



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
ENG07053 - TRABALHO DE DIPLOMAÇÃO EM
ENGENHARIA QUÍMICA



Produção de cogumelos comestíveis utilizando resíduos agroindustriais

Autor: Caio Cardoso Oliveira

Orientadora: Profa. Dra. Daniele Misturini Rossi

Porto Alegre, novembro de 2018

Sumário

Sumário.....	iii
Agradecimentos.....	v
Resumo.....	vi
Lista de Figuras.....	vii
Lista de Tabelas.....	viii
Lista de Símbolos.....	ix
Lista de Abreviaturas e Siglas.....	x
1 Introdução.....	1
1.1 Motivação.....	1
1.2 Objetivos.....	3
2 Revisão Bibliográfica.....	4
2.1 <i>Pleurotus ostreatus</i>	4
2.1.1 Características Gerais.....	4
2.1.2 Cultivo.....	7
2.2 Resíduos Agroindustriais.....	9
2.2.1 Bagaço do malte.....	9
2.2.1.1 Propriedades.....	10
2.2.1.2 Aplicações.....	12
2.2.2 Casca de Arroz.....	13
2.2.2.1.....	13
2.2.2.2 Propriedades.....	15
2.2.3 Serragem.....	15
3 Materiais e Métodos.....	16
3.1 Microrganismo.....	16
3.2 Resíduos Agroindustriais.....	16
3.3 Propagação do Micélio.....	17
3.4 Preparação do substrato.....	17
3.5 Inoculação.....	19
3.6 Incubação.....	19
3.7 Frutificação.....	21
3.8 Análises físico-químicas.....	21
3.8.1 pH.....	22
3.8.2 Umidade.....	22
3.8.3 Densidade Aparente.....	22
3.8.4 Relação C/N (Estimativa).....	22
3.8.5 Eficiência Biológica.....	Erro! Indicador não definido.
4 Resultados e Discussões.....	23
4.1 pH.....	25
4.2 Umidade.....	26
4.3 Densidade Aparente.....	27
4.4 Relação C/N.....	29
4.5 Eficiência Biológica.....	Erro! Indicador não definido.

5	Conclusão.....	31
6	Referências.....	32
	Apêndice I.....	37

Agradecimentos

Primeiramente, gostaria de agradecer à minha mãe e ao meu pai por todo carinho, educação e suporte que me proporcionaram e seguem proporcionando. Também pelo apoio que, se não é garantido quanto a ideias mirabolantes, é incondicional se por ventura essas ideias dão errado.

Agradeço às minhas irmãs pelo companheirismo de sempre. Sou muito feliz de ter vocês ao meu lado.

Agradeço à minha mulher Nathi, por todo o apoio e paciência durante esta longa jornada. Certamente, foi quem mais teve que lidar com meus estresses.

Agradeço à minha orientadora, professora Daniele Misturini Rossi, pelo apoio ao projeto e pela mobilização para que se concretizasse, me proporcionando ambientes, equipamentos e matéria prima para que eu pudesse desenvolvê-lo.

Agradeço à professora Ligia Damasceno Ferreira Marczak, campeã de tudo, que me cativou por seu jeito de ser e por quem eu tenho muito carinho, por todo apoio dado a mim durante o curso e fora dele também.

Agradeço muito ao professor Evandro Steffani e a todo pessoal da COMGRAD, que sempre foram muito solícitos e que, na realidade, se não fosse por eles, eu não estaria me formando agora.

Agradeço a todos pesquisadores e técnicos do DEQUI por quem eu cruzei durante o projeto por terem me ajudado seja me emprestando algum equipamento, dividindo laboratório ou simplesmente com um sorriso.

Agradeço ao pessoal da Chosen Beer Company, amigos de longa data e atuais empregadores, pela confiança, oportunidade e compreensão com minha limitação de horários.

Agradeço aos amigos da Zapata Cervejaria Rural pela inspiração e principalmente por todo o conhecimento que pude adquirir durante o meu período lá.

Por fim, agradeço a todos os meus amigos, que me ajudam a manter a sanidade mental neste mundo atual com valores cada vez mais distorcidos.

Resumo

Este trabalho surge em um contexto de preocupação quanto à sustentabilidade de processos industriais. A busca por vias mais ecológicas e por mais integração entre os processos se mostra importante em um mundo alarmado com prováveis consequências ambientais à industrialização desenfreada. Neste estudo, foi avaliada a viabilidade de se produzir cogumelos comestíveis utilizando resíduos agroindustriais como substrato em cultivo em estado sólido. Cogumelos comestíveis são alimentos proteicos cuja produção apresenta eficiência energética superior à carne, principalmente por poder utilizar resíduos agroindustriais locais como matéria prima. A casca de arroz é um resíduo agroindustrial particularmente abundante no Rio Grande do Sul, enquanto o bagaço de malte e a serragem são gerados em muitas regiões do Brasil e do mundo. Os três resíduos são abundantes em fibras e possuem diferentes teores de proteínas. Estes resíduos muitas vezes são dispensados de forma inadequada geralmente pelo baixo potencial econômico associado e pelos altos custos de transporte. Neste sentido, estudou-se o desenvolvimento do fungo *Pleurotus ostreatus* (popularmente conhecido como Shimeji) em diferentes formulações de substrato contendo casca de arroz e serragem (como base lignocelulósica) e bagaço de malte (BDM, como suplementação proteica). No presente trabalho, foram avaliados os parâmetros físico-químicos de umidade, pH e densidade aparente, além de estimar a relação C/N das diferentes formulações de substrato testadas. A produtividade do fungo foi analisada a partir da eficiência biológica. Foi verificado que a produtividade é crescente para formulações contendo 10, 25 e 40 % de BDM, mas quase nula para formulações com 55 % e zero para formulações contendo 70 % de BDM. Tal fenômeno pode ser explicado pelos baixos valores de pH e relação C/N e por problemas de aeração do substrato, já que estas formulações apresentaram substratos mais compactos e úmidos. As formulações contendo 25 e 40 % de BDM apresentaram eficiências próximas ao valor entendido como mínimo para a produção comercial de *Pleurotus ostreatus*, apesar dos parâmetros de umidade, pH e densidade aparente estarem fora da faixa ideal, de acordo com a literatura. É razoável supor, portanto, que, ao melhorar técnicas de ajuste de pH e ao investigar o efeito da umidade e densidade aparente sobre a aeração do substrato, se obtenham eficiências superiores, tornando a produção atrativa economicamente.

Lista de Figuras

Figura 1 - Micélio em expansão: (a) placa recém inoculada (b) placa colonizada após sete dias de incubação.....	17
Figura 2 - Procedimento utilizado na inoculação do substrato com o fungo <i>Pleurotus ostreatus</i>	19
Figura 3 - Sacos durante o período de incubação	20
Figura 4 - Diferentes fases da frutificação.....	21
Figura 5 - Eficiência biológica das formulações com casca de arroz (-■-) e com serragem (-▲-)	23
Figura 6 - Substrato contaminado por bolor.....	24
Figura 7 – pH medido das formulações com casca de arroz (-■-) e com serragem (-▲-)	25
Figura 8 - Teor de umidade medido nas formulações com casca de arroz (-■-) e com serragem (-▲-).....	26
Figura 9 – Densidade aparente das formulações com casca de arroz (-■-) e com serragem (-▲-).....	28

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Composição de BDM	12
Tabela 2 - Composição da casca de arroz.....	15
Tabela 3 - Diferentes formulações de substratos testados, em base seca	18
Tabela 4 - Relação C/N estimada para cada formulação.....	29
Tabela 5 - Composição assumida para cada componente e o fator de conversão de cada material	37

Lista de Símbolos

g	Gramma
kg	Quilograma
ml	Militro
L	Litro
C	Carbono
N	Nitrogênio
h	Horas
°C	Graus Celsius
cm	Centímetros
W	Watts
kton	Quilotoneladas
min	Minutos

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
X _{BDM}	Fração mássica de bagaço de malte
X _{CA}	Fração mássica de casca de arroz
X _{SE}	Fração mássica de serragem
X _{CaCO₃}	Fração mássica de carbonato de cálcio
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

1 Introdução

1.1 Motivação

Atualmente, há uma preocupação mundial com diversas questões ambientais, e uma grande parte delas está ligada à atividade industrial. Em um mundo onde a população não para de crescer (e com ela a demanda por alimentos e produtos em geral), se faz necessário buscar rotas industriais mais ecológicas, a fim de se ter uma produção que demande menos do meio ambiente. Muitos países estão tentando se adaptar a essa realidade modificando seus modos de produção para que seus resíduos possam ser reciclados. Conseqüentemente, muitas indústrias não consideram mais seus resíduos como dejetos, mas como matéria prima para outros processos.

Deste ponto de vista, a cadeia produtiva de cogumelos comestíveis pode ser considerada uma forma ecológica de produzir alimentos proteicos. Desde a década de 80, cogumelos são cultivados em substratos contendo resíduos agroindustriais, como serragem e palha de cereais, suplementados com alguma fonte de proteínas como farelos de trigo, arroz ou milho. De fato, são diversas as formulações de substratos usadas ao redor do mundo para os vários cogumelos cultivados. Para haver uma produção eficiente, o substrato a ser utilizado deve ser barato, de fácil transporte e que seja bem aceito pelo fungo em questão. É interessante, portanto, o estudo da utilização de resíduos agroindustriais locais na formulação destes.

Cogumelos em geral são alimentos proteicos de baixo teor calórico e em suas composições contêm aminoácidos essenciais à dieta humana, minerais, vitaminas, fibras e ácidos graxos insaturados (PEREIRA, 2015). Apesar de serem bastante consumidos há séculos no extremo oriente e na Europa, sua utilização na dieta do brasileiro é relativamente recente.

Segundo estimativas não oficiais, o consumo anual per capita no Brasil é em torno de 160 g, enquanto na China é 10 kg, França 2,1 kg e Itália 1,4 kg (OLIVEIRA, 2010; PEREIRA, 2015). Embora haja um aumento no consumo de cogumelos no Brasil, a produção segue estagnada devido à concorrência da China, a maior produtora mundial (ANPC, 2013). Outro fator que limita o crescimento da fungicultura é o preço com o qual o cogumelo chega ao consumidor final. Ambos caracterizam uma necessidade de

desenvolvimento de técnicas mais eficazes e competitivas de produção (FERREIRA DA EIRA, 1992).

O bagaço de malte (BDM) é o principal resíduo sólido da indústria cervejeira, representando cerca de 85 % do total de resíduo gerado. O Brasil, por ser o quarto maior produtor mundial de cerveja, gera grandes quantidades deste resíduo. Cerca de 200 kg de BDM são gerados a cada 1000 L de cerveja produzida (MUSSATTO, 2009). É composto principalmente por cevada e/ou outros cereais como trigo, aveia e até mesmo arroz e milho.

O BDM é um resíduo agroindustrial rico em fibras e proteínas. Embora seja uma matéria prima interessante, seu potencial é muitas vezes negligenciado. No Japão, por exemplo, 95 % do BDM gerado é destinado à alimentação animal, enquanto o restante muitas vezes se torna um problema ambiental, principalmente para pequenas cervejarias locais (WANG; SAKODA; SUZUKI, 2001). Por estas razões, o BDM se apresenta como possível componente de substrato para cultivo de cogumelos, possivelmente atuando como suplemento proteico, já que possui alto teor de proteínas.

A casca de arroz (CA) é um resíduo agroindustrial de destaque na região sul do Brasil. Abundante no Rio Grande do Sul, este resíduo é gerado no processo de beneficiamento do arroz. Cerca de 220 kg são separados para cada tonelada do grão bruto.

O Rio Grande do Sul é maior produtor nacional de arroz e é estimado que use cerca de 40 % do volume total de CA para geração de energia ou calor. Os 60 % excedentes se tornam um problema para indústria arroseira e, se não queimado ou distribuído gratuitamente, acaba tendo como destino final aterros sanitários. Sua decomposição é bastante lenta e libera uma grande quantidade de metano, causando sérios impactos ambientais. Apesar de alta concentração de sílica, a CA é um material rico em fibras, indicando que pode ser usada em substratos de cogumelos, possivelmente como base lignocelulósica, já que não possui grandes quantidades de proteínas.

A serragem (SE) é oriunda da indústria madeireira e muitas vezes é tratada como resíduo. Presente em boa parte do mundo, este resíduo é tradicionalmente usado em substratos de cogumelos. Por ser um material fibroso, é misturado com alguma fonte proteica, como farelos. Na região sul do Brasil, é gerada tanto em grandes indústrias madeireiras como em pequenas marcenarias locais.

Neste trabalho, será estudada a viabilidade de se produzir o cogumelo *Pleurotus ostreatus* com substratos contendo BDM como suplemento proteico e casca de arroz e serragem como base lignocelulósica, já que o BDM apresenta razão C/N igual a 15

enquanto a casca de arroz 125 e a serragem 317. O *Pleurotus ostreatus* foi escolhido principalmente por ter crescimento rápido e ser capaz de degradar substratos bastante fibrosos, sem a necessidade de passar por um processo de compostagem. Além disso, é um dos cogumelos mais utilizados na culinária e possui boa aceitação no mercado consumidor, por suas propriedades nutricionais e organolépticas.

1.2 Objetivos

O presente trabalho tem como objetivo principal a produção de cogumelos comestíveis por fermentação em estado sólido, utilizando diferentes combinações de substratos considerados resíduos da agroindústria.

Os objetivos específicos do trabalho foram:

- Avaliar diferentes combinações de substrato, entre eles casca de arroz, serragem e bagaço de malte, a fim de verificar a melhor produção do cogumelo *Pleurotus ostreatus*;
- Avaliar os parâmetros pH, umidade e densidade aparente das formulações testadas;
- Estimar a relação C/N das formulações testadas;
- Avaliar a eficiência do cultivo em termos de Eficiência Biológica (EB).

2 Revisão Bibliográfica

2.1 *Pleurotus ostreatus*

2.1.1 Características Gerais

O cogumelo *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Fr.) P. Kummer pertence ao Reino Fungi, Divisão *Basidiomycota*, Classe *Homobasidiomycetes*, Ordem *Agaricales*, Família *Pleurotaceae* e gênero *Pleurotus* (KUO, 2017). O nome *Pleurotus* vem do grego: *pleure* significa lateral e *otos*, orelha, ou seja, orelha lateral, referindo-se à posição lateral do caule em relação ao chapéu. *Ostreatus* significa ostra em latim e é referência à forma dos chapéus (VIEIRA, 2016). É conhecido, também, como cogumelo ostra.

Cogumelo é o nome popular dado aos corpos de frutificação de alguns fungos dos filos *Basidiomycota* e *Ascomycota*. Enquanto determinados fungos têm apenas reprodução assexuada, outros se reproduzem também sexualmente por meio de esporos, produzidos nos cogumelos. Os esporos germinam em ambiente adequado e desenvolvem hifas haplóides (o conjunto de hifas é chamado de micélio) que posteriormente se fundem. As hifas, enquanto crescem, se dividem, caracterizando a reprodução assexuada do micélio. O micélio absorve nutrientes do substrato enquanto coloniza o mesmo. Quando estimulado por condições de temperatura, umidade e/ou de pouca disponibilidade de nutrientes, o micélio gera corpos de frutificação (cogumelos), onde ocorre a fusão de dois núcleos e a meiose desta célula, produzindo esporos para originar uma nova geração - reprodução sexuada (STAMETS, 2005).

Cogumelos do gênero *Pleurotus* spp. estão na terceira posição na produção de cogumelos comestíveis, atrás apenas das espécies do gênero *Agaricus* e da espécie *Lentinula edodes* (CARDOSO; DEMENJOUR; PAZ, 2013). No Brasil, sua produção começou por volta dos anos 2000, quando as exportações (principalmente para o Japão) de *Agaricus brasiliensis* sofreram uma grande queda devido a sua baixa qualidade e procedência duvidosa. Neste momento, a diminuição de vendas forçou os produtores a focarem no mercado interno, diversificando os cogumelos cultivados. O *Pleurotus ostreatus* obteve destaque, pois, além de ter um cultivo relativamente simples, teve uma boa aceitação pelo mercado consumidor (VIEIRA, 2016). Outro ponto positivo é que seu consumo é preferencialmente na forma fresca e, por isso, não compete diretamente com cogumelos secos e em conserva importados.

O *Pleurotus ostreatus*, como todo fungo, é um organismo heterótrofo. Como os animais e diferentemente das plantas, os fungos não produzem seu alimento e, portanto, devem buscar seus nutrientes em matérias orgânicas. O *Pleurotus ostreatus* é saprófito, ou seja, se alimenta de matérias orgânicas em decomposição. Na natureza, é encontrado sobre troncos, ramos ou árvores mortas e algumas vezes no solo sobre raízes podres (STAMETS, 2005).

Entre todos os cogumelos cultivados, o *Pleurotus ostreatus* é o mais fácil de se produzir (STAMETS, 2005). Ele é considerado decompositor primário, por ser capaz de degradar materiais mais “duros” (com alto teor de lignina e hemicelulose) sem a necessidade de compostagem prévia (VIEIRA, 2016). Comparando com os fungos *Pleurotus eryngii* e *Pleurotus Pulmonarius*, o *Pleurotus ostreatus* é o que melhor se adapta em substratos com alta razão lignina/celulose (PHILIPPOUSSIS, 2016). Também apresenta um rápido crescimento micelial e frutificação, sendo menos suscetíveis a contaminações ou pragas (ANA BELEM; DIEGO ALEJANDRO; FABIÁN, 2016). Além disso, o requerimento de controle do ambiente de cultivo é mínimo, devido à fácil adaptação em uma ampla faixa de temperaturas (FERNANDES et al., 2015).

A adaptação das espécies de *Pleurotus spp* a novos resíduos representa um dos principais processos de bioconversão de resíduos agroindustriais em produtos comestíveis, de alto valor agregado e alta qualidade (STURION; RANZANI, 2000). Além de poderem ser produzidas o ano todo, as espécies *Pleurotus spp* não fazem fotossíntese e sua eficiência de conversão de proteína por unidade de área e por unidade de tempo é superior a fontes de proteína animal (VALENCIA; VASCO, 1994).

Outras vantagens, além do relativamente fácil cultivo e alto rendimento de produção, são as qualidades nutricionais, com alto teor de proteínas de boa qualidade, vitaminas, ácidos graxos insaturados e elementos essenciais como cálcio, ferro, magnésio, fósforo, potássio, sódio, zinco, cobre, manganês e selênio, com baixo conteúdo calórico e livre de colesterol (KUMARI; ACHAL, 2008). Por causa desta composição nutricional e da presença de outras substâncias ativas, os cogumelos *Pleurotus spp* tem sido reconhecidos por suas propriedades medicinais, como antioxidante, hepatoprotetora, anticancerígena, antialérgica, anti-obesidade, entre outras (KHAN; TANIA, 2012).

Originalmente cultivados em toras de madeira, muitos cogumelos (*Pleurotus ostreatus* inclusive) têm sido produzidos por meio de uma técnica conhecida como Jun-Cao. Nesta técnica, substratos são preparados com serragem e/ou palha de diversas

gramíneas normalmente suplementados com fontes de nitrogênio e acondicionados em sacos plásticos usados como recipientes (CARDOSO; DEMENJOUR; PAZ, 2013).

Os cogumelos do gênero *Pleurotus spp* são conhecidos por possuir um complexo sistema enzimático lignocelulósico. Ao contrário do cogumelo de Paris e do Shiitake, estes cogumelos não precisam que seu substrato passe por um processo de compostagem prévio (FERNANDES et al., 2015). Os principais nutrientes necessários são carbono (celulose, hemicelulose e lignina), nitrogênio (proteínas e aminas) e alguns íons inorgânicos como potássio, fósforo, silício, ferro e magnésio (MUSHWORLD, 2004).

Graças a estas propriedades, podem também crescer de maneira controlada em diversos materiais obtidos como subprodutos ou resíduos agrícolas ou agroindustriais, o que traz benefícios ambientais ao proporcionar um destino adequado a tais dejetos orgânicos. Guzmán et al. (2016) afirmam que os materiais a serem utilizados na preparação de substrato para o cultivo de *Pleurotus spp* devem contar com o maior número de características favoráveis, tais como: boa disponibilidade em quantidade e continuidade, características físico-químicas conhecidas e regularidade nesta composição, preço vantajoso, localização de fácil acesso e próxima ao local de cultivo e facilidade de transporte e manejo.

Diversas formulações de substrato são utilizadas ao redor do mundo, e estas dependem muito da disponibilidade do resíduo na região (DA SILVA, 2016). Alguns resíduos utilizados na produção comercial de *Pleurotus spp* são: palhas, farelos, capins, bagaços, resíduos da indústria têxtil, madeireira e cafeeira. (G. ROLLÁN, 2003; VIEIRA, 2016; WANG; SAKODA; SUZUKI, 2001; ZHANG; LI; FADEL, 2002)

A razão C/N é um fator importante para determinar o sucesso do substrato. Enquanto o cogumelo de Paris (decompositor secundário) cresce em substratos com razão C/N ótima de 17, o *Pleurotus spp* (decompositor primário) pode ser cultivado em substratos com concentrações relativas de carbono muito maiores (MUSHWORLD, 2004). Vieira (2016) indica como adequados valores de C/N entre 60/1 e 90/1. Muitos resíduos agroindustriais possuem relações dentro desta faixa e misturas podem ser feitas para adequar o substrato ao *Pleurotus spp*. De acordo com Wang et al. (2001), serragem (alto C/N) suplementada com farelo de trigo ou arroz (baixo C/N) era então usada como substrato em cultivos comerciais no Japão. Na China, o substrato é preparado principalmente com serragem suplementada com casca de semente de algodão (YANG; GUO; WAN, 2013).

O *Pleurotus ostreatus* sobrevive em uma faixa de pH que vai de 4,2 a 7,5, entretanto os valores ótimos para expansão do micélio variam de 5-6,5, conforme o guia de cultivo de MushWorld (2004). Segundo Rollán (2003), os valores ótimos estão entre 6-6,5. Para corrigir o pH, sulfato, carbonato e óxido de cálcio podem ser utilizados em baixas quantidades (0,5-3 % base mássica seca). Além de formarem tampão, estes minerais melhoram a textura do substrato e são fontes de cálcio, nutriente importante para o *Pleurotus ostreatus* (G. ROLLÁN, 2003).

No estudo desenvolvido por Wang (2002), foram investigadas condições de umidade e de densidade aparente de substratos contendo bagaço de malte e farelo de trigo para o cultivo de *Pleurotus ostreatus*. Seus resultados indicaram valores ótimos de 70 % e 60 g / 100 ml para umidade e densidade aparente, respectivamente, o que está de acordo com valores encontrados na literatura para substratos mais usuais (60-75 %) (G. ROLLÁN, 2003; MUSHWORLD, 2004).

Estes parâmetros (densidade aparente e umidade relativa) estão intimamente ligados à aeração e porosidade do substrato. Certo grau de umidade é importante, visto que os nutrientes são transportados do micélio aos corpos de frutificação por um constante fluxo de umidade (OEI, 2005). Entretanto, valores de umidade não podem ser grandes a ponto de diminuir a porosidade e inibir a respiração do fungo. Altas taxas de umidade podem também favorecer o desenvolvimento de organismos competidores, como bactérias, bolores e nematóides (BELLETTINI et al., 2016).

O substrato deve ser submetido a um tratamento térmico, com a finalidade de eliminar sementes, fungos, insetos, parasitas, etc. O tratamento térmico mais frequente é a pasteurização, que consiste em deixar o substrato em câmaras de vapor a uma temperatura alta por um certo período de tempo. A temperatura e o tempo de pasteurização variam muito, mas a tendência é não usar temperatura superior a 60 °C e os tempos variam de 10-36h, dependendo da temperatura (50-70 °C). Raras vezes se usa a esterilização. Esta é feita a temperaturas por volta de 130 °C, sob pressão, e dura apenas algumas horas (G. ROLLÁN, 2003).

2.1.2 Cultivo

Podemos dividir o cultivo em três partes: a inoculação, a incubação e a frutificação.

Comercialmente, a inoculação do substrato geralmente é feita a partir da semente, que nada mais é que o substrato totalmente colonizado pelo micélio - geralmente em

grãos. A quantidade de semente misturada ao substrato varia de 2-8 % (massa/massa), sendo 3 % considerado ótimo. Quanto mais micélio adicionado, mais rápida será a expansão deste e, portanto, mais curto será o período de incubação. Entretanto, maiores quantidades de semente representam maiores custos econômicos, os quais não devem ser maiores que o benefício econômico de se ter uma fase de incubação mais curta (G. ROLLÁN, 2003).

Em escala laboratorial, por ser pequena a quantidade de substrato a ser colonizada, a inoculação pode ser feita diretamente a partir do micélio cultivado em ágar, como se fosse produzir a semente. Neste método, adicionam-se discos da cultura cultivada em ágar sobre a superfície do substrato (GREGORI et al., 2008).

Durante a incubação, ocorre o crescimento vegetativo, isto é, expansão do micélio. As condições ótimas para a incubação do *Pleurotus ostreatus* são: umidade 65-75 % (para minimizar perdas de umidade do substrato por evaporação sem proporcionar um ambiente favorável a contaminantes) e temperatura 24-27 °C. Sob essas condições e com quantidades adequadas de micélio inoculado, a incubação deve durar de 12-25 dias, terminando quando o substrato estiver completamente coberto pelo micélio (G. ROLLÁN, 2003).

Ao se expandir, o micélio produz gás carbônico e sua acumulação é benéfica ao crescimento até uma concentração de 15-20 %. A partir de 30 %, o gás carbônico inibe a expansão do micélio. Por isso, o recipiente de incubação deve ser fechado, mas não hermético - deve haver uma pequena troca gasosa. Se o substrato estivesse diretamente exposto ao ar, o excesso de oxigênio ativaria microrganismos cujos metabolismos fariam a temperatura subir perigosamente, podendo matar o micélio (G. ROLLÁN, 2003).

Além de ter temperatura e umidade relativamente controladas, o ambiente deve ser escuro e ventilação não é necessária (STAMETS, 1983).

Quando o substrato está completamente colonizado pelo micélio se induz a frutificação. Para isso, o substrato é submetido a condições de estresse, além da escassez de nutrientes. Nestes casos, o ambiente de frutificação deve ser mais úmido, mais fresco, mais ventilado e com mais iluminação que durante a incubação (MUSHWORLD, 2004).

A temperatura mais adequada para a frutificação está na faixa de 11-15 °C e ela influencia diretamente na forma dos cogumelos. Temperaturas mais baixas vão deixar o *Pleurotus ostreatus* mais escuro, enquanto que temperaturas mais altas vão produzir cogumelos menores e menos carnosos (MUSHWORLD, 2004).

A umidade do ambiente deve ser alta. Acima de 95 % quando os primeiros cogumelos começam a se formar e entre 80-90 % durante o desenvolvimento dos mesmos. Quanto ao substrato, ele deve possuir uma umidade pouco acima da umidade inicial (70-75 %).

A ventilação do local é fundamental, pois nessa fase o teor de gás carbônico deve ser mínimo. Nesta etapa, furos são feitos nos sacos de cultivo para maximizar trocas gasosas e evitar altas concentrações de dióxido de carbono. Diversos furos podem ser feitos, desde que com cuidado para não promover contaminações ou danos ao micélio (OEI, 2005). Inclusive é possível retirar todo o substrato do seu recipiente (G. ROLLÁN, 2003). É esperado que quanto mais oxigenado seja o substrato, menores sejam os cogumelos (OEI, 2005).

Na etapa de frutificação, a luz é necessária durante 8-12 horas diárias, pois sem ela os cogumelos saem deformados, com chapéus pequenos e pés largos. Se não há luz natural, lâmpadas fluorescentes podem ser utilizadas, bastando que a iluminação seja suficiente para que se consiga ler (G. ROLLÁN, 2003).

A formação dos primórdios deve acontecer na primeira semana de frutificação. A produção dos cogumelos se dá por *flushes*, e eles demoram aproximadamente 5 dias da formação do primórdio até a maturação. Entre cada *flush*, um intervalo de aproximadamente 10 dias é esperado (STAMETS, 1983). Comercialmente, são aproveitados dois ou três *flushes* de cogumelos, pois a colheita é cada vez menor e, além do tempo despendido, aumenta o risco de pragas e contaminações (G. ROLLÁN, 2003)

2.2 Resíduos Agroindustriais

2.2.1 Bagaço do malte

O malte é um ingrediente fundamental para a produção de cerveja e seu bagaço é o principal resíduo sólido de uma cervejaria. Atualmente, diversos cereais são utilizados como fonte de carboidratos, mas o malte de cevada (*Hordeum vulgare*) segue sendo majoritário. Segundo a legislação brasileira vigente, para ser considerada cerveja, 55 % do açúcar encontrado no mosto deve ser proveniente de malte de cevada, sendo as outras fontes de carboidratos classificadas como adjunto (Decreto nº 6.871, 2009).

Os grãos utilizados na fabricação da cerveja passam por algumas operações unitárias até serem separados do processo. Primeiramente, no caso de maltes, passam por

um processo de malteação, que geralmente ocorre em uma maltaria. Na cervejaria, os maltes e adjuntos são moídos, passam por um processo chamado mostura e depois por uma filtração/extração.

Durante a malteação, a cevada (ou trigo, centeio, aveia...) é submetida a condições de umidade e temperatura específicas para induzir a germinação, promovendo a síntese e ativação de enzimas no endosperma, como amilases, proteases, beta-glucanases e outras. Essas enzimas modificam a estrutura do endosperma (MUSSATTO; DRAGONE; ROBERTO, 2006). Após a completa modificação do endosperma, o cereal é então seco para evitar contaminação. No caso de maltes especiais, o cereal pode passar por específicos processos de caramelização, tosta ou torra.

Na cervejaria, o malte é moído, idealmente de uma forma em que o amido do endosperma esteja bem triturado e a casca se mantenha intacta. O malte moído passa então pelo processo de mostura. Em solução aquosa e condições específicas de temperatura e pH, o amido se solubiliza e enzimas o transformam em açúcares fermentescíveis que se solubilizam ainda mais, diminuindo a viscosidade desse líquido, chamado mosto. Proteínas do endosperma também são quebradas por enzimas e se solubilizam (MUSSATTO; DRAGONE; ROBERTO, 2006). Após a produção do mosto, ocorre a filtração, onde as cascas inteiras do malte servem como meio filtrante. Nesse processo, o mosto é separado do bagaço do malte e é usado como meio para fermentação. O BDM é então recolhido da tina de filtração e segue para sua destinação final.

2.2.1.1 Propriedades

O grão de cevada pode ser dividido em três partes fundamentais: embrião, endosperma e envoltório. O embrião é a parte viva do grão e é ele que germina durante a malteação, dando origem a raízes principais e secundárias. O endosperma é a reserva de nutrientes do grão e consiste basicamente em grandes quantidades de amido envoltas por uma camada de células vivas chamada de aleurona. O envoltório é composto por três camadas: testa (mais interna), pericarpo e casca (mais externa). O principal objetivo do envoltório é proteger o grão, mantendo a umidade interna e barrando a entrada de insetos e microrganismos (PORTO, 2011).

Durante a malteação, com condições de umidade e temperatura definidas, o aleurona excreta enzimas que hidrolisam as cadeias dos materiais contidos no endosperma. Os nutrientes hidrolisados migram até o embrião, onde são metabolizados,

promovendo o crescimento deste. Quando o endosperma atinge o nível de modificação desejado, o processo é interrompido através de uma etapa de secagem e o malte está apto para ser utilizado no processo cervejeiro.

De acordo com Townsley (1979), o processo de fabricação da cerveja é seletivo, removendo do malte apenas nutrientes necessários para produzir o mosto, deixando como resíduo um bagaço lavado composto principalmente de proteínas insolúveis e restos da parede celular da casca do grão. O Bagaço do malte, portanto, consiste basicamente das camadas do envoltório do grão original, que são ricas em celulose, hemicelulose e lignina, além de conter proteínas, lipídeos, sílica e polifenóis (MUSSATTO; DRAGONE; ROBERTO, 2006).

A composição química do BDM é influenciada pela variedade da cevada, época da colheita, condições de malteação, mostura e qualidade, quantidade e tipo de adjuntos utilizados no processo cervejeiro. Em geral, o BDM é considerado um material lignocelulósico rico em proteínas e fibras, que representam aproximadamente 20 e 70 % da composição, respectivamente. Também são encontrados no BDM vitaminas e minerais, como cálcio, cobalto, cobre, ferro, magnésio, manganês, fósforo, potássio, selênio, sódio e enxofre com teor máximo de 0,5 % cada um (MUSSATTO; DRAGONE; ROBERTO, 2006).

BDM proveniente do processo cervejeiro possui umidade que varia de 70 a 80 %. Devido à alta umidade e ao teor de carboidratos, o BDM é um material muito instável sujeito a uma rápida deterioração por ação de microrganismos. Por isso, o BDM deve rapidamente ser conduzido a sua destinação final ou passar por algum processo que possa aumentar seu tempo de armazenamento.

Na Tabela 1, estão apresentados dados de composição de BDM obtidos por diversos autores (FUKUDA et al., 2002; MENEZES, 2018; MUSSATTO; DRAGONE; ROBERTO, 2006; WANG; SAKODA; SUZUKI, 2001):

Tabela 1 - Composição de diferentes bagaços de malte

Fonte	Proteína	Cinzas	Celulose	Hemicelulose	Lignina	Lipídeos
Wang et al. (2001) a	23,9 %	3,3 %	14,0 %	N.I	9,1 %	6,8 %
Wang et al. (2001) b	24,2 %	3,9 %	15,8 %	N.I	10,8 %	6,1 %
Wang et al. (2001) c	27,5 %	3,8 %	16,9 %	N.I	16,3 %	N.I
Menezes (2018)	12,8 %	2,9 %	17,9 %	21,8 %	19,9 %	N.I
Fukuda et al. (2002)	24,0 %	2,4 %	25,4 %	21,8 %	11,9 %	10,6 %
Mussato et al. (2006)	15,2 %	4,6 %	16,8 %	28,4 %	27,8 %	N.I

N.I: não informado

2.2.1.2 Aplicações

O principal destino do BDM é a alimentação animal. Graças ao seu alto teor de fibras e proteínas, é uma ótima ração, principalmente para ruminantes. Combinado com fontes baratas de nitrogênio, como ureia, por exemplo, o BDM fornece todos os aminoácidos essenciais. Além de ração para gado, já foi estudado seu desempenho para alimentar ratos, hamsters, frango, peixe e porcos. Mussato et al. (2006) compilaram diversos estudos e afirmam que foi verificado um aumento no desempenho de crescimento de todos estes animais, devido ao alto teor de proteínas e aminoácidos.

Normalmente, o BDM é utilizado para alimentação animal na sua forma fresca e úmida, rapidamente após sua separação na cervejaria. Dependendo da localização da cervejaria e quantidade do resíduo, o BDM deve ser seco para poder ser armazenado por mais tempo ou para diminuir os custos de transporte. O BDM sai do processo cervejeiro com umidade de 70 a 80 % e, portanto, secá-lo (em tambores rotativos) demanda energia considerável, sendo bastante custoso para a cervejaria (GREGORI et al., 2008).

Alguns métodos alternativos para prolongar o tempo de armazenamento do BDM já foram propostos, como tratamento com os ácidos láctico, fórmico, acético e benzoico, que se mostraram efetivos ao preservar os valores nutricionais por três meses (MUSSATTO; DRAGONE; ROBERTO, 2006). Congelamento, secagem a frio e em forno foram testados também. Todos os métodos se mostraram caros e a secagem em forno ineficiente por dificuldade de homogeneização e consequente torra ou queima de frações do BDM (SANTOS et al., 2003).

O BDM também foi testado para alimentação humana, como aditivo em pães, biscoitos, *tortillas e snacks*. Entretanto, o BDM possui grãos grandes demais para ser

diretamente adicionado em alimentos e, por isso, deve ser anteriormente transformado em farinha (MUSSATTO; DRAGONE; ROBERTO, 2006). Apesar de enriquecer o alimento nutritivamente com fibras e proteínas, a farinha de BDM apresenta limitações em relação ao sabor, cor e textura. A aceitação de consumidores para pães com 5, 10 e 15 % de BDM foi avaliada (PRENTICE; D'APPOLONIA, 1977). Para pães com 10 e 15 % de BDM, a aceitação foi negativa, enquanto que para pães com 5 %, a aceitação foi ligeiramente inferior à amostra controle, sem adição de BDM.

Foi estudada também a geração de energia a partir do BDM, tanto por combustão direta como por uma fermentação para obtenção de produção de biogás. Quanto à combustão direta, o BDM necessita uma pré-drenagem e diversos problemas associados aos efluentes gasosos aparecem (MUSSATTO; DRAGONE; ROBERTO, 2006). Na geração de biogás, a etapa limitante é a hidrólise do material fibroso e, por isso, se faz um pré-tratamento para quebrar as moléculas lignocelulósicas, deixando-as acessíveis aos microrganismos para digestão anaeróbica. Os estudos foram bem satisfatórios e a produção de biogás a partir do BDM se mostra uma alternativa bastante interessante, principalmente para geração de energia térmica para a própria cervejaria (ČATER et al., 2015).

Além dessas aplicações, já foi testado o BDM como insumo para a manufatura de tijolo e papel (papel toalha, cartões de negócio), como material adsorvente para tratamento de efluentes gasosos e de corantes em efluentes líquidos, como substrato para produção de enzimas por microrganismos, e como fonte de precursores químicos, como glicose, xilose, galactose, arabinose, ácido acético e ácido hidroxicinâmico (MUSSATTO; DRAGONE; ROBERTO, 2006).

Embora diversas utilizações tenham sido propostas para o BDM, as grandes dificuldades são os custos de transporte e/ou de secagem. Como BDM é gerado durante todo o ano e em praticamente todo o mundo, soluções locais são mais interessantes. Por estas razões, a utilização como ração animal local se apresenta muitas vezes como a destinação mais simples.

2.2.2 Casca de Arroz

O arroz (*Oryza sativa*) é um dos cereais mais produzidos e consumidos no mundo, caracterizando-se como principal alimento para mais da metade da população mundial (MENEZES, 2018). A cadeia produtiva do arroz é bastante conhecida, por ser um

alimento básico considerado de segurança nacional (LUZZIETTI et al., 2013). É uma excelente fonte de energia, graças à alta concentração de amido, além de fornecer proteínas, vitaminas e minerais com pouca quantidade de lipídeos (WALTER; MARCHEZAN; AVILA, 2008). Sua importância é destacada principalmente em países em desenvolvimento, tais como o Brasil, desempenhando papel estratégico a nível econômico e social (WALTER; MARCHEZAN; AVILA, 2008).

Segundo relatório da *Food and Agriculture Organization of United States* (2016), o Brasil é o nono maior produtor de arroz no mundo, sendo o único país não asiático entre os dez primeiros. Na safra 2017/18, o país produziu 11640 mil toneladas de arroz, sendo sua produção concentrada na região sul (SANTOS JÚNIOR, 2016). O arroz é um dos principais produtos de impacto na economia do Rio Grande do Sul (LHAMBY; SENNA; CANES, 2010). Líder na produção nacional com 71 %, o Rio Grande do Sul teve estimados, para a safra 2017/18, 1092 mil hectares destinados ao cultivo de arroz. Apenas a soja teve maior área de cultivo no estado (EMATER-RS, 2018).

O processo de beneficiamento do arroz gera impactos ambientais e seus resíduos, se não forem bem manejados, podem causar danos ao meio ambiente. Segundo Lhamby et al. (2010), a casca de arroz se apresenta como o principal resíduo desta agroindústria, tanto pela alta quantidade e baixa densidade, como pela dificuldade de decomposição. Além disso, possui baixo valor nutritivo, o que a impossibilita de ser destinada à ração animal como o farelo e a quirera (LORENZETT et al., 2010). A casca, o farelo e a quirera representam, respectivamente, 20, 10 e 4 % da massa do grão de arroz (LORENZETT et al., 2010). De acordo com Cabral et al. (2012), para cada tonelada de grãos de arroz colhidos são gerados, em média, 220 kg de casca.

Segundo Fontoura (2015), o farelo e a quirera não são considerados resíduos, mas subprodutos. Em seu trabalho, foram contatadas as 40 principais empresas presentes no Ranking de Beneficiamento do IRGA (Instituto Rio Grandense do Arroz) e todas destinam farelo e a quirera a empresas de ração animal. Foi verificado também que há 6 unidades no Rio Grande do Sul que geram energia elétrica a partir da combustão da casca de arroz, todas na região sudoeste do estado. Este processo, porém, consome apenas 3 % do total deste resíduo produzido no estado. Outras empresas utilizam cerca de 30 % da casca do arroz para gerar calor, usado na etapa de secagem do processo de beneficiamento. Fontoura (2015) também estimou que há 981 kton/ano (60 % do volume total) de casca de arroz excedente, gerando uma grande questão ambiental ao estado.

2.2.2.1 Propriedades

A casca de arroz é um resíduo de baixa densidade, baixa umidade, elevado teor de sílica, grande resistência à degradação e difícil digestão (SAHA; COTTA, 2008). Menezes (2018) analisou a casca de arroz oriunda da empresa Extremo-Sul, Camaquã-RS. Seus resultados apontam para uma composição, em base mássica seca, de 1,9 % de proteínas, 16,2 % de cinzas, 37,4 % de celulose, 11,2 % de hemicelulose e 25,5 % de lignina. Tais valores vão ao encontro da literatura, conforme a Tabela 2 (LEE, 1997; OLUPOT et al., 2016; PHILIPPOUSSIS, 2009).

Tabela 2 - Composição da casca de arroz

Fonte	Proteínas	Celulose	Hemicelulose	Lignina	Cinzas	C/N
Lee (1997)	N.I	36,1 %	19,7 %	19,4 %	20,1 %	N.I
Philippoussis (2009)	1,9-2,5 %*	28-43 %	17,5-20,6 %	21,5-22,5 %	16,7-21,4 %	100-136
Olupot et al. (2016)	1,9-3,7 %*	32-38 %	12-20 %	11-15 %	17-25 %	54-87
Menezes (2018)	1,9 %	37,4 %	11,2 %	25,5 %	16,2 %	N.I

N.I: não informado

*valores calculados a partir do teor de N fornecido pelos autores

Segundo Olupot et al. (2016), a razão C/N da casca de arroz varia de 54/1 a 87/1, enquanto Liou et al. (1997) e Pandebesie (2013) encontraram respectivamente 117/1 e 94/1 em seus estudos. Entre as 10 variedades de casca de arroz estudadas por Olupot et al. (2016), o teor de umidade variou de 9,16 % a 11,21 % e a densidade aparente, de 89 a 124 kg/m³.

Tendo em vista que a composição da casca de arroz depende da variedade plantada, do clima e das condições do solo, além da localização geográfica (FERNANDES, 2006), utilizaremos neste trabalho os valores encontrados por Menezes (2018) principalmente por serem recentes e locais e serem provenientes da mesma fonte coletada.

2.2.3 Serragem

Boa parte dos resíduos sólidos da indústria da madeira e de móveis é gerada no processamento de madeira serrada. Embora a quantidade de resíduo gerado varie em função de fatores relacionados ao processo, como máquinas utilizadas e dimensões da

tora, tanto grandes indústrias madeireiras como pequenas marcenarias lidam com a serragem.

No Brasil, é expressivo o montante de resíduos florestais gerados. É estimado que a eficiência da indústria madeireira nacional seja em torno de 50 % e a geração de resíduos alcance 22,5 milhões de toneladas ao ano (MACIEL, 2012). A serragem possui em sua estrutura principalmente celulose, hemicelulose e lignina, e as duas últimas apresentam dificuldade de degradação. Além disto, pelo grande volume há dispersão de poeira pelo vento. Há algumas aplicações para a serragem, como geração de energia (em olarias, secadores agrícolas, indústrias cerâmicas), produção de painéis aglomerados (compensados), produção de briquetes e substrato de solo em instalações para animais (FAGUNDES, 2003). Entretanto, tais aplicações esbarram em dificuldades relacionadas ao custo de transporte, grande volume, heterogeneidade, sazonalidade e falta de investimentos. Muitas vezes, acaba por ser queimada ou disposta em lugares inadequados.

A serragem é um componente clássico de substratos usados na produção de diversos cogumelos. Normalmente funciona como base lignocelulósica, suplementada com alguma fonte proteica.

3 Materiais e Métodos

3.1 Microrganismo

O fungo selecionado para a realização dos trabalhos foi o *Pleurotus ostreatus*, cepa proveniente da Fungibras e cedida por Msc. Diego Melo Pereira, a qual faz parte de sua coleção particular.

3.2 Resíduos Agroindustriais

O bagaço de malte utilizado neste estudo foi cedido pela cervejaria Chosen Beer Company e é oriundo da brassagem para a produção da cerveja do tipo Australian Pale Ale. Esta é uma cerveja clara cuja composição de maltes conta com pouco malte caramelo, nenhum malte torrado e 100 % malte de cevada. O BDM foi coletado no dia 31 de outubro logo após a brassagem e foi mantido em freezer a -3 °C. Parcelas do material foram utilizadas conforme a necessidade do estudo.

A casca de arroz foi doada pelo laboratório BiotecLab, do Instituto de Ciência e Tecnologia do Alimento (UFRGS). Ela foi mantida sob refrigeração até sua utilização.

A serragem foi doada pela Marcenaria Siqueira, de Porto Alegre, e foi proveniente da madeira Angelim, a qual é utilizada em toras de madeira serrada. Sua utilização se deu três dias após a coleta e, durante este período, foi mantida à temperatura ambiente.

3.3 Propagação do Micélio

Foram feitas propagações seriadas do micélio, a fim de obter quantidades necessárias para o presente trabalho. O meio de cultivo batata-dextrose-ágar (BDA) foi preparado e esterilizado em autoclave a 121 °C por 15min. Em uma capela de fluxo laminar previamente esterilizada, o BDA foi vertido em diversas placas de Petri. Da placa de Petri contendo o fungo, foram cortados e extraídos discos de aproximadamente 1 cm de diâmetro contendo o micélio. Estes discos foram adicionados no centro de cada placa nova, que foram incubadas à temperatura de 25°C.

As placas foram completamente colonizadas em cerca de 7 dias. Após a completa colonização, as culturas foram armazenadas sob refrigeração até posterior uso. A Figura 1 apresenta a propagação do micélio em duas fases: (a) placa recém inoculada e (b) placa colonizada.



Figura 1 - Micélio em expansão: (a) placa recém inoculada (b) placa colonizada após sete dias de incubação.

3.4 Preparação do substrato

Os experimentos foram feitos utilizando a técnica de cultivo Jun-Cao, com os substratos acondicionados em pequenos sacos de polipropileno. Foram feitas duas bateladas e as formulações de substrato foram divididas em dois diferentes grupos baseado em suas composições. No primeiro grupo de experimentos, a base do substrato foi composta unicamente por casca de arroz, enquanto que no segundo grupo, a base foi

100 % serragem. A suplementação proteica com BDM foi feita nas proporções de 10, 25, 40, 55 e 70 % em ambos os grupos. Em todos os substratos foi adicionado 1 % (base seca) de carbonato de cálcio. A Tabela 3 mostra as diferentes formulações dos substratos em base seca.

Tabela 3 - Diferentes formulações de substratos testados, em base seca

Base	X _{BDM}	X _{SE}	X _{CA}	X _{CaCO₃}
Casca de arroz	10 %	0 %	89 %	1 %
Casca de arroz	25 %	0 %	74 %	1 %
Casca de arroz	40 %	0 %	59 %	1 %
Casca de arroz	55 %	0 %	44 %	1 %
Casca de arroz	70 %	0 %	29 %	1 %
Serragem	10 %	89 %	0 %	1 %
Serragem	25 %	74 %	0 %	1 %
Serragem	40 %	59 %	0 %	1 %
Serragem	55 %	44 %	0 %	1 %
Serragem	70 %	29 %	0 %	1 %

X_{BDM}: Fração mássica de bagaço de malte;

X_{SE}: Fração mássica de serragem;

X_{CA}: Fração mássica de casca de arroz;

X_{CaCO₃}: Fração mássica de carbonato de cálcio.

As formulações dos substratos foram definidas em base seca. Para determinar a composição em base úmida, foi necessário medir a umidade de cada um dos componentes. As análises foram conduzidas em triplicata e a metodologia está detalhada na sessão 3.8.2.

Foram feitos testes que definiram que 180 g de substrato úmido por saco seriam adequados em relação ao volume e forma do saco tanto para o substrato mais denso (maior proporção de BDM), como para o menos denso. A quantidade de água no substrato foi fixada em 70 %, quantidade tida como ótima por Wang (2001). Os cálculos foram feitos, portanto, para que a massa fosse igual a 180 g em todas as formulações.

Com as composições em base úmida calculadas, os componentes de cada formulação foram misturados, no dia anterior à inoculação, em uma bandeja em quantidades suficientes para preencher 5 sacos de polipropileno (12x25cm), os quais serviram como reatores para o cultivo em estado sólido. Após a mistura, as massas previamente calculadas de cada formulação foram introduzidas nos sacos. O volume de água faltante foi medido em proveta e adicionada individualmente em cada saco.

Na abertura do saco, foi acoplado um pedaço (aprox. 4cm) de cano de PVC de 32mm de diâmetro com um atilho a fim de deixar a abertura rígida. Foram utilizadas buchas de algodão para tampar o saco, sem vedá-lo hermeticamente.

Os sacos preparados foram deixados *overnight* na horizontal, a fim de maximizar a absorção pelo substrato da água recém adicionada. No dia seguinte, os sacos foram esterilizados em autoclave, por 30min a 121 °C. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. Amostras excedentes foram separadas para os testes de pH, umidade e densidade aparente.

3.5 Inoculação

A inoculação foi conduzida em uma capela de fluxo laminar previamente esterilizada. Com o auxílio de um tubo Falcon (para cortar) e uma pinça, dois discos com o micélio (aproximadamente 1 cm de diâmetro) foram cortados das placas de Petri colonizadas e introduzidos em cada saco, após o resfriamento do substrato. Os discos foram situados na superfície do substrato, não muito próximos entre eles. Logo em seguida, os sacos foram destinados ao ambiente de incubação. Na Figura 2, uma foto de um saco recém inoculado.



Figura 2 - Procedimento utilizado na inoculação do substrato com o fungo *Pleurotus ostreatus*

3.6 Incubação

A incubação se deu em uma geladeira adaptada às condições de cultivo em estado sólido. A geladeira foi previamente limpa com água sanitária e sanitizada com álcool 70 % (v/v).

A faixa de temperatura adequada à expansão do micélio do *Pleurotus Ostreatus* foi mantida em torno de 24-27 °C. Alguns graus abaixo retardam o processo e temperaturas acima de 35 °C podem causar má formação estrutural e até a morte do fungo a 40 °C (G. ROLLÁN, 2003). O teor de umidade idealmente deve ser de 65-75 %, para evitar a

evaporação da água presente no substrato. Para manter estes parâmetros dentro da faixa ideal, algumas ações de controle (programadas ou manuais) foram tomadas.

À geladeira, foi acoplado um controlador de temperatura (modelo Tic-17 da marca Full Gauge), que foi programado para controlar a temperatura entre a 24 e 27 °C. Entretanto, houve necessidade de esquentar o ambiente durante o mês de setembro. Para isto, sempre que a temperatura verificada esteve abaixo de 20 °C, uma estufa elétrica foi ligada, com o ar quente direcionado para a mínima abertura da geladeira. A estufa permanecia ligada até o termostato indicar 30 °C, quando a geladeira era fechada. Em 15 minutos a temperatura estabilizava em 27 °C e demorava cerca de 10 horas para baixar a 23 °C.

A umidade do ambiente foi medida por um termo higrômetro digital com sensor externo com termômetro medidor de umidade e temperatura e, sempre que verificada abaixo de 65 %, água foi borrifada no interior da geladeira, a fim de se alcançar umidade de 75 %.

Os sacos foram postos lado a lado na geladeira e os medidores de umidade e temperatura localizados próximos. A troca de ar se limitou a quando a geladeira foi aberta para esquentá-la ou para fazer alguma análise visual da atividade do fungo.

A incubação foi dada como completa quando o micélio alcançou o fundo de cada saco. Neste momento, o saco foi retirado desta geladeira e encaminhado ao ambiente de frutificação. A Figura 3 mostra a geladeira de incubação, com sacos em diferentes estágios.



Figura 3 - Sacos durante o período de incubação

3.7 Frutificação

A frutificação ocorreu em outra geladeira, também acoplada com controlador de temperatura e medidor de umidade. A temperatura foi controlada entre 12 e 15 °C e água foi borrifada diariamente nas paredes da geladeira para manter a umidade acima de 80 %. Uma lâmpada de LED de 9W foi instalada na geladeira e um temporizador foi configurado para ligar e desligar a lâmpada a cada 12 h. A geladeira foi aberta duas vezes por dia para promover troca de ar, além de analisar o andamento do cultivo.

Conforme metodologia aplicada por Zhang et al. (2002), foram feitos 2 furos de cerca de 3 cm de diâmetro em cada saco no início da frutificação. Os primórdios apareceram nas cercanias dos furos, onde há maior contato com o oxigênio. Os cogumelos cresceram através dos furos e, quando seus chapéus começaram a inverter, foram feitas as colheitas. Imediatamente, suas massas foram medidas. A Figura 4 apresenta diferentes momentos da frutificação: à esquerda primórdios formados e à direita, cogumelos maduros.



Figura 4 - Diferentes fases da frutificação do fungo *Pleurotus ostreatus*

3.8 Análises físico-químicas

3.8.1 Eficiência Biológica

A produtividade do cultivo de cogumelos se mede mediante o parâmetro de eficiência biológica (EB), expresso em porcentagem. A EB consiste na razão entre a massa de cogumelos frescos e a massa seca do substrato original. Uma EB a partir de 50 % é percebida como valor mínimo de referência para o cultivo comercial de *Pleurotus ostreatus* (ANA BELEM; DIEGO ALEJANDRO; FABIÁN, 2016). Ainda que sejam verificadas EB de cerca de 100 % ou mais, é necessário ter-se em conta a disponibilidade do substrato para analisar sua eficiência em um local específico.

3.8.2 pH

Para a análise do pH, foi utilizado o método 017/IV do Instituto Adolfo Lutz (2008). Aproximadamente 10 g do substrato foram misturados a 100 ml de água destilada. A solução foi agitada e as medidas de pH foram feitas em um pHmetro de bancada da marca Digimed, modelo D-22. Todas as análises foram conduzidas em duplicata.

3.8.3 Umidade

As análises de umidade foram realizadas de acordo com metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008) - método 012/IV. Amostras de cerca de 4 gramas permaneceram em uma estufa a 105 °C *overnight* e o teor de umidade corresponde à diferença de massa verificada antes e depois da secagem. As análises de cada componente para os cálculos de composição do substrato foram feitas em triplicata, enquanto as análises de umidade de cada formulação foram feitas em duplicata.

3.8.4 Densidade Aparente

A densidade aparente foi medida conforme método utilizado no trabalho de Pereira (2015), e indicado pela Federação dos Institutos para Pesquisas e Análises Agrícolas da Alemanha (VDLUFA). Tal método baseia-se na auto compactação por ação do peso das próprias partículas umas sobre as outras. Uma proveta plástica é preenchida com substrato e a massa deste é medida. Depois, a proveta é deixada cair sob a ação de seu próprio peso, de uma altura de 10 cm, por dez vezes consecutivas. Com o auxílio de uma espátula nivela-se a superfície levemente e lê-se o volume obtido. A densidade aparente é definida como a razão entre a massa analisada e o volume lido.

Neste estudo, foi utilizada a massa total de um saco após o tratamento em autoclave. Foi utilizada uma proveta plástica de 500 ml e a análise foi feita apenas uma vez por formulação.

3.8.5 Relação C/N (Estimativa)

Para a relação C/N dos substratos, foram feitas estimativas a partir de dados de composição de cada componente encontrados na literatura e suas proporções em cada

formulação. Detalhes sobre o cálculo empregado para fazer a estimativa estão no Apêndice 1.

4 Resultados e Discussões

Neste capítulo, serão discutidos os principais resultados obtidos durante a fermentação sólida para a produção dos cogumelos do fungo *Pleurotus ostreatus*.

4.1 Eficiência Biológica

A eficiência biológica é a razão entre a massa dos cogumelos frescos colhidos e a massa seca do substrato original. Os cogumelos foram colhidos quando seus chapéus começaram a inverter e imediatamente tiveram suas massas medidas. Na Figura 5, estão representadas as eficiências biológicas obtidas nos dois primeiros *flushes*. O terceiro *flush* ocorreu em poucas amostras, e cerca de 12 dias após o segundo. Como as colheitas do terceiro *flush* foram sempre pequenas (menores que 2 g), não foram consideradas para o cálculo de eficiência. Além disso, em cultivos comerciais, normalmente são colhidos apenas os dois primeiros *flushes*.

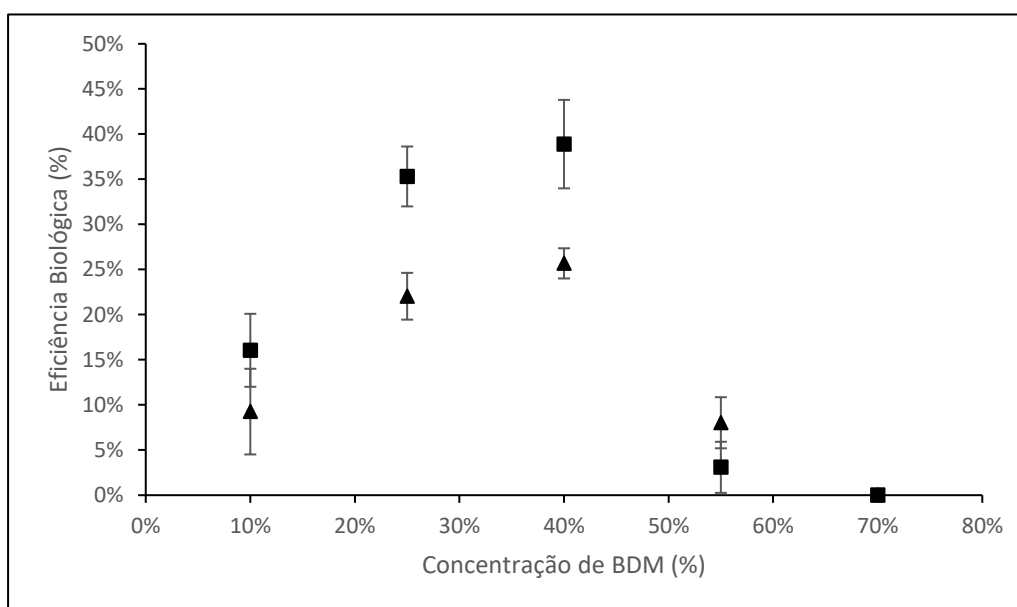


Figura 5 - Eficiência biológica das formulações com casca de arroz (-■-) e com serragem (-▲-)

Apresentaram melhores eficiências biológicas as formulações suplementadas com 25 e 40 %, tanto para substratos com CA como para os substratos com SE. Entre estas, as formulações contendo casca de arroz apresentaram EB superiores às formulações

contendo serragem. Como a serragem é um componente clássico de substratos para cultivo de cogumelos, é razoável supor que também é possível utilizar casca de arroz como base lignocelulósica, inclusive com diferentes suplementações proteicas.

Formulações contendo 25 e 40 % de BDM produziram mais cogumelos que as formulações contendo apenas 10 %, tanto para serragem como para a casca de arroz, indicando que a suplementação proteica foi benéfica, pelo menos até certo ponto.

Os substratos suplementados em 55 % apresentaram eficiência biológica quase nula, enquanto os substratos com 70 % de BDM não produziram nenhum cogumelo. Inclusive, todas as amostras com 70 % de BDM apresentaram bolores no momento em que as outras amostras estavam no segundo flush (Figura 6). Como as outras amostras não foram contaminadas por bolores, é razoável supor que 70 % de BDM torna o substrato desfavorável para o desenvolvimento do *Pleurotus ostreatus*, possivelmente porque o BDM dificulta a aeração. Também é possível que uma maior quantidade de nitrogênio tenha tornado o substrato mais atrativo para contaminantes.



Figura 6 - Substrato contaminado por bolor

Algumas formulações apresentaram eficiência biológica próxima ao valor entendido como mínimo para produção comercial. Gregori et al. (2008) consideraram que BDM, serragem e farelo de trigo podem formar substratos apropriados para o cultivo de *Pleurotus ostreatus*, sendo que o máximo de eficiência que obtiveram foi 51 % em um substrato contendo 20 % farelo de trigo, 10 % BDM, 2 % CaCO_3 e 68 % serragem.

O trabalho aqui proposto comprova que é possível cultivar cogumelos do gênero *Pleurotus ostreatus* em substratos contendo BDM em sua composição, de acordo com a literatura relacionada (GREGORI et al., 2008; WANG; SAKODA; SUZUKI, 2001). Embora nenhuma formulação tenha apresentado valores de EB superiores a 50 %, é

possível que uma otimização nas propriedades físico-químicas mais relevantes (notoriamente o pH e textura do substrato) gerem um incremento na eficiência.

4.2 pH

Todas as formulações apresentaram valores de pH dentro da faixa de sobrevivência do *Pleurotus ostreatus*, porém a maioria ficou abaixo da faixa ótima (6,0-6,5). Além disso, é possível observar uma tendência de diminuição do pH com o aumento da suplementação com BDM, o que faz sentido, pois o BDM é sabidamente ácido (MUSSATTO; DRAGONE; ROBERTO, 2006). Os resultados obtidos na análise de pH estão representados na Figura 7.

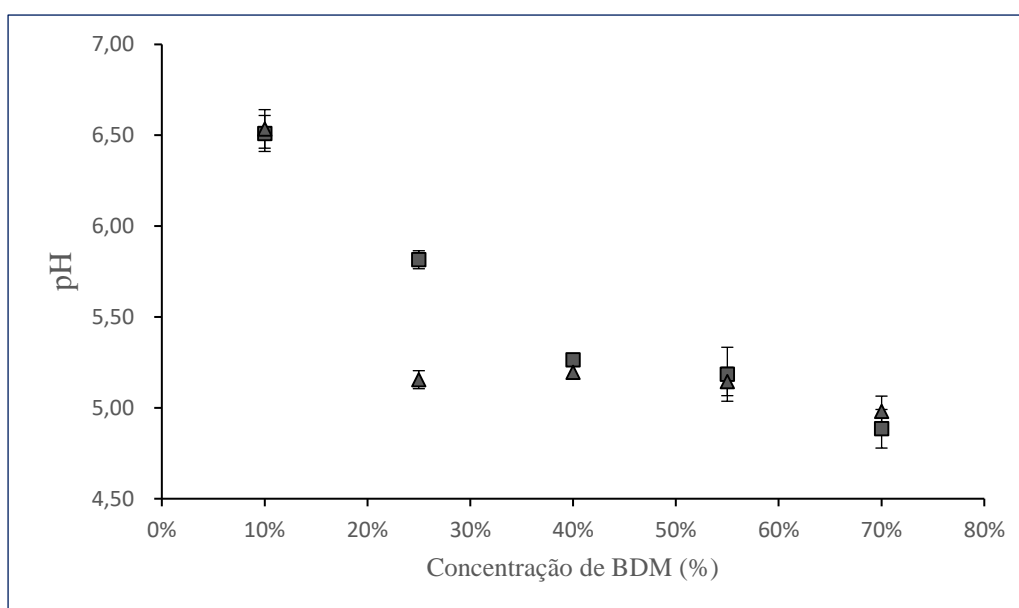


Figura 7 – pH medido das formulações com casca de arroz (-■-) e com serragem (-▲-).

Wang et al. (2001) avaliaram o efeito de lavar o BDM antes de sua utilização em formulações de substrato para o *Pleurotus ostreatus*. Embora o pH tenha aumentado, os benefícios de um incremento observado da eficiência biológica não foram superiores ao custo energético da lavagem.

Yildiz et al. (2002) analisaram o cultivo de *Pleurotus ostreatus* em 41 formulações de substrato e 10 delas apresentaram EB superiores a 50 %. Interessante observar que estas dez formulações apresentaram pH dentro da faixa 5,94-7,11. As duas únicas formulações que apresentaram EB superiores a 100 % exibiram pH 6,83 e 6,86.

Podemos assumir que um incremento nas adições de carbonato de cálcio aumente o pH para valores mais apropriados ao cultivo, possivelmente aumentando a eficiência biológica.

4.3 Umidade

Na Figura 8 estão apresentados os valores médios de teores de umidade em função do grau de suplementação de BDM.

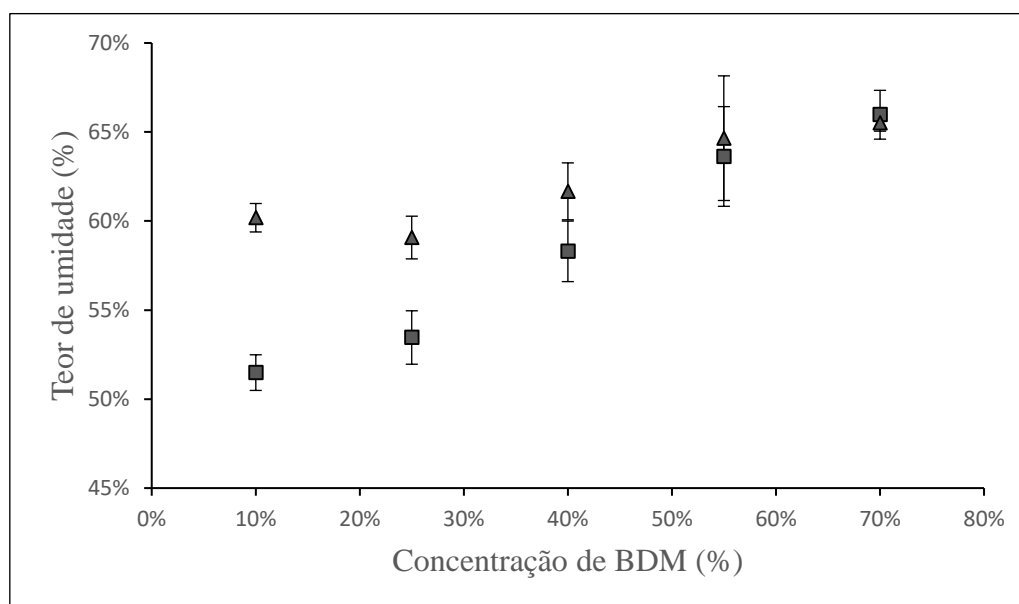


Figura 8 - Teor de umidade medido nas formulações com casca de arroz (-■-) e com serragem (-▲-)

Pode-se observar que apresentaram maior umidade os substratos com maior teor de BDM nas suas composições. De fato, foi o componente com maior umidade (75 %, frente aos 13,5 % da serragem e apenas 11,5 % da casca de arroz). A alta umidade do BDM se mostrou interessante ao facilitar o processo de umedecimento do substrato, como verificado pelas análises.

Normalmente, se umedece o substrato por alguns dias, verificando a umidade pelo teste do palmo. O teste do palmo consiste em apertar o substrato com a mão e, se ele formar grumos sem escorrer água, deve ter um teor de umidade entre 60 e 70 %. Em seu estudo, Sözbir (2015) utilizou o teste do palmo e, quando deu positivo, mediu a umidade de seus substratos, que variaram entre 50 e 66 %. Embora todas as formulações tenham produzido cogumelos, os substratos com umidade próxima a 50 % foram justamente os que apresentaram menores eficiências biológicas, e o autor credita isto à baixa capacidade de absorção de água dos componentes do substrato.

Quando o fungo foi inoculado ao substrato, foi reparada a presença de água livre dentro dos sacos, indicando que as técnicas de umidificação não foram eficazes. Para ambos os grupos, foi vista água livre em quantidade decrescente nas formulações com 10, 25 e 40 %. Nos substratos com teor de BDM de 55 e 70 %, não foi vista água livre. Portanto, enquanto a quantidade de água era constante em todos os sacos (70 %), a presença de água livre já indicava que os substratos possuíam teor de umidade menor.

Os dados confirmam a inspeção visual e os substratos com maior quantidade de água livre foram os que apresentaram os menores teores de umidade. Além disso, é interessante destacar que nenhuma formulação apresentou teor de umidade igual à quantidade de água presente no interior dos sacos, nem mesmo os sacos contendo 70 % de BDM, indicando que o processo utilizado de descanso das amostras overnight não tenha sido suficiente para promover a absorção total da água pelo substrato ou, talvez, que a serragem e a casca de arroz não tenham capacidade de absorver tal quantidade de água.

Os substratos contendo casca de arroz apresentaram menor umidade em relação aos com serragem. Tal fato pode ser explicado por uma alta quantidade de sílica presente na casca de arroz, que promove uma certa impermeabilização do material. Além disto, a umidade original da casca de arroz já era inferior à da serragem.

É possível que melhores técnicas de umedecimento do substrato tragam benefícios ao desenvolvimento do fungo, por garantirem uma melhor homogeneização. Já os teores de umidade tidos como ideais pela literatura (65-70 %) parecem que não são iguais para qualquer natureza de substrato. Neste estudo, as formulações que apresentaram umidades mais próximas destes valores foram contaminadas por bolores.

4.4 Densidade Aparente

A densidade aparente foi medida com a massa total de um saco, logo após sua esterilização. Os resultados obtidos na análise estão representados na Figura 9.

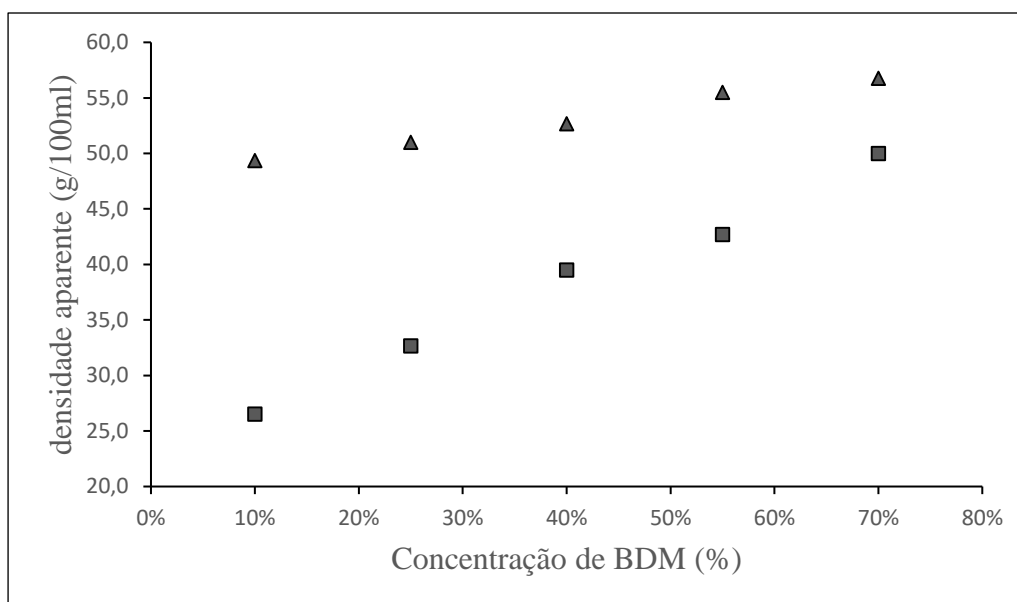


Figura 9 – Densidade aparente das formulações com casca de arroz (-■-) e com serragem (-▲-).

Os dados mostram que os substratos com maior concentração de BDM apresentam maior densidade aparente, possivelmente devido tanto à umidade quanto à forma do BDM. De fato, o BDM é um material mais compacto e mais úmido, com uma densidade notoriamente mais elevada. A diferença entre as densidades aparentes dos substratos com casca de arroz e serragem é bastante grande, possivelmente devido à umidade, já que a granulometria da serragem pareceu até maior que a da casca de arroz.

Poucos estudos levam em conta a densidade aparente das formulações, entretanto cultivos comerciais prensam massas pré-determinadas de substrato no seu recipiente (G. ROLLÁN, 2003). Wang et al. (WANG; SAKODA; SUZUKI, 2001) investigaram o efeito do grau de empacotamento em formulações contendo BDM e farelo de trigo e seus estudos indicam um valor ótimo perto de 60g/100 ml.

As formulações contendo serragem apresentaram valores de densidade aparente mais próximos ao indicado como ótimo por Wang et al. (2001). Entretanto, tal fator não se mostrou determinante na produção de cogumelos, como verificado na análise de eficiências biológicas.

O dado de densidade aparente não se mostrou determinante para o sucesso do cultivo de *Pleurotus ostreatus*, já que as formulações que apresentaram valores mais próximos de um referencial da literatura foram as que mais tiveram problemas. Possivelmente outros parâmetros físicos do substrato, como porosidade, capacidade de absorção de água e tamanho das partículas, sejam tão ou mais importantes que a densidade aparente.

4.5 Relação C/N

Os valores aqui apresentados são somente uma estimativa, conforme foi explicado por Cardoso et al. (2013). Embora os resultados possuam um erro associado, pode-se perceber uma relação entre a formulação e os valores encontrados. Quanto maior o teor da suplementação proteica, menor o valor estimado para a relação C/N.

Tal método foi aplicado por Cardoso et al. (2013), e os autores salientam que a escolha do substrato não pode se basear apenas na relação C/N. Características físicas como capacidade de absorção de água, porosidade, densidade aparente e tamanho das partículas dos substratos são muito importantes, pois influenciam diretamente na aeração (WANG; SAKODA; SUZUKI, 2001). Além disto, há de se considerar a natureza dos diferentes carboidratos presentes e suas capacidades espessantes e de gelatinização (CARDOSO; DEMENJOUR; PAZ, 2013). Todos estes elementos dificultam a análise sobre as diferenças de eficiência biológica apresentada por cada substrato.

A Tabela 4 apresenta os valores estimados para a relação C/N, conforme metodologia explicada no Apêndice I.

Tabela 4 - Relação C/N estimada para cada formulação

Base	X _{BDM}	C/N
Casca de arroz	10 %	78
Casca de arroz	25 %	49
Casca de arroz	40 %	35
Casca de arroz	55 %	27
Casca de arroz	70 %	21
Serragem	10 %	147
Serragem	25 %	77
Serragem	40 %	50
Serragem	55 %	35
Serragem	70 %	26

Embora o *Pleurotus ostreatus* tenha a capacidade de colonizar substratos com uma ampla gama de valores de C/N, sua faixa ótima está entre 60 e 90, segundo Vieira (2016). Chae e Ahn (2013) calcularam estatisticamente que o valor ótimo de C/N para sua linhagem de *Pleurotus ostreatus* em substratos contendo serragem, farelo de arroz e composto de restos de alimentos seria 54/1. Philippoussis (2016) conseguiu boas eficiências em substratos contendo 100 % palha de trigo e 100 % resíduo de algodão, que

apresentaram C/N 59/1 e 39/1, respectivamente. Seu trabalho confirma que não há uma correlação simples, pois, uma linhagem de *Pleurotus ostreatus* rendeu 11 % a mais na palha de trigo, enquanto a outra rendeu 24 % a mais no resíduo de algodão.

A partir somente dos dados da relação C/N, fica impossível prever sobre o sucesso de uma formulação. Neste trabalho, por exemplo, duas formulações tiveram suas relações C/N estimadas em 35/1. A formulação contendo casca de arroz e 40 % de BDM foi, entre todas, a que apresentou maior média de eficiência biológica. Já a formulação contendo serragem e 55 % de BDM produziu muito menos cogumelos. É importante, portanto, levar em conta a natureza dos componentes dos substratos e dos próprios elementos (carbono e nitrogênio), além de parâmetros físicos como tamanho de partículas, porosidade, densidade aparente e capacidade de absorção de água.

5 Conclusão

A seguir, apresentam-se as principais conclusões obtidas no referido trabalho:

- O fungo *Pleurotus ostreatus* se mostrou capaz de colonizar todas as formulações propostas;
- As formulações que apresentaram melhores EB foram as que continham 25 e 40% de BDM, sendo que não houve diferenças estatisticamente significativas entre elas.
- formulações com maiores teores de BDM (55 e 70 %) formaram poucos ou nenhum cogumelo. São as formulações que apresentam menores valores para relação C/N e maior umidade e densidade aparente. A presença de bolor nas formulações com 70 % de BDM indica que em altas concentrações, o BDM cause problemas quanto à aeração do substrato;
- a casca de arroz apresentou eficiência superior à serragem em formulações contendo 25 e 40 % de BDM, indicando que, como a serragem, ela pode ser usada como base lignocelulósica para cultivos de *Pleurotus ostreatus*, inclusive com outras suplementações proteicas. Suas formulações apresentaram pH semelhante e relação C/N, umidade e densidade aparente menores em relação às formulações contendo serragem;

Nenhuma das propriedades físico-químicas investigadas apresentou uma correlação evidente com a eficiência biológica, entretanto algumas observações podem ser feitas:

- os valores de pH de todas formulações estiveram abaixo da faixa ideal e pode-se inferir que um incremento no teor de CaCO_3 aumente o pH e possivelmente a eficiência biológica;
- as formulações que apresentaram relação C/N inferior a 30 produziram muito pouco ou nada de cogumelos, assim como a formulação com C/N estimada em 147;
- as eficiências foram inferiores à medida que os valores de umidade e densidade aparente se aproximaram dos valores indicados como ótimos pela literatura. A EB foi superior em algumas formulações contendo casca de arroz, que eram menos densas e menos úmidas do que as que continham serragem. Tal fato indica que outras propriedades como porosidade e tamanho de partículas sejam importantes para explicar a aeração do substrato e que possivelmente os valores encontrados na literatura como ótimo não o sejam para qualquer natureza de substrato.
- As eficiências biológicas encontradas são inferiores a outras encontradas na literatura, que utilizaram diferentes formulações. Entretanto, ajustes nas propriedades investigadas podem acarretar em um cultivo mais eficiente, tornando-o atrativo economicamente.

6 Referências

- ANA BELEM, P. G.; DIEGO ALEJANDRO, N. M.; FABIÁN, R. M. Utilización de residuos agrícolas y agroindustriales en el cultivo y producción del hongo comestible seta (*Pleurotus* spp.). **Revista Internacional de Contaminacion Ambiental**, v. 32, n. EspecialResiduosSolidos, p. 141–151, 2016.
- ANPC. **O Setor de Cogumelos**. Disponível em: <<https://www.anpccogumelos.org/cogumelos>>. Acesso em: 2 out. 2018.
- AZADI, P. et al. Liquid fuels, hydrogen and chemicals from lignin: A critical review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 21, p. 506–523, 1 maio 2013.
- BELLETTINI, M. B. et al. Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 18 dez. 2016.
- CABRAL, J. M. et al. Produção de briquetes e peletes a partir de resíduos agrícolas agroindustriais e florestais. **Documentos**, **013**, **Embrapa Agroenergia**, 2012.
- CARDOSO, J. C. P.; DEMENJOUR, P. L. M. M.; PAZ, M. F. DA. Cultivo Do Cogumelo Comestível *Pleurotus Ostreatus* Em Bagaço De Bociuva E De Cana-De-Açúcar Pela Técnica Jun-Cao. **Evidência, Joaçaba**, v. 13, n. 1, p. 31–40, 2013.
- ČATER, M. et al. Biogas production from brewery spent grain enhanced by bioaugmentation with hydrolytic anaerobic bacteria. **Bioresource Technology**, v. 186, n. December 2017, p. 261–269, 2015.
- CHAE, H.-J.; AHN, J.-H. Optimization of rice bran and food waste compost contents in mushroom culture medium to maximize mycelial growth rate and fruit body yield of *Pleurotus ostreatus*. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 80, p. 66–70, 1 maio 2013.
- DA SILVA, A. **Parâmetros Industriais Para Produção de *Pleurotus Ostreatus***. Rio Claro: UNESP, 2016.
- DÜZKALE SÖZBİR, G. et al. **Lignocellulosic Wastes Used for the Cultivation of *Pleurotus ostreatus* Mushrooms: Effects on Productivity***BioResources*. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://ojs.cnr.ncsu.edu/index.php/BioRes/article/view/7128>>. Acesso em: 29 ago. 2018.
- EMATER-RS. **Estimativas Iniciais e Atuais, Área e Produção, Regiões Administrativas - safra 2018**. Porto Alegre: [s.n.]. Disponível em: <http://www.emater.tche.br/site/arquivos_pdf/safra/safraTabela_14052018.pdf>. Acesso em: 22 ago. 2018.

FAGUNDES, H. A. V. **Diagnóstico da produção de madeira serrada e geração de resíduos do processamento de madeira de florestas plantadas no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: UFRGS, 2003.

FAO. **Statistical Databases**. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity>. Acesso em: 17 out. 2018.

FERNANDES, Â. et al. Nutritional characterisation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) P. Kumm. produced using paper scraps as substrate. **Food Chemistry**, v. 169, p. 396–400, 2015.

FERNANDES, A. DE A. (USP). **Síntese de Zeólitas e Wolastonita à partir da cinza da casca do arroz**. São Paulo: Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo, 11 jul. 2006.

FERREIRA DA EIRA, A. CULTIVO DE COGUMELOS (COMPOSTAGEM, CONDUÇÃO E AMBIENTE). p. 71–81, 1992.

FUKUDA, M. et al. Prebiotic treatment of experimental colitis with germinated barley foodstuff: A comparison with probiotic or antibiotic treatment. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 9, n. 1, p. 65–70, 1 jan. 2002.

G. ROLLÁN, M. **Cultivo de Setas y Trufas**. 4ª ed. Madrid: Mundi-Prensa, 2003.

GREGORI, A. et al. The use of spent brewery grains for *Pleurotus ostreatus* cultivation and enzyme production. **New Biotechnology**, v. 25, n. 2–3, p. 157–161, 1 out. 2008.

KHAN, M. A.; TANIA, M. Nutritional and Medicinal Importance of *Pleurotus* Mushrooms: An Overview. **Food Reviews International**, v. 28, n. 3, p. 313–329, jul. 2012.

KUMARI, D.; ACHAL, V. Effect of different substrates on the production and non-enzymatic antioxidant activity of *Pleurotus ostreatus* (Oyster mushroom). **Life Science Journal**, v. 5, n. 3, p. 73-, 2008.

KUO, M. **Pleurotus ostreatus (MushroomExpert.Com)**. Disponível em: <http://www.mushroomexpert.com/pleurotus_ostreatus.html>. Acesso em: 3 out. 2018.

LEE, J. Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. **Journal of Biotechnology**, v. 56, n. 1, p. 1–24, 23 jul. 1997.

LHAMBY, A.; SENNA, A. J.; CANES, S. E. **A prática da gestão ambiental agroindustrial: um estudo de caso em uma agroindústria que produz energia elétrica a partir da casca de arroz**. Bauru: Instituto Brasileiro de Estudos Ambientais, 2010. Disponível em: <<http://www.ibeas.org.br/congresso/Trabalhos2010/XI-001.pdf>>.

Acesso em: 22 ago. 2018.

LIU, T. H.; CHANG, F. W.; LO, J. J. Pyrolysis Kinetics of Acid-Leached Rice Husk. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 36, n. 3, p. 568–573, 1997.

LORENZETT, D. B. et al. Gestão de resíduos e a indústria de beneficiamento de arroz. **Revista Gestão Ambiental**, 2010.

LUZZIETTI, M. et al. **Estudo da utilização da casca de arroz na produção de bioenergia no município de Turvo/SC**. Turvo: [s.n.]. Disponível em: <http://www.apec.unesc.net/VII_EEC/sesoes_tematicas/Área 9 Econ Rural/ESTUDO DA UTILIZAÇÃO DA CASCA DE ARROZ.pdf>. Acesso em: 22 ago. 2018.

MACIEL, W. P. **Cultivo de Lentinula edodes em diferentes condições de substrato e temperatura**. [s.l.] UFLA, 2012.

MENEZES, B. DA S. **Produção de xilooligossacarídeos a partir de resíduos lignocelulósicos e fungos filamentosos**. Porto Alegre: UFRGS, 2018.

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

MUSSATTO, S. I. Biotechnological potential of brewing industry by-products. In: **Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation: Utilisation of Agro-Residues**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2009. p. 313–326.

MUSSATTO, S. I.; DRAGONE, G.; ROBERTO, I. C. Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential applications. **Journal of Cereal Science**, v. 43, n. 1, p. 1–14, 2006.

OEI, P. **Small-scale mushroom cultivation oyster , shiitake and wood ear mushrooms**. [s.l: s.n.].

OLIVEIRA, R. DA S. **Inclusão do substrato de Pleurotus ostreatus na cinética de fermentação in vitro do feno de braquiária**. Brasília: [s.n.]. Disponível em: <<http://repositorio.unb.br/handle/10482/8474>>. Acesso em: 2 out. 2018.

OLUPOT, P. W. et al. Characterization of rice husk varieties in Uganda for biofuels and their techno-economic feasibility in gasification. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 107, p. 63–72, 1 mar. 2016.

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

PADILHA, P. et al. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

PANDEBESIE, E. S.; RAYUANTI, D. Rice Husk and Microorganisms Addition

Increased Domestic Solid Waste Composting Process. **J. Appl. Environ. Biol. Sci**, v. 3, n. 2, p. 13–17, 2013.

PEREIRA, D. M. **Obtenção e avaliação de linhagens híbridas e desenvolvimento dos processos de inóculos para cultivo axênico de *Leninula edodes* (BERK.) Pegler**. Porto Alegre: UFRGS, 2015.

PHILIPPOUSSIS, A. N. Production of Mushrooms Using Agro-Industrial Residues as Substrates. In: **Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2009. p. 163–196.

PHILIPPOUSSIS, A. N. P. D. Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea* and *Pleurotus* spp. **CEUR Workshop Proceedings**, v. 1621, n. May 2014, p. 36–43, 2016.

PORTO, P. DE D. **Tecnologia de fabricação de malte: uma revisão**. Porto Alegre: UFRGS, 2011.

PRENTICE, N.; D'APPOLONIA, B. L. High-Fiber Bread Containing Brewer's Spent Grain. **Cereal Chem**, v. 54, p. 1084–1095, 1977.

SAHA, B. C.; COTTA, M. A. Lime pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of rice hulls to ethanol. **Biomass and Bioenergy**, v. 32, n. 10, p. 971–977, 1 out. 2008.

SANTOS JÚNIOR, S. R. G. DOS S. **Arroz -Atlas Socioeconômico do Rio Grande do Sul**. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), 2016. Disponível em: <<http://www.atlassocioeconomico.rs.gov.br/arroz>>. Acesso em: 22 ago. 2018.

SANTOS, M. et al. Variability of brewer's spent grain within a brewery. **Food Chemistry**, v. 80, n. 1, p. 17–21, 2003.

STAMETS, P. **The Mushroom Cultivator**. Olympia: Agarikon Press, 1983.

STAMETS, P. **Mycellium Running**. Berkeley: Ten Speed Press, 2005.

STURION, G. L.; RANZANI, M. R. T. DE C. Composição em minerais de cogumelos comestíveis cultivados no Brasil - *Pleurotus* spp e outras espécies desidratadas. **ALAN (caracas)**, v. 50, n. 1, 2000.

TOWNSLEY, J. M. Preparation of commercial products from brewer's waste grain and trub. **MBAA**, v. 16, n. 4, p. 130–134, 1979.

VALENCIA, N. R.; VASCO, J. Z. Cultivo de *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quéil. EN PULPA DE CAFÉ. **Cenicafé (Colombia)**, v. 45, n. 3, p. 81–92, 1994.

VIEIRA, F. **Substratos de cultivo para os cogumelos *Pleurotus ostreatus* e *Agaricus***

bisporus: composição físico-química e metagenômica microbiana. Botucatu: UNESP, 2016.

WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L. A. DE. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, v. 38, n. 4, p. 1184–1192, ago. 2008.

WANG, D.; SAKODA, A.; SUZUKI, M. Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beer grain. **Bioresource Technology**, v. 78, n. 3, p. 293–300, 1 jul. 2001.

YAMAUCHI, M. et al. Cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on fermented moso bamboo sawdust. **Journal of King Saud University - Science**, 17 abr. 2018.

YANG, W.; GUO, F.; WAN, Z. Yield and size of oyster mushroom grown on rice/wheat straw basal substrate supplemented with cotton seed hull. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 20, n. 4, p. 333–338, 2013.

YILDIZ, S. et al. Some lignocellulosic wastes used as raw material in cultivation of the *Pleurotus ostreatus* culture mushroom. **Process Biochemistry**, v. 38, n. 3, p. 301–306, 2002.

ZHANG, R.; LI, X.; FADEL, J. . Oyster mushroom cultivation with rice and wheat straw. **Bioresource Technology**, v. 82, n. 3, p. 277–284, 2002.

Apêndice I

Nesta seção estão apresentados detalhes do cálculo da estimativa da relação C/N.

Para os cálculos, utilizou-se dados de composição retirados da literatura para os três componentes utilizados. Menezes (2018) determinou em seu estudo as composições de casca de arroz e de BDM e seus dados foram utilizados por serem recentes, locais e, no caso do BDM, por ser oriundo de uma cerveja clara, como o BDM empregado neste trabalho. No caso da serragem, foi utilizada uma composição determinada por Chae e Ahn (2013). A Tabela 5 apresenta os dados de composição química dos três resíduos e os fatores de conversão.

Tabela 5 - Composição assumida para cada componente e o fator de conversão de cada material

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		

Para a estimativa dos teores de carbono e nitrogênio do BDM e CA, foram utilizados fatores de conversão proteínas/nitrogênio e carboidratos/carbono referentes à fração mássica média de cada elemento em cada substância.

Para o teor de nitrogênio, foi utilizado o fator 0,16 que é o inverso do fator proteína/nitrogênio (6,25) utilizado no método Kjeldahl por diversos autores (DÜZKALE SÖZBIR et al., 2015; OLUPOT et al., 2016; PEREIRA, 2015; YAMAUCHI et al., 2018).

Quanto ao carbono, foi necessário analisar a contribuição dada por cada carboidrato. A celulose foi a mais simples, por ser composta por apenas um monômero, a glicose, de fórmula molecular $C_6H_{12}O_6$. Como a glicose gera uma molécula de água em suas ligações, a fórmula molecular da celulose é $(C_6H_{10}O_5)_n$. O fator de conversão carbono/celulose, portanto, é igual à fração mássica de carbono na celulose (0,44).

Para a hemicelulose, foi considerado que é formada majoritariamente pelas pentoses arabinose e xilose e pelas hexoses glicose e galactose. As pentoses, ao se ligarem, perdem uma molécula de água, ficando com fórmula $C_5H_8O_4$ (fração mássica de carbono 0,455), enquanto as hexoses ficam com fórmula $C_6H_{10}O_5$ (fração mássica 0,444).

Como os valores são próximos, foi utilizado como fator de conversão o valor médio aproximado 0,45.

A lignina é um polímero formado por três monômeros fenólicos: álcool cumarílico ($C_9H_{10}O_2$), álcool coniferílico ($C_{10}H_{12}O_3$) e álcool sinapílico ($C_{11}H_{14}O_4$). Sua estrutura é formada por diversas ligações aleatórias e a maioria não acarreta na geração de alguma outra substância (AZADI et al., 2013). Por isso, foi utilizada a fração mássica de carbono presente nos álcoois cumarílico, coniferílico e sinapílico (0,72, 0,67 e 0,63 respectivamente). Foi utilizado o fator 0,67, que representa a média das frações mássicas de carbono presente nos álcoois coniferílico e sinapílico.

Quanto à serragem, o autor levado em consideração apresenta seus dados de composição diretamente como teor de carbono e nitrogênio, o que facilita o cálculo da relação C/N. O teor de carbono encontrado por Chae (2013) (57 %) é semelhante à estimativa calculada a partir dos dados de composição de serragem apresentados por Fagundes (2003) (50 %), entretanto seus dados não são simplificados demais ao ponto de negligenciar a presença de proteínas, como no caso do último autor.

Os cálculos, portanto, são um balanço de massa dos elementos nitrogênio e carbono presentes em cada substância de cada componente de cada substrato, utilizando as composições e frações mássicas apresentados acima. Os valores encontrados estão apresentados na Tabela 4, na discussão de resultados.