegradação lenta, que dificulta sua aplicação em compostagem agrícola. Geralmente é utilizada em criadouros de aves e animais. A fiscalização da serragem está entre as mais rigorosas, pois pode se disseminar com o vento facilmente. Isso promove a queima e disposição irregulares em diversas serrarias que não encontram uma utilidade no resíduo (FAGUNDES, 2003).

Diversas espécies de madeiras podem ser utilizadas para a utilização como serragem. As mais comuns incluem carvalho, álamo, amieiro, bordo, vidoeiro, cereja selvagem, manga e ulmus. Algumas madeiras devem ser evitadas ou requerem um pré-tratamento como pinheiro, cedro e pau-brasil. O pinheiro possui reninas que inibem o crescimento do micélio, o pau-brasil e cedro são resistentes à colonização micelial (MUSHWORLD, 2004).

2.2. FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO (SSF)

Fermentação em estado sólido (SSF) é um processo em que o microrganismo se desenvolve em um meio sólido com baixa ou sem água livre. A SSF é um processo historicamente importante para a humanidade utilizado há milhares de anos, principalmente para preparação de alimentos, seja nos países ocidentais (pães e queijos) ou orientais (processo Koji). Já nas últimas décadas é um processo ainda utilizado em diversas aplicações, como produção de biomoléculas e produtos para inúmeras indústrias, seja alimentícia, farmacêutica, têxtil, bioquímica e de bioenergia, entre outras (PANDEY, 2003; SOCCOL & VANDENBERGHE, 2003).

Os resíduos mais promissores para a SSF provêm justamente da agricultura ou de resíduos florestais, que são abundantes e normalmente mal aproveitados. Uma fração destes resíduos vai para a geração de energia elétrica e uma grande parte é queimada sem aproveitamento energético ou permanecem no campo, representando um enorme problema ambiental (FARINAS, 2015).

A principal contrapartida da fermentação em estado sólido é o processo de fermentação submersa, processo em que os microrganismos se desenvolvem em um meio líquido com alta quantidade de água. Este processo possui uma série de vantagens em

relação ao SSF por possibilitar a utilização de sistemas de instrumentação e controle (monitoramento de pH, oxigênio dissolvido, temperatura, concentração das moléculas solúveis de água), separação de biomassa após fermentação, mistura, aeração e “scaling up” (FARINAS, 2015).

Entretanto a SSF consegue mimetizar o habitat natural de diversos microrganismos (principalmente fungos), não necessitando de uma grande energia para a esterilização (por causa da baixa quantidade de água); é menos suscetível à contaminação bacteriana; gera uma maior produção enzimática para muitos casos, é menos suscetível à inibição do substrato e portanto gera uma maior concentração de produto final; tem diversas vantagens ambientais, pois é possível utilizar resíduos agroindustriais ou a fonte energética de forma natural, além de diminuir o desperdício de água (SINGHANIA, PATEL, SOCCOL, & PANDEY, 2009). Alguns outros aspectos interessantes da SSF são: a maior qualidade e atividade dos extratos; a dispensabilidade do uso de solventes orgânicos (que às vezes conferem toxicidade ao substrato); menor capital e custos de operação; redução de processos “downstream” e de agitação (MARTINS et al., 2011; SINGHANIA et al., 2009).

As escolhas mais importantes a serem feitas em uma SSF o microrganismo e o substrato. Os microrganismos especialmente adequados para a SSF são os fungos filamentosos, desde que o cultivo imite o seu habitat natural. Nessas condições, eles são capazes de sintetizar grandes quantidades de enzimas e outros metabólitos (FARINAS, 2015). Outros microrganismos, como leveduras em segundo lugar, são altamente recomendados para SSF, pois são capazes de se desenvolver em ambientes com baixa atividade de água, tais como algumas espécies de bactérias (e.g. *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis* and *Lactobacillus* sp.), que também foram bem sucedidas na produção de enzimas na condição de estado sólido (SINGHANIA et al., 2009). Actinomicetos são um grupo de bactérias que apresentam características de colonização em estado sólido, produzem uma vasta gama de enzimas degradativas e possuem resistência a condições extremas, também são indicadas para o processo de SSF, como é o caso da *Streptomyces* sp (OROZCO et al., 2008).

2.3. COGUMELOS

Cogumelo é conhecido por ser a frutificação de fungos superiores que pertencem aos filos *Basidiomycota* e *Ascomycota*, sendo esta etapa a estrutura de reprodução sexuada destes fungos. (STAMETS, 1983).

Segundo a Resolução RDC nº 272 da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), “Cogumelo Comestível: é o produto obtido de espécie(s) de fungo(s) comestível(is), tradicionalmente utilizada(s) como alimento. Pode ser dessecado, inteiro, fragmentado, moído ou em conserva, submetido a processo de secagem e ou defumação e ou cocção e ou salga e ou fermentação ou outro processo tecnológico considerado seguro para a produção de alimentos.”

Dentre as 45 mil espécies de cogumelo relatadas na literatura, aproximadamente duas mil são consideradas comestíveis, porém cultivadas são em torno de 25 espécies e apenas 10 se tornaram um produto de larga comercialização (URBEN e SIQUEIRA, 2003).

A quantidade de cogumelos cultivados no mundo é cerca de 26 vezes menor do que a produção de carne, sendo o cultivo de cogumelos equivalente a três milhões e meio de toneladas e a produção de carne a 80 milhões, com a China na liderança de produção mundial dos cogumelos (URBEN, 2003).

As espécies mais cultivadas ao redor do mundo, mostradas na Figura 3, são *A. Bisporus* (A), *P. Ostreatus* (B) e *L. Edodes* (C), seguidas de *Auricularia auricula* (D), *Flammulina velupites* (E) e *Volvariella volvacea* (F). Algumas outras espécies produzidas com sucesso em diversos substratos incluem *Agrocybe aegerita*, *Ganoderma* spp., *Grifola frondosa*, *Hericium erinaceus*, *Hypsizygus mamoreus*, *Lepusta nuda*, *Coprinus comatus*, *Pholiota* e *Stropharia* spp. (STAMETS 2000, ROYSE 2004).

Figura 3 - Cogumelos: (A) *Agaricus bisporus* (Champignon); (B) *Pleurotus ostreatus* (cogumelo ostra); (C) *Lentinula edodes* (shiitake); (D) *Auricularia auricula* (Orelha de judas); (E) *Flammulina velutipes*; (F) *Volvariella volvacea*.



(A)

(B)

(C)



(D)

(E)

(F)

Fontes:

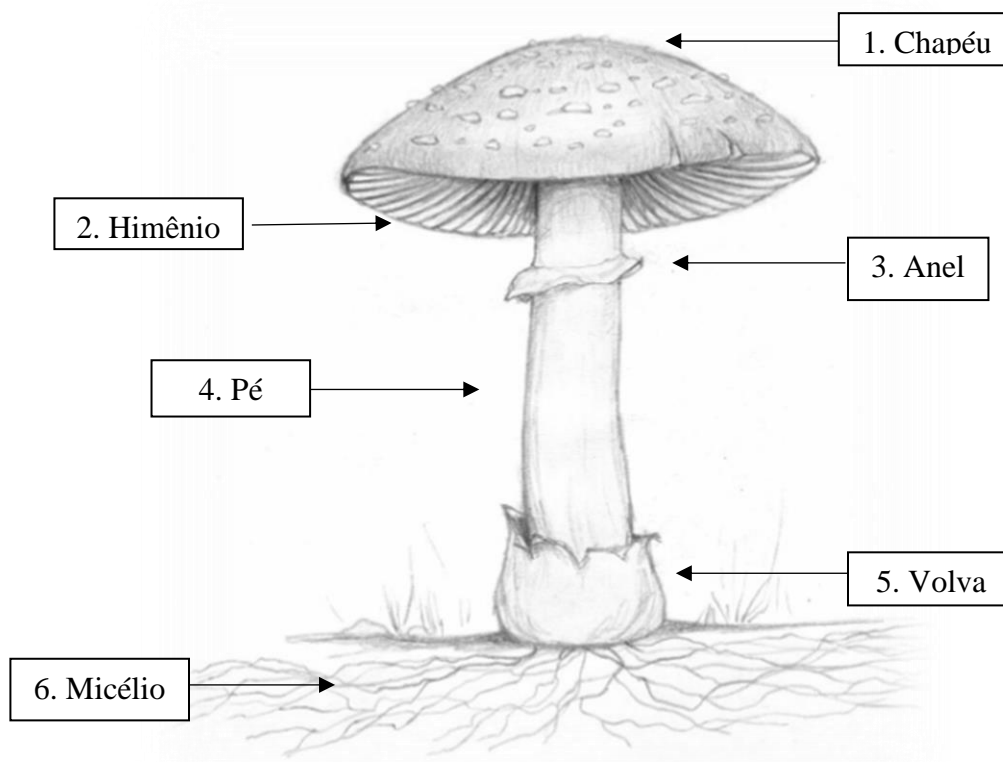
- A. <https://www.etsy.com/sg-en/listing/594583102/agaricus-bisporus>
- B. <http://www.naturephoto-cz.com/oyster-mushroom-photo-3384.html>
- C. <http://www.discoverwesbrook.com/posts/marvelous-mushrooms-a-shiitake-log-cultivation-workshop#.XQpTgY97nIU>
- D. <https://www.treknature.com/gallery/Europe/Romania/photo174660.htm>
- E. <http://champignonscomestibles.com/wp-content/uploads/2011/08/Flammulina-velutipes-300x212.jpg>
- F. https://www.velutipes.com/natural/volvariella_volvacea.htm

Os países ocidentais, focados no consumo de *Agaricus*, ajudaram muito no desenvolvimento de tecnologia, incluindo o design de cultivo, controle de qualidade, controle micro processado e dados de cultivo, colheita mecânica e processamento. Na Holanda, sistemas de cultivo de alta tecnologia têm o maior rendimento por unidade de área do mundo (CHIU et al. 2000).

Os cogumelos podem ser classificados em três categorias: saprófitos, micorrízicos e parasitas. Os cogumelos mais comumente encontrados são saprófitos, que desempenham o papel de decompositores em um ecossistema, crescendo em matéria orgânica como madeira, folhas e palhas na natureza. Os fungos podem ser consumidores primários ou secundários, no segundo caso pode haver a presença de uma bactéria ou

algum outro fungo que faça a degradação do substrato. A celulose é a principal fonte nutritiva dos cogumelos e é uma das matérias orgânicas mais abundantes no mundo. Os cogumelos são considerados muito importantes, pois são os únicos que conseguem hidrolisar a celulose e absorvê-la transformando-a em comida. O *Pleurotus ostreatus* é um dos exemplos de cogumelo comestível capaz de consumir material lignocelulósico para obtenção de seus nutrientes. Esta capacidade se deve à produção de enzimas lignocelulosicas que convertem lignina e celulose em carboidratos menores que servem como fonte de energia para o fungo. Serragem de madeiras rígidas como de Mogno possuem uma quantidade de carboidratos estruturais maiores do que as madeiras macias como as da árvore de coco. Na escola de tecnologia de crescimento de cogumelos das Philipinas é dito para priorizarem madeiras duras ao fazerem uso de serragem (MUSHWORLD, 2004). Na Figura 4 é representada a estrutura de um cogumelo do filo *Basidiomycota*.

Figura 4 – Representação de um cogumelo do filo *Basidiomycota*.



2.3.1. BASIDIOMICETOS E ASCOMICETOS

De acordo com suas características como tipo de reprodução, microestruturas especializadas peculiares, produção de enzimas, entre outras, os fungos podem ser divididos em quatro filos fundamentais: *Deuteromycota*, *Basidiomycota*, *Ascomycota* e *Zygomycota* (BonoNI et al.,1999).

Os cogumelos, como mencionado no início da seção 2.3, pertencem aos filos *Basidiomycota* e *Ascomycota* (STAMETS 1983). Nos basidiomicetos (Figura 5), a produção dos esporos (basidiósporos) ocorre nos basídios (estrutura microscópica formada por hifas), localizados no himênio. Geralmente um basídio produz quatro esporos, podendo variar este número de dois a oito. Há uma estimativa de haver aproximadamente 30.000 espécies de basidiomicetos que representam 37% do número dos fungos verdadeiros (KIRK et al., 2008).

Figura 5 - Basidiomicetos: (A) *Entoloma-hochstetteri*; (B) *Cyptotrama asprata*; (C) *Rhodotus Palmatus*.



(A)

(B)

(C)

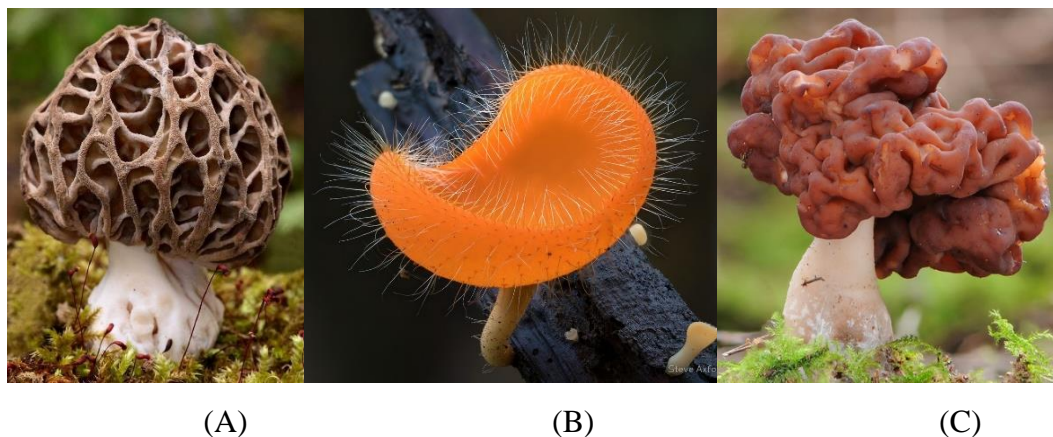
Fontes:

- A. <https://i2.wp.com/www.wallpaperflare.com/static/832/458/368/entoloma-hochstetteri-blue-mushroom-tree-fungi-wallpaper.jpg>
- B. <http://vuing.com/wp-content/uploads/2014/05/wonderful-stunning-beautiful-mushroom-fungi-pictures-10.jpg>
- C. https://www.boredpanda.com/mushroom-photography/?utm_source=google&utm_medium=organic&utm_campaign=organic

Diferentemente dos basidiomicetos, os ascomicetos (Figura 6) produzem seus esporos (ascósporos) em ascos (estrutura de sacos pertencente ao corpo de frutificação). Geralmente um asco produz oito esporos (ou múltiplos de oito), porém a produção de

quatro esporos por asco seja característica de algumas espécies verdadeiras (KIRK et al., 2008).

Figura 6 - Ascomicetos: (A) *Morchella esculenta*; (B) *Cookeina tricholoma*; (C) *Gyromitra esculenta*.

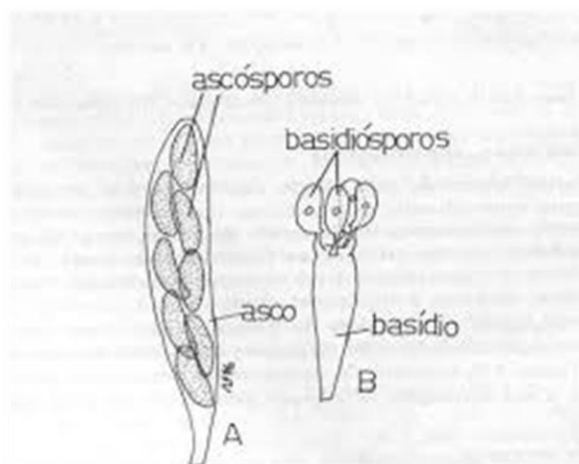


Fontes:

- A. <https://allthatsinteresting.com/bizarre-mushrooms-species/2#CAAxYUEzmJovPkCK.32>
- B. <https://www.redbubble.com/people/steveaxford/works/24109657-cookeina-tricholoma>
- C. <https://www.flickr.com/photos/132086788@N08/32836267714>

Os esporos dos ascomicetos e dos basidiomicetos são representados na Figura 7.

Figura 7 - (A) Representação de um asco com os ascósporos, característico de um ascomiceto. (B) Representação de um basídio com os basidiósporos, característico de um basidiomiceto.



Fonte: CCTA, Fungos Fitopatogênicos, 2013

2.3.2. CRESCIMENTO

Os fungos se reproduzem sexuadamente por formação de esporos e/ou assexuadamente por gemulação (BONONI et al., 1999), podendo resumir seu ciclo de vida em dois estágios: crescimento vegetativo (reprodução assexuada) e reprodutivo (reprodução sexuada). No crescimento vegetativo ocorre um crescimento linear do micélio no substrato, transformando o substrato em moléculas mais simples e as absorvendo como nutrientes. Quando é obtida a condição de temperatura baixa, alta umidade, alto teor de oxigênio e em alguns casos iluminação, o crescimento vegetativo é cessado e inicia-se a frutificação, que chamamos de “cogumelo”, caracterizando o crescimento reprodutivo. O cultivo de cogumelos consiste em basicamente repetir estes dois estágios (MUSHWORLD, 2004).

Embora o crescimento do micélio dure muitos dias, semanas ou meses, o crescimento do corpo de frutificação tem um período reduzido. Ambos os crescimentos vegetativo e reprodutivo, sofrem muita influência da condição fisiológica e do estado nutricional do micélio (WOOD & SMITH 1987).

Como as fontes de carbono utilizadas pelos basidiomicetos geralmente provém de material lignocelulósico, há produção de variadas enzimas durante o crescimento vegetativo para a degradação lignocelulósica. A quantidade enzimática e os tipos de enzimas produzidas pelos basidiomicetos no crescimento vegetativo dependem do tipo e da composição do substrato (BALDRIAN 2005, BALDRIAN & VALÁSKOVÁ 2008, ELISASHVILI et al. 2008). O índice lignocelulósico de substratos de palha de trigo e resíduos de algodão é associado positivamente a resultados de taxa de crescimento micelial e rendimento para *P. Ostreatus* e *P. Pulmonaris* e de rendimento para *V. Volvacea* (PHILIPPOUSSIS et al. 2001a).

2.3.3. CULTIVOS

Podem existir muitas formulações diferentes utilizando mais de um substrato em um mesmo cultivo. Alguns exemplos de substratos utilizados em diversos cultivos no mundo são: palhas de cereais, espigas de milho, talos de algodão, diversas gramíneas e juncos, restos de milho e sorgo, podas de videira, bagaços de cana-de-açúcar e de agave-azul, resíduos de coco e banana, cascas de milho, polpa de café e café, sementes de algodão e de girassol, cascas de amendoim, casca de arroz, papel usado, serragem e lascas

de madeira (WANG 1999, FAN et al. 2000a, PANDEY et al. 2000b, c, WEBB et al. 2004). A natureza e a composição nutricional do substrato afetam o crescimento micelial, qualidade do cogumelo e a produtividade do cultivo (KÜES and LIU 2000).

Não tem como dizer qual seria a formulação de substrato que deixaria todos os cultivadores satisfeitos, diferentes materiais estão disponíveis em diferentes locais a diferentes preços. Uma mesma suplementação poderia aumentar o rendimento em uma região como poderia facilitar a contaminação em outra. Então é recomendado que cada produtor descubra o que é mais interessante de se trabalhar na região em que se localiza e encontre a formulação ideal de substrato por tentativa e erro de acordo com as condições existentes (MUSHWORLD, 2004).

O cultivo de cogumelos é uma atividade complexa. Requer diversas operações incluindo a seleção de uma cultura aceitável para a frutificação do cogumelo, preparação da incubação e do substrato, inoculação, crescimento e cuidados, colheita, preservação, e comercialização dos cogumelos. Cada uma dessas operações consiste em passos sequenciais, cruciais para o sucesso da industrialização do cogumelo (MILES & CHANG, 1986).

Uma classificação utilizada entre os cogumelos para o cultivo é de acordo com a sua capacidade degradativa devido a sua produção enzimática, se tratando de WDF (“wood-decomposing fungi”), que possuem alta capacidade de degradação do substrato, e de LDF (“litter-decomposing fungi”), que possuem uma capacidade degradativa menor (TENGERDY & SZAKACS, 2003). Entre os WDF mais conhecidos estão inclusos os *Pleurotus* spp., *L. Edodes* e *Ganoderma* spp., já nos LDF os *Agaricus* spp., *Agrocybe* spp., *Coprinus* spp., *Stropharia* spp. e *V. volvacea*.

Até meados de 1980, o Japão era o maior produtor de *L. edodes* (shiitake), que era cultivado em toras de madeira de *Castanopsis cuspidata*, entretanto, o desenvolvimento do cultivo com serragem reduziu o tempo de colheita e aumentou a eficiência, tornando a China líder na produção de Shiitake nos anos 90 (CHANG 1999, 2005). Nos Estados Unidos, a maioria dos cultivos de Shiitake é feita com substratos baseados em serragem (ROYSE 1997, 2009, 2013, 2014).

Os fungos da espécie *Pleurotus* podem ser cultivados em toras de algumas espécies de madeiras (MOLENA, 1986; CHANG & MILES, 2004). Entretanto o processo tradicional para o cultivo destes cogumelos é a compostagem curta seguida de pasteurização (MOLENA, 1986; OBODAI et al., 2003). Os *Pleurotus* são cogumelos de

alta versatilidade e com rápido crescimento, podendo-se utilizar diversas técnicas e substratos. Técnicas de cultivo como em sacos, estantes, toras e garrafas são bem abordadas no livro “Oyster Mushroom Cultivation – Mushroom Grower’s Handbook 1”. Existem também cultivos de *Pleurotus* com uso de químicos para a esterilização, porém com a efetividade reduzida, mas ainda assim, se a colônia tomar o substrato de forma rápida o cultivo é bem sucedido, não precisando do gasto energético de pasteurização. (HERNÁNDEZ et al., 2003; CONTRERAS et al., 2004; MANDEEL et al., 2005). A maioria dos cultivos de *P. Eryngii* no Japão é feito em cedro ou em espigas de milho, suplementados com farelos e contidos em garrafas de polipropileno (YAMANAKA 2011).

Se tratando dos LDF, entre os mais cultivados encontram-se *A. bisporus* and *V. volvacea*, ambos produzidos comercialmente através de lignocelulose compostada, precedendo a etapa de incubação. Uma das compostagens comerciais mais baratas é um meio com palha, esterco de cavalo ou galinha, sulfato de cálcio, água, e alguns outros suplementos (Wood and Smith 1987). A técnica de cultivo Jun-Cao é a mais viável economicamente (DIAS; GONTIJO, 2000). Do chinês, o termo “Jun” significa fungo e “Cao” grama, é um processo no qual se utiliza gramíneas e outros resíduos agroindustriais, muito utilizada para o cultivo de *Agaricus bisporus* (Zhanxi & Zhanhua, 1997).

2.3.4. ALGUMAS TENDÊNCIAS TECNOLÓGICAS

A área da genética compreende um espectro que vai desde sistemas de reprodução, recombinação de DNA, expressão gênica, mitocôndria, plasmídeos e engenharia genética. É um ramo de desenvolvimento dinâmico e rápido na biologia dos cogumelos, sendo uma área extremamente importante para a melhora do desenvolvimento da indústria. Entre as técnicas mais prospectivas para a busca de melhores cepas estão a estrutura genética (De Giola et al., 2005), fusão do protoplasto (Zhao e Chang, 1997; Chiu et al., 2005) e tecnologia de transferência gênica (Romaine, 2004, 2005).

Uma série de cogumelos especiais foi introduzida nos últimos anos, provavelmente estimulada pelo advento de toras sintéticas, que foi uma modificação da técnica de cultivo em sacolas plásticas. Muitos cogumelos podem ser cultivados nas toras sintéticas, que são compostas de serragem, sabugo de milho e outros materiais lignocelulósicos finamente moídos, incluindo resíduos de café e até gramíneas comuns (CHANG, 2006).

O uso de micélio de cogumelo como ferramenta para curar o solo – o que STAMETS (2005) chamou de “micorrestoração” – vem do fato de os micélios fúngicos serem recursos biológicos muito promissores que podem ser desenvolvidos e cultivados tanto para benefícios de curto como de longo prazo. Os processos de micorrestoração incluem o uso seletivo de fungos para a micofiltração (uso do micélio como membrana para filtração de microrganismos, poluentes e lodo), micoforestamento (uso de fungo para o sustento de uma comunidade florestal através de sua capacidade de preservação e reciclo ambiental, sustentação de solo, aprimoramento de árvores replantadas e diversidade econômica), micorremediação (utilização de fungo para degradar ou remover toxinas do ambiente) e micopesticidas (utilização de fungos para combater insetos).

Uma tendência para a descoberta de como tratar os cogumelos tem sido explorada, de maneira a valorizá-los mais. Um exemplo é de Wermer e Beelman (2002), que relataram o crescimento de cogumelos enriquecidos em selênio (Beelman e Royse, 2006). Adicionando selênio de sódio a uma ordem de 30 a 300 ppm, descobriram que os cogumelos absorvem selênio de acordo a quantidade no composto, podendo cultivar cogumelos com uma concentração desejada. O selênio é um micronutriente que possui inúmeras funções fisiológicas, mas é mais conhecido por ser um cofator necessário para o sistema enzimático da glutathione peroxidase. Este sistema é responsável pela remoção de radicais livres do corpo, reduzindo desta forma o dano oxidativo.

2.3.5. *PLEUROTUS OSTREATUS*

Foi nos anos 70 que começou a produção do *Pleurotus* no Brasil, conhecido como “hiratake”, de forma artesanal. Apesar do sabor do *Pleurotus* se adequar ao paladar brasileiro, ele possui um tempo de prateleira muito curto, e é pouco conhecido pela população. O primeiro *Pleurotus* a ser isolado foi o *Pleurotus ostreatoroseus* por Capelari (1986), de coloração salmão, e com este isolado Bononi et al. (1991) cultivaram de maneira pioneira no Brasil.

O crescimento do consumo de cogumelos no Brasil é significativo devido ao reconhecimento de seu alto valor nutricional, com pouco teor de gorduras e propriedades preventivas ou curativas (PELCZER, CHAN, KRIEG, 1997). Alguns destes compostos associados à saúde com efeito antioxidante são: fenólicos, tocoferóis, ácido ascórbico e carotenoides (RICARDO, 2013). Entre os cogumelos mais comuns comercializados no

Brasil estão o *Agaricus bisporus* (champignon), *Lentinula edodes* (shiitake) e cogumelos do gênero *Pleurotus* (PELCZER, CHAN, KRIEG, 1997).

O cogumelo *Pleurotus* consegue se adaptar a uma grande diversidade de substratos sem haver a necessidade de um processo prévio de compostagem, além de ter um potencial de crescimento muito rápido, visto que se desenvolvem em ambientes com vasta amplitude térmica (ZADRAZIL, 1984; APATI, 2004). Na Figura 8 é mostrado o *Pleurotus ostreatus*.

Figura 8 - Corpo de frutificação do *Pleurotus ostreatus* crescido em árvore.



Fonte: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:2010-10-28_Pleurotus_ostreatus_\(Jacq.\)_P._Kumm_116409_cropped.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:2010-10-28_Pleurotus_ostreatus_(Jacq.)_P._Kumm_116409_cropped.jpg)

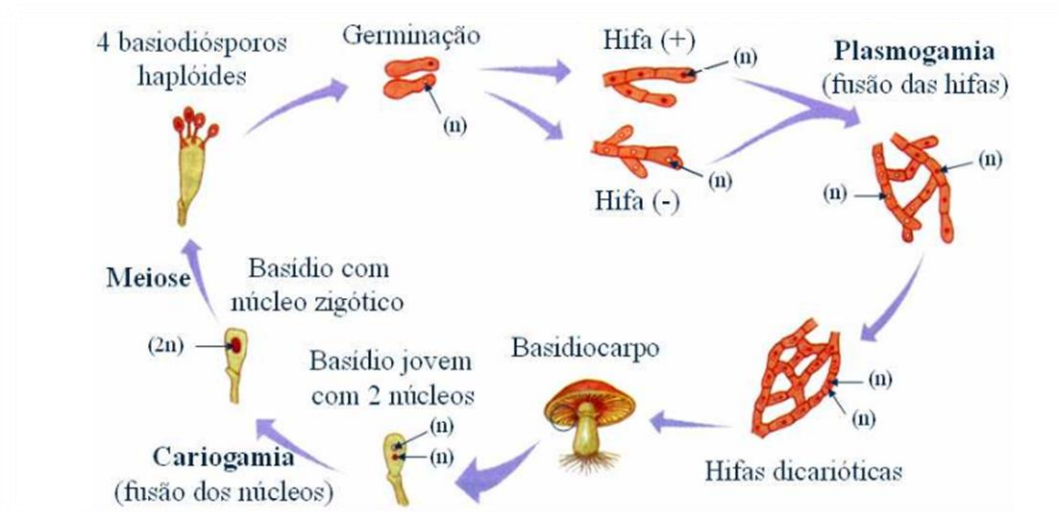
Na sua grande maioria, os fungos são saprófitos, utilizam de enzimas para hidrolisar a matéria orgânica morta, inseridos neste grupo os cogumelos do gênero *Pleurotus*. Também podem ser denominados parasitas, pois o alimento provém de um corpo hospedeiro, prejudicando-o ou ambos se beneficiando (ALEXOPOULOS et al.,1996; BONONI et al.,1999).

Segundo Alexopoulos et al. (1996), a classificação taxonômica do *Pleurotus ostreatus* segue a seguinte definição:

- Reino Fungi
- Subreino Fungi Superior
- Divisão Basidiomycota
- Subdivisão Basidiomycotina
- Classe Himenomycetes
- Ordem Agaricales
- Família Tricholomataceae
- Género *Pleurotus*
- Espécie *ostreatus*

2.3.5.1. CICLO DE VIDA DO *PLEUROTUS OSTREATUS*

Como mostrado na Figura 9, quatro basidiósporos se formam na ponta de um basídio presentes no himênio; cada esporo possui um núcleo. Os esporos germinam formando o micélio primário (composto por células monocarióticas), que por plasmogamia (fusão das hifas) formam o micélio secundário (composto por células dicarióticas). Apenas o micélio secundário é capaz de produzir corpos de frutificação, nas condições adequadas. Em um basídio de um corpo de frutificação maduro ocorre a cariogamia (fusão dos núcleos), passando em seguida pela meiose e gerando quatro núcleos haplóides. Estes quatro núcleos viram novos quatro basidiósporos (MUSHWORLD, 2004).

Figura 9 - Ciclo de vida do *Pleurotus ostreatus*.

FONTE:http://biosonialopes.editorasaraiva.com.br/navitacontent_/userFiles/File/SoniaLopes_Powerpoints/Fungos.pps#261,6,Slide6, acessado em: 12/12/2007.

2.3.5.2. CULTIVO DO *PLEUROTUS OSTREATUS*

Basicamente são três etapas principais do cultivo: (1) preparação do inóculo, (2) preparo do substrato e (3) crescimento do cogumelo (que inclui inoculação, incubação, frutificação e colheita) (WANG 1999, MARTÍNEZ-CARRERA et al. 2000).

O crescimento do fungo, se inicia com a inoculação, e com a expansão do micélio no substrato utilizado em condição de alta umidade (cerca de 65%), com a temperatura de 25°C e com o pH adequado. Depois de completa a colonização, em torno de 2-3 semanas, a frutificação é induzida pela mudança das condições ambientais, reduzindo a temperatura da ordem de 5-10 °C, fornecendo iluminação alternada escuro/claro de 12 em 12 horas, fazendo o fungo entrar em contato com oxigênio e aumentando a umidade ambiente para cerca de 90%. O controle de CO₂ também é importante, concentrações altas de CO₂ (1% v/v no ar) podem estimular o crescimento micelial e inibir a frutificação, então faz-se necessário uma ventilação adequada no ambiente principalmente na etapa de frutificação.

2.3.5.3. FATORES QUE INFLUENCIAM O CULTIVO

2.3.5.3.1. RAZÃO CARBONO NITROGÊNIO (C/N)

Uma das influências diretas no cultivo de cogumelos é a fonte de carbono (carboidratos, lignina, celulose, compostos policíclicos e aminoácidos), que servem para a obtenção de energia das células fúngicas (CHANG & MILES, 2004), estando disponíveis em diversos tipos de substratos lignocelulósicos como bagaços, palhas e serragens, em quantidades específicas para cada tipo. Os cogumelos dispõem da liberação de enzimas capazes de hidrolisar esses materiais como forma de facilitar sua utilização para obtenção de energia (CHANG & MILES, 2004).

O nitrogênio é um componente essencial para a síntese proteica e de outros compostos nitrogenados. Quando dosado corretamente favorece o rendimento da produção de cogumelos, e quando dosado excessivamente pode inibir o crescimento (KAMRA & ZADRAZIL; 1988; CHANG & MILES, 2004).

Espécies como o champignon (*Agaricus bisporus*) necessitam quantidades elevadas de nitrogênio para o seu cultivo, com uma relação C/N com cerca de 17. Ao contrário do champignon, os cogumelos do gênero *Pleurotus* requerem uma quantidade menor em relação ao nitrogênio, demandando mais fonte de carbono (CHANG & MILES, 2004).

O crescimento de *Pleurotus* e *Lentinula edodes* é possível em madeiras em ambientes naturais, com a relação C/N variando de 300 a 500 (CHANG & MILES, 2004), entretanto a adição de nitrogênio é necessária para haver um incremento na produção.

Segundo Eira (2010, apud DE AGUIAR, 2016) um cultivo produtivo de *Pleurotus ostreatus* teria substratos com relação C/N inicial com cerca de 70-80:1. Essa relação pode diminuir para cerca de 40:1 se o substrato passar por compostagem e pasteurização, se for autoclavado a relação C/N pode ficar entre 15 e 25.

2.3.5.3.2. TEMPERATURA

Apesar de haver diferenças entre o crescimento do micélio nas cepas de uma espécie, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus florida*, *P. Sajor-caju* e *P. eryngii* atingem o seu máximo crescimento micelial na temperatura de 25 °C, enquanto *P. cornucopiae* e *P. cystidiosus* atingem o máximo crescimento entre 25 e 35 °C (MUSHWORLD, 2004).

A temperatura na frutificação é induzida com o abaixamento da temperatura de 5 a 10 °C a menos que na incubação (OEI, 2006). Na etapa de frutificação, a temperatura

influencia na coloração do chapéu do cogumelo, quanto mais baixa a temperatura mais escuro ficará o chapéu dentro da faixa de temperatura recomendada (MUSHWORLD, 2004), que no caso do *Pleurotus ostreatus* é em torno de 15 °C.

2.3.5.3.3. UMIDADE

Cerca de 80% do cogumelo é composto por água. O teor de umidade do substrato deve estar entre 60-75%. Durante a frutificação, o teor de umidade deve estar entre 80-95%, do começo ao fim (MUSHWORLD, 2004). Valores menores que o recomendado podem dificultar o crescimento do fungo e valores mais elevados prejudicam na disponibilidade do oxigênio, além de possibilitar o surgimento de contaminantes. (CHANG & MILES, 2004).

2.3.5.3.4. pH

O crescimento micelial é menos afetado pela influência do pH do que a frutificação. O crescimento do corpo de frutificação da maioria das espécies ocorre melhor em pH neutro ou levemente ácido, em torno de 6-7 (WOOD & SMITH 1987).

No geral, para o desenvolvimento fúngico o pH varia entre 4 e 7. Porém, valores baixos de pH podem favorecer o crescimento de alguns contaminantes como o *Trichoderma sp.*. Por isso não é sugerido um pH levemente ácido (LIN, 2004).

2.3.5.3.5. ILUMINAÇÃO

Ao contrário do micélio que pode crescer apropriadamente até mesmo no escuro total, a formação do corpo de frutificação só ocorre com um fornecimento de luz para o fungo, no caso do *Pleurotus ostreatus*. Só é possível indução da frutificação depois de 12 horas de iluminação, sendo a intensidade luminosa adequada para o crescimento de 50-500 lux. A cor do chapéu é relacionada com a intensidade luminosa, então quantidades baixas de iluminação levarão a formação de chapéus pálidos (MUSHWORLD, 2004).

2.3.5.3.5.1. CONCENTRAÇÃO DE CO₂

A concentração de CO₂ é um fator a ser considerado durante a incubação e frutificação. Durante o crescimento micelial, a concentração de CO₂ pode aumentar até 40 %. O crescimento micelial é estimulado em altas concentrações de CO₂, no caso do *Pleurotus ostreatus* em torno de 28 %. A concentração de CO₂ no ambiente deve ser

controlada por ventilação, especialmente durante a etapa de frutificação, que sob altas concentrações de CO₂ (>1000 ppm) produzirá cogumelos de baixa qualidade com estipes alongadas e chapéus pequenos (MUSHWORLD, 2004).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. MICRORGANISMO

O microrganismo utilizado foi o *Pleurotus ostreatus*, cedido por Diego Melo Pereira (coorientador do trabalho) e armazenado em placas contendo meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar), sob refrigeração para posterior uso.

3.2. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

No trabalho realizado por Oliveira (2018), foi feito um estudo que visou avaliar a influência do bagaço de malte (XBDM) em substratos com casca de arroz (CA) e outros com serragem (SE), mantendo o percentual de CaCO_3 (XC CaCO_3) fixo a 1 %. Oliveira (2018) conduziu os experimentos em sacos de polipropileno utilizando 180g de substrato resultando em cinco ensaios para CA e cinco para SE com composições de BDM que variavam de 10% a 70%. Em seu trabalho não foi avaliada a influência de CaCO_3 para o cultivo e pôde se observar que nos sacos com CA ocorreu exsudação de água no fundo. Então neste trabalho, com o intuito de observar a influência de CaCO_3 , optou-se por avaliar a influência de BDM, junto com a de CaCO_3 complementado os substratos com uma mistura 50/50 de CA e SE, observando se haveria uma influência positiva na retenção de água com esta mistura.

Os experimentos para a produção de cogumelos pelo fungo *Pleurotus ostreatus* foram realizados através de um planejamento central composto 2^2 , com 5 pontos centrais, resultando em 13 experimentos, onde a variável resposta foi a eficiência biológica (EB). As variáveis independentes avaliadas foram o percentual bagaço de malte (XBDM) e o percentual de carbonato de cálcio (XC CaCO_3). A Tabela 1 apresenta as variáveis codificadas e reais utilizadas no planejamento.

Tabela 1 - Delineamento central composto 2². Com os valores codificados à esquerda e as variáveis independentes à direita (XCaCO₃ e XBDM).

Tratamento	Valores codificados		Valores reais (%)	
	XCaCO ₃	XBDM	XCaCO ₃	XBDM
1	-1,00	-1,00	1,60	18,70
2	1,00	-1,00	4,40	18,70
3	-1,00	1,00	1,60	61,30
4	1,00	1,00	4,40	61,30
5	-1,41	0,00	1,00	40,00
6	1,41	0,00	5,00	40,00
7	0,00	-1,41	3,00	10,00
8	0,00	1,41	3,00	70,00
9	0,00	0,00	3,00	40,00
10	0,00	0,00	3,00	40,00
11	0,00	0,00	3,00	40,00
12	0,00	0,00	3,00	40,00
13	0,00	0,00	3,00	40,00

A umidade das amostras foi determinada através do método descrito pelo Instituto ADOLFO LUTZ (2008) - método 012/IV. Foram coletadas amostras em duplicata com cerca de 5 g de cada substrato e deixadas durante o período de 24 horas em uma estufa a 105 °C, após retiradas foram colocadas em um dessecador antes de serem pesadas. A umidade corresponde à diferença entre a massa pesada inicialmente e a final.

Os valores das variáveis independentes foram calculados em base seca. A cada experimento houve a complementação de SE e CA ao BDM e CaCO₃, mostrados de forma mais completa na Tabela 3 do APÊNDICE I com uma estimativa da razão C/N em cada caso. A razão C/N que será apresentada na Tabela 2, foi calculada utilizando a estimativa de Oliveira (2018) sobre a composição dos substratos e o fator de conversão para nitrogênio (proveniente das proteínas) e carbono (proveniente de celulose, hemicelulose e lignina) mostrados na Tabela 4 do APÊNDICE I.

3.3. RESÍDUOS UTILIZADOS

O bagaço de malte utilizado para este trabalho foi 100% de cevada sem a utilização de grãos torrados ou tostados. Este resíduo foi coletado após uma brassagem feita no sítio aonde o autor produz cerveja. Foi coletado de uma leva que originou uma cerveja Pilsen. O bagaço foi armazenado algumas horas depois em um freezer a -6 °C, sendo utilizado

na semana seguinte para a preparação dos substratos, chegando descongelado no laboratório para a manipulação.

A casca de arroz utilizada foi cedida pelo laboratório BiotecLab, do Instituto de Ciência e Tecnologia do Alimento (UFRGS), sempre mantida refrigerada.

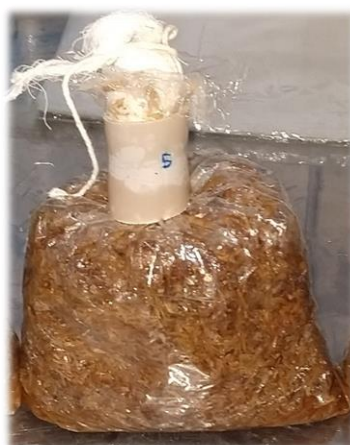
A serragem utilizada foi a obtida no trabalho de Oliveira (2018) proveniente de toras da madeira de Angelim, sempre mantida refrigerada, cuja doação foi da Marcenaria Siqueira.

3.4. PREPARO DO SUBSTRATO

Preparados em laboratório da UFRGS, foram utilizados sacos de polipropileno com 400 g em cada formulação. A umidade relativa do substrato foi de 67 %, com o intuito de não haver água em excesso nos cultivos, principalmente os que possuem bastante arroz, cuja absorção de água é consideravelmente menor que a dos outros componentes.

Após as quantidades definidas estarem dentro dos sacos, foi utilizado cano PVC para envolver a ponta dos sacos e criar uma passagem, possibilitando a troca de ar com o meio externo. Uma bucha de algodão foi colocada nos canos PVC para evitar a contaminação e permitir a troca gasosa, como mostra a Figura 10.

Figura 10 –Saco de polipropileno contendo 400g de substrato, com cano de PVC e bucha de algodão no topo.



Fonte: Autor

Os sacos foram autoclavados em duas bateladas em um período de 15 minutos cada a 121 °C como mostrados na Figura 11. Após a esterilização foram levados para o

laboratório e deixados por 5 horas para resfriar, antes de proceder a inoculação com o fungo.

Figure 11 – Batelada de sacos sendo autoclavada.

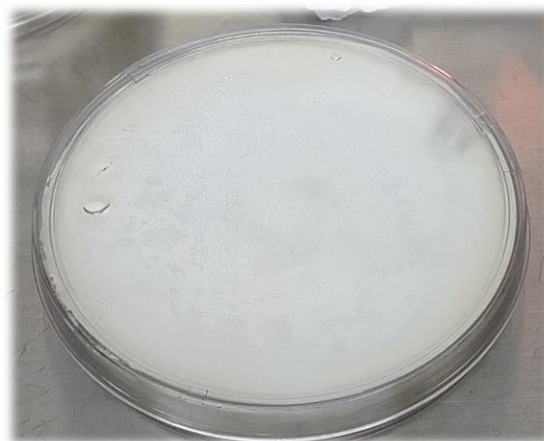


Fonte: Autor

3.5. INOCULAÇÃO

O fungo *Pleurotus ostreatus* utilizado foi de placas já colonizadas há 6 meses. Tentou-se fazer a repicagem para a utilização do fungo em novas placas, porém a colonização não foi tão rápida e se optou por utilizar as placas já colonizadas devido ao cronograma imposto ao trabalho. As placas utilizadas para a colonização foram cultivadas em meio BDA e mantiveram-se sob refrigeração durante esse período. A Figura 12 mostra uma das placas utilizadas no experimento para inoculação do fungo.

Figura 12 - Placa colonizada de *Pleurotus ostreatus*.



Fonte: Autor

Foi utilizada uma capela de fluxo laminar, higienizada com álcool 70 % (v/v) e posteriormente esterilizada com lâmpada UV por 15 minutos antes da inoculação nos substratos. Após o ambiente estar estéril, os substratos foram inseridos na capela para a inoculação. Utilizou-se tubos Falcon para coletar amostras circulares, do fungo cultivado nas placas petri (Figura 12) e três discos foram inseridos nos sacos de polipropileno para cada experimento realizado (Figura 13). Após a inoculação, a bucha foi recolocada na entrada dos sacos, mantendo-se o meio em contato com o ar e com proteção para contaminantes.

Figura 13 - Um dos três discos de fungo inoculados no substrato através do cano de PVC.



Fonte: Autor

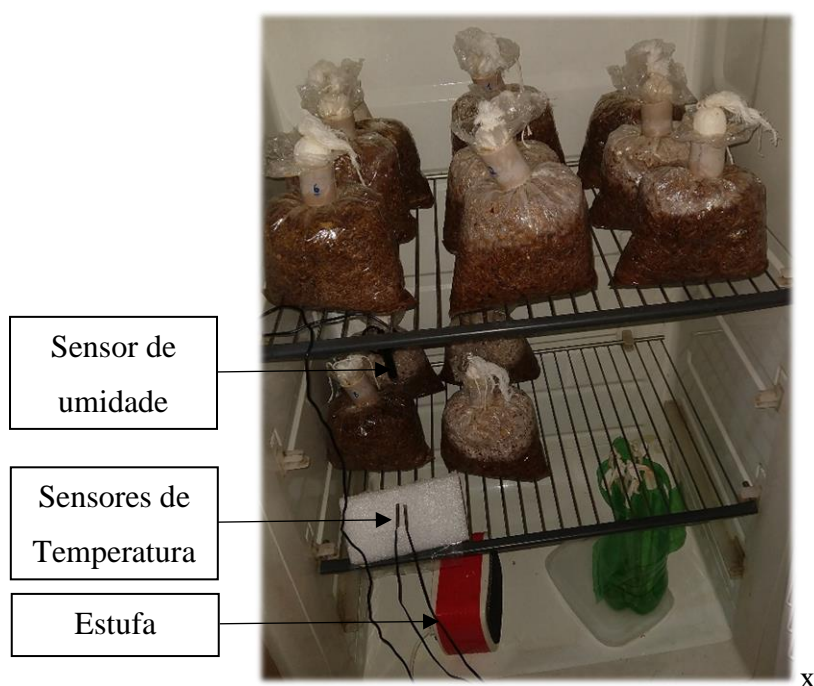
3.6. PROPAGAÇÃO DO MICÉLIO

Os sacos foram colocados em uma geladeira sobre duas prateleiras. A temperatura foi, mantida entre 25 e 26,5 °C, utilizando um controlador de aquecimento com uma estufa e um controlador de resfriamento com a geladeira, ambos do modelo Stc-1000. Como a temperatura está abaixo de 25 °C nesta época, entre Abril e Junho, praticamente a estufa que agiu e manteve a temperatura quase sempre na temperatura mínima do setpoint 25 °C.

Foi utilizado um termohigromêtro simples com sensor externo para a aferição da umidade e um umidificador de ambiente. Geralmente o valor foi mantido acima de 65 % apenas com a utilização deste recurso, podendo chegar até 80 %.

Foi mantida uma fresta na geladeira para a troca gasosa. Um cooler de computador e uma bateria foram colocados na parte de cima da geladeira apontando para dentro, aumentando a troca gasosa. A Figura 14 apresenta o arranjo dentro da geladeira feito para a incubação.

Figure 14 - Arranjo do ambiente na etapa de incubação dentro da geladeira.



Fonte: Autor

3.7. FRUTIFICAÇÃO

Após a total colonização dos tratamentos que foram bem sucedidos, iniciou-se a frutificação.

No mesmo ambiente, a temperatura foi ajustada para 17,5 °C na estufa e 18 °C na geladeira, como a temperatura ambiente geralmente esteve acima de 18 °C, quem atuou na maior parte do tempo foi a geladeira, mantendo majoritariamente a temperatura em 18 °C.

Nesta nova conformação (Figura 15(A)) dos equipamentos foi inserida uma lâmpada de LED de 2W e 200 lúmens. Como a dimensão do espaço interno da geladeira

é de $0,8 \text{ m}^2$, o lux calculado foi de 250, que ficou dentro da faixa ótima entre 50-500 lux (MUSHWORLD, 2004). Um temporizador foi conectado à lâmpada, ligando e desligando em um período de 12 horas. Do lado de fora da geladeira, utilizou-se um umidificador de ambiente para aumentar a umidade e manter maior do que 80 %.

Finalmente para o fungo entrar em contato com oxigênio, cortes em formatos de cruz foram feitos em uma das laterais dos sacos utilizando um estilete como mostra na Figura 15(B).

Figura 15 - (A) Arranjo do ambiente na etapa de frutificação, com lâmpada; (B) Corte em formato de cruz realizado nos sacos



(A)



(B)

Fonte: Autor

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Durante a incubação os controles de temperatura e umidade se mostraram satisfatórios. Após o início da etapa de frutificação houve falha no sensor de umidade e falha na iluminação. Devido a essas condições, apenas dois sacos geraram cogumelos e apenas um único flush em cada. O delineamento experimental, o qual a variável resposta seria a eficiência biológica dos tratamentos não pôde ser executada por falta de dados. A eficiência biológica seria calculada através da massa pesada dos cogumelos nas colheitas. Desta forma, as conclusões foram feitas observando o desenvolvimento de cada etapa (Incubação/Frutificação) separadamente.

4.1. INCUBAÇÃO

Os tratamentos ficaram na etapa de incubação por 35 dias, 10 dias a mais do esperado para o experimento, e ainda assim, apenas o tratamento 2 se mostrou visualmente bem colonizado. De acordo com Tsegaye (2017), em seu estudo com substratos de bagaço-de-cana, trigo, sorgo e milho moído o tempo de incubação foi de no máximo 20 dias em substratos com mais de 1000 gramas em cultivo em garrafa.

Na Tabela 2 são representados os sacos de acordo com o desempenho na incubação. Em verde: houve uma boa colonização visual; em azul: intermediária; em amarelo: baixa colonização; em vermelho: nenhuma colonização.

Tabela 2 - Tabela demonstrativa dos tratamentos do experimento, representando através de cores o desenvolvimento na incubação em função das composições. Em vermelho, os ensaios que não cresceram. Em amarelo, os ensaios que cresceram de maneira pouco densa no substrato. Em azul, ensaios que cresceram de maneira visualmente densa porém ainda deixaram substrato intacto nos sacos. Em verde, o ensaio que colonizou de maneira satisfatória, mostrando uma densidade de fungo maior que dos outros.

Tratamento	Valores codificados		Valores reais (%)				C/N
	XCaCO ₃	XBDM	XCaCO ₃	XBDM	XCA	XSE	
1	-1,00	-1,00	1,60	18,70	39,85	39,85	76,00
2	1,00	-1,00	4,40	18,70	38,45	38,45	74,00
3	-1,00	1,00	1,60	61,30	18,55	18,55	27,00
4	1,00	1,00	4,40	61,30	17,15	17,15	26,00
5	-1,41	0,00	1,00	40,00	29,50	29,50	42,00
6	1,41	0,00	5,00	40,00	27,50	27,50	40,00
7	0,00	-1,41	3,00	10,00	43,50	43,50	107,00
8	0,00	1,41	3,00	70,00	13,50	13,50	23,00
9	0,00	0,00	3,00	40,00	28,50	28,50	41,00
10	0,00	0,00	3,00	40,00	28,50	28,50	41,00
11	0,00	0,00	3,00	40,00	28,50	28,50	41,00
12	0,00	0,00	3,00	40,00	28,50	28,50	41,00
13	0,00	0,00	3,00	40,00	28,50	28,50	41,00

Verificou-se que os sacos 3, 4, 5, 6 e 8, mostrados em vermelho na Tabela 2, não colonizaram, nem sequer houve uma expansão do micélio no substrato (Figura 16). Composições elevadas de XBDM de 61,30 % (sacos 3 e 4) e 70,00 % (saco 8), pareceram ser o fator determinante para o não desenvolvimento dos sacos 3,4 e 8. As composições com os extremos mínimo e máximo de XCaCO₃ com 1,00 % (saco 5) e 5,00 % (saco 6), pareceu ser um fator determinante para o não crescimento dos ensaios 5 e 6, chamando a atenção, pois no trabalho de Oliveira (2018) os cultivos tiveram sucesso com 1 % de XCaCO₃, porém em valores de substratos diferentes.

Figura 16 - Tratamentos que não colonizaram na etapa de incubação (sacos 3, 4, 5, 6 e 8)



Fonte: Autor

Os sacos 1 e 7, mostrados em amarelo na Tabela 2, apresentaram uma colonização pouco densa em comparação aos demais que colonizaram, deixando o substrato aparentemente intacto, porém com presença de hifas. Também se observa água livre no fundo de ambos os sacos, que poderia explicar a falta de sucesso com estes ensaios, pois a água não está distribuída ao longo de todo o saco, não sendo um meio atrativo para o fungo (Figura 17). A baixa retenção de água pode ser explicada por uma alta XCA (39,85 % no saco 1 e 43,5 % no saco 7) e XSE (39,85 % no saco 1 e 43,5 % no saco 7) no substrato, visto que a retenção de água na casca de arroz é relativamente baixa frente ao bagaço ao malte e à serragem, devido quantidade de sílica presente na casca de arroz, fator que para essas quantidades de CA não conseguiu ser compensado pela retenção de água do BDM e da SE (maiores que a CA).

Figura 17 - Tratamentos que houve colonização, porém com uma densidade fúngica menor que os demais.



Fonte: Autor

Visualmente os sacos 9, 10, 11, 12 e 13, mostrados em azul na Tabela 2, tiveram um crescimento micelial parecido, colonizando de forma mais vigorosa que os sacos mostrados anteriormente, porém apresentando ainda muito substrato não colonizado ao longo do saco (Figura 18).

Figura 18 - Tratamentos que colonizaram, porém que ainda remanesceu substrato intacto dentro dos sacos (sacos 9, 10, 11, 12 e 13).



Fonte: Autor

O saco 2, mostrado em verde na Tabela 2, diferentemente dos demais, colonizou o substrato de forma densa dentro do período imposto de 35 dias, apresentando um aspecto esbranquiçado bem nítido em relação aos demais (Figura 19). As quantidades de XCA (38,45 %) e XSE (38,45 %) neste ensaio são muito próximas das dos sacos 1 e 7 mencionadas anteriormente, o que impossibilitaria o saco 2 de ter sucesso. Porém, a quantidade elevada de XCaCO_3 (4,40 %) além de poder fornecer o pH adequado ao meio, pode também ter influenciado na retenção de água ao longo do saco, mantendo o substrato com a umidade mais distribuída do que os sacos 1 e 7 e sendo satisfatório para o cultivo.

Figura 19 - Único tratamento (saco 2) com densidade de fungo elevada visualmente após 30 dias.



Fonte: Autor

4.2. FRUTIFICAÇÃO

Em um período de uma semana apareceram os primórdios nos sacos 2 e 9 e decorridos mais 7 dias de maturação se observou o crescimento máximo pronto para a colheita. No estudo de Sultana et al. (2018) os primeiros primórdios apareceram com cerca de 2 a 4 dias após a indução à frutificação e maturaram no máximo em 4 dias até a sua colheita, utilizando substratos de resíduos de papel e sacos de polipropileno com 500g de substrato, corroborando com Tsegaye (2017), citado anteriormente, que obteve períodos de 3 a 4 dias para a formação dos primeiros primórdios e 3 dias para a maturação do cogumelo.

Foi observado que os primórdios do saco 2 (Figura 20 A) apareceram com a coloração escurecida e os primórdios do saco 9 (Figura 20 B) vieram brancos, fato que pode ser explicado pela posição dos sacos dentro da geladeira em relação a lâmpada, já que no saco 2 o corte estava virado diretamente para a lâmpada e o saco 9 apenas recebia iluminação refletida de dentro do ambiente, acarretando em menor intensidade luminosa e gerando cogumelos pálidos como mencionado anteriormente por Mushworld (2004).

As seguintes falhas ocorreram no início da segunda semana: falha no sensor de umidade, indicando sempre 99 %; falha no temporizador da lâmpada, permanecendo acesa integralmente na segunda semana, o que foi notado apenas no meio da semana.

Perante essa situação, o controle de umidade ficou comprometido e a iluminação ficou sem alternar luz/escuro na segunda semana.

O saco 2 gerou cogumelos saudáveis (7,8 g no total) e aparentemente úmidos, mostrado na Figura 20 (C), enquanto o saco 9 gerou pequenos cogumelos (1 g no total) e começou a ficar com um aspecto seco na segunda semana, mostrado na Figura 20 (D). Ainda na segunda semana, pôde-se observar que os substratos já não estavam mais úmidos como no início. Apenas vingou um único flush de cogumelos.

Figura 20 – (A) Primórdios do saco 2; (B) Primórdios do saco 9; (C) Cogumelos do saco 2; (D) Cogumelos do saco 9.



(A)



(B)



(C)



(D)

Fonte: Autor

Ao final da etapa de frutificação, após não vingarem mais cogumelos, pôde-se concluir que apenas o saco 2 estava maduro o suficiente para gerar cogumelos saudáveis. A densidade fúngica do saco 2 ao longo do substrato era mais intensa do que nos demais tratamentos, que ao sofrerem o corte se mostraram ainda não colonizados integralmente. O fato de o sensor de umidade ter parado de funcionar não permitiu um bom umedecimento do ambiente, e a água dos substratos foi evaporando durante o período de frutificação, até os sacos ficarem com uma condição não favorável para o crescimento do cogumelo. Além disso, não alternar a luminosidade entre claro/escuro não promoveu adequadamente a luz para o crescimento. Provavelmente por este fator não vingou mais de um flush nos sacos 2 e 9.

4.3. DISCUSSÃO FINAL DO CULTIVO

A utilização direta do fungo armazenado do semestre anterior pode ter sido a causa do atraso em todas as etapas. Desde as placas petri que não foram utilizadas até a etapa de frutificação, o fungo se mostrou com uma velocidade de proliferação baixa e menor que a da literatura na incubação e na frutificação.

Apesar de resultados não terem sido expressos na forma de EB por falha no crescimento dos cogumelos na maioria dos sacos, foi possível encontrar um substrato melhor que os demais (saco 2) para o cultivo com os materiais utilizados. Durante todo o cultivo, a resposta do fungo neste substrato se mostrou mais rápida e no fim gerou cogumelos saudáveis, sendo a composição de $XCaCO_3$ de 4,40 % e $XBDM$ de 18,70 %, representando em C/N o valor de 74, corroborando com a faixa ideal de razão entre 70-80 citada por Eira (2010, apud DE AGUIAR, 2016) anteriormente. Contudo, em função dos problemas relatados não foi possível avaliar os experimentos realizados no planejamento, uma vez que não se pode atribuir a falta de crescimento adequado ao valor das variáveis do planejamento ou ao mau funcionamento dos equipamentos ao longo da execução do planejamento.

O esperado com relação à influência do aumento de $XCaCO_3$ era de que a EB aumentasse em comparação aos ensaios de Oliveira (2018), que foram realizados a 1 %. Como a análise estatística não foi factível, apenas foi possível comparar a colonização dos sacos. Ao observar os sacos 5, 6 e os pontos centrais 9, 10, 11, 12 e 13, que possuem

a mesma XBDM, mas com composições de CaCO_3 diferentes, verificou-se que XCaCO_3 de 1 % e 5 % não tiveram sucesso, e que o valor intermediário de 3 % possibilitou a colonização. Como o saco 2 possui XBDM diferente dos sacos mencionados anteriormente fica difícil de fazer uma comparação, porém entre os sacos 1 e 2 a XBDM foi igual, e o saco 2 foi bem sucedido com XCaCO_3 de 4,40 % frente a saco 1 com XCaCO_3 de 1,60 %, mostrando outra evidência da melhora no cultivo com valores maiores de XCaCO_3 .

5. CONCLUSÃO

Criar cogumelos é uma prática rentável e interessante, seja como negócio principal ou alternativo para o destino de resíduos agroindustriais. Diversos materiais e técnicas podem ser utilizados para a prática, sendo necessário apenas descobrir o melhor método para as condições aonde se realizará o cultivo. O cultivo caseiro é possível de ser realizado, sendo necessário condições seguras e equipamentos adequados para a prática. Algumas dificuldades surgiram ao longo do experimento, principalmente com o umedecimento do ambiente e iluminação na frutificação, mostrando serem fatores que podem comprometer o cultivo se não forem bem controlados.

A vitalidade do fungo pode ser um fator crucial para um satisfatório crescimento do fungo em todas as etapas que precedem o cultivo. Desde o repique que não foi utilizado, o crescimento no substrato e a frutificação apresentaram períodos mais demorados do que os encontrados na literatura. A utilização direta do fungo armazenado do semestre anterior pode ter sido uma das possíveis causas do atraso em todas as etapas.

Como o período do trabalho estava estipulado de aproximadamente 2 meses, e tinha apenas um ambiente para todos os cogumelos, se optou por mudar a temperatura de todos simultaneamente para atingir o prazo. Dentro desse período, diversos cogumelos ainda não estavam prontos para ir para a etapa de frutificação. Então é recomendado utilizar 2 ambientes, ou esperar mais tempo em todos os cogumelos, independentemente de alguns já estarem completamente colonizados para poder iniciar a frutificação.

A influência do CaCO_3 visualmente mostrou ser um fator importante no cultivo; nos ensaios realizados com faixa de 1 a 5 %, valores intermediários como 3 % em substratos de XBDM de 40 % se mostraram mais eficazes. Já nos substratos com XBDM de 18,7 %, a XCaCO_3 de 4,40 % teve um resultado melhor frente ao substrato com 1,6 %.

Para futuros trabalhos seria interessante reavaliar de forma estatística a influência do pH, já que não foi possível abordar desta maneira neste trabalho; fazer uma avaliação da retenção de água promovida pelo CaCO_3 nos substratos assim como buscar alternativas complementares para aumentar a retenção em substratos com casca de arroz; utilizar locais maiores para o cultivo, já que fica mais fácil de proporcionar ao experimento uma condição homogênea (temperatura, umidade e luminosidade) para os ensaios.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKAR, T., AVCI, M., DUSUNCELI, F.. **Barley: Post-harvest operations**. 2004. Disponível em: <http://www.fao.org/inpho/content/compend/text/ch31/ch31.htm>. Acessado em 19 de maio de 2019.

ALDERMAN DR JR . **Assessing the availability of wood residues and residue markets in Virginia**. Master thesis in: Wood Science and Forest products, Blacksburg, Virginia. 1998.

ALEXOPOULOS, C. J.; MINS , W.C.; BLACKWELL, M.. **Introductory Mycology**. –4th. Ed. New York: Jhon Winley & Sons. Inc, 1996. 869 p. 1996.

ALIYU, S.; BALA, M. **Brewer's spent grain: A review of its potentials and applications**. African Journal of Biotechnology, v. 103, n. 3, p. 324-331, 2011.

Análise Econômica, Porto Alegre, ano 27, n. 52, p. 75-96, set. 2009.

APATI, G.. **Secagem e Resfriamento a vácuo de cogumelos comestíveis das espécies *Pleurotus ostreatus***. Santa Catarina: Universidade Federal de Santa Catarina. Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Tese de Mestrado. 2004.

BALDRIAN P, VALÁSKOVÁ V.. **Degradation of cellulose by basidiomycetous fungi**. FEMS Microbiol Rev 32: 501–521, 2008.

BALDRIAN P.. **Fungal laccases-occurrence and properties**. FEMS Microb Rev 30: 215–242. 2005.

BEELMAN R. B. AND ROYSE D. J. **Selenium enrichment of *Pleurotus cornucopiae* (Paulet) Rol-land and *Grifola frondosa* (Dicks.:Fr.) S.F. Gray mushrooms**. *Int J Med Mushr*, 8, 77–84, 2006.

BONONI, V.L.; CAPELARI, M.; MAZIERO, R.; TRUFEM, S.F.B.. **Cultivo de cogumelos comestíveis**. Icone Editora, São Paulo, 206p, 1999.

BONONI, V.L.R.; MAZIERO, R.; CAPELARI, M. ***Pleurotus ostreatusroseus* cultivation in Brasil**. Mushroom Science, v. 13, p. 531-532, 1991.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 6, de 16 de fevereiro de 2009**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 fev. 2009, Seção 1, p. 3.

CAPELARI, M. ***Pleurotus ostreatusroseus* Sing, no Brasil**. In: Resumos do XXXVII Congresso Nacional de Botânica. Anais, Ouro Preto, p. 286, 1986

CHANG ST. **Witnessing the development of the mushroom industry in China.** *Acta Edulis Fungi* 12 (Supplement):3–19. ROYSE DJ. (1997). **Specialty mushrooms and their cultivation.** In: J. Janick (ed.), *Horticultural Reviews* (Vol. 19), John Wiley & Sons, Inc.: New York, NY, pp. 59–97, 2005.

CHANG ST. **World production of cultivated edible and medicinal mushrooms in 1997 with emphasis on *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. in China.** *International J. Med. Mush.* 1:291–300, 1999.

CHANG, S.-T.; MILES, P.G.. **Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Environmental Impact.** 2 ed. CRC Press, Boca Raton, Florida, 451 p, 2004.

CHANG, SHU-TING. **The World Mushroom Industry: Trends and Technological Development.** *International Journal of Medicinal Mushrooms - INT J MED MUSHROOMS.* 8. 297-314. 10.1615/IntJMedMushr.v8.i4.10. 2006.

CHIU S. W., LUK V. W.Y., YU S., LEE P., WAI N., FU P., AND CHEUNG K. K. W. **Artificial hybridization of *Ganoderma lucidum* (W.Curt.:Fr.) Lloyd and *G. tsugae* Murrill by protoplast fusion for sustainability.** *Int J Med Mushr,* 7, 263–279, 2005.

CHIU SW, LAW SC, CHING ML.. **Themes for mushroom exploitation in the 21st century: Sustainability, waste management, and conservation.** *J Gen Appl Microbiol* 46: 269–282, 2000.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO –CONAB. **Arroz –Brasil: Série Histórica de Produção.** Disponível em:<<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras>>. Acesso em: 12 mai. 2019.

CONTRERAS, E.P.; SOKOLOV, M.; MEJÍA, G.; SÁNCHEZ, J.E. **Soaking of substrate in alkaline water as a pretreatment for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*.** *Journal of Horticultural Science & Biotechnology, New York,* v.79, n.2, p.234-240, 2004.

DE AGUIAR, LORENA V. B. **Cultivo e avaliação nutricional de *Pleurotus ostreatus* de ocorrência na amazônia, em condições ambientais não controladas.** Manaus, Amazonas. Novembro, 2016.

DE GIOLA T., SISTO D., RANA G. L., AND FIGLIUOLO G. **Genetic structure of the *Pleurotus eryngii* species-complex.** *Mycol Res,* 109, 71–80, 2005.

DIAS, E. S.; GONTIJO, C. R. L. **Cultivo de cogumelos comestíveis.** Lavras: UFLA, 2000.

DRAGONE, G. **Fermentação Primária para Produção de Cervejas de Altas Densidades por Processo Contínuo Utilizando Leveduras Imobilizadas em Bagaço de Malte**. 2007. 140 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) – Departamento de Biotecnologia, Escola de Engenharia de Lorena, Lorena, 2007.

ELISASHVILI V, PENNINCKX M, KACHLISHVILI E et al.. ***Lentinus edodes* and *Pleurotus species* lignocellulolytic enzymes activity in submerged and solid-state fermentation of lignocellulosic wastes of different composition**. *Bioresour Technol* 99: 457–462, 2008.

FAN L, PANDEY A, MOHAN R et al. (2000a). **Use of various coffee industry residues for the cultivation of *Pleurotus ostreatus* in solid state fermentation**. *Acta Biotechnol* 20(1): 41–52

FAOSTAT. Crops. 2018. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/?#data/QC>>. Acesso em: 25 dez. 2018

FARINAS, C. S.. **Developments in solid-state fermentation for the production of biomass degrading enzymes for the bioenergy sector**. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 52, 179---188, 2015.

FILLAUDEAU, L.; BLANPAIN-AVET, P.; DAUFIN, G. **Water, wastewater and waste management in brewing industries**. *J. C. Prod.*, v. 14, p. 463-471, 2006.

GIL SIMÕES, MARCELO. **Desenvolvimento e crescimento da espécie de cogumelo *Pleurotus ostreatus* em garrafas de plástico reutilizado**. Universidade dos Açores Departamento de Ciências Agrárias, Angra do Heroísmo, 2015, 6p

HERNÁNDEZ, D.; SÁNCHEZ, J.E.; YAMASAKI, K. **A simple procedure for preparing substrate for *Pleurotus ostreatus* cultivation**. *Bioresource Technology*, Amsterdam, v.90, p.145-150, 2003.

HÖLKER U, HÖFER M, Lenz J.. **Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi**. *Appl Microbiol Biotechnol* 64: 175–186, 2004.

HOWARD RL, ABOTSI E, JANSEN VAN RENSBURG EL.. **Lignocellulose biotechnology: issues of bioconversion and enzyme production**. *African J Biotechnol* 2(12): 602–619, 2003.

KAMRA, D.N.; ZADRAZIL, F. . **Microbiological improvement of lignocellulosics in animal feedproduction—a review**. In: Zadrazil, F. e Reineger, P. eds. *Treatment of lignocellulosics with white rot fungi*. Eusevier, pg: 56-63, 1988.

KENT, N.L. **Tecnología de los cereales**. Zaragoza: Acribia, 1987.

KIRK, P.M. et al. **Dictionary of the fungi**. 10 ed. CAB International, Wallingford. 2008

KÜES U, LIU Y.. **Fruiting body production in basidiomycetes**. Appl Microbiol Biotechnol 54: 141–152, 2000.

KUHAD RC, SINGH A, ERIKSSON K-EL.. **Microorganisms and enzymes involved in the degradation of plant fiber cell walls**. In: Eriksson K-EL (ed) *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology*, Springer-Verlag, Berlin. 1997.

KUNZE, WOLFGANG. **Technology brewing and malting**. 2. ed. Berlin: Vlb Berlin, 1999. 726 p.

LAL R.. **World crop residues production and implications of its use as a biofuel**. Environ Int 31 (4): 575–584, 2005.

LAL, R.. **Crop residues as soil amendments and feedstock for bioethanol production**. Waste Manag 28 (4): 747–758, 2008.

LIMA, U. A.. **Matérias-primas dos Alimentos**. São Paulo: Ed Blucher, 2010. 402p.

LIN, Z.. **Grass (JUNCAO).In: MushWorld (Ed.)**. Mushroom Growers Handbook 1. Oyster Mushroom Cultivation. Chapter 5:Substrate, pg. 101-107, 2004.

LINKO, M.; HAIKARA, A.; RITALA, A.; PENTTILÄ, M. **Recent advances in the malting and brewing industry**. Journal of Biotechnology, v.65, p.85-98, 1998.

LIZARAZO, D.X.C.; DE FRANCISCO, A.; **Características do malte de cevada cervejeira BR-2 proveniente dos estados do Paraná e Santa Catarina, safra 2001**. In: SINAIFERM: **SIMPÓSIO NACIONAL DE FERMENTAÇÕES**, 14., 2003, Florianópolis. Programa e Trabalhos Completos, Florianópolis, 2003.

LU, J.J. & CHANG, T.T. **Rice in its temporal and spatial perspective**. In B.S. Luh, ed. *Rice. production and utilization*, p. 1-74. Westport, CT, USA, AVI Publishing Co. 1980

MANDE S . **Biomass gasifier-based power plants: potential, problems, and research needs for decentralized rural electrification**. In: Lal B, Reddy MRVP (eds) *Wealth from Waste: Trends and Technologies*, New Delhi. 2005

MANDEEL, Q.A.; AL-LAITH, A.A.; MOHAMED, S.A. **Cultivation of oyster mushrooms (*Pleurotus spp.*) on various lignocellulosic wastes.** World Journal of Microbiology & Biotechnology, London, v.21, p.601-607, 2005.

MARTÍNEZ-CARRERA D, AGUILAR A, MARTÍNEZ W. **Commercial production and marketing of edible mushrooms cultivated on coffee pulp in Mexico.** In: Sera T, Soccol C, Pandey A et al. (eds) Coffee Biotechnology and Quality, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2000.

MARTINS, S., MUSSATTO, S. I., MARTÍNEZ-AVILA, G., MONTAÑEZ-SAENZ, J., AGUILAR, C. N., & TEIXEIRA, J. A.. **Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review.** *Biotechnology Advances*, 29, 365---37, 2011.

MILES P. G. AND CHANG S. T. **Appllication of bio-technology in strain selection and development of edible mushrooms.** Asian Food J, 2, 3–10, 1986.

Ministério da Saúde – MS Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA .RESOLUÇÃO DEDIRETORIA COLEGIADA -RDC N° 272, DE 22 DE SETEMBRODE 2005 (Publicada no DOU n° 184, de 23de setembrede 2005)

MOLENA, O. **O moderno cultivo de cogumelos.** São Paulo: [s.n.], 1986. 170p.

MOORE D, CHIU SW. **Filamentous fungi as food.** In: Pointing SB, Hyde KD (eds) Exploitation of Filamentous Fungi, Fungal Diversity Press, Hong Kong, 2001.

MUSHWORLD. **Mushroom Grower’s Handbook 1 Oyster Mushroom.** online: MushWorld, 2004.

OBODAI, M.; CLELAND-OKINE, J.; VOWOTOR, K.A. **Comparative study on the growth and yield of *Pleurotus ostreatus* mushroom on different lignocellulosic byproducts.** Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, v.30, p.146-149, 2003.

OEI, P. and NIEUWENHUIJZEN, B.V.. **O cultivo de cogumelos em pequena escala: pleuroto, shiitake e orelha-de-pau.** Agrodok40. Fundação Agromisa e CTA, 2006.

OLIVEIRA, CAIO C. **Produção de cogumelos comestíveis utilizando resíduos agroindustriais**. TRABALHO DE DIPLOMAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA. UFRGS. Porto Alegre, novembro de 2018.

OROZCO, A. L., PÉREZ, M. I., GUEVARA, O., RODRÍGUEZ, J., HERNÁNDEZ, M., GONZÁLEZ-VILA, F. J., et al.. **Biotechnological enhancement of coffee pulp residues by solid-state fermentation with *Streptomyces***. Py---GC/MS analysis. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 81, 247---252, 2008.

P. FONTOURA, L. **Potencial Econômico e Aplicações da Casca de Arroz no Estado do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: UFRGS, 2015.

PANDEY A, SOCCOL CR, NIGAM P et. al. (2000b). **Biotechnological potential of agro-industrial residues: I – Sugarcane bagasse**. *Bioresour Technol* 74: 69–80

PANDEY A, SOCCOL CR, NIGAM P et. al. (2000c). **Biotechnological potential of agro-industrial residues: II – Cassava bagasse**. *Bioresour Technol* 74: 81–87

PANDEY, A.. **Solid-state fermentation**. *Biochemical Engineering Journal*, 13, 81---84, 2003.

PELCZER M. J. J., CHAN E C S, KRIEG N R. **Microbiologia: conceitos e aplicações, Vol.1, 2 ed.**, Pearson Education do Brasil, São Paulo, 1997.

PHILIPPOUSSIS A, ZERVAKIS G, DIAMANTOPOULOU P (2001a). **Bioconversion of lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocyb aegerita*, *Volvariella volvacea* and *Pleurotus* spp.** *World J Microbiol Biotechnol* 17(2): 191–200

RAJARATHNAM S, SHASHIREKA MNJ, BANO Z . **Biodegradative and biosynthetic capacities of mushrooms: Present and future strategies**. *Critic Rev Biotechnol* 18(2–3): 91–236, 1998.

REDDY N, YANG Y . **Biofibers from agricultural byproducts for industrial applications**. *Trends Biotechnol* 23(1): 22–27, 2005.

RICARDO, Sofia C.N. **Quantificação do teor de ergosterol por HPLC-UV e determinação da actividade antioxidante no cogumelo *Pleurotus ostreatus* comercializado e cultivado em borras de café e palha de trigo**. Coimbra:Universidade de Coimbra, Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra,Tese de Mestrado, 2013.

ROMAINE C. P. **Gene transfer technology for mushrooms: the power and potential for significant crop improvement (Part II)**. *The Mushr J*, 650, 16–19, 2004.

ROYSE DJ . **Specialty mushrooms**. In: Mushroom Fact Sheet, Mushroom Spawn Laboratory, Penn State University, Pennsylvania, 2004.

ROYSE DJ. A **global perspective on the high five: *Agaricus, Pleurotus, Lentinula, Auricularia & Flammulina***. Proceedings of the 8th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products, New Delhi, India, 2014.

ROYSE DJ. **Cultivation of shiitake on natural and synthetic logs**. College of Agricultural Sciences, The Pennsylvania State University, University Park, PA, 2009. <http://extension.psu.edu/publications/xl0083/view> (Accessed February 18, 2017).

ROYSE DJ. **Trends in mushroom production worldwide**. Pages: 38–47. In: Proceedings of the 7th International Symposium on Mushrooms in Brazil, Manaus, Brazil, 2013.

SANTOS, I.J.; COUTO, S.M; ANDRADE E.T . **Cinética de secagem em camada fina do malte verde de cevada**. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Capina Grande, v.3, n.1, p.53-59, 2001.

SINGHANIA, R. R., Patel, A. K., SOCCOL, C. R., & PANDEY, A. . **Recent advances in solid-state fermentation**. *Biochemical Engineering Journal*, 44, 13---18, 2009.

SOCCOL, C. R., & VANDERBERGHE, L. P. S. . **Overview of solid state fermentation in Brazil**. *Biochemical Engineering Journal*, 13, 205---218, 2003.

STAMETS P (2000). **Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms**. Ten Speed Press, BERKELEY STEFFEN KT, CAJTHAML T, SNAJDR J, BALDRIAN P (2007). **Differential degradation of oak (*Quercus petraea*) leaf litter by litter-decomposing basidiomycetes**. *Res Micobiol* 158: 447–455

STAMETS P. **Mycelium Running: How Mush-room Can Help Save the World**. The Speed Press, Berkeley, 352 pp. 2005.

STAMETS, P.; CHILTON, J.S.. **The Mushroom Cultivator: A Practical Guide to Growing Mushrooms at Home**. Ed. Sciences. New York, 1983.

SULTANA R, ISMAIL HOSSAIN MD, SAIFULLAH MD, AMIN R, CHAKRABORTY R . **Influence of Substrate pH and Watering Frequency on the Growth of Oyster Mushroom**. *Int J Plant Biol Res* 6(4): 1097, 2018.

TENGERDY RP, SZAKACS G. **Bioconversion of lignocellulose in solid substrate fermentation**. *Biochem Eng J* 13: 169–179 WOOD DA, Smith JF (1987) The

cultivation of mushrooms. In: Norris JR, Pettipher GL, (eds) *Essays in Agricultural and Food Microbiology*, John Willey and Sons Ltd, London, 2003.

TSCHOPE, E. C.; NOHEL, F. . **A malteação da cevada**. Vassouras: Senai –RJ. 272 p, 1999.

TSCHOPE, E.C. . **Microcervejarias e Cervejarias**. A História, a Arte e a Tecnologia, 1. ed. São Paulo: Aden Editora e Comunicações Ltda. 223 p, 2001.

TSEGAYE Z*, TEFERA G . **Cultivation of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus* Kumm, 1871) using Agro-Industrial Residues**. *J Appl Microb Res* 1:1. (01-06), 2017.

URBEN, A.F.; SIQUEIRA, P.. **Cogumelos e suas Delícias**. Brasília, D.F., EMBRAPA Informação Tecnológica, 2003.

VENTURINI FILHO, W.G.; CEREDA, M.P. . **Cerveja**. In: Lima, U.A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. *Biotecnologia Industrial*. Volume 4. *Biotecnologia na Produção de Alimentos*. São Paulo: Edgar Blücher. p.91-144, 2001.

VIEIRA, N. R. A.; CARVALHO, J. L. V. . **Qualidade Tecnológica**. In: VIEIRA, N. R. A.; SANTOS, A. B.; SANT´ANA, E. P. *A cultura do arroz no Brasil*. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão. cap. 21, p. 582-604, 1999.

VIEIRA, N. R. A.; RABELO, R. R. . **Qualidade tecnológica**. In: SANTOS, A. B.; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. A. *A cultura do arroz no Brasil*. 2. ed. Santo Antônio da Goiás: Embrapa Arroz e Feijão. cap. 23. p. 869-900, 2006.

WANG HH . **Development and/or reclamation of bioresources with solid state fermentation**. *Proc Nat Sci Counc* 23(2): 45–61, 1999.

WANG HH. **Development and/or reclamation of bioresources with solid state fermentation**. *Proc Nat Sci Counc* 23(2): 45–61, 1999.

WEBB C, KOUTINAS AA, WANG R . **Developing a sustainable bioprocessing strategy based on a generic feedstock**. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 86: 195–268, 2004.

WERMER A. R. and Beelman R. B. **Growing high-selenium edible and medicinal button mush-rooms (*Agaricus bisporus* (J. Lge) Imbach) as ingredients for functional foods or dietary supplements**. *Int J Med Mushr*, 4, 167–171, 2002.

WOOD DA, Smith JF . **The cultivation of mushrooms**. In: Norris JR, Pettipher GL, (eds) *Essays in Agricultural and Food Microbiology*, John Willey and Sons Ltd, London

YAMANAKA K. **Mushroom cultivation in Japan.** *World Society Mushroom Biology and Mushroom Products Bulletin* 4:1–10, 2011. http://wsmbmp.org/Bulletin_4_Content.html (accessed December 10, 2016).

ZADRAZIL, F. & KURTZMAN, R. H.(1984). **The biology of *Pleurotus* cultivation in the tropics.** In: Chang, S. T. & Qutmio, T. H. *Tropical Mushrooms.* Hong Kong, the Chinese Univ. Press, 493 p, 1987.

ZHANG YHP . **Reviving the carbohydrate economy via multi-product lignocellulose biofineries.** *J Ind Microbiol Biotechnol* 35: 367–375, 2008.

ZHANXI, L.; ZHANHUA, L. **Jun-Cao Technology.** Fuzhou: Asia-Pacific Fungi Cultivation training Center, 1997.

ZHAO J. AND CHANG S. T. **Interspecific hybridisation between *Volvariella volvacea* and *Volvariella bombycina* by PEG-induced protoplast fusion.** *World J Microbiol Biotechnol*, 13, 145–151, 1997.

ZSCHOERPER, OTTO PAULO . **Apostila curso cervejeiro e malteador - AMBEV.** Porto Alegre: Ambev. 71 p, 2009.

APÊNDICE I

Nesta seção são apresentadas duas tabelas:

A Tabela 3 representa os ensaios feitos para o experimento com as porcentagens complementares de CA e SE e razão C/N indicada em cada tratamento.

A Tabela 4 apresenta a estimativa feita por Oliveira (2018) sobre as composições de BDM, CA e SE com fatores de conversão para as quantidades de N e C, sendo o N proveniente das proteínas e o C proveniente da celulose, hemicelulose e lignina.

Tabela 3 – Representação dos ensaios com os valores codificados e valores reais das variáveis independentes do experimento (XBDM e XCaCO₃), assim como o complemento colocado em cada ensaio de XCA e XSE. Ao lado direito a razão C/N calculada de cada ensaio.

Tratamento	Valores codificados		Valores reais (%)				C/N
	XCaCO ₃	XBDM	XCaCO ₃	XBDM	XCA	XSE	
1	-1,00	-1,00	1,60	18,70	39,85	39,85	76,00
2	1,00	-1,00	4,40	18,70	38,45	38,45	74,00
3	-1,00	1,00	1,60	61,30	18,55	18,55	27,00
4	1,00	1,00	4,40	61,30	17,15	17,15	26,00
5	-1,41	0,00	1,00	40,00	29,50	29,50	42,00
6	1,41	0,00	5,00	40,00	27,50	27,50	40,00
7	0,00	-1,41	3,00	10,00	43,50	43,50	107,00
8	0,00	1,41	3,00	70,00	13,50	13,50	23,00
9	0,00	0,00	3,00	40,00	28,50	28,50	41,00
10	0,00	0,00	3,00	40,00	28,50	28,50	41,00
11	0,00	0,00	3,00	40,00	28,50	28,50	41,00
12	0,00	0,00	3,00	40,00	28,50	28,50	41,00
13	0,00	0,00	3,00	40,00	28,50	28,50	41,00

Tabela 4 - Composição do bagaço de malte, casca de arroz e serragem, junto com fatores de conversão para N (no caso das proteínas) e C (no caso de celulose, hemicelulose e lignina) por Oliveira (2018).

Fonte	Componente	Proteínas	Celulose	Hemicelulose	Lignina	C	N
(MENEZES, 2018)	BDM	12,8 %	17,9 %	21,8 %	19,9 %		
(MENEZES, 2018)	CA	1,9 %	37,4 %	11,2 %	25,5 %		
(CHAE; AHN, 2013)	SE					57%	0,18%
Fator	Fator	0,16	0,44	0,45	0,65		

Fonte: OLIVEIRA (2018)