UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA MULTI-INSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

UTILIZAÇÃO DE RESÍDUOS DA BANANICULTURA PARA O CULTIVO DE COGUMELO, BIOPOLPAÇÃO CELULÓSICA E PRODUÇÃO DE PAPEL

ADRIANA DA SILVA NUNES

MANAUS-AM
2018

UFAM

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA MULTI-INSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

ADRIANA DA SILVA NUNES

UTILIZAÇÃO DE RESÍDUOS DA BANANICULTURA PARA O CULTIVO DE COGUMELO, BIOPOLPAÇÃO CELULÓSICA E PRODUÇÃO DE PAPEL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas como requisito para a obtenção do título de Doutora em Biotecnologia, Área de concentração Agroflorestal.

Orientadora: Dra. Ceci Sales-Campos

MANAUS-AM
2018

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

N972u

Nunes, Adriana da Silva
Utilização de resíduos da bananicultura para o cultivo de cogumelo, biopolpação celulósica e produção de papel / Adriana da Silva Nunes. 2018
143 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Ceci Sales-Campos
Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Pleurotus ostreatus. 2. Biodegradação. 3. Enzimas Oxidativas. 4. Agroindústria. I. Sales-Campos, Ceci. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

DEDICATÓRIA

À Deus por seu amor imenso por mim.

Ao meu esposo Lundrigs pelo amor incondicional, paciência, parceria, compreensão e incentivo. Quero envelhecer com você.

À minha filha Louísie, por ser o motivo do meu empenho e dedicação.

Aos meus pais, Francisco Valeriano (*in memoriam*) e Francisca, que me ensinaram que dedicação, fé e coragem são indispensáveis na vida.

Ao meu irmão César (*in memoriam*), um dia nos veremos novamente.

"Clama a mim e responder-te-ei e anunciar-te-ei coisas grandes e firmes, que não sabes"

Jeremias 33:3

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus por guiar meus passos, me proteger, me sustentar nos bons e nos maus momentos que passei durante esse curso.

Ao meu esposo, pela abnegação, compreensão, amor e incentivo durante esses anos e por ser um esposo e pai dedicado, sem você eu não chegaria até aqui.

Ao meu pai, Francisco Valeriano (*in memoriam*), que me incentivou a vida toda a persistir na educação e na aquisição de novos conhecimentos e a romper barreiras, a você meu pai minha eterna gratidão pelo pai, amigo e ducador que tive o privilégio de ter nessa vida. Saudades papai!

À minha mãe Francisca, que juntamente com meu pai nunca mediu esforços para me impulsionar no processo educacional, sempre com muito amor e sensibilidade.

À Dra. Ceci Sales-Campos pela orientação, oportunidade, incentivo, confiança e amizade. Por abrir as portas do seu laboratório e me oportunizar a pesquisa com cogumelos.

À minha sogra e meu sogro que muito me apoiaram em todos esses anos de curso, me apoiando na educação de minha filha e nos cuidados com meu esposo quando em minha ausência.

Aos meus irmãos Itamar, Valério e Silvia pelo companheirismo e amor.

Aos meus cunhados Gilson, Leanne e Kelria pelo apoio, auxílio e abrigo na cidade de Manaus durante todos os anos do doutorado.

À minha amiga Vanessa Galúcio pela parceria, palavras sábias e amizade sincera. Obrigada por me apoiar.

Ao Márcio Anselmo, pelos anos de parceria, horas de descontração, noites em claro e amizade.

Ao Armando Prestes, Gabriellen Pedreno, Iradene Brelaz e Larissa Batista pela parceria nas análises e amizade descontraída.

Ao Sr. Paulo Roberto, do setor de celulose e papel, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, pelo acolhimento, conhecimento compartilhado e amizade.

Aos Senhores Manoel e Raimundo pela ajuda na fabricação do papel e análises físico-mecânicas, meu muito obrigada.

Ao Sr. Genauro, que muito me ajudou com a assistência nos equipamentos necessários ao desenvolvimento deste projeto.

À Sra. Irineide e ao Cristiano, do laboratório de Química da Madeira, pelo auxílio nas análises químicas.

Aos alunos de iniciação científica do LaBeF-Parintins, Leanderson, Jakeline, Jérica Nara, Débora, Everton, Cliverton, Hortência Angélica, Enolly, Mônica e Hortência Viana pelo apoio, amizade e gargalhadas.

Ao Alexsander Neves e Thaís pelo apoio durante os cultivos iniciais.

À Mônica Jacaúna, pelo apoio e parceria durante esses anos. Obrigada.

Ao Sr. Jorge Alves de Freitas (Jorginho) pelo apoio nas análises de anatomia da fibra.

À Dra. Larissa Chevruill pelo acolhimento, sugestões e momentos de descontração.

Ao Dr. Ézio Sargentini e ao Marcos do laboratório temático de bioprospecção de produtos naturais pela ajuda com as análises de elementos minerais.

Ao PPGBIOTEC pela oportunidade de aperfeiçoar os meus conhecimentos.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia pela oportunidade do desenvolvimento da Pesquisa.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos durante o período do curso.

Ao Projeto Capes Pró-Amazônia pelo apoio financeiro.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resultado das análises físico-químicas dos substratos elaborados: nitrogênio, carbono, relação C:N, matéria seca, umidade e pH.....64
Tabela 2: Composição centesimal dos substratos pré e pós-cultivo.....68
Tabela 3: Composição mineral dos substratos pré e pós-cultivo.....73
Tabela 4: Avaliação biológica de *Pleurotus ostreatu*s (NAT B) nos substratos testados durante o período de cultivo.....81
Tabela 5: Resultado das análises físico-químicas dos corpos frutíferos de *P. ostreatus:* nitrogênio, carbono, relação C:N, matéria seca, umidade e pH.....83
Tabela 6: Composição centesimal do cogumelo.....87
Tabela 7: Composição mineral do cogumelo *Pleurotus ostreatus* cultivado nos diferentes substratos.....89
Tabela 8: Valores percentuais das análises de extrativos dos substratos pré e pós-cultivo.....107
Tabela 9: Percentuais e coeficientes de degradação de celulose e lignina promovidos por *P. ostreatus* NATB em substratos da bananicultura.....109
Tabela 10: Dimensões das fibras dos resíduos das cultivares de bananeira estudadas.....128
Tabela 11: Valores de SRº das pastas produzidas a partir dos métodos mecânico, químico, biológico triturado e biológico cavaco.....133

LISTA DE FIGURAS

Figuras 1: Partes da bananeira.....21
Figuras 2: Fluxograma da geração de resíduos da bananicultura.....22
Figuras 3: Destino das exportações brasileiras em 2013.....25
Figuras 4: Ciclo de vida de um basidiomiceto.....32
Figuras 5: Esquema da função desempenhada pelas enzimas degradadoras de materiais lignocelulósicos.....33
Figuras 6: *Pleurotus ostreatus*.....34
Figuras 7: Cultivo, colheita e basidiomas de Pleurotus ostreatus.....60
Figuras 8: Eficiência biológica média dos diferentes substratos utilizados no cultivo de *Pleurotus ostreatus*.....75
Figuras 09: Rendimento médio (g/kg) dos diferentes substratos utilizados no cultivo de *Pleurotus ostreatus*.....78
Figuras 10: Perda de matéria orgânica média dos diferentes substratos utilizados no cultivo de *Pleurotus ostreatus*.....79
Figuras 11: Atividade de Lacase de *P. ostreatus*.....111
Figuras 12: Atividade de Li-P de *P. ostreatus*.....112
Figuras 13: Atividade de Mn-P de *P. ostreatus*.....113
Figuras 14: Procedimentos de limpeza, mensuração e corte de pseudocaule.....119
Figuras 15: Processos de coloração da fibra.....121
Figuras 16: Etapas do cozimento químico em digestor rotativo.....122
Figuras 17: Processos de fabricação do papel: desintegração de fibras, refino em moinho Jockro, Homogeinização das fibras, Grau Shop Rigle, Secagem da folha.....124
Figura 18: Propriedades do papel.....126
Figuras 19: Valores de densidade básica dos resíduos de bananeira.....127
Figuras 20: Rendimentos das pastas mecânica, química, biológica triturada e biológica cavacos.....130
Figuras 21: Números kappa das polpações químicas, biológica triturada e biológica "cavaco".....132
Figuras 22: Médias de espessuras de papéis fabricados a partir das polpações química, mecânica, biológica triturada e biológica cavaco.....134
Figuras 23: Médias de gramatura de papéis fabricados a partir das polpações química, mecânica, biológica triturada e biológica cavaco.....135
Figuras 24: Médias de resistência ao Gurley (ar) de papéis fabricados a partir das polpações química, mecânica, biológica triturada e biológica cavaco.....136
Figuras 25: Médias de resistência ao rasgo de papéis fabricados a partir das polpações química, mecânica, biológica triturada e biológica cavaco.....136
Figuras 26: Médias de resistência à tração de papéis fabricados a partir das polpações química, mecânica, biológica triturada e biológica cavaco.....137
Figuras 27: Médias de alongamento de papéis fabricados a partir das polpações química, mecânica, biológica triturada e biológica cavaco.....138
Figuras 28: Papéis produzidos pelo tratamento químico álcali (NaOH 5%).....138
Figuras 29: Papéis produzidos pelo tratamento mecânico.....138
Figuras 30: Papéis produzidos pelo tratamento biológico triturado.....139
Figura 31: Papéis produzidos pelo tratamento biológico-cavacos.....139

SUMÁRIO

1 Introdução....17
CAPÍTULO 1. REVISÃO DE LITERATURA....20
1.1 Resíduos agroindustriais....20
1.1.1 Resíduos da Bananicultura....21
1.1.2 Utilização de Resíduos de Bananeira na Biotecnologia....23
1.2 Indústria papeleira - Panorama....25
1.2.1 Produção de celulose/Papel....27
1.2.2 Polpação: Tipos de processos de polpação....28
1.2.3 Impactos ao meio ambiente....30
1.3 Biopolpação....31
1.3.1 Fungos Basidiomicetos....32
1.3.2 Cogumelo - *Pleurotus osteatrus/Biopolpação*....34
1.3.2.1 *Pleurotus ostreatus*....34
1.3.2.2 Cultivo de *Pleurotus*....37
1.3.3.3 *Pleurotus ostreatus* na biopolpação....38
1.4 Enzimas....39
1.4.1 Lacase - Lac....40
1.4.2 Manganês Peroxidase – MnP....41
1.4.3 Lignina Peroxidase - Lip....42
1.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS....44
CAPÍTULO 2: CULTIVO DE *Pleurotus ostreatus* EM DIFERENTES RESÍDUOS DA BANANICULTURA....52
2.1 Introdução....53
2.2 Material e Métodos....54
2.2.1 Resíduos: Coleta, codificação e preparação....54
2.2.2 Coleta, secagem e preparação das amostras para análises físico-química, centesimal e mineral....54
2.2.3 Análises físico-químicas dos substratos elaborados, pós cultivo e cogumelos....55
2.2.3.1 Determinação do Conteúdo de Umidade e Massa Seca....55
2.2.3.2 Determinação de Nitrogênio Total e Proteína Bruta....55
2.2.3.3 Determinação do teor de carbono orgânico....56
2.2.3.4 Determinação pH....57
2.3 Composição centesimal dos substratos elaborados, pós- cultivo e cogumelos....57
2.3.1 Determinação de Fibra Detergente Neutro (FDN) e Fibra Detergente Ácido (FDA).57

2.3.2 Determinação de lipídios 57
2.3.3 Cinzas ou resíduo mineral fixo.....58
2.3.4 Carboidratos totais.....58
2.4 Análise de macro e micro minerais do substrato elaborado, pós-cultivo e cogumelo.....58
2.4.1 Procedimentos experimentais.....58
2.5 Cultivo de Pleurotus ostratus em diferentes substratos de bananeira 59
2.5.1 Linhagem fúngica.....59
2.5.2 Matriz secundária 59
2.5.3 Matriz terciária 60
2.5.3 Cultivo de *Pleurotus ostreatus* NATB.....60
2.5.4 Colheita.....62
2.5.5 Avaliação biológica 62
2.6 Análise Estatística 62
2.7 Resultados e Discussão.....62
2.7.1. Análise físico-química de substrato pré e pós-cultivo 62
2.7.2 Análise centesimal dos substratos pré e pós-cultivo.....67
2.7.3 Análise mineral de substrato pré e pós-cultivo.....72
2.8 Avaliação da produtividade - Eficiência Biológica 75
2.8.1 Rendimento 78
2.8.2 Perda de matéria orgânica 79
2.8.3 Avaliação biológica de *P. ostreatus* 81
2.9 Análises do cogumelo.....83
2.9.1 Análise físico-química do cogumelo 83
3.9.2 Análise centesimal do cogumelo.....84
2.9.3 Análise mineral do cogumelo.....88
2. 10 Conclusões 91
2. 11 Referências Bibliográficas.....92
CAPÍTULO 3: ATIVIDADE ENZIMÁTICA E PERFIL LIGNOCELULÓSICO DURANTE O CULTIVO DE *Pleurotus ostreatu*s EM RESÍDUOS DA BANANICULTURA.....100
3.1 Introdução.....100
3.2 Material e métodos.....101
3.2.1 Linhagem fúngica.....101
3.2.2 Tratamento dos resíduos 101
3.2.3 Matriz secundária 101
3.2.4 Matriz terciaria 102
3.2.5 Cultivo de *P. ostrea*tus.....102

3.3 Análise de extrativos dos substratos pré e pós-cultivo 103
3.3.1 Extração etanol-tolueno 1:2 e etanol 103
3.3.2 Solubilidade em água quente 103
3.3.3 Determinação de lignina 104
3.3.4 Determinação de celulose bruta 105
3.4 Processo enzimático em fermentação sólida 105
3.4.1 Atividade enzimática lacase 106
3.4.2 Atividade enzimática lignina-peroxidase 106
3.4.3 Atividade enzimática da manganês-peroxidase 106
3.4.4 Cálculos enzimáticos 106
3.5 Resultados e Discussão 107
3.5.1 Extrativos totais antes e após cultivo com *P. ostreatus* 107
3.5.2 Atividade de Lacase 110
3.5.3 Atividade de Lignina peroxidade 112
3.5.4 Atividade de manganês-peroxidase 113
3.6 Conclusão 115
3.7 Referências Bibliográficas 116
CAPÍTULO 4: PRODUÇÃO DE POLPA CELULÓSICA E PAPEL A PARTIR DE RESÍDUOS DA BANANICULTURA. 119
4.1 Introdução 119
4.2 Material e métodos 120
4.2.1 Resíduos de bananeira 120
4.2.2 Densidade Básica dos Cavacos. 121
4.2.3 Anatomia da fibra 121
4.3 Tipos de Polpação Celulósica 122
4.3.1 Polpação química 122
4.3.2 Polpação mecânica 123
4.3.3 Polpação biológica 123
4.4 Avaliação das pastas 124
4.4.1 Avaliação das propriedades da pasta 124
4.4.1.1 Rendimento 124
4.4.1.2 Determinação do índice kappa 124
4.5 Fabricação do Papel 125
4.5.1 Propriedades do papel 126
4.6 Resultados e discussão 128
4.6.1 Densidade básica 128

4.6.2 Anatomia da fibra 128
4.6.3 Rendimento da pasta celulósica 129
4.6.4 Número kappa 131
4.6.5 Grau de refino - Shopper Rigler 133
4.6.6 Propriedades físico-mecânicas do papel 134
4.7 Conclusão 141
4.8 Referências Bibliográficas 142

LISTA DE ABREVIATURAS

$[(NH_4)_2SO_4]$: Sulfato de amônia

µg/g: microgramas por gramas

µL: microlitros

ABTS: 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazoline-6-ácido sulfônico)

ASTM: American Society for testing and materials

BDA: Batata Dextrose e Ágar

BOD: Demanda Bioquímica de Oxigênio

BRACELPA: Associação Brasileira de Celulos e Papel

C:N: Relação Carbono Nitrogênio

Ca: Cálcio

$Ca\ (OH)_2$: hidróxido de cálcio

$CaCO_3$: carbonato de cálcio

CH_3SCH_3: Dimetilfulfeto

CH_3SH: metilmercaptana

Co: Cobalto

CO_2: Gás carbônico

COPANT: Comissão Pan Americana de Normas técnicas

Cu: Cobre

Db: Densidade básica

EB: Eficiência Biológica

EE: Extrato Etéreo

ENPA: Engaço de Prata-anã

ENTM: Engaço de Thap-maeo

FAO: Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura

FDA: Fibra Detergente Ácido

FDN: Fibra Detergente Neutro

Fe: Fe

g: grama

g/cm^3: grama por centímetro cúbico

g/Kg: grama por quilograma

H_2O_2: peróxido de hidrogênio

H_2S: sulfeto

HCl: ácido clorídrico

HNO_3: ácido nítrico

IBAMA: Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

INPA: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

K: potássio

Kcal/g: quilocalorias por grama

KDa: quiloDalton

Kg: quilograma

Lac: Lacase

LiP: Lignina Peroxidase

M: massa

Mg: Manganésio

Mm: milimolar

Mn: manganês

Mn^{2+}: íon manganês 2

Mn^{3+}: íon manganês 3

MnP: Manganês Peroxidase

MS: massa seca

N: Nitrogênio

Na: sódio

Na_2S: Sulfeto de sódio

NaOH: Hidróxido de sódio

NATB: Nativo código B

$NH_4(OH)$: Hidróxido de amônio

Ni: níquel

NOX: óxido de nitrogênio

PB: proteína bruta

PEAD: polietileno de alta densidade

pH: potencial hidrogênico

PIB: produto interno bruto

PMO: perda de matéria orgânica

PSA: peso seco da amaostra

PSPA: pseudocaule de prata-anã

PSTM: pseudocaule de thap-maeo

PUA: peso úmido da amostra

SO_2: dióxido de enxofre

SOX: óxido de enxofre

U: umidade

$U.mL^{-1}$: Unidade de atividade enzimática por mililitro

V: volume

Zn: zinco

Resumo

O Brasil é um dos grandes produtores mundiais de celulose e o primeiro grande produtor de fibra curta branqueada de eucalipto, por outro lado chega a importar enorme quantidade de fibra longa, para elaboração de papéis com maior resistência, que representam grande parcela do consumo mundial. Apesar de todo o lucro que envolve a indústria papeleira, esta tem sido constantemente pressionada a utilizar técnicas menos danosas ao meio ambiente, em decorrência de preocupantes impactos causados à atmosfera pela consequente utilização de produtos químicos altamente perigosos. Nesse sentido, alternativas têm sido estudadas com vistas à amenização dos impactos causados pela indústria do papel e celulose, entre eles, a utilização de matérias-primas em abundância produzidas pelo setor agrícola, como palhas, sementes e resíduos da produção. Dentre estes, os resíduos da bananicultura são destacados pelo grande volume de resíduos gerados durante a sepração dos frutos, como o engaço e o pseudocaule, que são utilizados em grande parte como adubo nos bananais. Os processos biotecnológicos envolvendo matéria-prima agroindustrial tem sido intensificadas com o intuito de formar novos produtos, agregar valor ou melhorar o produto final. Neste sentido, bioprocessos envolvendo fungos basidiomicetos produtores de enzimas lignolíticas vêm sendo investigados como alternativa para produção de biopolpas ou aplicadas no processo de biobranqueamento da fibra, em decorrência de seu potencial enzimático biodegradador de lignina, de maneira a criar alternativas ao setor de celulose e papel. Nesta perspectiva a biodegradação realizada por esse grupo de fungo tem obtido crescente êxito e mostrado sua importância na amenização dos impactos ambientais ocasionados pela indústria do papel e celulose. Portanto, considerando a importância deste assunto no âmbito biotecnológico e ambiental, este trabalho tem por objetivo avaliar uso de *Pleurotus ostreatus* para o cultivo, biopolpação celulósica e produção de papel utilizando pseudocaule e engaço de bananeira, promovendo a bioconversão de resíduo em produtos de valor agregado, como o cogumelo, biopolpa e o papel. Desta forma o estudo foi dividido em 1 – Revisão da literatura; 2 – Cultivo de *Pleurotus ostreatus* em diferentes resíduos da bananicultura, incluindo as etapas: Análise físico-química, mineral, composição centesimal dos substratos elaborados a partir dos resíduos da bananicultura, substratos pós-cultivo e cogumelos cultivados nos diferentes substratos oriundos de tais resíduos, assim como eficiência biológica, rendimento e perda da matéria orgânica; 3 - Atividade enzimática e perfil lignocelulósico durante o cultivo de *Pleurotus ostreatus* em resíduos da bananicultura, abordando análises de extrativos, lignina e celulose dos substratos pré e pós-cultivo, 4 - Produção de polpa celulósica e papel a partir de resíduos da bananicultura.

Palavras-chave: *Pleurotus ostreatus*, Biodegradação, Enzimas oxidativas, Agroindústria.

Abstract

Brazil is one of the largest producers of pulp in the world and the first major producer of bleached eucalyptus hardwood, on the other hand, imports a large amount of long fiber to produce papers with greater resistance, which represent a large portion of world consumption. Despite all the profit involved in the paper industry, it has been constantly under pressure to use less environmentally harmful techniques as a result of worrying impacts on the atmosphere due to the use of highly hazardous chemicals. In this sense, alternatives have been studied with a view to mitigating the impacts caused by the pulp and paper industry, including the use of abundant raw materials produced by the agricultural sector, such as straw, seeds and production residues. Among these, banana residues are highlighted by the large volume of residues generated during the separation of fruits, such as stems and pseudostem, which are used largely as fertilizer in banana plants. Biotechnological processes involving agro-industrial raw materials have been intensified with the aim of forming new products, adding value or improving the final product. In this sense, bioprocesses involving lignolytic enzyme-producing basidiomycete fungi have been investigated as an alternative for biopulps production or applied in the fiber bleaching process, due to its lignin biodegrading enzymatic potential, in order to create alternatives to the pulp and paper sector. . From this perspective, the biodegradation performed by this group of fungus has been increasingly successful and has shown its importance in mitigating the environmental impacts caused by the pulp and paper industry. Therefore, considering the importance of this subject in the biotechnological and environmental scope, this paper aims to evaluate the use of Pleurotus ostreatus for cultivation, cellulosic biopolyping and paper production using banana pseudostem and stalk, promoting waste bioconversion in value-added products. , such as mushroom, biopoly and paper. Thus, the study was divided into 1 - Literature review; 2 - Cultivation of Pleurotus ostreatus in different banana residues, including the following steps: Physicochemical, mineral analysis, centesimal composition of substrates made from banana residues, post-cultivation substrates and mushrooms grown on different substrates from such residues, as well as biological efficiency, yield and loss of organic matter; 3 - Enzymatic activity and lignocellulosic profile during the cultivation of Pleurotus ostreatus in banana residues, addressing analysis of extractives, lignin and cellulose of pre and post cultivation substrates, 4 - Production of pulp and paper from banana residues.

Key words: *Pleurotus ostreatus*, Biodegradation, Oxidative enzymes, Agroindustry.

1 Introdução

O Brasil é o quarto maior produtor mundial de celulose com uma produção de 13,5 milhões de toneladas de celulose em 2009, sendo o primeiro no ranking mundial de produção de fibra curta branqueada de eucalipto. Por outro lado, o Brasil chega a importar 323.000 ton/ano de celulose de fibra longa. Vale ressaltar que os papéis produzidos a partir de fibras longas representam pouco mais de 50% do consumo mundial de papel (BRACELPA, 2010), que são utilizados principalmente para produção de papéis de elevada resistência, destinados a embalagens. Na produção de papéis para impressão e escrita, normalmente, são utilizadas fibras curtas, derivadas de angiospermas, principalmente das espécies do gênero *Eucalyptus*. Entretanto, muitas espécies vegetais, arbóreas ou não, têm sido pesquisadas para a produção de pastas celulósicas (PEIXOTO SILVA e OLIVEIRA, 2000).

Em função da crescente preocupação e conscientização ambiental, as atenções têm se voltado para o aspecto ambiental causado pela indústria de papel e celulose (MORAIS et al. 2017). Essa indústria tem sofrido uma grande pressão no sentido do desenvolvimento de novas tecnologias ambientalmente aceitas e de contenção de energia. Dentre as alternativas, apresenta-se o emprego de resíduos lignocelulósicos na geração de energia, devido a sua grande disponibilidade na natureza em decorrência da imensa produção agrícola brasileira. Atualmente, os maiores usos da lignocelulose concentram-se nas polpas e indústrias de papéis (BALLESTEROS, 2001).

A utilização de resíduos agroindustriais, como os pseudocaules da bananeira, bagaço de cana-de-açúcar, palha de arroz e bambu tem sido citados como potenciais matérias-primas para produção de polpa celulósica e papel (ROJAS, 1996; KHRISTOVA et al., 2005). O destaque está na qualidade das fibras, no valor agregado dos produtos, no menor tempo de cultivo em relação às madeiras de folhosas e coníferas, ser facilmente renovável e no impacto ambiental, devido ao aproveitamento de resíduos (D' ALMEIDA, 1988).

Neste contexto, os resíduos gerados a partir da bananicultura, como o pseudocaule e o engaço apresentam alto potencial fibroso, porém são normalmente utilizados como adubação nos bananais. Por outro lado, esses resíduos por se tratarem de potenciais fornecedores de fibras longas, com o comprimento médio em torno de 4 mm e largura de 40 μm, o pseudocaule e o engaço de bananeira são matérias-primas fibrosas que permitem a produção de papéis com elevada resistência ao rasgo (ROJAS, 1996). CHERTMAN

(2007) menciona que, além da sua queima direta para a geração de energia térmica, o pseudocaule de bananeira pode ser usado na produção de vários tipos de artesanatos e pode ser viável para a produção de pasta celulósica e papel.

Desse modo, a utilização de resíduos agroindustriais permite não só a obtenção de novos produtos de boa qualidade, como pode influenciar positivamente a redução do gasto de energia e a preservação ambiental (RASHWAN et al.,1992).

Décadas de investigação na biodegradação de polímeros lignocelulósicos, no avanço das ciências biológicas e nos estudos dos mecanismos das reações enzimáticas, têm conduzido ao sucesso da aplicação da biotecnologia no processamento das fibras de papel (TAVARES, 2006).

Dentro deste contexto, os fungos desempenham importante papel no processo de bioconversão, pois podem reduzir a quantidade de resíduos, minimizar a poluição, formar produtos de interesse às indústrias de alimentos, papel, fármacos, entre outros (ISRAEL, 2005; SALES-CAMPOS, 2008). Uma alternativa recentemente estudada tem sido a produção de biopolpas, onde microrganismos podem ser aplicados nos processos de biobranqueamento e biopolpação (WILLE, 2007). O aprofundamento do estudo da ação de fungos decompositores de madeira (podridão branca) despontou ideias de aplicar esse processo natural de biodegradação à solução ou minimização de problemas tecnológicos (PAVAN, 2008). Nesta perspectiva a biodegradação da madeira por fungos selecionados e sob condições controladas, conhecido como biopolpação (SCOTT et al., 1998; AKHTAR et al., 1997) tem obtido crescente êxito e mostrado sua importância na amenização dos impactos ambientais ocasionados pela indústria do papel e celulose. Neste sentido enfatiza-se o pré-tratamento biológico.

O fundamento do pré-tratamento biológico está baseado no fato de que fungos que degradam lignina seletivamente, isto é, removem lignina preservando a celulose, podem ser aplicados nos materiais lignocelulósicos e depois de certo tempo dar origem a um resíduo rico em celulose e com baixo teor de lignina (FERRAZ, 2001), permitindo maior facilidade de desfibramento mecânico, ou de penetração dos licores de polpação. Além dessas vantagens, outro benefício associado à biopolpação, é a qualidade da fibra obtida, com propriedades mecânicas superiores, fibras maiores e maior nível de fibrilação atribuídas ao amolecimento do cavaco ocasionado pela redução da massa molar da lignina (GUERRA; MENDONÇA; FERRAZ, 2002)

Dentre as espécies de fungos, atualmente estudadas para tratar a madeira, destacam-se alguns basidiomicetos, classificados como fungos de decomposição branca

(BLANCHETTE, 1992). Esses fungos produzem não só todas as classes de enzimas necessárias para a degradação da lignina, mas também agem como um sistema transportador dessas enzimas, conduzindo-as em profundidade nos cavacos de madeira, e ainda, criando as condições fisiológicas necessárias para as reações enzimáticas (MESSNER e SREBOTNIK, 1994).

Portanto, considerando a importância deste assunto no âmbito biotecnológico e ambiental, este trabalho tem por objetivo avaliar uso de *Pleurotus ostreatus* para o cultivo, biopolpação celulósica e produção de papel utilizando pseudocaule e engaço de bananeira, promovendo a bioconversão de resíduo em produtos de valor agregado, como o cogumelo, biopolpa e o papel. Desta forma o estudo foi dividido em 1 – Revisão da literatura; 2 – Cultivo de *Pleurotus ostreatus* em diferentes resíduos da bananicultura, incluindo as etapas: Análise físico-química, mineral, composição centesimal dos substratos elaborados a partir dos resíduos da bananicultura, substratos pós-cultivo e cogumelos cultivados nos diferentes substratos oriundos de tais resíduos, assim como eficiência biológica, rendimento e perda da matéria orgânica; 3 - Atividade enzimática e perfil lignocelulósico durante o cultivo de *Pleurotus ostreatus* em resíduos da bananicultura, abordando análises de extrativos, lignina e celulose dos substratos pré e pós-cultivo, 4 - Produção de polpa celulósica e papel a partir de resíduos da bananicultura.

CAPÍTULO 1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Resíduos agroindustriais

O constante crescimento populacional adicionado à demanda de alimentos e bens de consumo tem gerado muita preocupação a respeito da destinação dos resíduos agroindustriais produzidos no mundo. No Brasil anualmente é produzido milhões de toneladas desses resíduos, boa parte oriundos de grandes empresas, onde se destacam as madeireiras, usinas de álcool, empresas de produtos agrícolas como café, açúcar, banana e entre outras (OLIVEIRA, 2014; SAFARI SINEGANI et al. 2005).

Safari Sinegani et al. (2005) enfatizam que entre os resíduos agroindustriais mais abundantes no mundo estão os resíduos contendo materiais ligninocelulósicos. E o Brasil, por ser um país com base econômica na produção agrícola, produz em média mais de 150 milhões de toneladas de grãos por ano e com isso, cerca de $1x10^{10}$ toneladas de resíduos de composição ligninocelulósica (GRAMINHA et al., 2005).

O setor agroindustrial no Brasil tem expandido muito sua produtividade para atender a elevada demanda populacional por alimentos. Nesse sentido, consequentemente aumentam-se as produções de resíduos, quer seja em estado sólido ou efluentes líquidos ou até mesmo presente nas emissões atmosféricas. Como exemplo, pode-se citar: lodos das estações de tratamento de efluentes, resíduos de abatedouros, carvão remanescente de caldeiras, resíduos da limpeza de grãos em estações de beneficiamento, resíduo da desfibrilação de algodão, bagaços, resíduos, embalagens de fertilizantes, etc. (OLIVEIRA, 2014).

Tais resíduos têm suas peculiaridades e suas características (físicas, químicas e biológicas) dependem de diversos condicionantes presentes ao meio, tais como: a origem da produção (que pode ser, industrial, comercial, agrícola, domiciliar, etc..), a natureza física (molhado ou seco), composição química (inorgânico e orgânico), a potencialidade de riscos ao meio ambiente e os potenciais riscos à saúde humana (D'ALMEIDA e VILHENA, 2010).

Segundo Oliveira (2014) e Benites (2006), entre os principais resíduos agroindustriais mais gerados no Brasil, destacam-se: os resíduos da indústria sucroalcooleira (borra de branqueamento, bagaço da cana-de-açúcar, cinzas de caldeira, torta de filtro do açúcar), resíduos da produção animal (estercos, restos de carcaças, sólidos procedentes da limpeza das baias), resíduos industriais de processamento de

hortaliças e frutas (cascas, bagaços variados, produtos alimentícios vencidos ou fora do padrão), restolhos da produção do carvão vegetal (poeira de carvão, ácido pirolenhoso e alcatrão) e as palhadas provenientes da produção de sementes de gramíneas.

A carência de disponibilidade de área para acondicionamento de resíduos, o pouco investimento em tecnologias, o crescimento demográfico e o amplo potencial poluidor desses resíduos, juntos, têm tornado os resíduos agroindustriais um problema cada vez mais grave (BRUNI, 2005). Contudo, apesar de apresentar fatores negativos ao meio ambiente, não devem ser considerados simplesmente como lixo, sem valor econômico. Pois, quando são manejados de forma adequada, possuem valor econômico agregado (SILVA, 2009).

Nesse contexto surgem inquietações de segmentos no mercado agrícola em medidas preventivas de redução desses resíduos agroindustriais visando à redução e controle através de alternativas ambientalmente corretas. Estas alternativas vêm sendo demonstradas através das destinações dos resíduos agroindustriais no uso de alimentação animal, adubação ou mesmo no abastecimento de caldeiras para a produção de energia. Processos que além de serem rentáveis, previnem problemas ambientais e evitam futuras despesas para controle da poluição causada pelos resíduos.

1.1.1 Resíduos da Bananicultura

O Brasil também se destaca na produção de frutas, ganhando espaço em todos os estados brasileiros (FAO, 2015). Entre eles, alguns se sobressaem em volume ofertado por ano. Um exemplo é o Estado de São Paulo, o maior produtor nacional. Os fruticultores paulistas colheram 15,69 milhões de toneladas de frutas em 2015, conforme a pesquisa Produção agrícola Municipal (PAM), do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2016). A oferta total soma os volumes das 20 frutas mais produzidas no País. Entre elas está a banana com 998 mil toneladas produzidas só neste estado, atrás apenas do Estado de Bahia com fornecimento em média de 1,1 milhão de tonelada de banana (FAO, 2015). O Estado do Amazonas, segundo indica o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a produção de banana foi de 54.610 toneladas em 2014 e passou a 92.557 toneladas em 2015 (AMAZÔNIA, 2016).

Com seu aroma e sabor inigualáveis, a banana é uma fonte importante de nutrientes tais como: minerais (Ca, K e Fe) e vitaminas (A, B e C), além de conter baixos

teores de gordura (0,37 a 0,48 g/100g) e calorias (90 a 120 kcal/100g); a banana vem se tornando a fruta predileta dos brasileiros. A facilidade de acesso é um dos fatores que contribui para o elevado índice do consumo, uma vez que em todos os recantos do País ela é encontrada. A aceitação da banana pode ser constatada nos números, onde mostram que em torno de 99% da produção nacional abasteceu o mercado interno em 2015. A expansão da produção dos bananais atingiu 6.962.134 toneladas, em área de 474.054 hectares. Englobando nesta atividade mais de 800 mil unidades produtoras (IBGE, 2016).

Olhando por este viés, a banana torna-se uma das frutas mais consumidas mundialmente, e no Brasil sua administração deve ser levada em consideração, pois o desperdício alimentar não é um problema único do consumidor. Consiste desde o início da cadeia produtiva e persiste durante todas as etapas de produção até chegar ao destino final. É uma situação ampla que afeta, não somente os índices de desenvolvimento econômico dos países, mas também causa impacto na sociedade e no meio ambiente (GONDIM et al., 2005).

Segundo Gondim et al., (2005); a cada 01 tonelada de banana colhida, 04 toneladas de resíduos são geradas aproximadamente, isso somando da bananeira as cascas, os engaços, as folhas, os pseudocaules e os frutos rejeitados como ilustra Soffner (2001) na Figura 1. Tais resíduos têm em sua composição uma taxa aproximada de 90% de sólidos voláteis e aproximadamente 10% de sólidos totais. Isso representado em sua fração orgânica por açúcares, hemicelulose, celulose e lignina.

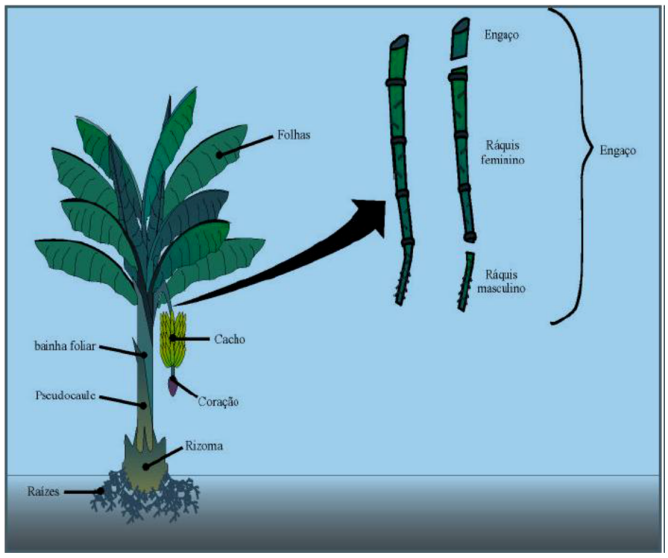

Figura 1: Partes da bananeira **Fonte**: SOFFNER (2001)

O conceito usado ao resíduo da bananicultura é procedente da agregação aleatória de elementos separado da bananeira que, quando acumulados em um local,

transformam-se em um volume sem valor comercial e com potencial de agressão ambiental diversificado segundo a sua composição (GONÇALVES FILHO, 2011).

O real problema da produção da banana não se encontra somente nas perdas de produção, mas principalmente nos resíduos gerados por ela. A reutilização de suas folhas e de seus pseudocaules normalmente são aproveitados em sua área de plantação, voltando ao solo como cobertura morta, impedindo a erosão, além de controlar as plantas daninhas e nutrir a planta como adubação. Esse processo torna-se proveitoso e coopera para minimizar despesas, contudo o engaço não tem sido aproveitado, sendo descartado no processo de separação das pencas na casa de embalagem e disposto sobre o solo, geralmente em área urbana, ou descartado no lixo doméstico. Esta forma de disposição contribui para a geração de sérios problemas ambientais e fitossanitários, e implica em custos com transportes (GONDIM et al., 2005; SOFFNER, 2001).

Na Figura 02 ilustra o fluxograma do processo de separação da banana de seus adjuntos.

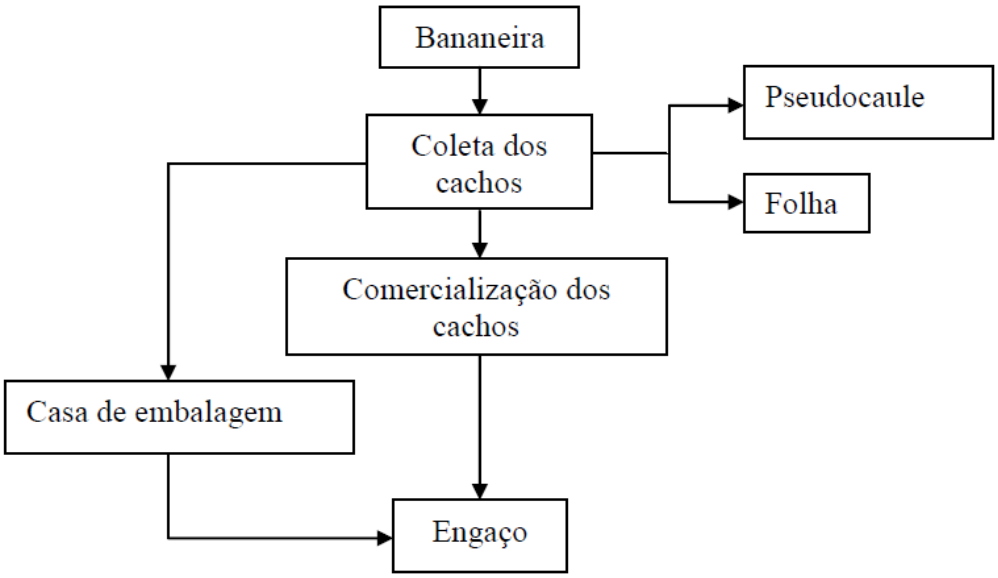

Figura 2: Fluxograma da geração de resíduos da bananicultura (adaptado de SOFFNER, 2001).

1.1.2 Utilização de Resíduos de Bananeira na Biotecnologia

Gonçalves Filho (2011) e Soffner (2001) destacam que o Brasil possui grande potencial para a reutilização de resíduos de bananeira *Musa* sp. O reaproveitamento do pseudocaule, do engaço e da folha, há muito tempo, é transformado em artesanatos e a fibra e a palha, para a produção de cordas, tapetes, chapéus, cestos, tecidos e papeis especiais.

Com a biotecnologia, Costa et al. (2013) ressaltam o uso da casca da banana como bioadsorvente em leito diferencial na adsorção de compostos orgânicos. Assim também, resíduos de bananeira como substrato base para o cultivo *in vitro* de *Coprinus comatus* (ALMEIDA e SALES-CAMPOS et al., 2013).

Para grandes indústrias, as distinções de resíduos da bananicultura (folha, engaço, pseudocaule, cascas e coração) abre espaço para adesão de novas alternativas do descarte destes resíduos. Com a tecnologia, a destinações propõem uma alternativa para o aproveitamento e agregação de valor aos resíduos, consolidado num sistema agro-econômico sustentável e de seu potencial como matérias-primas para diversificados fins, tais como: produção de biomassa para geração de energia; o reaproveitamento desses resíduos na produção de biogás; na alimentação animal; adubação, substrato de cultivo para cogumelos, substrato para produção de enzimas, biopolpação e entre outros.

Carvalho e Sales-Campos et al., (2012), enfatizam que na região norte do Brasil, o Estado do Amazonas produz grande quantidade de resíduos lignocelulósicos durante o cultivo e o processamento da banana, gerando grande quantidade de pseudocaules e engaços. O reaproveitamento destes resíduos como substrato no cultivo de *Pleurotus* contribui para o desenvolvimento de processos sustentáveis, permitindo agregar valor aos resíduos, além de removerem do ambiente material potencialmente poluente. A utilização desses resíduos ainda diminui os custos de produção de enzimas, considerado um dos principais obstáculos para sua produção em escala industrial.

Silva (2009) destaca a possibilidade de aproveitamento do engaço da banana na produção de polpa celulósica como uma alternativa atraente para as regiões produtoras de banana, por estar se tratando de um material com potencial fibroso, podendo ser classificado como matéria prima (não madeireira) para a produção de polpa celulósica de fibra longa, agrupado como resíduo agrícola, proveniente de planta anual, da classe das monocotiledôneas. O uso desse engaço como matéria prima para a produção de polpa celulósica possibilita agregar valor a um resíduo, transformando-o em subproduto, o que contribui na rentabilidade e minimização de impactos ambientais negativos (SOFFNER, 2001).

Os resíduos da Bananicultura como pseudocaule e engaços têm sido explorados e estudados para comercialização da produção celulósica na produção de papel. Isso por apresentarem, em sua composição, fibras apropriadas para produzir papéis de resistência. Normalmente as matérias-primas não madeireiras (anuais) possuem baixo teor de lignina, quando comparados às madeiras, o que proporciona facilidade nos processos de polpação e branqueamento feito em indústrias papeleiras. Nesse sentido, estudos e pesquisas utilizam a biotecnologia para propor definições aplicáveis através da valorização desses resíduos, agregando valores e relevância para o estabelecimento de uma agricultura sustentável e reutilizações de resíduos da bananicultura (ARAÚJO, 2009; SOFFNER, 2001).

1.2 Indústria papeleira - Panorama

A indústria brasileira de papel e celulose tem sua produção 100% baseada em florestas artificialmente plantadas de Eucalipto (BRACELPA, 2015). Isso significa que o Brasil não utiliza nenhuma árvore nativa para a produção de papel e celulose, esse dado gera controvérsias no quesito sustentabilidade e consumo consciente, devido aos chamados “desertos verdes”, expressão utilizada para designar a monocultura de árvores em grandes extensões de terra para a produção de celulose, devido aos efeitos que essa monocultura causa ao meio ambiente (MEIRELLES; CALAZANS, 2006).

Segundo dados da Indústria Brasileira de Árvores (IBÁ, 2015), “o Brasil é o quarto maior produtor mundial de celulose e o nono maior produtor de papel”. Isso lhe dá a liderança do mercado de florestas plantadas na América Latina, como produtor e como exportador.

Segundo recente Relatório Global de Competitividade (WORLD ECONOMIC FORUM, 2015), o Brasil perdeu 18 posições e hoje ocupa a 75ª posição no ranking global de competitividade. As principais causas estão relacionadas à crise política, aos altos impostos e às taxas de juros. Essas três variáveis pesam muito para qualquer indústria no momento de calcular e formular seu preço final, visando conquistar novos mercados.

Ainda assim o Brasil se mantém entre os maiores exportadores de papel e celulose do mundo, exportando para todos os continentes. Com relação à exportação de papel, a América Latina é um mercado comprador e que pode ser ampliado, nota-se que para as exportações de papel os destinos estão mais distribuídos, enquanto que para a celulose os mercados africano e latino ainda demonstram ser bons mercados de prospecção. Já para

a exportação de papel a América Latina é um bom mercado que pode ser ampliado, conforme mostra a Figura 03 a seguir (BRACELPA, 2014)

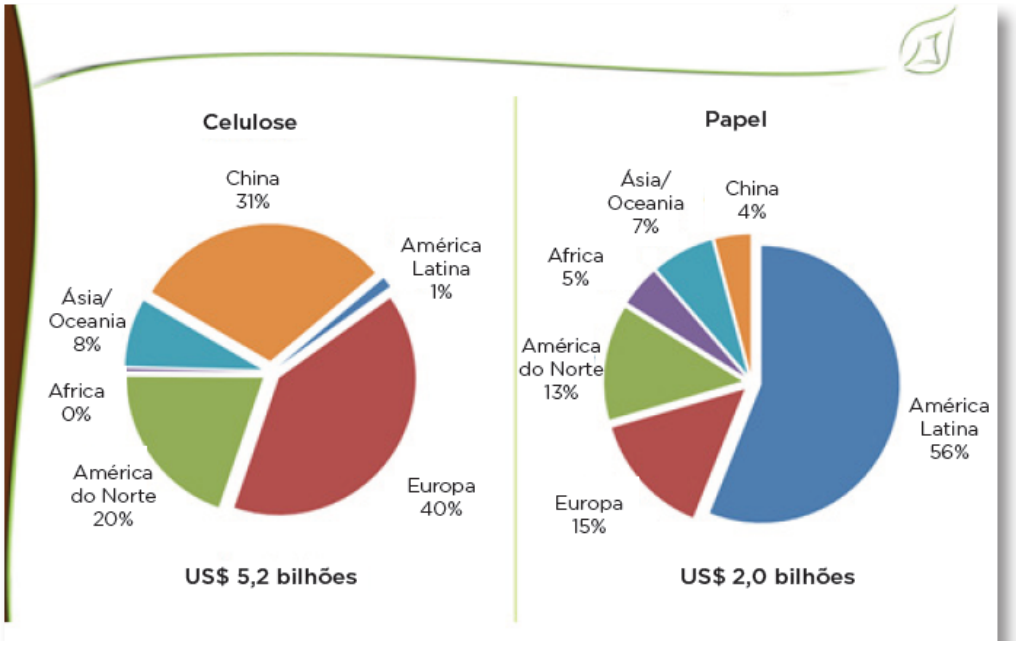

Figura 03: Destino das exportações brasileiras em 2013
Fonte: Bracelpa (2014).

As principais entidades mundiais voltadas aos estudos do mercado de papel sugerem que em países emergentes ainda existem oportunidades de crescimento. Isso se deve principalmente ao fato de esses países ainda atravessarem fases de aumento da população urbana, aumento do poder de compra da população e desenvolvimento industrial (SCHNEIDER et al., 2016).

Apesar dos desafios que a indústria de papel tem à frente, como a substituição dos papéis gráficos pelos meios digitais, a demanda mundial deve crescer 1,7% nos próximos anos, atingindo 496 milhões de toneladas em 2025. Esse aumento deve se concentrar nos países emergentes e, particularmente, na China, e se deve à ampliação da qualidade de vida e do poder aquisitivo da população, que estão impulsionando o crescimento da demanda por embalagens, papéis sanitários (*tissue*) e cartões. Em contrapartida, em países desenvolvidos se prevê um decréscimo do consumo, motivado pela diminuição na demanda do papel de imprensa e dos papéis dos papéis com outras finalidades (POYRY, 2015, p. 1).

A produção de papéis no Brasil em 2014 totalizou 10,39 milhões de toneladas. Desse volume, os papéis para embalagens corrugadas são os principais tipos produzidos no Brasil, representando 52% do total. A seguir, aparecem os papéis para imprimir/escrever, com cerca de 29% do total. Os papéis para embalagem e para imprimir/escrever são os grupos de produtos mais relevantes para a indústria brasileira de papel. Os papéis para embalagens corrugadas no Brasil têm tido crescimento constante e ligeiramente superior ao crescimento do PIB neste período. Papéis para embalagem e fins sanitários apresentam as maiores expectativas de crescimento para o período de 2014 a 2020. A Pöyry (2015) estima taxa de crescimento de cerca de 4% a.a. para os papéis de fins sanitários e 3% a.a. para papéis para embalagens até 2020. O consumo *per capita* de papel no Brasil ainda é bastante inferior ao dos países europeus, Estados Unidos, Canadá, Japão e Coreia. Há, portanto, um espaço para crescimento significativo nos próximos anos.

Para que a celulose seja obtida da madeira, torna-se necessário, ainda, o uso, na indústria, de máquinas, produtos químicos (como soda líquida ou licor branco, licor preto, alvejantes, oxigênio e dióxido de cloro), água e energia. Com da celulose, são produzidos papéis diversos (impressão, cadernos, revistas), absorvente íntimo, papel higiênico, guardanapo, fralda descartável, viscose, tencel (roupas), papel celofane, filamento (pneu), acetato (filmes), ésteres (tintas), cápsulas para medicamentos, espessantes para alimentos e componentes eletrônicos (SOARES, 2010).

1.2.1 Produção de celulose/Papel

A indústria brasileira de celulose apresenta dinâmica bastante diferenciada em relação à indústria de papel. A indústria de celulose está mais voltada para exportação, enquanto a indústria papeleira tem foco principal no mercado interno (FILHO, 2002).

Durante 2014 o setor exportou cerca de US$ 7,3 bilhões, sendo US$ 5,3 bilhões correspondentes à exportação de celulose e US$ 2,0 bilhões à exportação de papel, originando um saldo positivo exportador de US$ 5,5 bilhões, segundo a Secex/MDIC. Praticamente toda a produção de celulose exportada é de celulose kraft de eucalipto. Com relação à celulose de fibra longa não branqueada, os maiores produtores são a Klabin e a Rigesa (MeadWestvaco) (BRACELPA, 2015).

A produção de celulose aponta para uma produção razoavelmente concentrada, sendo os cinco maiores produtores responsáveis por cerca de 76%. Essa concentração origina-se do fato de a grande maioria da produção ser realizada por grandes e modernas unidades destinadas à exportação. A importação de celulose é pequena, ocorrendo principalmente para os tipos em que o Brasil tem baixa competitividade, tais como celulose fluff (SPEROTTO, 2014).

Devido à competitividade de custo da celulose de eucalipto produzida no Brasil, existe um esforço tecnológico no sentido de substituir as celuloses importadas pela produção nacional, inclusive no mercado de caixas de papelão ondulado.

Cabe notar que a indústria global de celulose e papel nos últimos anos tem presenciado um movimento sem precedentes no sentido de diversificar sua produção. Assim, vemos um impulso novo no desenvolvimento de produtos, englobando não somente a área de cartões e papéis, mas focando igualmente fora dos limites do núcleo fabril, como biocombustíveis a partir da biomassa florestal e derivados da celulose, da lignina, das hemiceluloses, etc. (BRACELPA, 2015).

O Brasil revela-se um líder na fronteira da biotecnologia, especialmente nas áreas silvicultural e de engenharia genética, bem como no desenvolvimento de técnicas de clonagem seletiva. Hoje, os avanços adentram a área da transgenia, com a utilização de metodologia e equipamento de ponta. Grandes grupos dispõem de instalações de pesquisas avançadas. Esse esforço de pesquisa começa a ser orientado para a busca de novos produtos originados ao longo de toda a cadeia produtiva inclusive no processo de polpação celulósica para fabricação de papéis em alternativas ambientalmente corretas. (MEIRELLES; CALAZANS, 2006).

1.2.2 Polpação: Tipos de processos de polpação

Polpação é o nome dado ao processo onde a madeira é trabalhada e reduzida a uma massa fibrosa, apresentando em sua densidade a ruptura das ligações presentes na estrutura da madeira com a separação das fibras. Neste processo envolve a convertimento da madeira a um material desfibrado denominado “polpa” (FERRAZ et al., 2008).

Para a utilização do desfibramento da madeira, são adotados procedimentos através da técnica de polpação mecânica, de polpação quimiotermomecânica e de polpação química.

A polpação mecânica por refinamento (exclusivamente mecânico) compreende uma série de processos adaptados para essa finalidade. Este processo é muito utilizado em indústrias a mais de 150 anos, porém, está se estagnando pelo elevado consumo de energia através do uso de rebolos ou refinadores e às adaptações de novas plantas industriais e substituições por outros métodos mais sofisticados (KLOCK, 2013).

A polpação quimiotermomecânico é o processo onde são utilizados produtos químicos para o "amolecimento" da madeira e facilitação no desfibramento mecânico. Neste processo a madeira fica exposta a produtos químicos e/ou vapor que posteriormente é levada ao tratamento mecânico para o desfibramento. E por outro extremo, existe o processo de polpação química (exclusivamente químico) planejado para extrair a totalidade da lignina e resultando na liberação das fibras celulósicas. Neste caso, são apresentados uma gama de processos que podem ser utilizados no desfibramento da madeira, entre os mais destacados e de maior importância industrial são: a polpação soda, a polpação sulfito e a polpação kraft. (FERRAZ et al., 2008; KLOCK, 2013).

A Polpação Soda (NaOH): A soda cáustica ou hidróxido de sódio é um produto muito usado para a deslignificação de matérias-primas vegetais, inclusive em madeiras, assim também como palhas de cereais e plantas fibrosas em geral. Araújo (2009) enfatiza que este processo além de ser considerado um dos processos mais antigos, vem sendo muito utilizado em inúmeras indústrias de celulose e papel, principalmente naquelas que não dispõe de sistema de recuperação de licor do cozimento. Contudo, este processo está cedendo espaço para novas tendências sofisticadas e aprimoramento de produtos químicos.

A Polpação Sulfito (SO_2 e Bases: Mg(OH), Ca(OH)2, NH4 (OH): Baseia-se num processo simples e muito utilizado para a produção de polpas de alto rendimento, num sistema que envolve uma única etapa de inserção de reagentes inorgânicos, somados ao aquecimento com vapor e posteriormente o desfibramento em máquinas refinadoras de disco. Vale ressaltar que, as condições de processo só com sulfitos, apresenta resultados relevantes, onde os rendimentos são consideráveis e a polpa produzida mostra aspectos de resistência e útil para a fabricação de uma série de papeis absolventes. Contudo é desvantajoso no sentido da recuperação dos reagentes utilizados no processo (MENDES et al. 2011).

A Polpação kraft (Sulfato) (NaOH e Na_2S) vem sendo o processo alcalino mais importante na polpação utilizados nas indústrias. Nele é adicionado Na_2 S (Sulfeto de Sódio) como outro agente deslignificante, trazendo resultados oportunos, tornando-o

rentável e lucrativo, pois serve para todas as espécies específicas de madeira, tanto moles quanto duras (incluindo madeiras com alto teor de extrativos) e tolera a presença de impurezas como, por exemplo, cascas. Entre outras vantagens apresenta o tempo curto de cozimento, além do sistema de recuperação de produtos químicos associados a ele após finalização (MENDES et al. 2011). Entretanto, assim como outras polpações químicas acima citadas, trazem consigo muitas desvantagens, entre elas, são a produção de mercaptanas (odor) de gases produzidos no processo, a baixa alvura da polpa não branqueada, o alto custo de branqueamento e despesas para instalação de uma nova planta além dos impactos ambientais ocasionados pelo processo.

1.2.3 Impactos ao meio ambiente

Baseando-se na Lei ambiental, destaca o art. 9º, inciso IV, da Lei nº. 6.938/81 que estabelece sobre os instrumentos da Política Nacional de Meio Ambiente, na liberação e da revisão de atividades "efetiva" ou potencialmente “poluidoras”, destacando o artigo 10 que prevê da construção, instalação, ampliação e funcionamento de estabelecimentos e atividades que utilizam de recursos ambientais considerados "efetivos" e "potencialmente poluidores", capazes de causar "degradação ambiental", dependerão de prévio licenciamento do órgão estadual competente, integrante do Sistema Nacional de Meio Ambiente – SISNAMA. Contudo, a Indústria papeleira ainda está se adequando às novas tendências de curto e longo prazo de beneficiamento no processo de produção em detrimento aos impactos ambientais gerados pelos detritos.

No processo produtivo da indústria papeleira, divide-se basicamente em três etapas: Consumo de recursos, processamento e geração de produtos e subprodutos. Em cada uma dessas etapas trazem consigo grandes implicações ao meio ambiente. Essas indústrias geram junto com os seus produtos, ainda que não intencional, danos ambientais, que podem ser poluição da água, do solo ou do ar, podendo acarretar multa e penalidade à empresa causadora (KOKZTRZEPA, 2004).

De acordo com Jerônimo et al., (2000), o odor é o principal problema ambiental de fábricas de celulose, e o processo kraft apresenta como característica emissões aéreas poluentes que incluem tantos gases malcheirosos, como também material particulado. As principais contribuições para o típico odor das fábricas são os gases de enxofre reduzidos (TRS), sendo constituídos por sulfeto de hidrogênio (H_2S), metilmercaptana (CH_3SH),

dimetilsulfeto (CH_3SCH_3) e dimetildissulfeto (CH_3SSCH_3), além dos óxidos de enxofre (SOX) e de nitrogênio (NOX). Os particulados são constituídos na maior parte por sulfato e carbonato de sódio e/ou de cálcio.

No que diz respeito ao fator econômico, tem-se buscado aperfeiçoar o processo de polpação quanto à carga de reagentes utilizada e o tempo gasto na etapa de deslignificação da madeira pelo licor. Quanto às pressões ambientais, é conhecida a forte carga de poluentes que são gerados pelas indústrias de polpa. Ao longo do tempo, tornou-se prática obrigatória a redução desta carga de poluentes, porém, sem perda na qualidade da polpa produzida (SANTOS et al., 2016).

1.3 Biopolpação

A biopolpação é um procedimento técnico de grande benefício e lucratividade para polpação mecânica e/ou química. Vem a ser uma alternativa relevante para a redução de impactos ambientais com utilização microrganismos na etapa que antecedem a polpação. Esta tecnologia incide como pré-tratamento biológico que precede a produção de polpa celulósica com a utilização de fungos degradadores de madeira. Este processo tem se tornado uma via de vantagem para o pré-tratamento da madeira, no que tange aos benefícios apresentáveis no cultivo de polpa mais conservada e resistente, e na economia de energia ou de produtos químicos (FERRAZ et al., 2008).

Nesta habilidade pode-se notar, mesmo com períodos curtos de biodegradação (15 a 30 dias), a madeira biotratada já proporciona um amolecimento peculiar que concede o desfibramento mecânico sem muita dificuldade, ou no caso da polpação química, maior facilidade de penetração dos reagentes, bem como maior susceptibilidade da lignina parcialmente degradada à solubilização pelos licores de polpação (ARAÚJO, 2009).

O processo de biopolpação pode ser realizado em biorreatores de diferentes tipos, inclusive em pilhas de cavacos a céu aberto e dependendo das necessidades do microrganismo específico para a obtenção dos resultados estabelecidos durante a etapa do biotratamento. Vale ressaltar que é indicado manter um elevado teor de umidade aproximadamente no ponto de saturação das fibras nos cavacos de madeira a fim de assegurar ótima formação de colônias e penetração de hifas Fúngicas (FERRAZ et al., 2008).

Segundo Guerra, et al. (2002) e Ferraz (2004), outro tópico relevante refere-se a compreensão dos mecanismos de biopolpação uma vez que poderiam ser selecionadas espécies fúngicas mais resistentes e competitivas com base em projeto direcionado para a função depuração. A degradação e/ou modificarão seletivas de lignina nativa na madeira por fungos de decomposição branca pode facilitar a sua remoção ou amolecimento no processo de polpação subsequente. Contudo, o grau de remoção de lignina durante o pré-tratamento fúngico não está relacionado com a economia de energia na polpação biomecânica e nem com o aumento das velocidades de deslignificação observado na polpação *organosolv* e no processo kraft.

1.3.1 Fungos Basidiomicetos

Os fungos basidiomicetos mais conhecidos formam estruturas de reprodução macroscópicas e são conhecidos popularmente por cogumelos e orelhas de pau, (GIMENES, 2010).

A reprodução dos fungos da classe dos basidiomicetos se dá através de esporos (basidióporos) de forma sexuada ou pela reprodução assexuada com a frutificação de qualquer fragmento do corpo do micélio. O micélio consiste em hifas septadas, bem desenvolvidas, microscópicas, que podem ser facilmente observadas quando formam a massa micelial. A maioria dos basidiomicetos passa por três estágios miceliais, formando micélio primário, secundário e terciário. Na Figura 04 pode-se observar o ciclo de vida de um basidiomiceto. (RAVEN et al., 2001).

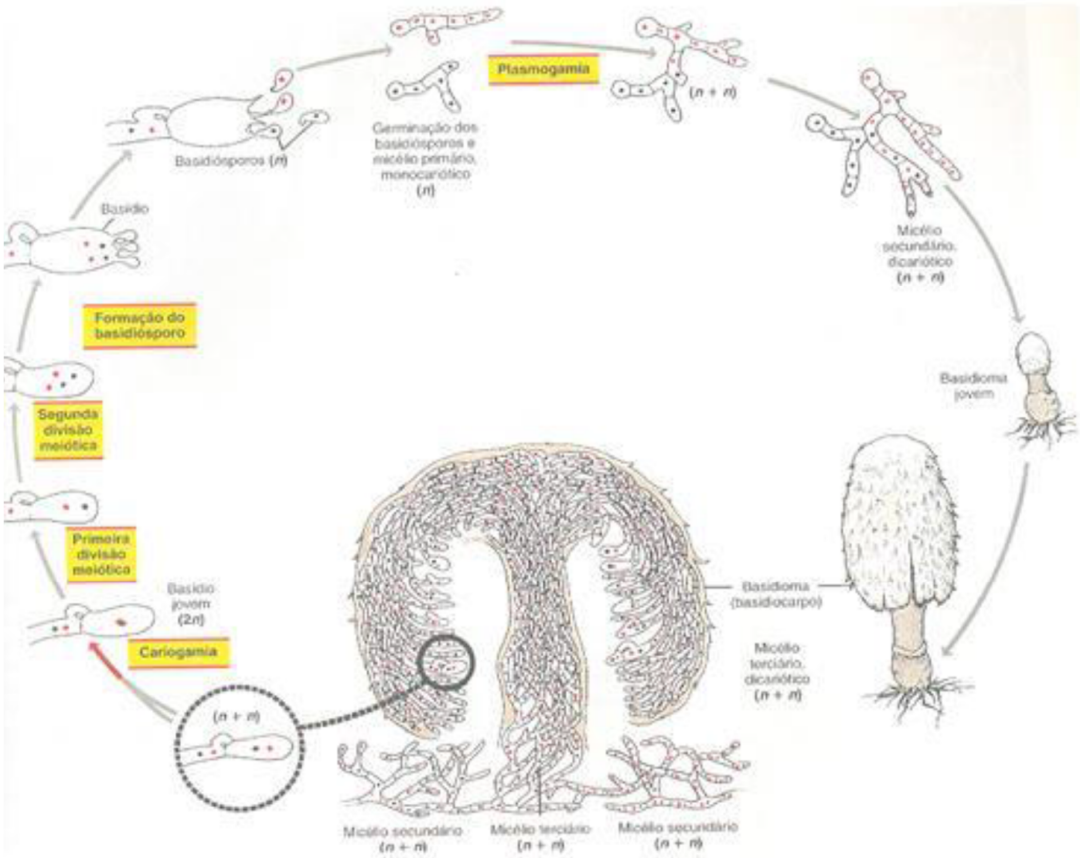

Figura 04 - Ciclo de vida de um basidiomiceto.

Fonte: RAVEN et al. (2001).

Basidiomicetos brotam basidiósporos que, ao entrar em contato com o substrato adequado, germinam sob determinadas condições climáticas, formando uma hifa e, posteriormente, dando origem ao micélio monocariótico (haplóide), denominado micélio primário. Este, por sua vez, forma o micélio dicariótico, possuindo dois núcleos haploides, dando origem ao micélio heterocariótico (micélio secundário). Este micélio pode vir a formar um basidiocarpo, também chamado de carpóforo ou corpo de frutificação, onde o micélio assume um crescimento ordenado para formar estruturas, ainda estéreis, que servirão de suporte para a formação dos basídios. Neste estágio o micélio é chamado de terciário. O micélio dicariótico forma o basidioma e em suas lamelas é formado o himênio com os basídios alinhados onde, finalmente, bilhões de basidiósporos são liberados (PUTZKE e PUTZKE, 2002; RAVEN et al., 2001).

Os basidiomicetos são capazes de crescer em uma grande variedade de resíduos agrícolas. Esses organismos degradam esses resíduos, ou seja, convertem celulose, hemicelulose e lignina em compostos de menor peso molecular devido a produção de uma variedade de moléculas com atividades biológicas, destacando-se as enzimas celulases, hemicelulases, lacases, manganês e lignina peroxidases. Estas enzimas, ao degradarem os compostos lignocelulósicos, liberam nutrientes para o crescimento fúngico (RAVEN et al. 2001).

Um esquema ilustrativo, onde se observa a função desempenhada pelas enzimas degradadoras de materiais lignocelulósicos foi elaborado por Rajarathnam et al. (1992) e é apresentado na Figura 05.

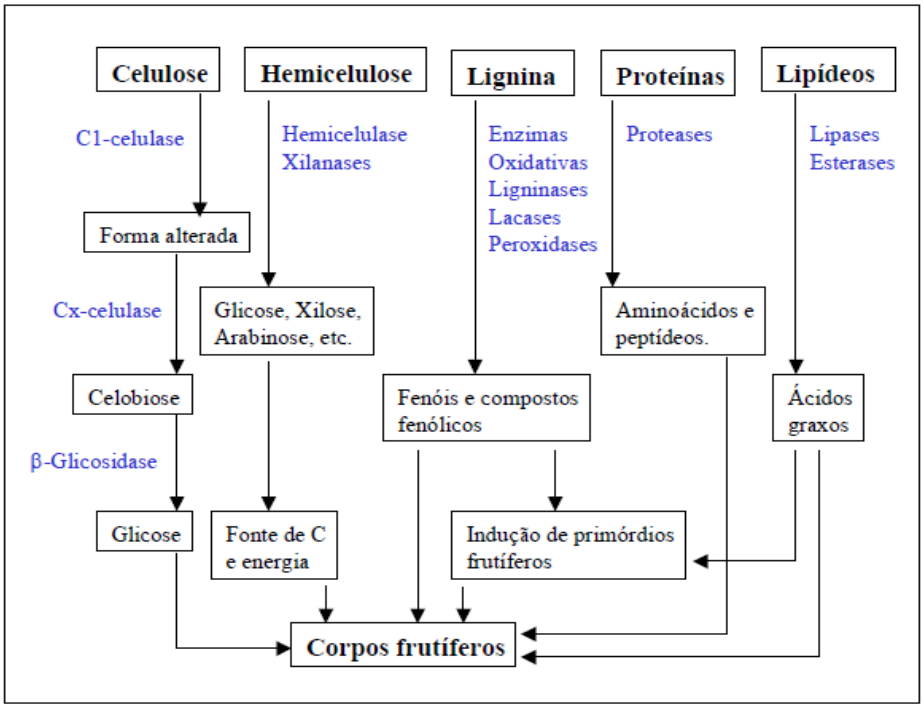

Figura 05 - Esquema da função desempenhada pelas enzimas degradadoras de materiais lignocelulósicos.

Fonte: Rajarathnam et al., (1992).

1.3.2 Cogumelo - *Pleurotus osteatrus/Biopolpação*

1.3.2.1 *Pleurotus ostreatus*

O gênero *Pleurotus* pertence à classe dos basidiomicetos e abrange várias espécies, sendo todas comestíveis. É chamado de cogumelo ostra devido ao píleo possuir forma de concha (Figura 06).

Figura 06: *Pleurotus ostreatus.*
Fonte: Nunes (2015)

O *Pleurotus ostreatus* é conhecido como hiratake ou shimeji. O shimeji é um dos cogumelos comestíveis mais nutritivos e saborosos (RAVEN et al., 2001). Este fungo é classificado segundo Cohen et al., (2002) da seguinte forma:

- Reino: Fungi
- Filo: Basidiomycota
- Classe: Basidiomycetes
-Subclasse: Holobasidiomycetidae,
- Ordem: Agaricales,
- Família: Pleurotaceae
- Gênero: Pleurotus
- Espécie: *Pleurotus ostreatus*

Pleurotus spp pertencem ao grupo de fungos que possuem alto valor nutricional, com diversas propriedades terapêuticas e biotecnológicas. Conhecidos como fungos da podridão branca da madeira por serem eficientes na degradação da lignina devido a sua capacidade de produzir enzimas lignocelulolíticas, principalmente lacases, manganês-

peroxidade (MnP) e peroxidase versátil, que têm numerosas aplicações industriais. (COHEN at al; 2002).

Pleurotus até o ano de 1950 era coletado diretamente da natureza, porém a partir de 1970 iniciou-se o seu cultivo em escala comercial. No final da década de 50, houve as primeiras tentativas de promover o cultivo empregando serragem como substrato. Porém no início da década de 60 passou-se a empregar outros substratos como palhas secas, capim, palha de arroz e palha de trigo para a produção em escala comercial (RAMPINELLI, 2009).

Como *Pleurotus ostreatus* tem sabor agradável e grande disponibilidade, houve possibilidade de ampliar o cultivo nestes últimos anos e em 1995 sua produção mundial ocupava o quarto lugar entre os cogumelos comestíveis. A incorporação de *P. ostreatus* na dieta alimentar pode ser considerada positiva, pois, possui considerável valor nutricional em proteína, fibra, carboidrato, vitaminas e minerais, além de baixo valor calórico, gorduras e sódio (SILVEIRA, 2008). Segundo Rampinelli, (2016), esse fungo possui 16,21% de proteína, 4,3% de lipídeos, 40,03% de carboidratos e 7,60% de fibras. Em termos nutricionais segundo a "Food Policy and Nutrition Division" ele é composto de 90,8% de água.

Rampinelli (2016) destaca que tais espécies comestíveis do gênero *Pleurotus* possuem elevado conteúdo de proteínas, fibras, carboidratos, vitaminas e minerais. Além dessas características nutricionais, diversas substâncias isoladas desses cogumelos têm sido caracterizadas demonstrando propriedades terapêuticas, tais como atividade antitumoral, imunomodulatória, anticolesterolêmica, antimicrobiana, dentre outras.

De acordo com Putzke et al. (2004) há grandes dificuldades na identificação das espécies de *Pleurotus* e este fato está associado às variações das características bioquímicas e genéticas das linhagens encontradas nos diferentes ecossistemas. Nesse sentido, mais de 1000 espécies de *Pleurotus* já foram descritas, no entanto aproximadamente 50 destas espécies são consideradas válidas.

Os cogumelos do gênero *Pleurotus* apresentam muitas vantagens de cultivo como: facilidade de manejo e produção, ocupam pouco tempo e espaço físico, utilização de matérias-primas como palhas, capins, entre outros abundantes e baratas, não requer climatização rigorosa em algumas situações (PUTZKE et al. 2004). Podendo ser cultivado em muitas regiões do Brasil, apresentando elevada rusticidade, crescimento

rápido e investimento relativamente baixo quando comparado com outras espécies de cogumelos (RAMPINELLI, 2016).

Outra característica do *Pleurotus* é, por crescerem em troncos de árvores ou madeira morta, produzir um micélio branco e degradar tanto a lignina (um polímero fenólico recalcitrante encontrado nos vegetais) quanto a celulose (SALES-CAMPOS, 2008). Esse processo de deterioração incide necessariamente de forma extracelular, uma vez que os componentes dos materiais lignocelulósicos devem ser inicialmente despolimerizados até compostos menores que são susceptíveis ao transporte pela parede celular e ao metabolismo intracelular do fungo envolvido (ARAÚJO, 2009).

A exclusividade de se utilizar o *Pleurotu*s está em seu complexo, com enzimas como celulase, hemicelulase, ligninase, celobiase e lacase, dando a ele uma gama de vertentes para ser trabalhado não somente como fonte de alimento com alto valor nutritivo (BONATTI et al., 2004) mas também como produtores de enzimas, um dos maiores setores da indústria biotecnológica, que podem ser aplicadas em diferentes processos: na indústria de bebidas e alimentos, indústrias têxteis, papeleiras e indústrias farmacêuticas, bem como em processos de biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos aromáticos, na degradação de poluentes ambientais e no tratamento de efluentes industriais (RAMPINELLI, 2016).

1.3.2.2 Cultivo de *Pleurotus*

O cultivo de fungos do gênero *Pleurotus* pode ser realizado em meio sólido ou em meio líquido. No meio sólido incide no preparo da matriz (*spawn*), caracterizada pelo crescimento micelial por meio de divisão celular, que dura entre 20 a 30 dias. Nesse processo faz-se necessário a preparação do substrato, que inclui os processos de pasteurização ou esterilização e semeadura. O gênero *Pleurotus* cresce em uma ampla variedade de resíduos agro-florestais, tais como serragem, papel, palhas de cereais, milho, bagaço de cana de açúcar, resíduo de café, folhas de bananeira, resíduo de agave, polpa de soja, sem a necessidade de uma fermentação prévia do substrato, sendo considerado um fungo degradador primário (SALES-CAMPOS, 2008; RAMPINELLI, 2016; RAMPINELLI, 2009).

Após a colonização do substrato pelo micélio e em função da presença de luz, maior aeração e às vezes choque térmico, ocorre a indução dos primórdios frutíferos, que

são pequenas saliências de cerca de um milímetro, que em 3 a 4 dias geram os corpos frutíferos que podem ser colhidos (RAVEN et al., 2001).

Segundo Bonatti et al. (2004) e Rampinelli (2016), a produção dos *Pleurotus* em meio sólido (palhas, serragens e demais resíduos agroindustriais) vem sendo muito utilizado tanto para fins alimentares quanto para a extração de substâncias terapêuticas.

Por outro lado, processo de cultivo em meio líquido pode ser conduzido de forma descontínua, semicontínua e contínua. Na maioria dos processos fermentativos industriais, o processo descontínuo é o mais utilizado. Este processo é constituído de duas etapas principais, o preparo do inóculo e a fermentação. A primeira etapa tem por finalidade preparar o microrganismo em condições apropriadas, de modo a garantir o desenvolvimento adequado da segunda etapa, a fermentação. O cultivo submerso (em meio líquido) de fungos filamentosos tem sido empregado industrialmente para a produção de uma grande variedade de metabólitos de importância econômica e social tais como os antibióticos, enzimas, micotoxinas, vitaminas, polissacarídeos com atividade terapêutica, entre outros (BONATTI et al., 2004; RAMPINELLI, 2016).

1.3.3.3 *Pleurotus ostreatus* na biopolpação

Pleurotus ostreatus já foi reportado como um fungo bastante importante para a produção de alimento, da mesma forma, ele se destaca no processo de pré-tratamento para polpação, trata-se de sua implementação como “agente desfibrador” da biopolpação, vem ganhando também o destaque no branqueamento de polpas celulósicas. Estas diferentes aplicações proporcionam diversas pesquisas envolvendo a bioquímica e a biologia molecular deste basidiomiceto (CUNHA, 2012; LARRAYA et al., 1999).

Cunha (2012) define *P. ostreatus* como um fungo de decomposição branca que produz Lacase, MnP e peroxidases versáteis (VPs) como principais enzimas lignolíticas dentro das condições de cultivo meio líquido e em meio sólido, incluindo madeira, farelo de trigo, glicose, celulose e peptona. Este basidiomiceto pode ser incluído em um grupo de fungos que degradam eficientemente a lignina in natura. Desta maneira, comporta-se como um fungo seletivo capaz de degradar parte da lignina de um substrato vegetal mantendo a celulose praticamente intacta e apropriada para polpação.

Os fungos do gênero *Pleurotus* conseguem fazer a degradação enzimática da porção lignocelulósica dos substratos pela elaboração de diversas enzimas

lignocelulolíticas, desenvolvendo um grupo altamente degradativo, que agem sobre os constituintes maiores de resíduos ligninocelulósicos como, a hemicelulose, a celulose, e a lignina. Estas enzimas têm um grande valor para o mercado biotecnológico, devido a sua aplicação direta nos processos de biopolpação como também para a indústria de alimentos e de produção de etanol (MENEZES, 2007). Nesse sentido, Valadares (2013) ressalta a viabilidade do cultivo do *Pleurotus ostreatus* na habilidade de conversão de resíduos agroindustriais do tipo lignocelulolítico, através da biopolpação, que consiste no processo de tratamento de biomassas oriundos de substratos vegetais, para facilitação dos processos posteriores de polpação.

1.4 Enzimas

Enzimas são proteínas que apresentam atividade catalítica e que estão presentes em todas as células vivas, onde exercem a função de catalisadores biológicos das reações que compõem as vias catabólicas e anabólicas do metabolismo celular (VALADARES, 2013). A complexa estrutura molecular enzimática é, majoritariamente, constituída por uma parte proteica que pode estar integrada a outras moléculas, como carboidratos e lipídios. São produzidas por todos os seres vivos, podendo ser obtidas de fontes vegetais, animais e microbianas, com funções variadas (CUNHA, 2012).

As enzimas responsáveis pela degradação da lignina são a lacase e as peroxidases como a lignina peroxidase e a manganês peroxidase. Lacases estão dentro de um pequeno grupo de cuproproteinas, conhecidas como oxidases azuis, elas são responsáveis por catalisar a oxidação de compostos aromáticos, pois são capazes de extrair elétrons de um substrato aromático. Nos fungos elas podem ser intra e extra celulares (PAVAN, 2008).

A lignina peroxidase possui um grupo heme, e, portanto, são heme-proteínas. São capazes de oxidar compostos fenólicos mediante a transformação dos fragmentos de lignina que foram liberados previamente pelo manganês peroxidase. Esta última é uma enzima glicosilada que também possui um grupo heme e dependente do peróxido de hidrogênio e manganês como doador de elétrons. Esse composto está normalmente presente em substratos lignocelulósicos (CUNHA, 2012).

Enzimas estão presentes em vários processos industriais, como nas indústrias têxtil, farmacêutica, de alimentos e de papel e celulose. O surgimento de novos campos de aplicação de enzimas, bem como o desenvolvimento de novas tecnologias que utilizem

enzimas industriais, faz com que esta área seja de grande interesse científico. Segundo estudos realizados por analistas de mercado da Freedonia Group Incorporated (2016) a demanda mundial de enzimas crescerá 6,3% ao ano, representando US$ 8,0 bilhões em 2016, refletindo uma recuperação contínua na economia mundial a partir da crise global de 2009. O mercado de enzimas está dividido em enzimas industriais (enzimas técnicas, enzimas para indústria de alimentos e enzimas para ração animal) e enzimas especiais (enzimas terapêuticas, enzimas para diagnóstico, enzimas para química quiral e enzimas para pesquisa) (MONTEIRO et al., 2009; RAMPINELLI, 2016).

1.4.1 Lacase - Lac

As lacases são polifenol-oxidases que contêm geralmente três átomos de cobre em seu centro catalítico e são conhecidas como multicobre-oxidases. São polifenol oxidases encontradas em plantas, insetos, bactérias e fungos, em especial, nos fungos da podridão branca da madeira (BALDRIAN, 2006; CUNHA, 2012). As lacases fúngicas são glicoproteínas de 520-550 aminoácidos que contêm quatro íons cobre (Cu) dispostos em três sítios de ligação. Cada íon desempenha um papel importante na reação catalítica que ocorre pela oxidação de um substrato fenólico, enquanto oxigênio molecular é reduzido à água (ASSIS, 2015; KARP et al., 2012).

A lacase apresenta baixa especificidade por substratos, permitindo sua atuação sobre uma grande variedade de compostos o que a torna uma enzima versátil e com potencial para ser utilizada em várias aplicações biotecnológicas industriais. Podem ser empregadas em processos da indústria de papel e celulose, têxtil, cosmética, na detoxificação de esgoto, em síntese inorgânica, degradação de xenobióticos e biorremediação, produção de aglomerados de madeira sem agregantes tóxicos e produção de detergentes (COUTO; TOCA-HERRERA, 2007).

Amortizar gastos de produção é uma forma de expandir o trabalho com uso de enzimas em processos industriais. A sofisticação da fermentação e do processo de produção é alvo de extensa pesquisa e, nesse sentido, o uso de resíduos agroindustriais como substratos alternativos em processos fermentativos vem sendo estudado por diversos pesquisadores (BONFÁ et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2007). Assis (2015) enfatiza que tais processos permitem agregar valor aos resíduos, diminuem os custos de produção, além de removerem do ambiente material potencialmente poluente (SOCCOL

et al., 2013). A biotransformação de resíduos agroindustriais por fungos é uma alternativa biotecnológica para obtenção potencial de produtos com alto valor agregado e subprodutos de interesse econômico como as enzimas.

Rampinelli (2016) destaca que, lacases de cunho comercial, como a Denilite® da Novozymes estão sendo empregados na indústria têxtil para retirada do corante índigo, um processo que não prejudica o tecido e que resulta numa aparência lavada ou manchada. A Novozymes ainda trabalha na comercialização de lacases sob os nomes comerciais Novozym® 51003 e Suberase® muito utilizadas como biossensor e no tratamento de rolhas de cortiça para envase de vinhos, respectivamente (PERALTA et al. 2004; ANSELMO et al., 2008 apud BETTIN, 2010). A utilização bem-sucedida de lacases e o aparecimento de novos campos para a sua aplicação, bem como o desenvolvimento de novas tecnologias que utilizem enzimas industriais, faz com que esta área seja de grande interesse científico e demande a produção de grandes quantidades de enzima a baixo custo (RAMPINELLI, 2016).

As lacases são produzidas por diversos fungos, como os ascomicetos *Aspergillus*, *Neurospora* e *Podospora*, o deuteromiceto *Botrytis* e os basidiomicetos *Collybia*, *Fomes*, *Lentinus*, *Trametes e o Pleurotus* (CARABAJAL et al., 2012; JIN e NING, 2013). Entre os fungos produtores de lacase, os basidiomicetos conhecidos por — fungos da podridão branca são os mais eficientes na produção da enzima (LOMASCOLO et al., 2003).

Lacases são glicoproteínas capazes de catalisar reações de desmetilação, importantes em processos de biodegradação de cadeias poliméricas, com subsequente decomposição de macromoléculas de lignina pelo rompimento de anéis aromáticos (PERALTA et al., 2004). Essas enzimas são capazes de catalisar a oxidação de compostos fenólicos, carreando elétrons que são utilizados na redução de oxigênio molecular a água. Além disso, catalisam reações de clivagem da ligação alquil-fenol, de ligações Cα-Cβ e de dímeros fenólicos de lignina, desmetoxilação, desmetilação, polimerização e despolimerização, entre outras (BALDRIAN, 2006).

1.4.2 Manganês Peroxidase – MnP

As MnP são heme-proteínas glicosiladas como múltiplas isoenzimas. Em geral, apresentam M_R em torno de KDa e ponto isoelétrico (p*I*) em pH inferior a 7.0

(VALADARES, 2013). O ciclo catalítico das MnPs é semelhante ao da LiPs e inicia-se com a sua oxidação por H_2O_2 ou peróxidos orgânicos, que levam a enzima a um estado de oxidação deficiente em dois elétrons denominado composto I. A redução da enzima até a forma nativa ocorre através de dois passos sucessivos, por meio da formação de um intermediário denominado composto II. Enquanto o composto I pode ser convertido em composto II tanto na presença de Mn^{2+} quanto de outros doadores de elétrons com potencial redox apropriado, a conversão do composto II até a enzima nativa ocorre somente na presença do Mn^{2+}. Além disso, elevadas concentrações de H_2O_2 pode inativar reversivelmente a enzima através da formação de outro intermediário denominado composto III (CARVALHO, 2009; HOFRITCHTER, 2002).

O Mn^{3+} formado durante a catálise, estabilizado por ácidos orgânicos produzidos pelo próprio fungo, pode abstrair elétrons de vários compostos orgânicos (incluindo fenóis, aminas aromáticas, compostos orgânicos sulfurados e ácidos graxos insaturados) de maneira inespecífica, levando à formação de radicais bastante reativos que podem atacar estruturas recalcitrantes com alto poder de redução (CARVALHO, 2009; HOFRITCHTER, 2002). Estes quelatos, pela ação do Mn^{3+}, podem levar à formação de superóxidos, o qual se acredita ser uma fonte de peróxidos na ausência de H_2O_2.

A atuação da MnP na degradação da lignina está ligada diretamente sobre estruturas fenólicas e também em um sistema baseado na mediação por ácidos graxicos insaturados, que pela geração de radicais intermediários reativos (radicais peroxil) têm sido relacionados com a degradação de estruturas não fenólicas (HOFRICHTER, 2002).

1.4.3 Lignina Peroxidase - Lip

Segundo Pavan (2008) destaca que dentre as enzimas lignoniliticas, a Lip foi a primeira a ser identificada em culturas de *Phanerochaete chrysosporium* crescido em meio com limitação de nitrogênio (KIRK e FARREL, 1987). Esta enzima é relativamente não específica, sendo conhecida por oxidar substratos aromáticos fenólicos e também promover a clivagem oxidativa de ligações C-C e C-O-C em estruturas aromáticas não fenólicas como modelos de lignina em uma gama de compostos orgânicos com potencial redox acima de 1,4 V, na presença de H_2O_2 (FARIA, 2010; WONG, 2009).

As Lip são fortes oxidantes capazes de catalisar a reação de fenóis e aminas aromáticas, éter aromáticos e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. Em ação, a Lip é

inicialmente oxidada por H_2H_2 a uma forma intermediaria, deficiente de 2 elétrons, aqui denominado de composto I. O Composto II, por sua vez, repete sua oxidação do substrato pela remoção de outro elétron, regenerando a enzima no seu estado inicial (PAVAN, 2008).

É um polímero constituído de unidades de fenil-propanas (C_6-C_3). Diferentemente da celulose, a lignina não tem estrutura cristalina e é considerado um polímero amorfo, cuja estrutura principal provém da polimerização dehidrogenativa (iniciada por enzimas) dos seguintes precursores primários: álcool trans-coniferílico e álcool trans-para-cumárico. Ela também é considerada como um dos materiais mais resistentes na natureza. Na biomassa vegetal, a lignina está associada juntamente com a celulose e hemicelulose, o que impede a degradação desses materiais, isto é, a lignina confere a firmeza e rigidez ao conjunto de fibras de celulose (CUNHA, 2012).

1.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKHTAR, M.; BLACHETTE, R.A.; KIRK, T.K. Fungal delignification and Biomechanical pulping of wood. **Advances in Biochemical/ Engineering Biotechnology**, v. 57, p. 159-195, 1997.

ALMEIDA, L. B.; SALES-CAMPOS, C.; CARVALHO, C. S. M.; MINHONI, M. T. A.; ANDRADE, M. C. N. Resíduos de bananeira como substrato base para o cultivo *in vitro* de *Coprinus comatus*. **Ambiência**, v.9 n.3 p. 643 – 650, 2013.

AMAZÔNIA. Notícia e Informação. Disponível em: http://amazonia.org.br/2016/03/amazonas-retoma-producao-de-banana-com-tecnologias/> Acessado em 15 de outubro de 2016.

ARAÚJO, S. P. **Potencial dos Fungos Amazônicos *Pycnoporus Sanguineus* e *Trametes Elegans* para Biopolpação.** Dissertação de Mestrado, Universidade do Estado do Amazonas, UEA, Manaus-Amazonas. 2009. 92p.

ASSIS, T. R**. Obtenção de enzimas lignolíticas visando a hidrólise enzimática da fração lignocelulósica de bagaço de cana pré-tratado hidrotermicamente**. Dissertação de Mestrado, Escola Superior de Agricultura. Piracicaba, 2015. 90p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PAPEL E CELULOSE (BRACELPA). Associação brasileira de papel e celulose. Disponível em: <http://abtcp.org.br>. Acesso em: 18 maio 2015.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA TECNICA DE CELULOSE E PAPEL – ABTCP. **A indústria de celulose e papel no Brasil.** Guia fornecedores e fabricantes. 2015-2016.

BALDRIAN, P. Fungal laccases occurrence and properties. **FEMS Microbiol Rev**., v. 30, p. 215–242, 2006.

BALLESTEROS, M. Estado del desarrollo tecnológico del aprovechamiento de biomasa: Biocombustibles para el sector del transporte. **Energía**. v.161, n.1, p. 29-34, 2001.

BENITES, V.M. **Produção de insumos agrícolas a partir de resíduos agroindustriais. Fertbio.** Solos Brasil, Bonito. 2006.

BLANCHETTE, R.A. Rvaluating isolates of *Phanerochaete chrysosporium* and *Ceriporiosis subnermispora* for use in biological pulping processes. **Holzforchung**. v. 46, p. 109-115, 1992.

BONFÁ, M. R. L. et al. Produção de ligninases por fungos de degradação branca em resíduos agroindustriais. **In: SINAFERM - SIMPÓSIO NACIONAL DE FERMENTAÇÕES**, Florianópolis, 14., 2003, Florianópolis. Anais...Florianópolis: SINAFERM, 2003 p.

BETTIN, F. **Cinética de crescimento e produção de lacases do fungo *Pleurotus sajor-caju* PS-2001 (Fr.) Singer em processo submerso em biorreator com agitação mecânica.** Tese de Doutorado em Biotecnologia, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, UCS, Caxias do Sul. 2010.

BONATTI, M., KARNOPP, P., SOARES, H.M., FURLAN, S.A. Evaluation of Pleurotus ostreatus and Pleurotus sajor-caju nutritional characteridtics when cultivated in different lignocellulosic wastes. **Food Chemistry**, v. 88, p. 425-428, 2004.

BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E. **Biotecnologia Industrial**: Engenharia Bioquímica. São Paulo: Edgar Blücher Ltda, v. 1, 2001.

BRUNI, V. C. **Avaliação do processo operacional de compostagem aerada de lodo de esgoto e poda vegetal em reatores fechados.** Dissertação de Mestrado, Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005. 114p.

CARABAJAL, M.; LEVIN, L.; ALBERTÓ, E.; LECHNER, B. Effect of co-cultivation of two *Pleurotus* species on lignocellulolytic enzyme production and mushroom fructification. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v, 66, p. 71-76, 2012.

CARVALHO, W; CANILHA, L; FERRAZ, A; MILAGRES, A.M.F. Uma visão sobre a estrutura, composição e biodegradação da madeira. **Química Nova.** v. 32, n. 8, p 2191-2195, 2009.

CARVALHO, C.S.M.; AGUIAR, L.V.B.; SALES-CAMPOS, C.; MINHONI, M.T.A.; ANDRADE, M.C.N. 2012. Determinação bromatológica de *Pleurotus ostreatus* cultivado em resíduos de diferentes cultivares de bananeira. **Interciencia**, v.37, n. 8, p. 621-626.

CHERTMAN, M. **Secagem de papel produzido a partir do pseudocaulde de bananeira**. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Engenharia Mecânica, Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, 2007. 120p.

COHEN, R; PERSKY, L; HADAR, Y. Biotechnological applications and potencial of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 58, n. 5, p. 582-594, 2002.

COUTO, R. S.; TOCA-HERRERA, J. L. Laccase production at reactor scale by filamentous fungi. **Biotechnology Advances**, v. 25, p. 558–569, 2007.

COSTA, F. O.; SILVA, A. M.; CARVALHO, E. S.; SILVA, V. L. M. M.; LIMA, L. M. R. **Uso da casca da banana como bioadsorvente em leito diferencial na adsorção de compostos orgânicos.** Encontro Nacional de Educação, Ciência e Tecnologia/UEPB. 2013.

CUNHA, G.G.S. **Biopolpação a partir de cultivos mistos de basidiomicetos sobre a madeira de *Eucalyptus grandis e Eucalyptus urograndis***. Tese de Doutorado, Escola de Engenharia de Lorena. São Paulo. 2012. 111p.

D'ALMEIDA, M.L.O. **Celulose e papel: Tecnologia de fabricação do papel**. 2. Ed. São Paulo: SENAI; IPT, 1988. 964p.

D'ALMEIDA, M. L. O.; VILHENA, A. **Lixo Municipal: Manual do Gerenciamento Integrado.** 2ed. São Paulo: IPT/CEMPRE, 2000, 170 p.

GONDIM, J. A. M; MOURA, M. F. V.; DANTAS, A. S.; MEDEIROS, K. M. S. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas**, v. 25, n. 4, p. 825-827, 2005.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. Levant. Sistem. Prod. Agríc., Rio de Janeiro, v. 29, n. 7, p.1-87, jul. 2016. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo/lspa_201607.pdf>. Acesso em: 31 ago. 2017.

FAO - FOOD AGRICULTURE ORGANIZATION. 2013. Statitical databases Disponível em: <http://www.fao.org/ag/AGP/AGPC/doc/Counprof/Brazil/Brazil.htm>. Acesso em: 20 de set. de 2017.

FAO - FOOD AGRICULTURE ORGANIZATION. 2013, Disponível em: <http://www.fao.org/ag/AGP/AGPC/doc/Counprof/Brazil/Brazil.htm>. Acesso em: 20 de set. de 2015.

FAO. FAO Statitical databases. 15 junho de 2015.

FARIA, R. A. **Estudo da produção de enzimas ligninolíticas por *Ceriporiopsis subvermispora*.** Dissertação de Mestrado, Biotecnologia Industrial. Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, 2010. 102p.

FERRAZ, A., Aplicação da Biotecnologia na Produção de Papel e Celulose. In: Borzani,W., Almeida, V. e Aquarone, E. (eds). **Processos Enzimáticos e Fermentativos**. Edgard Blücher: São Paulo, 2001.

FERRAZ, A. Fungos: **uma introdução a biologia, bioquímica e bitecnologia**, In: Espósito, Azevedo. Fungos decompositores de materiais lignocelulósicos. p. 215-242. Caxias do Sul, EDUCS, 2004.

FERRAZ, A., GUERRA, A., MENDONCA, R., MASARIN, F., VICENTIM, MP., AGUIAR, A., PAVAN, PC. Technological advances and mechanistic basis for fungal biopulping. **Enzyme Microbial Technol**., 43:178–185, 2008.

FILHO, A. G. **Formação econômica de Santa Catarina**. Florianópolis: Cidade Futura, 2002.

GIMENES, J. G. **Fungos Basidiomicetos – Técnicas de coleta, isolamento e subsídios para processos Biotecnológicos.** INSTITUTO DE BOTÂNICA – IBt Programa de Pós Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente Curso de Capacitação de Monitores e Educadores. São Paulo. 2010. Disponível em: < http://www.biodiversidade.pgibt.ibot.sp.gov.br/Web/pdf/Fungos_Basidiomicetos_Luciana_J_Gimenes.pdf>. Acesso em: 29 jan. 2018.

GONÇALVES FILHO, L. C. **Utilização do pseudocaule de bananeira como substrato de fermentação alcoólica: avaliação de diferentes processos de despolimerização**. Dissertação de Mestrado, Universidade da Região de Jonville, 2011, 92p.

GRAMINHA, E. B. N., GONÇALVES, A. Z. L., PIROTA, R. D. P. B., BALSALOBRE, M. A. A., SILVA, R., GOMES, E. Enzyme production by solid-state fermentation: Application to animal nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, 144, 1-22, 2008.

GUERRA, A.; MENDONÇA, R.; FERRAZ, A. Characterization of the residual lignins in *Pinus taeda* biodegraded by *Ceriporiopsis subvermispora* by in using in situ CuO oxidation and DFRC methods. **Holzfoschung**, v. 52, p.157-160, 2002.

HOFRICHTER, M. Review: lignin conversion manganese peroxidadse (MnP). **Enzyme and Microbial Technology,** v. 30, p. 454-466, 2002.

INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES (IBÁ). **Dados & fatos**. Disponível em: <http://www.iba.org/web/pt/dados-fatos>. Acesso em: 19 jun. 2015.

ISRAEL, C.M. **Utilização do Resíduo do Processamento do Palmiteiro para a Produção de Enzimas Hidrolíticas por Fungos do Gênero *Polyporus*.** Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Centro de Ciências Tecnológicas, Universidade Regional de Blumenau, 2005. 136p.

JERÔNIMO, L. H.; FOELKEL, C. E. B.; FRIZZO, S. M. B. Utilização de antraquinona na produção de polpa sulfato de *Eucalyptus saligna* e seus efeitos no branqueamento. In: Congresso Iberoamericano de Investigación en Celulosa y Papel – CIADICYP, 2000, Iguazú, Argentina. Anais... Iguazú, 2000b. 24 p.

JIN, X.; NING, Y. Laccase production optimization by response surface methodologywith *Aspergillus fumigatus* AF1 in unique inexpensive medium anddecolorization of different dyes with the crude enzyme or fungal pellets. **Journal of Hazardous Materials**, v. 262, p.870– 877, 2013.

KARP, S. G.: FARACO, V.; AMORE, A.; BIROLO, L.: GIANGRANDE, C.; SOCCOL, C. P.; PANDEY, A. SOCCOL, C. R. Characterization of laccase isoforms produced by *Pleurotus ostreatus* in solid state fermentation of sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, Trivadrun, v. 114, p. 735-739, 2012.

KIRK. T.K.; FARREL, R.L. Enzimatic “combustion”: The microbial degradation of lignin. **Annual Reviews in Microbiology**, v.41, p. 465-505, 1987.

KLOCK, U.; ANDRADE, A. S.; HERNANDEZ, J. A. **Polpa e Papel: Manual didático Polpa e Papel**. Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias - Departamento de Engenharia e Tecnologia Florestal. Curitiba, 2013. 118p.

KOKZTRZEPA, R.O. **Evidenciação dos eventos relacionados com o meio ambiente: um estudo com indústrias químicas**. 2004. Disponível em: http://www.congressoeac.locaweb.com.br/artigos62006/180.pdf: Acesso em: 09 abr.2016.

KHRISTOVA, P.; KORDACHIA , O.; KHIDER, T. Alkaline pulping with additives of date palm rachis and leaves from Sudan. **Bioresource Technology**, v.96, n. 1, p.79–85, 2005.

LARRAYA, L.M; PÉREZ G; PEÑAS, M.M; BAARS, J.J; MIKOSCH, T.S; PISABARRO, A.G; RAMÍREZ, L. Molecular karyotype of the white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. **Appl Environ Microbiol**. v.65, n. 8, 3413-3417, 1999.

LOMASCOLO, A.; RECORD, E.; HERPOE, I.; GIMBERT, I.; DELATTRE, M.; ROBERT, J. L.; GEORIS, J.; DAUVRIN, T.; SIGOILLOT, J. C.; ASTHER, M. Overproduction of laccase by a monokaryotic strain of *Pycnoporus cinnabarinus* using ethanol as inducer. **Journal of Applied Microbiology,** v. 94, p. 618–624, 2003.

MEIRELLES, D.; CALAZANS, M. **H_2O para celulose x água para todas as línguas**. Vitória: Fase, 2006.

MENDES, F. M. et al. Enzymtic hydrolysis of chemithermomechanically pretreated sugarcane bagasse and samples with reduced initial lignina contente. **Biotechnology progress**, v. 27, n. 2, p. 395-401, 2011.

MENEZES, C. R. **Estudo da atividade prebiótica de hidrolisados lignocelulósicos**. Tese de Doutorado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007. 215p.

MESSNER, K.; SREBOTNIK, E. Biopulping: An overview of developments in na environmentally safe paper-marking technology. **FEMS Microbiology Review**, v.13, p. 351-364, 1994.

MONTEIRO, V. N.; SILVA, R. N. Aplicações Industriais da Biotecnologia Enzimática. **Revista Processos Químicos**, v.3, n.5, p. 9-23, 2009.

OLIVEIRA, P. D. C. **Compostagem de resíduos Agroindustriais em leiras com diferentes fontes de carbono**. Trabalho de Conclusão de Curso, Engenharia Ambiental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná UTFPR. Campo Mourão, 2014. 50p.

OLIVEIRA, M. A. DONEGA, M.A; PERALTA, R.M; SOUZA, C.G.M. Produção de inóculo do cogumelo comestível *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quélet - CCB19 a partir da de resíduos agroindústria. **Ciência e Tecnologia de Alimentos,** v. 27, p. 84-87, 2007.

PAVAN, P.C**. Desenvolvimento do processo de biopolpação de eucalipto em escala piloto para produção de polpas termomecânicas e quimiotermomecânicas.** Tese de Doutorado. Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. SP. 2008. 137p.

PEIXOTO SILVA, R. & OLIVEIRA, R.C. Efeitos da ação do refino e da reciclagem nas propriedades de papéis de pinus e eucalipto. Viçosa, MG, UFV - Universidade Federal de Viçosa. **Revista Árvore**, n. 3, p. 24, 2000.

PERALTA, R. M.; SOUZA, C. G. M.; BÔER, C. G. As principais oxirredutases de uso industrial. In: SAID, S.; PIETRO, R. C. L. R. **Enzimas como agentes biotecnológicos**. Ribeirão Preto: Legis Summa, p.412, cap. 10, 2004.

PÖYRY. About us. Disponível em: <http://www.poyry.com/about-us/poyry-brief>. Acesso em: 20 jul. 2015.

_____. Notícias. Disponível em: <http://www.poyry.com.br/pt-br/noticias/papel-demanda-capita-cresce-em-paises-emergentes?language=pt-br>. Acesso em: 22 jun. 2015.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. **Os reinos dos fungos**. Santa Cruz do Sul: EDUNISC, v. 2, 2002.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M.T.L. **Os Reinos dos Fungos**. Vol. 1. 2 ed. Santa Cruz do Sul: EDUNISC, 2004.

RAJARATHNAM, S.; SHASHIREKA, M.N.; BANO, Z. Biopotentialities of the Basidiomacromycetes. **Advances in Applied Microbiology**, v. 37, p. 233-361., 1992.

RAMPINELLI, J. R. **Produção de *Pleurotus djamor* e avaliação do seu potencial nutricional**. Dissertação de Mestrado, Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis/SC. 2009, 124p.

RAMPINELLI, J. R. **Utilização da Casca de Banana para a Produção de Lacase por Pleurotus sajor-caju** CCB 019. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2016, 132p.

RASHWAN, M.S.; HATZINIKOLAS, M.; ZMAC, R. Development of a lightweight, low-cost concrete block using wood residue. **For. Prod. Journal**, v. 42, p. 57-64, 1992.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia Vegetal.** 6ª ed. Rio Janeiro: Editora Guanabara: Koogan, 2001. 906p.

ROJAS, M.L.B. **Caracterização de fibras de bananeira "Nanicão" (Musa grupo AAA, "Giant Cavendish") como possível matéria-prima para produção de pasta celulósica para fabricação de papel**. Brasil, Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo-IPT, DPFAgrupamento de Celulose e Papel.1996.

SAFARI SINEGANI, A. A.; EMTIAZI, G.; HAJRASULIHA, S.; SHARIATMADARI, H. Biodegradation of some agricultural residues by fungi in agitated submerged cultures. **African Journal of Biotechnology**, v. 4, n. 10, p. 1058-1061, 2005.

SALES-CAMPOS, C. **Aproveitamento de resíduos madeireiros e da agroindústria regional para o cultivo de fungos comestíveis de ocorrência na região amazônica**. Tese (Doutorado em Biotecnologia), Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 2008, 197p.

SANTOS, R.; JÚNIOR, J.A.M.; CARASCHI, J.C.; VENTORIM, G.; FELIPO AUGUSTO PEREIRA, F.A. Polpação kraft e kraft/aq da madeira pré-hidrolisada de híbrido de *Eucalyptus urophylla* x *grandis*. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 26, n. 4, p. 1281-1290, 2016.

SCHNEIDER, A.; GRACIA, D.; BRASILEIRO, J.G.; MAYER, V.G.; MISKE, A.S.W. Sustentabilidade e oportunidades para a indústria de papel na América Latina. **Revista FAE**, Curitiba, Edição Especial, v. 1, p. 47-59, 2016.

SCOTT, G.M.; AKHTAR, M.; LENTZ, M.J.; SWANEY, R.E. Enginnering, Scale-Up, and Economic Aspects of Fungal Pretreatment of Wood Chips. In Young, R.A.; AKHTAR, M. **Environmentally Friendly Tecnologies for the Pulp and Paper Industry**. 1a. Edição. Nova York: John Wiley & Sons, p. 341-384, 1998.

SILVA, R. R.; COELHO, G. D. Fungos - **Principais Grupos E Aplicações Biotecnológicas**. INSTITUTO DE BOTÂNICA – IBt. Programa de Pós Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente. Curso de Capacitação de monitores e educadores. São Paulo. 2006. Disponível em: < http://www.biodiversidade.pgibt.ibot.sp.gov.br/Web/pdf/Fungos_Ricardo_Silva_e_Glauciane_Coelho.pdf>. Acesso em: 29 de janeiro 2018.

SILVA, V. F. N. **Estudos de pré-tratamento e sacarificação enzimática de resíduos agroindustriais como etapas no processo de obtenção de etanol celulósico**. Dissertação de Mestrado, Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo - EEL, 2009. 116p.

SILVEIRA, M. L. L.; FURLAN, S. A.; NINOW, J. L. Development of an alternative technology for the oyster mushroom production using liquid inoculum. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 858-862, 2008.

SOARES, N. S.; OLIVEIRA, R.J.; CARVALHO, K.H.A.; SILVA, M.L.; JACOVINE, L.A.G.; VALVERDE, S.R. A cadeia produtiva da celulose e do papel no Brasil. **Revista Floresta**, Curitiba, PR, v. 40, n. 1, p. 1-22, 2010.

SOCCOL, C. R., VANDERBERGHE, L. P. S. Overview of applied solid-estate fermentation in Brazil. **Biochermical Engineering Journal**, New York, v. 13, p. 205-218, 2013.

SOFFNER, M. de L. A. P. **Produção de polpa celulósica a partir de engaço de bananeira**. 56 f. Dissertação de Mestrado, Ciências e Tecnologia de Madeiras, Escola Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz', Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2001. 56p.

SPEROTTO, F. **A expansão do setor de celulose de mercado no Brasil: condicionantes e perspectivas. Indicadores Econômicos FEE**, Porto Alegre, v. 41, n. 4, p.85-100, 2014. Disponível em: <http://revistas.fee.tche.br/index.php/indicadores/article/viewFile/3073/3475>. Acesso em: 9 jun. 2015.

TAVARES, A.P.M. **Produção de lacase para potencial aplicação como oxidante na indústria papeleira**. Tese de Doutorado, Departamento de Engenharia Química. Universidade de Aveiro, 2006. 190p.

TRABULSI, L. R; ALTERTHUM, F. **Microbiologia.** 5ª ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

VALADARES, F. L. **Produção e uso de enzimas derivadas do fungo *Pleurotus ostreatus* na hidrólise de bagaço de cana pré-tratado por processo quimiotermomecânico**. Dissertação de Mestrado, Escola de Engenharia de Lorena. Lorena/SP. 2013. 122p.

WILLE, N. C. **Potencial do fungo *Pycnoporus sanguíneus* na biopolpação de *Eucaliptos grandis* e *Acácia mearnsii*.** Monografia (Bacharel em Ciências Biológicas). Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2007. 53 p.

WONG, D. W. S. Structure and action mechanism of lignolytic enzymes. **Applied Biochemistry Biotechnology**, v. 157, p. 174-206, 2009.

WORLD ECONOMIC FORUM. Competitiveness rankings. Disponível em: <reports.weforum.org/global-competitiveness-report-2015-2016/competitiveness-rankings>. Acesso em: 24 nov. 2015.

CAPÍTULO 2: CULTIVO DE *Pleurotus ostreatus* EM DIFERENTES RESÍDUOS DA BANANICULTURA

RESUMO:

O objetivo deste trabalho foi avaliar a utilização de resíduos da bananicultura, engaço e pseudocaule, de diferentes cultivares de bananeira como substrato de cultivo para a linhagem amazônica *Pleurotus ostreatus* NATB. Resíduos (engaço e pseudocaule) de duas cultivares de bananeira (prata-anã e thap-maeo) foram utilizados para o cultivo de P. *ostreatus* NATB, acessado da Micoteca do Laboratório de Cultivo de Cogumelos, da Coordenação de Tecnologia e Inovação do INPA. A linhagem fúngica foi reativada em meio BDA, e posteriormente incubada em meio composto de caldo de infusão do resíduo da banana. A matriz terciária ou spawn consistiu do resíduo sólido sem suplementação, devidamente autoclavados para incubação de fragmentos da matriz secundária. Os tratamentos foram realizados em sacos de PEAD com 1Kg dos resíduos autoclavados, umidificado a 75% e inoculados com 5% de spawn. Cada tratamento foi composto por 10 repetições incubados em câmara a 25ºC durante 30 dias. Foram avaliados os parâmetros Eficiência biológica, rendimento e perda de matéria orgânica, bem como análise físico-química, mineral e composição centesimal dos substratos elaborados a partir dos resíduos da bananicultura (pré e pós-cultivo) e cogumelos. Os cogumelos cultivados em substrato pseudocaule de prata-anã apresentaram as maiores médias percentuais em relação a eficiência, biológica e rendimento, porém a perda de matéria orgânica não seguiu relação direta com estes parâmetros de produtividade, comportamento que pode ser atribuído a outros fatores, como perda de CO_2 e água durante o processo. Os teores de nitrogênio foram diferentes estatisticamente entre os tipos de substratos de mesma cultivar, ressaltando que os teores nos engaços foram superiores, refletindo em cogumelos com maiores teores de proteína. Foi observado o incremento no teor de proteína bruta nos substratos pós-cultivo, possivelmente explicado pela presença do micélio nos substratos. Houve decréscimo nos teores de carbono nos substratos e estreitamento da relação C:N ocasionado pelo próprio metabolismo fúngico durante a síntese dos compostos necessários ao seu desenvolvimento. Os substratos testados resultaram em corpos frutíferos ricos em proteínas, fibras, cinzas e carboidratos e baixos teores lipídicos e corpos frutíferos ricos em potássio, cálcio, magnésio, ferro e zinco.

Palavras-chave: Cogumelo comestível, banana, cultivo.

2.1 Introdução

A produção de cogumelos é considerada a segunda mais importante tecnologia microbiana comercial ao lado das leveduras (PATHAK et al., 2009; SÁNCHEZ, 2010). Os basidiomicetos compreendem a maioria dos cogumelos comestíveis e têm se tornado cada vez mais importantes não somente por suas características nutricionais, mas por suas propriedades medicinais e nutracêuticas, por parte de bioativos e carboidratos (beta-glucanas) (AVIN et al., 2012).

Dentre a diversidade de cogumelos comestíveis, os fungos do gênero *Pleurotus* são capazes de crescer em uma grande variedade de resíduos agrícolas, degradando esses resíduos, e convertendo celulose, hemicelulose e lignina em compostos de menor peso molecular, os quais são utilizados para o seu crescimento (RAJARATHNAM et al., 1992). Além de sua qualidade protéica e da presença de aminoácidos essenciais, o cogumelo *Pleurotus ostreatus* é uma fonte importante de carboidratos, fibras, minerais e vitaminas, o que os promove à classe dos alimentos nutricionalmente ricos (RAMPINELLI et al.,2010; SALES-CAMPOS,2008). O valor nutritivo dos cogumelos depende da composição química do substrato utilizado e das condições de cultivo (SILVA et al. 2007).

A escolha das fontes de carbono e nitrogênio são essenciais para o desenvolvimento do metabolismo fúngico, pois a partir desses componentes, os fungos retiram açúcares que serão assimilados para fornecer energia e também retira nitrogênio, importante precursor de aminoácidos e proteínas (VIEIRA, 2012).

A maioria dos substratos que são utilizados para o cultivo dos cogumelos é proveniente de resíduos agrícolas e agroindustriais, como gramíneas, palhas, serragem de eucalipto, bagaço de cana e farelo de trigo (FURLANI e GODOY, 2005). Neste sentido, a quantidade de resíduos gerados a partir da cultura da banana é abundante, com valor estimado de 30% de perdas pós-colheita, sem considerar os resíduos gerados a partir do pseudocaule, engaço, palha e folhas (CARVALHO et al. 2012). Esses resíduos são considerados os mais importantes em termos de volume gerado e potencial fibroso, porém são normalmente utilizados como adubação nos bananais (SOFFNER, 2001), podendo ser utilizados como substrato de cultivo para cogumelos (CARVALHO et al, 2012; 2014).

De acordo com Eira et al. (1997) e Sales-Campos (2008), o substrato para o cultivo de cogumelos é um composto sólido e seu preparo caracteriza-se como um processo biotecnológico que utiliza materiais residuais tais como: resíduos de animais e materiais vegetais, dentre os quais os resíduos agroindustriais têm obtido notoriedade.

Quando se avalia a viabilidade da utilização de substratos alternativos para cultivo de cogumelos comestíveis é importante conhecer sua composição nutricional (SALES-CAMPOS, 2008). A composição química desses cogumelos é afetada diretamente pela composição do substrato, fator que permite a acumulação de determinados elementos pelos mesmos, quando presentes no substrato (FIGUEIRÓ e GRACIOLLI, 2011).

Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a utilização de resíduos, engaço e pseudocaule, de diferentes cultivares de bananeira como substrato de cultivo para a linhagem amazônica *Pleurotus ostreatus* NATB e realizar a avaliação físico-química, composição centesimal e mineral dos substratos pré e pós-cultivo, bem como do cogumelo produzido a partir dos resíduos da bananicultura.

2.2 Material e Métodos

O estudo foi conduzido na Coordenação de Pesquisas em Produtos Florestais (CPPF) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), nos Laboratório de Cogumelos Comestíveis, Química da Madeira e Bioprospecção de Produtos Naturais.

2.2.1 Resíduos: Coleta, codificação e preparação

As duas cultivares de banana (prata-anã e thap-maeo) e seus respectivos resíduos (pseudocaule e engaço) foram coletados junto a pequenos produtores rurais do município de Parintins, estado do Amazonas, Brasil. Os resíduos foram então codificados em PSPA: pseudocaule de prata-anã, ENPA: Engaço de prata-anã, PSTM: pseudocaule de thp-maeo e ENTM: engaço de thap. O processamento primário constituiu em submeter o pseudocaule e o engaço de banana "*in natura*" a ação mecânica de um triturador orgânico Trap 200. Este material foi seco ao ar livre e acondicionado em sacos plásticos. Os resíduos triturados do pseudocaule e engaço foram autoclavados a uma temperatura de 121 ºC durante 1 horas para assepsia. Após o resfriamento, foi destinada a formulação de meio de cultura alternativo.

2.2.2 Coleta, secagem e preparação das amostras para análises físico-química, centesimal e mineral.

Frações dos substratos pré e após-cultivo foram retiradas para as análises físico-químicas, centesimais e minerais após passarem por moinho de facas as 40 mesh. homogeneizados por tipo de substrato e secos em estufa com ar circulante a 55 ºC. Depois de moídas foram armazenadas em frascos hermeticamente fechados e acondicionados em

refrigerador. Da mesma forma, os cogumelos de cada tipo de substrato em que foram cultivados foram processados, acondicionados em frascos hermeticamente fechados e mantidos sob refrigeração para posteriores análises físico-químicas e da composição centesimal e mineral.

2.2.3 Análises físico-químicas dos substratos elaborados, pós cultivo e cogumelos

As análises físico-químicas avaliaram teores de matéria seca, umidade, carbono orgânico, nitrogênio total, proteína bruta, relação carbono: nitrogênio e pH.

2.2.3.1 Determinação do Conteúdo de Umidade e Massa Seca

O conteúdo de umidade das amostras foi determinado pelo método de dessecação até a massa constante. As amostras foram pesadas em cadinhos de porcelana e submetidas à secagem definitiva em estufa com circulação forçada de ar a 105 °C por 04 horas. Depois da obtenção da massa seca os cadinhos foram pesados e registrados os pesos. A umidade foi expressa em % através da fórmula:

$$U\ \% = \frac{M1 - M2}{M1} \times 100$$

U = Percentual de umidade

M1 = Massa inicial da amostra

M2 = Massa final da amostra

A massa seca foi calculada como sendo **MS% =** 100 – U

2.2.3.2 Determinação de Nitrogênio Total e Proteína Bruta

Para análise de nitrogênio total e proteína bruta aplicou-se o método de Kjeldahl descrito por SILVA E QUEIROZ (2002), envolvendo três etapas: digestão, destilação e titulação. As amostras foram digeridas por acido sulfúrico até a convenção em sulfato de amônia: $[(NH_4)_2\ SO_4]$. Após este processo, o sulfato de amônia foi destilado em destilador de nitrogênio Marcone-MA036 em meio básico (NaOH 60%), liberando gás amônia (NH_3), o qual foi recolhido em ácido bórico formando borato de amônia ($NH_4H_2BO_3$). O borato de amônia foi titulado com ácido clorídrico (HCl) 0,01N e os resultados foram

expressos em % de nitrogênio e, consequentemente, a quantidade de proteína que a mesma contém, utilizando-se a fórmula:

$$\text{Nitrogênio } \% = (V \times N \times 0{,}014/M) \times 100$$

V: Volume de HCl gasto na titulação, mL

N: Normalidade: 0,01

M: Massa de amostra (g)

Para a conversão de nitrogênio em proteína utilizou-se a fórmula a seguir, considerando-se que 100g de proteína contêm, em média, 16% de nitrogênio: P% = N x 6,25 para os substratos e 4,38 para os cogumelos.

2.2.3.3 Determinação do teor de carbono orgânico

O carbono orgânico foi determinado pelo método Walkley Black, conforme Mendonça et al., (2005), em que consiste na oxidação da amostra com solução de dicromato de potássio em meio ácido e titulação com sulfato ferroso amoniacal. Conforme Sales-Campos (2008), trabalhou-se com 0,01g da amostra em vez de 0,5g devido a grande quantidade de carbono presente na amostra. A determinação da quantidade de carbono deu-se pela oxidação do mesmo por via úmida (dicromato + ácido sulfúrico) e a maximização da oxidação por aquecimento externo. O resultado foi obtido por duas fórmulas complementares:

A = [(Vba – Vam) (Vbn – Vba)/Vbn] + (Vba – Vam), onde:

Vba = volume gasto na titulação do branco controle com aquecimento;

Vbn = volume gasto na titulação do branco controle sem aquecimento;

Vam = volume gasto na titulação da amostra.

$$\%C = \frac{(A)\ (\text{molaridade do sulfato ferroso})\ (3)\ (100)}{\text{Massa da amostra (mg)}}$$

3 = resultado da relação entre o número de mols de dicromato que reage com o ferro, multiplicado pelo número de mols de dicromato que reage com o carbono, multiplicado pela massa atômica do carbono (12); 100 = unidade de porcentagem.

2.2.3.4 Determinação pH

Seguindo a metodologia (IAL, 2005) preparou-se uma suspensão de 10 mL de água destilada e 1,0 g da amostra sólida. Após homogeneização e repouso de 30 minutos o pH foi mensurado em potenciômetro digital, previamente calibrado com as soluções padrões.

2.3 Composição centesimal dos substratos elaborados, pós- cultivo e cogumelos

As análises centesimais avaliaram: teores de fibra em detergente ácido, fibra em detergente neutro, lipídios, cinzas e carboidratos totais.

2.3.1 Determinação de Fibra Detergente Neutro (FDN) e Fibra Detergente Ácido (FDA)

Inicialmente, os resíduos das cultivares de banana foram triturados em moinho de facas para ter sua granulometria reduzida a 0,5 mm. Em seguida, foram pesados cerca de 0,35g da amostra em saquinhos de tecido TNT, sendo posteriormente lacrados em seladora. Os saquinhos foram submetidos ao processo de lavagem com detergente neutro (FDN) para a remoção de gorduras, ácidos graxos e outros componentes da parede celular. As amostras permaneceram em banho termostatilizado por 70 min à 97 ºC. Ao final do tempo, ocorreu a lavagem das mesmas com água deionizada fervente por 5 minutos, em três vezes. Após essa etapa, as amostras foram lavadas com acetona a fim de retirar a água das mesmas e, posteriormente, seguiram para secagem em estufa a 105 ºC por 3h. Em seguida, as amostras foram acondicionadas em dessecador, pesadas e submetidas ao cálculo por diferença de massas.

A próxima etapa foi submeter as mesmas amostras à lavagem com detergente ácido (FDA). Para isso, foi necessário submeter as amostras no banho termostátil por 60 minutos a 97 ºC, seguido de lavagem com água e acetona. As amostras foram submetidas novamente à secagem em estufa por 3h a 105ºC e novamente pesadas.

2.3.2 Determinação de lipídios

As amostras dessecadas foram submetidas à extração com misturas de solventes a frio, pelo método Bligh and Dyer em triplicatas. Nesta técnica os solventes utilizados foram clorofórmio, metanol e água. Neste processo, a amostra é misturada aos solventes e a fase de clorofórmio contém os lipídeos. Esta fase é separada após a evaporação do clorofórmio. A quantidade de lipídeos é obtida por pesagem e os resultados são expressos em gramas por 100g de amostra (CARVALHO et al., 2002).

2.3.3 Cinzas ou resíduo mineral fixo

O teor de cinzas de uma amostra corresponde ao resíduo mineral fixo, obtido após a decomposição de todos os componentes orgânicos. A análise consistiu em dessecação das amostras, pesagem em torno de 1g em triplicata, carbonização e calcinação em mufla, a 550ºC. Os resultados foram expressos em % (A.O.A.C, 1997).

2.3.4 Carboidratos totais

Foram calculados por diferença (100 – gramas totais de umidade, proteína, lipídios e cinzas), inclui a fração fibra. O resultado é dado em termos percentuais (LATINFOODS, 2002; NEPA, 2006).

2.4 Análise de macro e micro minerais do substrato elaborado, pós-cultivo e cogumelo

As análises minerais avaliaram os teores de macro e micronutrientes presentes nas amostras. Todas as análises foram conduzidas em triplicata.

2.4.1 Procedimentos experimentais

Toda vidraria e recipientes para a armazenagem de soluções foram lavados com detergente, posteriormente imersos durante 24 horas em solução de HNO_3 10%, enxaguados com água deionizada, secos em capela de fluxo laminar e guardados em compartimento fechado.

Todas as soluções foram preparadas empregando-se água deionizada em sistemas de ultrapurificação Milli-Q, permitindo obter água com elevado grau de pureza.

Uma balança anaítica da marca Mettler Toledo, com precisão analítica de até 0,0001 foi utilizada para pesagem das amostras. Foram pesadas 0,5 gramas da amostra. Todos as análises foram realizadas em triplicata.

Para digestão das amostras foi utilizados um formo microondas de alta pressão, modelo UltraWAVE, com pré-pressurização da cavidade com nitrogênio (máximo 200 bar e 300°C) para contrabalançar a pressão gerada no interior dos frascos de digestão, equipado com 12 frascos de disgestão de 20 mL, de politetrafluoroetileno.

Visando a determinação simultânea de Cu, Mn, Zn, Ni, Fe, Co, Na, Ca, K, Mg foi utilizado um ICP OES, modelo Icap 7000 SERIES, equipado com fonte de radiofrequência de 27,12 MHz, que permite ajuste da potência aplicada de 750 a 1350 W, policromador Echelle com densidade óptica de 52,19 linhas/mm, óptica purgada com argônio, que permite intervalo de trabalho de 166,25 a 847,0 nm, distância de 383 nm, com possibilidade de medida no modo de vista axial e/ou radial, e detector simultâneo CID (Charge Injection Device). O gás utilizado para purgar a óptica e formar o plasma foi argônio 99,998%. O sistema de introdução foi um nebulizador Burgener Mira Mist, câmara de nebulização do tipo ciclônica e tocha de quartzo do tipo desmontável, com diâmetro do canal central de 2,0 mm. Os teores foram expressos em µg/g.

2.5 Cultivo de *Pleurotus ostratus* em diferentes substratos de bananeira

2.5.1 Linhagem fúngica

A linhagem do fungo *Pleurotus ostreatus* NATB foi acessada da Micoteca do Laboratório de Cultivo de Cogumelos, Labfungi, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, Brasil. Pequenos fragmentos foram inoculados assepticamente em placas de Petri em meio BDA e incubadas por 7 dias a 25ºC para reativação da colônia.

2.5.2 Matriz secundária

Inóculos (discos de 9 mm de diâmetro) de *Pleurotus ostreatus* NATB previamente miceliados em meio BDA foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura alternativo preparados a partir da infusão dos resíduos de bananeira (pseudocaule e engaço). Para obtenção da matriz secundária, que serviu como fonte de inóculo para a semente em meio de cultura elaborado a partir do resíduo do pseudocaule da cultivar thap-maeo (PSTM), pseudocaule da cultivar prata-anã (PSPA), engaço da cultivar thap-maeo (ENTM) e o engaço da prata anã (ENPA).

Os meios de cultura foram preparados a partir da infusão do substrato (100g) em 1L de água fervente, durante 30 minutos (Sales-Campos, 2008). O Meio foi filtrando em algodão e completado o volume para 1L. Os diferentes meios foram autoclavados a 121 ºC durante 60 minutos e em seguida em ambiente totalmente estéreo foram vertidas em Placas de petri e pós solidificação inoculado em câmara de fluxo laminar e encubado a 25ºC em BOD.

2.5.3 Matriz terciária

A matriz foi elaborada a partir da metodologia proposta por Sales-Campos (2008). Os resíduos secos e triturados foram umidificados à 75% e depositados em frascos de vidro de 1800 mL, na quantidade de 500 g, os quais foram fechados e autoclavados a 121°C durante 60 minutos. Após o resfriamento, em condições estéreis, foram inoculados nos frascos de vidro, fragmentos de micélio da matriz secundária de acordo com os substratos preparados (PSTM, PSPA, ENPA, ENTM). Os frascos foram fechados e mantidos em BOD a 25 ºC até a completa colonização do substrato pelo fungo.

2.5.3 Cultivo de *Pleurotus ostreatus* NATB

Os substratos para o crescimento fúngico foram elaborados utilizando os resíduos secos e triturados (pseudocaule e engaço) realizando-se quatro tratamentos (PSPA, PSTM, ENPA, ENTM), com 10 repetições para cada tratamento. A umidade do substrato foi ajustada para 75%. Não foi adicionado $CaCO_3$, pois o pH da mistura não necessitou de correção e nem adicionada fonte de suplementação. Os substratos foram inseridos em sacos do tipo PEAD (polietileno de alta densidade), em seguida vedados e autoclavados durante 1 hora. Após o resfriamento dos sacos, porções retiradas da matriz terciária foram inoculadas em câmara de fluxo laminar nos sacos com substrato. Os sacos receberam um respiro de esponja sintética para facilitar as trocas gasosas e foram inseridos aleatoriamente em uma câmara com temperatura e umidade controladas, 80% de umidade e 25ºC de temperatura. Os tratamentos foram incubados no escuro para miceliação. A partir do início dos primórdios adotou-se fotoperíodo a cada 12 horas para frutificação do cogumelo.

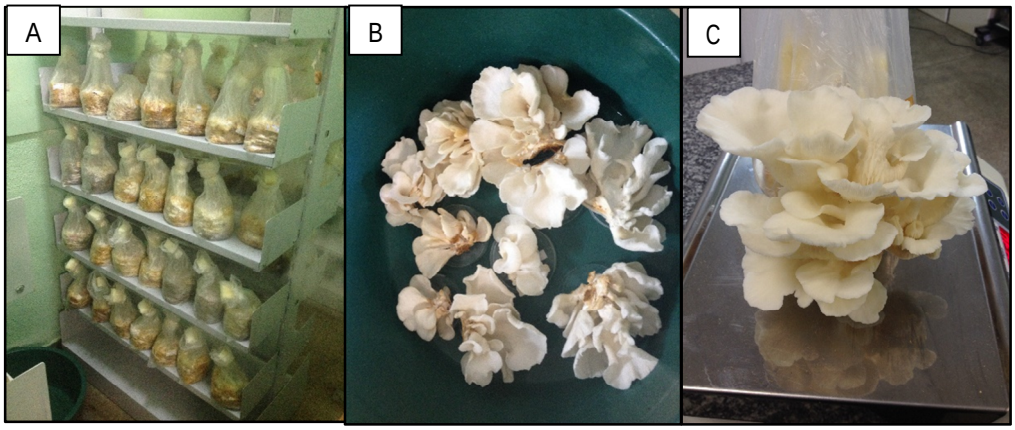

Figura 7: A – Cultivo; B – colheita; C – basidiomas de *P. ostreatus*

A produtividade dos cogumelos foi expressa através do cálculo da Eficiência Biológica durante o cultivo. Eficiência biológica (EB) representa o percentual de conversão de substrato em biomassa fúngica (cogumelos).

$$EB\ (\%) = \frac{\text{Massa fresca de cogumelos (g)}}{\text{Massa seca de substrato (g)}} \times 100$$

A Perda de matéria orgânica (PMO) é o índice que avalia a decomposição do substrato pelo fungo. Tal índice é baseado na perda da matéria orgânica decomposta pelo fungo que é determinado através da diferença entre a massa seca do substrato inicial, e a massa seca do substrato residual. A PMO foi avaliada conforme Sturion, (1994), expressa pela seguinte fórmula:

$$PMO\ (\%) = \frac{\text{Massa seca do substrato inicial – massa seca do substrato pós cultivo (g)}}{\text{Massa seca do substrato inicial (g)}} \times 100$$

O rendimento (g/kg) de *Pleurotus ostreatus* foi calculado através da massa fresca de cogumelo produzido pela massa fresca de substrato utilizado.

$$R\ (\%) = \frac{\text{Massa fresca de cogumelo produzido (g)}}{\text{Massa fresca do substrato inicial (kg)}} \times 100$$

2.5.4 Colheita

Foi estabelecido o limite de 30 dias de cultivo, a determinação do ponto de colheita foi realizada de forma visual, conforme descrito por Sturion (1994).

2.5.5 Avaliação biológica

Durante o cultivo, foram analisadas as seguintes variáveis: crescimento micelial do fungo (tempo de colonização do substrato), período de emissão dos primórdios, frutificação, número de fluxos. Foram mensurados: diâmetro do píleo e tamanho do estipe do cogumelo cultivado nos diferentes substratos de bananeira.

2.6 Análise Estatística

Foi utilizado o softwer Bioestat 7.0 para leitura dos dados. O experimento foi inteiramente casualizado. Foram comparadas as médias entre o mesmos tipos de substrato (pseudocaule ou engaço) e dentro de substratos de uma mesma cultivar de bananeira. Foi utilizado o teste ANOVA para análise de variâncias e o teste de Tukey para contraste das médias ($p<0,05$).

2.7 Resultados e Discussão

2.7.1. Análise físico-química de substrato pré e pós-cultivo

A Tabela 1 apresenta os resultados das análises físico-químicas pré e pós-cultivo: carbono, nitrogênio, relação C:N, matéria seca e pH. O conhecimento desses parâmetros se faz necessário para o conhecimento da constituição química do substrato, e partir disso o conhecimento do comportamento fisiológico da linhagem fúngica.

O resultado para o conteúdo de nitrogênio nos substratos pré-cultivo apresentaram-se maior nos substratos nos engaços das cultivares, com maior teor observado no engaço da cultivar prata-anã (PSPA) com 1,05% de nitrogênio, seguido da

média em engaço da cultivar thap-maeo (ENTM) 0,98%. Os menores teores foram observados nos pseudocaules das duas cultivares (PSPA e PSTM), ambos com 0,75% de nitrogênio (Tabela 1).

Rampinelli (2016) testando água de imersão e o pó da casca da banana para crescimento de *P. sajor-caju* encontraram percentuais médios de nitrogênio de 2,84 ± 0,25 % e 2,49 ± 0,27 %, respectivamente em substratos pré-cultivo. Estudos de Moda (2013) utilizando bagaço de cana-de-açúcar lavado sem suplementação para o cultivo de *P. sajor-caju* encontrou teores de 0,48% de nitrogênio.

Aguiar (2016) testando diversos substratos agroindustriais amazônicos e madeireiro, relatou teores de nitrogênio de 0,15% (pinus) a 0,45% (açaí, castanha e tucumã) em matérias-primas para formulação de substratos para cultivo de *P. ostreatus.* Vieira (2016) utilizando a palha de cana e farelo de trigo para produção de *P. ostreatus* relatou percentuais de nitrogênio de 3,20 e 0,95% respectivamente.

Silva et al. (2007) ao estudarem diferentes composições de substrato a base de capim coast-cross, bagaço de cana, farelo de trigo e uréia, para o cultivo axênico de *P. sajor caju*, verificaram que as composições que apresentavam teores de nitrogênio superiores a 1,3% inibiram a colonização do substrato.

A quantidade de nitrogênio pode afetar diretamente o comportamento do cogumelo. Donini et al., (2005) relata que altas concentrações do elemento podem desfavorecer a degradação da liginina da parede celular pelo fungo, podendo retardar ou mesmo inibir a corrida micelial. Graciolli et al., (2010) enfatiza que o excesso de N mineral ou orgânico pode inibir a síntese de enzimas que degradam a lignina.

Outro fator estudado, foi a relação C:N, que foram superiores nos substratos elaborados com pseudocaules, com maior média em substrato prata-anã (43,79%) (Tabela 1). Por outro lado, os engaços apresentaram menor relação, pois apresentaram maiores teores de nitrogênio. A relação C:N é fundamental para o entendimento dos fatores de produtividade, uma vez que o metabolismo fúngico depende grandemente desses parâmetros.

Em estudos de Carvalho et al., (2012) trabalhando com quatro cultivares de bananeira e diferentes resíduos (pseudocaule, folha e pseudocaule + folha) encontraram resultados superiores para carbono, nitrogênio e consequentemente a relação C:N nos substrato pré-cultivo. Os autores registraram 47,8 e 45,9% para o teor de carbono e 1,1% para o teor de nitrogênio em substratos a base de pseudocaule de thap-maeo e prata-anã respectivamente.

A relação C/N do substrato é um fator importante no cultivo de *Pleurotus* e interfere tanto na colonização do substrato, como na produção de cogumelos (PHILIPPOUSSIS et al., 2001). No cultivo axênico, isto é, quando o substrato é submetido a uma esterilização, a relação C/N ideal está entre 20 a 50/1 (EIRA, 2004). Estando nossos resultados em conformidade.

Nesse sentido, Figueiró et al., (2011), investigando a influência da composição química do substrato no cultivo de *Pleurotus florida*, dentre eles a folha da bananeira, relatou o percentual de 20,2 para este substrato referente a relação C:N e 44,2 e 46,2 para palha de arroz e palha de feijão respectivamente. Na ocasião os autores atribuíram o favorecimento do cultivo de *P. florida* a diversos fatores, dentre eles, a relação C/N em torno de 45. O que corrobora com os percentuais de C:N dos substratos a base de pseudocaules.

O conteúdo de matéria seca nos substratos pré-cultivo variaram de 89,13 a 90,59%, em paralelo os teores de umidade variaram de 8,17 a 10,87% (Tabela 1), considerado teores relativos à matéria seca, propício para um maior tempo de durabilidade e armazenagem, por não favorecer o desenvolvimento de microorganismos contaminantes. Semelhantemente Rampinelli (2016) encontrou teores de 8,7% de umidade em cascas de banana utilizadas no cultivo de *P. florida*. Fonseca et al. (2013) observou teores de 9,61% em resíduos de casca de cupuaçu.

No que diz respeito ao pH nos substratos pré-cultivo, os pseudocaules apresentaram faixas 5,91 e 5,14 para prata-anã e thap-maeo respectivamente, por outro lado, os engaços apresentaram faixas superiores, 6,5 e 6,0 para os substratos supracitados (Tabela 1). Esse parâmetro influência na solubilidade dos nutrientes presentes no substrato e o transporte destes para às células fúngicas, além disso pode influenciar as reações enzimáticas desenvolvidas durante o metabolismo (CHEN et al. 2014).

Tabela 1 - Resultado das análises físico-químicas dos substratos elaborados pré e pós cultivo: nitrogênio (N), carbono (C), relação C:N, matéria seca (MS), Umidade (U) e pH.

Cultivar		Substrato.	N%	C%	C:N	MS %	U %	pH
Prata-anã	Substrato pré-cultivo	PSPA	0.75 Bb (0.05)	32.91 Aa (1.23)	43.79 Aa (0.92)	90.59Ab (0,17)	9.41Ab (0.17)	5.91 (0.5)
		ENPA	1.05 Aa (0.05)	30.58 Bb (1.50)	28.96 Bb (0.86)	89.13Aa (0.11)	10.87Aa (0.11)	6.50 (0.82)
Thap-maeo		PSTM	0.75 Ba (0.004)	32.62 Aa (1.45)	43.48 Aa (1.23)	91.83Bb (0.13)	8.17Bb (0.13)	5.14 (0.2)
		ENTM	0.98 Aa (0.06)	32.07 Aa (1.12)	32.68 Ab (0.88)	89.57Aa (0.12)	10.43Aa (0.12)	6.02 (0.65)
Prata-anã	Substrato pós-cultivo	PSPA	1.02 Aa (0.02)	20.21 Bb (0.77)	19.81 Ba (0.87)	87.19Ba (0.04)	12.81Ba (0.04)	4,70 (0.3)
		ENPA	1.14 Ba (0.02)	24.61 Ba (1.27)	19.22 Aa (1.12)	87.28Ba (0.19)	12.72Ba (0.19)	5,80 (0.6)
Thap-maeo		PSTM	0.89 Bb (0.09)	21.91 Ab (0.47)	34.10 Aa (0.73)	82.76Bb (0.05)	17.24Aa (0.05)	4.14 (0.5)
		ENTM	1.53 Aa (0.09)	26.76 Aa (1.78)	12.92 Bb (1.03)	83.87Aa (0.05)	16.13Aa (0.05)	5.00 (0.45)

Substratos pré-cultivo e pós-cultivo (pseudocaule e engaço) de duas cultivares de bananeira (thap-maeo e prata-anã). PSPA e PSTM: substratos elaborados a partir do pseudocaule de prata-anã e thap-maeo respectivamente. ENPA e ENTM : substratos elaborados a partir dos engaços de prata-anã e de thap-maeo respectivamente. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão. Letras maiúsculas comparam médias dentro de um mesmo tipo de substrato de bananeira; letras minúsculas comparam médias dentro de substratos de uma mesma cultivar. Média de três repetições. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%)

Em relação ao teor de carbono que inicialmente variou de 30,58 (ENPA) a 32,91 (PSPA), quando comparado aos teores nos substratos pós-cultivo, foi observada redução desta variável. O decréscimo no teor de carbono foi superior nos substratos constituídos por pseudocaule de prata-anã e menor nos substratos à base de engaço de prata-anã (Tabelas 1). Nos substratos à base de pseudocaule da cultivar thap-maeo também houve perda de carbono, com aumento nos teores de nitrogênio. Ocasionado pelo consumo fúngico, que necessita de maior quantidade de material lignocelulósico para o seu metabolismo, em contrapartida o aumento do teor de nitrogênio, para a maioria dos substratos, pode ser atribuído à presença de micélio do fungo.

De acordo com Zadrazil (1978) e Sturion (1994), a redução ocorre em função do maior consumo dos componentes polissacarídeos e da lignina no processo de formação dos basidiomas, provocando considerável diminuição do teor de carbono e perda de CO2 durante a síntese do substrato.

Em estudos de Bonatti (2003), utilizando a palha de bananeira, após um fluxo produtivo de *P. ostreatus* houve um aumento no teor de nitrogênio. Em experimentos com a palha de arroz, após um fluxo produtivo de *P. ostreatus* e *P. sajor caju* apresentou um aumento no teor de nitrogênio de 35,7% e 37,5%, respectivamente. O autor relacionou o aumento do teor de nitrogênio ao crescimento do micélio sobre o substrato, que após o cultivo, agregou a composição micelial nos seus resultados.

Resultado semelhante foi obtido por Belewu e Belewu (2005) quando cultivaram *Volvariella volvaceae* em folha de bananeira. Belewu (2006) atribuiu o aumento de N no substrato residual após o cultivo de *P. ostreatus* a proteína fúngica, quando utilizaram resíduo do algodoeiro e serragem de masonia para o cultivo deste fungo.

Vale ressaltar que ao nível de 95% de probabilidade pelo teste de Tukey ($p<0,05$) houve diferenças estatísticas entre substratos de mesma cultivar em relação aos teores de carbono e nitrogênio, comprovando a diferença na composição dos substratos de indivíduos de mesma espécie.

Outra mudança ocorrida foi a diminuição do pH em todos os substratos, deixando-os mais ácidos. Os pseudocaules após o cultivo apresentaram faixas de pH próximo a 4 e os engaços em torno de 6 (ENTM) e 6,5 (PSPA) (Tabela 1). *P. ostreatus* a medida que degradou o substrato também diminuiu o pH do mesmo, indicando que os nutrientes foram solubilizados por reações enzimáticas, o que permitiu que os nutrientes ficassem disponíveis.

2.7.2 Análise centesimal dos substratos pré e pós-cultivo

Os teores de proteína bruta, FDN, FDA, lipídios, cinzas e carboidratos totais dos substratos pré e pós-cultivo estão apresentados na Tabela 2.

Os teores de proteína bruta nos substratos pré-cultivo variaram, uma vez que é calculado a partir do teor de nitrogênio total. Variando de 4,69% a 6,13%, sendo que o menor teor foi observado no pseudocaule de prata-anã e o maior teor para o engaço da referida cultivar. Vale ressaltar que ao nível de 95% de probabilidade pelo teste de Tukey ($p<0,05$) houve diferenças estatísticas entre substratos de mesma cultivar em relação aos teores de nitrogênio e proteína bruta, comprovando a diferença na composição de diferentes partes da planta.

Os percentuais de fibra detergente neutro (FDN) nos substratos pré-cultivo, variaram de 63,52 a 74,95%, sendo que o menor teor foi observado em substrato pseudocaule de thap-maeo e o maior teor no substrato pseudocaule de prata-anã. Já em relação a fibra detergente ácido (FDA) nos substratos pré-cultivo, pseudocaule de prata-anã apresentou o maior teor (52.29%) e pseudocaule de thap-maeo o menor teor (47,14%).

Teores inferiores foram observados por Carvalho et al., (2014) estudando quatro cultivares de bananeira para o cultivo de *P. ostreatus*, dentre elas prata-anã e thap-maeo. Percentuais iniciais de FDN para os substratos pseudocaule de prata-anã e pseudocaule de thap-maeo foram de aproximadamente 72% para ambas as cultivares. Já os teores de FDA iniciais dos pseudocaules de prata-anã e thap-maeo observados foram 48 e 39% respectivamente. Mostrando-se diferentes dos resultados da presente pesquisa.

A análise para determinar os valores de Fibra Detergente Ácido (FDA) visa estimar os constituintes menos solúveis da parede celular da matéria prima, tais como: celulose, lignina, nitrogênio insolúvel, cinzas insolúveis em ácido e sílica (CARVALHO et al., 2014). Já a Fibra Detergente Neutro é constituída basicamente de celulose, hemicelulose, lignina, proteína lignificada e cinzas insolúveis (SOUZA; NOGUEIRA, 2005).

Os teores de lipídios para os substratos iniciais variaram de 0,75 a 0,93%, o menor teor atribuído ao substrato pseudocaule de prata-anã e o maior aos substratos engaço de prata-anã e engaço de thap-maeo. Em todos os substratos estudados o percentual ficou abaixo de 1%, mostrando-se um teor baixo quando comparado aos dados da literatura.

Em estudos de Carvalho et al., (2014) foi observado percentuais superiores para os substratos iniciais de pseudocaule de prata-anã (1,72%) e thap-maeo (2,51%). No estudo os maiores teores ocorreram nas folhas de cultivares de bananeira.

O teor de cinzas variaram nos substratos iniciais de 6,45 (PSTM) a 11,07% (ENPA). Indicando que o substrato é rico em minerais, já que o teor de cinzas mostrou-se elevado, com destaque para os teores encontrados nos engaços, com destaque para prata-anã (PSPA). A composição química do substrato influencia diretamente na composição do cogumelo produzido, permitindo o acúmulo de determinados elementos minerais nos basidiomas.

Oposto aos nossos resultados, Carvalho et al., (2014) alcançou resultados inferiores nos pseudocaules estudados, aproximadamente 4% para prata-anã e 2,5% para thap-maeo para os substratos pré-cultivo.

Os carboidratos totais nos substratos pré-cultivo, que incluem a fração fibra, oscilaram de 70, 52% (ENPA) a 79,63% (PSTM), estando presentes em maiores quantidades nos pseudocaules (Tabela 2).

Nesse sentido, o conhecimento da composição do substrato elaborado para cultivo de cogumelo é importante para o conhecimento da resposta do microrganismo e suas implicações. De acordo com Furlani (2004), dentre os muitos fatores que podem influenciar o valor protéico dos cogumelos talvez o mais importante seja o substrato.

Tabela 2 - Composição centesimal do substrato pré e pós-cultivo de *Pleurotus ostreatus*.

Cultivar		Substratos	PB %	FDN %	FDA%	Lipídios%	Cinzas%	Carboidratos Totais
Prata-Anã	Substrato pré-cultivo	PSPA	4.69 Ab (0.34)	74.95 Aa (0,50)	52.29 Aa (1,07)	0.75 Bb (1,20)	7.53 Ab (0,48)	77.60 Ba (0,56)
		ENPA	6.60 Ba (0.23)	73.15 Ab (0,80)	50.56 Bb (0,55)	0.93 Aa (0,53)	11.07 Ba (0,20)	70.52 Bb (0,36)
Thap-Maeo		PSTM	4.90 Ab (0.02)	63.52 Bb (8,35)	47.14 Bb (6,75)	0.83 Ab (0,60)	6.45 Bb (0,22)	79.63 Aa (2,31)
		ENTM	6.13 Ba (0.40)	72.75 Aa (1,20)	52.28 Aa (1,04)	0.93 Aa (0,86)	8.41 Aa (0,25)	74.08 Ab (0,57)
Prata-Anã	Substrato pós-cultivo.	PSPA	6.38 Ab (0.22)	55.98 Aa (0.33)	42.81Aa (1.02)	0.64 Aa (0.56)	21.57 Aa (0.12)	58.59 Ab (0.33)
		ENPA	7.15 Ba (0.22)	49.04 Ab (0.75)	42.33Aa (2.03)	0.36 Bb (0.06)	15.80 Bb (0.05)	63.97 Aa (0.50)
Thap-Maeo		PSTM	6.45 Bb (0.05)	54.6 Ba (0.76)	41.92Ba (0.78)	0.51 Bb (0.14)	18.55Ba (0.32)	59.25 Aa (0.30)
		ENTM	9.57 Aa (0.01)	50.69 Ab (0.81)	40.76Bb (1.10)	0.66 Ba (1.16)	18.43 Aa (0.21)	54.80 Bb (0.48)

Composição centesimal dos substratos pré e pós-cultivo (pseudocaule e engaço) de duas cultivares de bananeira (thap-maeo e prata-anã). PSPA: substrato pseudocaule de prata-anã; ENPA: substrato engaço de prata-anã; PSTM: susbstrato pseudocaule de thap-maeo; ENTM: substrato engaço de thap-maeo. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão. Letras maiúsculas comparam médias dentro de um mesmo tipo de substrato de bananeira; letras minúsculas comparam médias dentro de substratos de uma mesma cultivar. Média de três repetições. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).

Qauando comparados os teores centesimais entre substratos iniciais e finais, foi observado o aumento no teor de proteína bruta nos substratos pós-cultivo (Tabela 2), com destaque para o substrato engaço da cultivar thap-maeo que apresentou aumento 35,9%, seguido do aumento em substrato pseudocaule de prata anã com 26% e substrato engaço de prata anã com aumento de 7.7%.

Corroborando com os resultados da presente pesquisa, Gonçalves et al., (2010) utilizando resíduos da indústria de algodão, observou que houve aumento do teor de proteínas durante o cultivo do *Pleurotus* de todos os substratos testados, possivelmente relacionado à produção de proteína microbiana, durante o processo de crescimento micelial, na colonização do substrato.

Estudos de Motato et al., (2006) utilizando como substratos folhas de bananeira e serragem de jequitibá para o cultivo de *P. djamor* também relatam aumento no teor de proteínas nos substratos, registrando percentual inicial de 1,2 % e após o cultivo 5,1%, aumento de 76% de proteína.

Por outro lado, Duprat (2012) utilizando bainhas e folhas de pupunheira para o cultivo de *P. ostreatus* notaram redução nos teores de proteínas dos substratos finais quando comparados aos substratos iniciais dos diferentes tratamentos (bainha, folha e bainha + folha 1:1). A autora relatou decréscimo no substrato bainha de 3,84 para 3,33 % de proteína, decréscimo no substrato folha de pupunheira de 7,51 para 5,74% e também na formulação bainha + folha de 4,15 para 2,77% de proteínas. Situação similar aos dados observados para os substratos a base de pseudocaule de thap-maeo que registrou 10% de queda no teor de proteína bruta.

Os percentuais de fibra detergente neutro (FDN) no susbtrato pós-cultivo também variaram de 49,04 a 55,98% (Tabela 2), sendo que o menor teor foi observado em substrato engaço de prata-anã e o maior teor no substrato pseudocaule de prata-anã. Já em relação a fibra detergente ácido (FDA) nos substratos pós-cultivo, pseudocaule de prata-anã apresentou o maior teor (42,81%) e engaço de thap-maeo o menor teor (40,76%) (Tabela 2).

Teores inferiores foram observados por Carvalho et al., (2014) estudando quatro cultivares de bananeira para o cultivo de *P. ostreatus*, dentre elas prata-anã e thap-maeo. Percentuais iniciais de FDN para os substratos pseudocaule de prata-anã e pseudocaule de thap-maeo foram de aproximadamente 72% para ambas as cultivares. Já os teores de FDA iniciais dos pseudocaules de prata-anã e thap-maeo observados foram 48 e 39% respectivamente.

Quando comparados as médias iniciais e finais (Tabela 2) observa-se a redução do teor de fibras FDN e FDA em todos os substratos utilizados no cultivo de *P.ostreatus* NATB. Fato semelhante observado também por Carvalho et al., (2014), porém com menor percentual de redução, apresentando teores finais de FDN de 47% e 52% para os pseudocaules de prata-anã e thap-maeo e teores finais de FDA de 39 e 37% respectivamente.

A análise para determinar os valores de Fibra Detergente Ácido (FDA) visa estimar os constituintes menos solúveis da parede celular da matéria prima, tais como: celulose, lignina, nitrogênio insolúvel, cinzas insolúveis em ácido e sílica (CARVALHO et al., 2014). Já a Fibra Detergente Neutro é constituída basicamente de celulose, hemicelulose, lignina, proteína lignificada e cinzas insolúveis (SOUZA; NOGUEIRA, 2005).

De acordo com Castro (2003) reduções nos teores de FDA e FDN no substrato residual são esperadas, pois fungos do gênero *Pleurotus* sp., tem a capacidade enzimática de degradar componentes da parede celular presentes em matéria prima de origem vegetal.

Pesquisas de Holtz (2008), utilizando resíduos de algodão da indústria têxtil como substrato para *P. ostreatus*, também observou a redução no teor de fibras antes (66,2%) e após (54,88%) o cultivo com o fungo. Fato semelhante ao observado por Duprat (2012) nos substratos bainha, folha e bainha e folha de pupunheira quando cultivados com *P. ostreatus*. Gonçalves et al., (2010) utilizando como substratos resíduos de algodão da indústria têxtil para o cultivo de *P.sajor-caju* também observou queda nos percentuais de FDN e FDA entre os substratos iniciais e pós-cultivo nas diferentes formulações testadas.

Quando os substratos iniciais e finais são comparados observa-se a redução dos teores de lipídios (Tabela 2), possivelmente sintetizado para produção do basidioma.

Em estudos de Carvalho et al., (2014) também foi observado redução dos teores de lipídios em todos os substratos estudados. Vale ressaltar que os autores observaram percentuais superiores para os substratos iniciais de pseudocaule de prata-anã (1,72%) e thap-maeo (2,51%). No estudo os maiores teores ocorreram nas folhas de cultivares de bananeira.

Semelhantemente pesquisas de Motato et al., (2006) relatam a redução do teor lipídico de substratos de bananeira quando cultivados com *P. djamor*. Em pesquisas com *P.ostreatus* cultivados em resíduos palha de bananeira, bainhas e folhas de pupunheira e substratos formulados a partir de resíduos da agroindústria amazônica e madeireiros

também foram observadas reduções nos teores lipídicos dos substratos iniciais (STURION, 1994; DUPRAT, 2012; SALES-CAMPOS, 2008).

O teor de cinzas nos substratos pós-cultivo variaram de 15,8 (ENPA) a 21,57% (PSPA). Carvalho et al., (2014) observou teores de 8,5 para PSPA e 10% para PSTM após cultivo com *P. ostreatus*. Segundo Sturion (1994) o aumento no teor de cinzas após o cultivo, é devido à utilização da matéria orgânica pelo fungo.

Duprat (2012) também observou em seus estudos o aumento do teor de cinzas após o cultivo com *P. ostreatus* em resíduos de pupunheira. Silveira (2003), cultivando *P. ostreatus* em palha de bananeira, após um fluxo produtivo abservou aumento de 17% no teor de cinzas nos substratos pós-cultivo e Okano et al. (2007), no cultivo de *Pleurotus eryngii* em bagaço de cana de açúcar.

Os carboidratos totais nos substratos pós-cultivo oscilaram de 54, 80% (ENTM) a 63,97% (ENPA). Quando comparados aos teores iniciais e finais também foram observadas reduções. Possivelmente a redução ocorre devido o consumo do substrato e suas fontes pelo fungo durante o crescimento, bem como pelo aumento da própria degradação do meio, que poderia deixar esses açúcares mais disponíveis (SALES-CAMPOS et al., 2010).

2.7.3 Análise mineral de substrato pré e pós-cultivo

Os teores minerais dos substratos pré e pós-cultivo estão apresentados na Tabela 3. O conteúdo mineral dos substratos pré-cultivo variaram consideravelmente entre as cultivares de bananeira estudadas, sendo observadas diferenças estatísticas significativas

entres resíduos de diferentes cultivares e entre resíduos pertencentes a uma mesma cultivar. Os substratos elaborados mostraram-se ricos em potássio, cálcio, magnésio e ferro, com destaque para os altos teores de potássio.

De acordo com Borges e Oliveira (2000), a bananeira é rica em nutrientes, principalmente potássio (K). No entanto, ocorrem diferenças entre cultivares e até mesmo dentro de um grupo genômico nas quantidades absorvidas, em razão das características genéticas, dos teores de nutrientes no solo, do tipo de manejo, entre outros. Esse nutriente é um importante regulador da atividade celular promovendo a síntese de carboidratos e de proteína.

Já o magnésio tem relações de equilíbrio com cálcio e potássio durante o desenvolvimento da planta, que refletem nos bons rendimentos do cultivo da bananeira e acúmulo em partes diferentes do vegetal (SOUSA; MIRANDA; OLIVEIRA, 2007;

FAQUIN, 2005). No presente estudo os altos teores de potássio, cálcio e magnésio apresentaram-se equilibrados nos diferentes substratos elaborados a partir dos resíduos de diferentes partes da planta.

As espécies do gênero *Pleurotus* apresentam exigências de Ca particularmente elevada (ROYSE, 1992) que favorecem a eficiência biológica do cogumelo. A importância do Ca no crescimento dos fungos é atribuída ao seu papel na ativação enzimática, enquanto Mg é importante no metabolismo pela produção de ATP (GRIFTIN, 1994).

Quando observado os teores de potássio entre pseudocaule e engaço da cultivar thap-maeo, nota-se maiores teores no pseudocaule (27.59 g/kg). Segundo Moreira e Fageria (2009), o acúmulo total de K na parte aérea da bananeira cultivar Thap - maeo é maior no pseudocaule, seguido de frutos, folhas, engaço + brácteas e restos florais.

Em relação aos micronutrientes, o engaço de prata-anã apresentou o maior teor de zinco (84,9 mg/kg) níquel (2,9 mg/kg) e manganês (24,4 mg/kg). Já o pseudocaule da cultivar prata-anã apresentou os maiores teores de Fe (316,0 mg/kg), porém todos muito abaixo das concentrações de K, Ca e Mg.

Na presença de altas concentrações de Mg, a absorção de Zn na bananeira é negativamente afetada (LOPES e ESPINOSA, 1995). Por outro lado, o excesso de potássio também pode causar a inibição na absorção de zinco, induzindo, ou ao menos, contribuindo para a deficiência destes elementos (FLORA et al. (2010).

Tanto o Fe como o Zn e o Mn são importantes para a atividade enzimática e para o metabolismo intermediário dos fungos (GRIFTIN, 1994; MILES; CHANG, 1997). O Zn participa da síntese e da degradação de carboidratos, lipídios e proteínas e também desempenha função primordial na transcrição, consequentemente, na regulação da expressão gênica, além de possuir propriedades antioxidantes (POWELL, 2000).

Os substratos iniciais apresentaram conteúdos minerais propícios para o cultivo de *P.ostreatus* e podem ser decisivos para o desenvolvimento dos basidiomas e para produção excelente.

]]**Tabela 3–** Composição mineral dos substratos pré e pós-cultivo de *Pleurotus ostreatus*.

,		Micro-minerais mg/kg						Macro-minerais g/kg			
Substrato		**Cu**	**Mn**	**Zn**	**Ni**	**Fe**	**Co**	**Na**	**Ca**	**K**	**Mg**
PSPA	**Substrato pré-cultivo**	1.05	17.87	32.19	0.25	316.01	0.04	0.81	76.10	24.58	17.87
PSTM		1.41	17.98	15.60	1.53	44.05	0.00	0.70	81.73	27.59	17.98
ENPA		1.29	24.45	84.92	2.97	64.15	0.03	13.97	35.49	45.65	24.46
ENTM		1.78	14.38	56.38	0.18	156.10	0.05	8.30	38.88	21.17	14.38
PSPA	**Substrato pós-cultivo**	7.39	75.28	81.07	0.94	431	0.14	16.3	15.25	27.9	7.52
PSTM		2.35	30.96	30.36	0.59	309	0.03	12.5	17.18	31.8	3.09
ENPA		3.29	33.99	148.89	0.57	648	0.09	19.6	84.7	40.9	34.0
ENTM		8.64	39.71	129.39	0.67	366	0.07	20.1	85.7	34.8	39.7

PSPA: substrato pseudocaule de prata-anã; ENPA: substrato engaço de prata-anã; PSTM: susbstrato pseudocaule de thap-maeo; ENTM: substrato engaço de thap-maeo. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

Quando comparados os substratos iniciais e finais, foram observadas variações nos teores de minerais. Houve aumento nos teores de minerais para a maioria dos elementos analisados (ferro, cobre, zinco, cobalto, sódio e manganês), com exceção de níquel, cálcio, potássio e manganês (em PSPA e PSTM), que tiveram seus teores reduzidos em relação ao substrato inicial (Tabela 3). Por serem requeridos em grande quantidade para ativação enzimática e para o metabolismo intermediário para degradação da matéria orgânica, potássio e cálcio tiveram seus teores reduzidos em grande proporção

O comportamento de *P. ostreatus* reflete a composição diferenciada de cada substrato, isso pode estar associado à biodisponibilidade desses componentes no meio de cultivo. Os maiores aumentos analisados ocorreram nos engaços das duas cultivares, com destaque para teores de ferro e zinco em ENPA e sódio e magnésio em ENTM.

Carvalho et al., (2014) também observou aumento nos teores de Na, Mn, Fe, Zn e Ca em substratos elaborados a partir da folha, pseudocaule e folha + pseudocaule de bananeiras para o cultivo de *P. ostreatus*. Diferentemente de nossos resultados os autores observaram aumento nos teores de cálcio e inexistência de teores de cobre nos substratos pós-cultivo. O aumento do conteúdo de Mn no substrato favorece a atividade de enzimas lignolíticas e, consequentemente, a degradação do substrato por *P. ostreatus* (KEREN; HADAR, 1995).

Akinfemi e Ogunwole (2012) ao utilizarem palha de arroz para o cultivo de *P. ostreatus*, obtiveram aumentos nos teores de Ca, Cu, Fe e Zn e Mg. Destes apenas o cálcio e magnésio apresentaram redução nos teores em nossos estudos.

De acordo Patil *et al*. (2010), possivelmente o aumento nos teores de micronutrientes no substrato residual deve-se à diminuição da matéria orgânica após a degradação pelo fungo, permitindo, desta forma, os resíduos inorânicos presentes nos substratos.

Sales-Campos (2008) também observou variações no teor de minerais em substratos utilizados no cultivo de *P. ostreatus*, com aumento expressivo. Na pesquisa também foram observadas reduções nos teores de potássio, fato corroborado com nossos resultados. A autora argumentou que tal fato pode estar relacionado com maior solubilização destes elementos no substrato residual, em função da degradação eficiente da matéria orgânica ocasionada pelo fungo.

2.8 Avaliação da produtividade - Eficiência Biológica

A eficiência biológica registrada para *P. ostreatus* nos substratos de bananeira variou de 66,98% (PSPA) a 33,88% (ENTM). Analisando a figura 8, o maior percentual de eficiência biológica foi registrado em substrato a base de pseudocaule da cultivar prata-anã (69,98%), seguido por pseudocaule da cultivar thap-maeo (46%). A eficiência biológica nos engaços das referidas cultivares apresentaram-se semelhantes, prata-anã com 35,32%, seguido por thap-maeo com 33,88% respectivamente.

Ao nível de 95% de probabilidade pelo teste de tukey, houve diferença estatística entre as eficiências biológicas de *P. ostreatus* cultivado nos pseudocaules das duas cultivares testadas, e diferença na eficiência biológica dentre os substratos da cultivar prata-anã. Entre pseudocaule e engaço da cultivar thap-maeo a diferença não foi significativa (p>0,05).

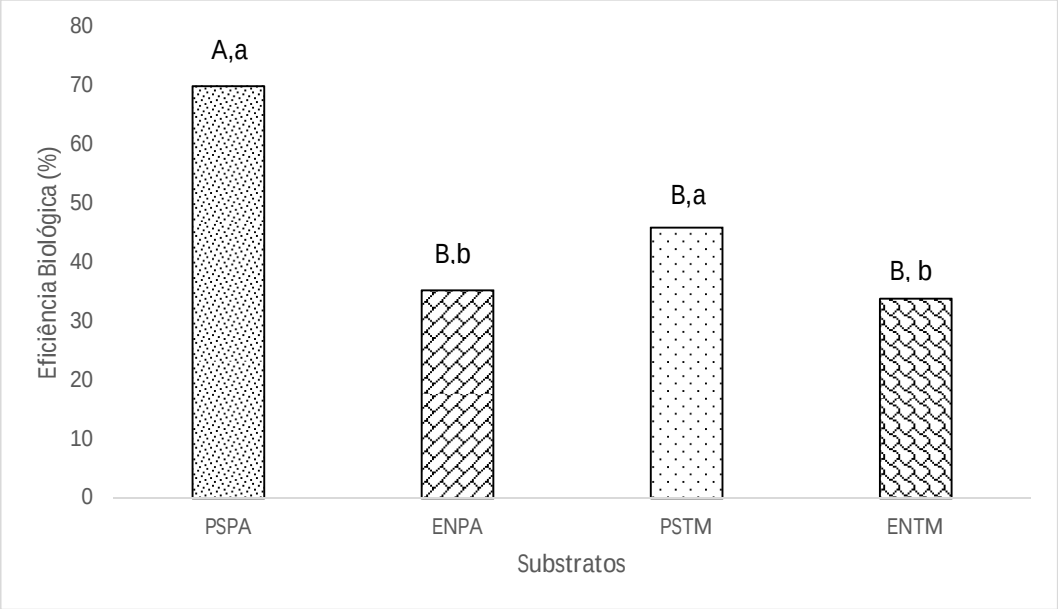

Figura 8: Eficiência biológica média dos diferentes substratos utilizados no cultivo de *Pleurotus ostreatus*. PSPA: substrato pseudocaule de prata-anã; PSTM: substrato pseudocaule de thap-maeo; ENPA: substrato engaço de thap-maeo; ENTM: substrato engaço de thap-maeo. Letras maiúsculas comparam médias dentro de um mesmo tipo de substrato de bananeira; letras minúsculas comparam médias dentro de substratos de uma mesma cultivar. Média de três repetições. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).

A composição dos substratos influenciou os parâmetros produtivos, o que, de acordo com Pedra e Marino (2006) pode ser explicado em função da disponibilidade de nutrientes assimiláveis pelo fungo. Os tratamentos com peseudocaules apresentaram estatisticamente as maiores médias e um efeito positivo dos substratos em função do

parâmetro analisado, indicando uma maior bioconversão de massa seca em carpóforos, com destaque para a produção em peseudocaule de prata-anã.

Já em pesquisa realizada por Carvalho et al., (2012) testando diferentes cultivares e partes de bananeiras para produção de *P. ostreatus* linhagem 09/100, a maior produção foi observada em outro substrato, o pesudocaule de thap-maeo (61.5%), ficando o substrato peseudocaule de prata-anã com apenas 28% de produtividade, fato que não corrobora com o presente estudo.

Bonatti et al., (2003) utilizando folhas de bananeira alcançou percentuais bem menores para *P. ostreatus* (6.34%). Furlan et al. (2008) obtiveram 5,3 e 4,1 % de EB cultivando *P. ostreatus* em resíduos de algodão da indústria têxtil e em palha de bananeira, respectivamente. Duprat et al., (2015) testando folhas de pupunheira para produzir *P. ostreatus* suplementado com 2% de farelo de arroz, alcançou 5% de eficiência biológica. Por outro lado, Sturion (1994) utilizando como substrato palha de bananeira sem suplementação para produção de *P. ostreatus* alcançou percentuais de produtividade superiores (93%).

Resultados semelhantes ao presente trabalho foram obtidos por Silva (2016) testando duas formulações com capim braquiária para produção de duas linhagens de *P. ostreatus* (SB e MB), onde obtiveram EB na formulação 1, capim braquiária + cana-de-açúca, de 72,5% e 86,2% respectivamente, dados similares a EB em pseudocaule de prata-anã (70%).

Ragunathan e Swaminathan (2003), trabalhando com *P. sajor -caju* em diferentes substratos lignocelulósicos, relataram valores de EB entre 37 e 41% com restos de colheita de algodão e 32 e 36% com palha de sorgo moída, dados semelhantes a EB em substratos utilizando engaços das duas cultivares no presente trabalho. Finimundi (2011) também encontrou resultados semelhantes a EB dos engaços, quando testou bagaços de *vitis labrusca* para produção de *P. sajor-caju* PS-2001, alcançando EB de 32%.

Diversos são os fatores que influenciam na EB dos cogumelos. Apesar do gênero *Pleurotus* apresentar-se bastante versátil, capaz de se adaptar a diversos tipos de substratos e temperaturas, a composição do substrato é importante, condições de cultivo ou mesmo a linhagem, parâmetros que podem resultar em percentuais de produção diferenciados. A presente pesquisa confirma a influência da cultivar de bananeira, bem como seus diferentes substratos na eficiência biológica de *P. ostreatus.*

2.8.1 Rendimento

De acordo com os dados da Figura 9, a maior média de rendimento (g/kg) ocorreu em substrato pseudocaule de prata-anã (139,95%). Foi observado que o rendimento médio variou com o tipo de substrato de cultivar de bananeira utilizado, mostrando-se maior em substratos pseudocaules.

Pelo teste de Tukey ($p<0.05$) houve diferença estatística significativa entre os tipos de resíduos e entre os tipos de resíduos de uma mesma cultivar.

Em estudos de Sales-Campos et al., (2010) testando diversos resíduos agroindustriais e madeireiros para produção de *P. ostreatus* foram alcançados percentuais superiores ao presente trabalho, obtendo maiores médias em substrato da estipe da pupunheira triturado (451,80 g/kg), seguido de substrato bagaço de cana-se-açúcar (250,40 g/kg) e serragem de marupá (242,80 g/kg). Dados de rendimento da pesquisadora utilizando serragem de madeira pau-de-balsa são similares aos encontrados para o substrato pesudocaule de prata-anã (161,40g/kg).

Rampinelli (2010), testando palha de bananeira no cultivo de *Pleurotus djamor* alcançou percentuais de rendimento de 79,96% com 10% de inóculo. Embora Santos (2000), também utilizando palha de bananeira, porém para o cultivo de *P. sajor-caju*, tenha alcançado 93,03% de rendimento em relação à massa de substrato seco.

Bhatti *et al.* (2007) testando palha de trigo para o cultivo de *P. ostreatus* obteve 45,40% de rendimento utilizando frações de 70 g/Kg de inóculo por substrato seco.

Na presente pesquisa foi observado uma correlação positiva entre a eficiência biológica e o rendimento médio. Comportamento similar foi observado em estudos de Sales-Campos (2008) utilizando resíduos madeireiros e agroindustriais amazônicos para o cultivo de *P. ostreatus*.

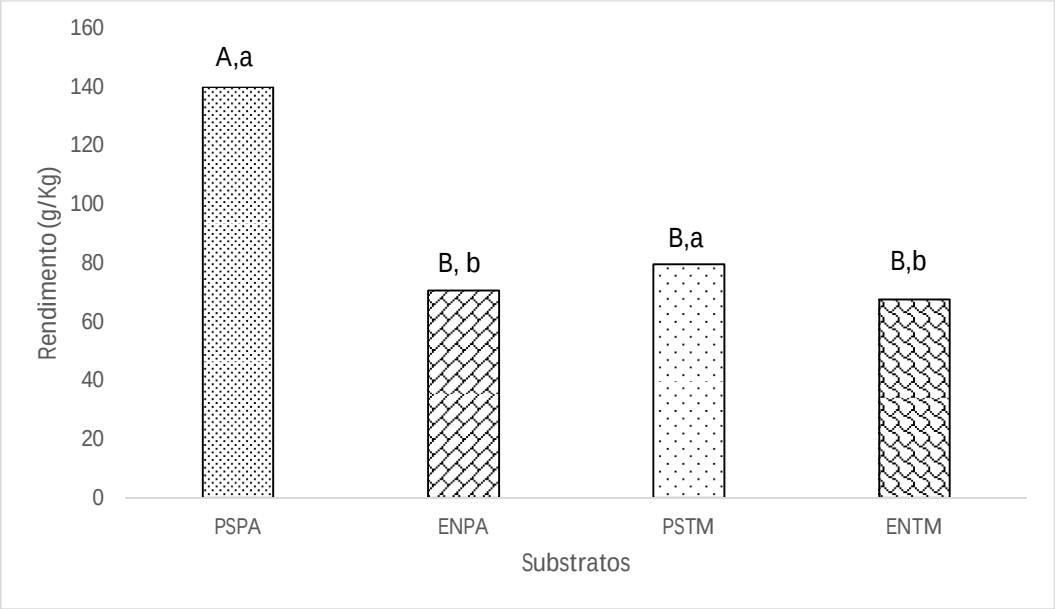

Figura 9: Rendimento médio (g/kg) dos diferentes substratos utilizados no cultivo de *Pleurotus ostreatus*. PSPA: substrato pseudocaule de prata-anã; PSTM: substrato pseudocaule de thap-maeo; ENPA: substrato engaço de prata-anã; ENTM: substrato engaço de thap-maeo. Letras maiúsculas comparam médias dentro de um mesmo tipo de substrato de bananeira; letras minúsculas comparam médias dentro de substratos de uma mesma cultivar. Média de três repetições. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).

2.8.2 Perda de matéria orgânica

A perda da matéria orgânica durante o processo de decomposição é um parâmetro através do qual se pode verificar a atividade decompositora do microrganismo em estudo (Sales-Campos, 2008).

A Figura 10 mostra os dados relativos à perda da matéria orgânica (PMO) dos diferentes substratos utilizados no cultivo de *P. ostreatus* NATB. Ao nível de 95% de probabilidade pelo teste de Tukey, houve diferença estatística ($p<0,05$) na perda de matéria orgânica, quanto ao tipo de substrato, entre os engaços das referidas cultivares. Quando comparadas as médias de PMO, observou-se diferença entre os dois tipos de resíduos de mesma cultivar, tanto para prata-anã quanto para thap-maeo (Figura 3).

Duprat (2012) utilizando folha de pupunheira e suplementação de farelo de arroz como substrato para o cultivo *P. ostreatus* DSM 1833 alcançou percentual de 28,90% de PMO, similar aos resultados encontrados para o pseudocaule de prata-anã (28,92%). Em outro experimento a pesquisadora utilizando a bainha da pupunheira também suplementada com farelo de arroz obteve 33,80% de PMO, assemelhando-se aos

percentuais encontrados para o substrato pseudocaule de thap-maeo PSTM. Quando testados a combinação de substrato bainha e folha de pupunheira (1:1), com 20% de inóculo, percentuais de PMO de 36,8 foram registrados para *P. ostreatus* DSM 1833. Resultados que corroboram com os observados para os engaços de prata-anã e thap-maeo do presente estudo.

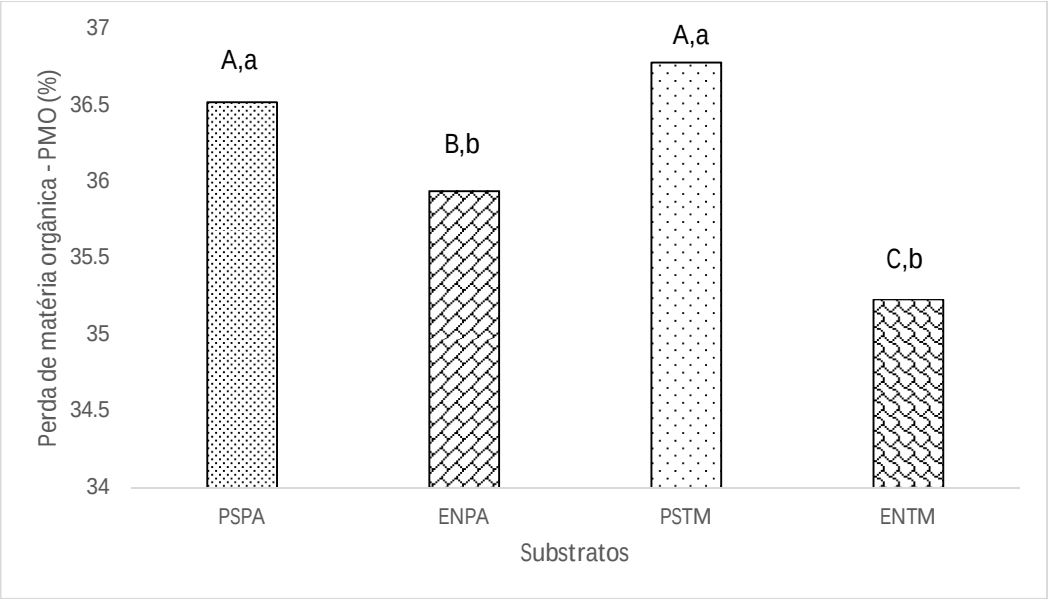

Figura 10: Perda de matéria orgânica média dos diferentes substratos utilizados no cultivo de *Pleurotus ostreatus*. PSPA: substrato pseudocaule de prata-anã; PSTM: substrato pseudocaule de thap-maeo; ENPA: substrato engaço de prata-anã; ENTM: substrato engaço de thap-maeo. Letras maiúsculas comparam médias dentro de um mesmo tipo de substrato de bananeira; letras minúsculas comparam médias dentro de substratos de uma mesma cultivar. Média de três repetições. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).

Resultados superiores foram relatados em pesquisa de Carvalho et al., (2012), testando quatro cultivares de bananeira e diferentes partes (pseudocaule, folha, pseudocaule + folha) no cultivo de *P. ostreatus* 1467, obteve 61,5% de PMO para o substrato pseudocaule de prata-anã, maior média observada, seguida de 57,3% para o substrato pseudocaule de thap-maeo e 53,4% para o pesudocaule da cultivar caipira. Diferindo dos resultados do presente trabalho, que registrou 36,52% para pseudocaule de prata-anã e 36,78% de PMO para o substrato pseudocaule de thap-maeo.

Vale ressaltar que o período de incubação está diretamente relacionado com a perda da matéria orgânica do substrato. Na presente pesquisa esse período foi de 30 dias, enquanto que nos estudos de Carvalho et al., (2012) foi de 49 dias.

Fonseca (2013) alcançou 37,68% de PMO utilizando casca de cupuaçu suplementado com farelo de arroz no cultivo de *P. ostreatusroseus* DPUA 1720, valores aproximados aos encontrados para os substratos a base de engaços de bananeira. Já, Holtz et al. (2009) utilizou resíduo de algodão como substrato de cultivo para *P. ostreatus* e registrou 24,1 % de PMO. Observou-se no presente estudo que não ocorreu relação direta entra perda de matéria orgânica e eficiência biológica, pois apesar do substrato pseudocaule de prata-anã ter evidenciado maior média percentual de eficiência biológica, este não foi o substrato que alcançou maiores percentuais de PMO, fato que reforça a idéia de perda da composição do substrato por outros fatores, como perda de CO2 e água ou mesmo pelo tempo de cultivo.

2.8.3 Avaliação biológica de *P. ostreatus*

Para conhecimento do comportamento de *P. ostreatus* NAT B nos diferentes substratos elaborados foi realizado um detalhamento biológico durante o cultivo do cogumelo (Tabela 4).

A miceliação do substrato por *P. ostreatus* foi mais rápida em pseudocaule de prata-anã (13,5 dias), seguido da miceliação de pseudocaule de thap-maeo (15 dias). Nos engaços a miceliação foi mais longa, em torno de 16 dias. Consequente o fluxo de produção foi mais rápido nos pseudocaules, com destaque para o pseudocaule de prata-anã (19,3 dias) e mais lento em engaço de thap-ameo (23,9 dias).

A linhagem estudada apresentou potencial de miceliação e frutificação rápidos, em substrato sem suplementação, o que está diretamente ligado à composição do substrato de cultivo. Vale ressaltar que uma rápida colonização do substrato de cultivo pode evitar problemas com contaminações e pode permitir uma boa produção.

Nesses substratos foram observados os menores teores de nitrogênio e maior relação C:N (Tabela 1), maiores teores de carboidratos totais e faixas de pH próximas a 5, o que pode explicar o comportamento da linhagem fúngica e sua preferência pelos pseudocaules.

Em estudos de Graciolli et al., (2010) foi observada uma inibição do crescimento micelial de *P. florida* quando cultivado em substrato de ramas de mandioca suplementada com 20% de farelo de soja, com teor de nitrogênio de 2,5%.

Siqueira et al. (2011) estudaram a produção de *Pleurotus sajor-caju* em engaço de bananeira e grama batatais combinado com farelo de trigo, capim coast-cross, palha de feijão e resíduo de lixadeira de algodão, porém o engaço de bananeira e a grama batatais foram mais eficientes na produção de *Pleurotus sajor-caju* quando utilizados sem suplementação, alcançando eficiência biológica de 74,4 e 74,12 % respectivamente.

No entanto, muitos são os fatores envolvidos na degradação do substrato e consequente formação dos basidiomas, não sendo possível indicar apenas um fator responsável pela produtividade do cogumelo, uma vez que que a composição do substrato de cultivo é diversificada e complexa.

Tabela 4 - Avaliação biológica de *Pleurotus ostreatu*s (NAT B) nos substratos testados durante o período de cultivo.

Unidade experimental por substrato	**Período (dias)**				**Nº de fluxo**	**Dímensão do píleo (cm)**	**Altura do estipe (cm)**
	Incubação (até a colonização)	**Primórdio (início)**	**Frutificação (início)**	**Duração do cultivo**			
PSPA 01	12	14	19	30	3	6 a 13	1 a 2,20
PSPA 02	14	15	17	30	3	8	0,5 a 1,8
PSPA 03	15	16	18	30	3	8,46 a 13,5	0,5 a 2
PSPA 04	14	16	19	30	2	9,4 a 9,8	0,5 a 1,7
PSPA 05	13	15	20	30	3	6,5 a 13	0,5 a 1,1
PSPA 06	15	17	22	30	2	7,3 a 8,5	0,5 a 1,4
PSPA 07	12	15	19	30	2	7 a 13,5	1 a 2
PSPA 08	12	15	18	30	3	6,9 a 8,25	1 a 1,5
PSPA 10	16	18	23	30	2	5,5 a 10,75	1 a 2
PSPA 11	12	15	18	30	2	6,25 a 14	0,5 a 0,9
MÉDIA	**13.5**	**15.6**	**19.3**	**30**	**2.5**		
ENPA 01	18	22	25	30	2	5,0 a 8,3	1,3 a 2,2
ENPA 02	15	18	23	30	3	6,5 a 12,75	1,1 a 2.0
ENPA 03	16	19	21	30	2	4,5 a 10	0,5 a 1,2
ENPA 04	14	17	21	30	2	5,15 a 7,5	1,1 a 1,65
ENPA 05	16	17	22	30	2	5,5 a 6	1,1 a 1,65
ENPA 06	17	19	24	30	2	4,6 a 5,3	0,5 a 1,5
ENPA 07	14	16	19	30	3	5,45 a 9,25	1,7 a 2,6

ENPA 08	15	18	22	30	2	5 a 10,75	1 a 1,5
ENPA 09	18	21	25	30	1	3,25 a 5	1,1 a 1,8
ENPA 10	15	19	23	30	2	4,75 a 7	2 a 2,45
MÉDIA	**15.8**	**18.6**	**22.5**	**30**			
PSTM 01	14	17	20	30	3	3,75 a 10,25	1,4 a 2
PSTM 02	13	16	17	30	2	4,5 10.75	0,66 a 1,2
PSTM 03	14	17	19	30	3	7,5 a 15	0,5 a 3,5
PSTM 04	12	15	18	30	2	4 a 12,5	1.52 a 2,2
PSTM 05	16	19	22	30	2	4 a 8,5	0,55 a 1,4
PSTM 06	15	18	21	30	2	2 a 6,7	1 a 1,9
PSTM 07	15	20	23	30	2	5 a 11,75	1 a 2,5
PSTM 08	18	21	26	30	2	6 a 9,5	0,8 a 2,0
PSTM 10	16	19	23	30	2	3,75 a 13	1,2 a 2,6
PSTM 11	17	21	25	30	2	3,8 a 8,4	1,1 a 2,3
MÉDIA	**15**	**18.3**	**21.4**	**30**	**2.2**		
ENTM 01	19	23	27	30	1	3,7 a 10	1 a 2,25
ENTM 02	16	18	21	30	2	3,5 a 9	1 a 7
ENTM 03	14	17	24	30	2	2,5 a 11	1 a 6, 25
ENTM 04	18	25	28	30	1	6,25 a12,33	2 a 3
ENTM 05	15	18	22	30	3	8 a 14	3 a 6,4
ENTM 06	16	19	23	30	2	1 a 17	1 a 5,9
ENTM 07	19	23	25	30	1	6.25	2
ENTM 08	17	19	24	30	1	6 a 9,5	1 a 1,5
ENTM 09	14	19	23	30	2	6,25 a 10	0,75 a 2
ENTM 10	15	19	22	30	2	4.75	2.3
MÉDIA	**16.3**	**20**	**23.9**	**30**	**1.7**		

Adaptado de Sales-campos 2008.

2.9 Análises do cogumelo

2.9.1 Análise físico-química do cogumelo

Os teores de nitrogênio, carbono, relação C:N, matéria seca e umidade do cogumelo *P. ostreatus* estão apresentados na Tabela 5.

Nos cogumelos, o teor de carbono se manteve na faixa de 40%, ao passo que os valores de nitrogênio variaram de 3,66 a 4,45%, sendo maiores nos cogumelos provenientes dos substratos à base de engaço de thap-maeo. A relação C/N diminuiu para os cogumelos, quando comparados aos teores dos substratos de cultivo, devido ao aumento no teor de nitrogênio.

Tabela 5 - Resultado das análises físico-químicas dos corpos frutíferos de *P. ostreatus:* nitrogênio (N), carbono (C), relação C:N, matéria seca (MS) e Umidade (U).

Cultivar	Subst.	N%	C%	C:N	MS%	U %
Prata-anã	PSPA	3.66 Bb (1.12)	40.9 Aa (1.00)	11.17 Aa (0.05)	88.17 (0.09)	11.83 Bb (0.09)
	ENPA	4.38 Aa (0.05)	40.18 Aa (1.52)	9.17 Ab (0.02)	88.15 (0.12)	11.85 Bb (0.12)
Thap-maeo	PSTM	4.10 Ab (0.13)	39.75 Aa (0.57)	9.69 Bb (0.05)	87.53 (0.02)	12.47Aa (0.02)
	ENTM	4.45 Aa (0.03)	41.1 Aa (1.00)	9.23 Ab (0.07)	88.25 (0.14)	11.75 Bb (0.14)

PSPA: substrato pseudocaule de prata-anã; ENPA: substrato engaço de prata-anã; PSTM: susbstrato pseudocaule de thap-maeo; ENTM: substrato engaço de thap-maeo. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão. Letras maiúsculas comparam médias dentro de um mesmo tipo de substrato de bananeira; letras minúsculas comparam médias dentro de substratos de uma mesma cultivar. Média de três repetições. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).

Ao nível de 95% de probabilidade pelo teste de Tukey (0,05) houve diferença estatística significante no que diz respeito aos teores de nitrogênio, carbono e C:N dentre os corpos frutíferos de cogumelos produzidos em diferentes substratos das duas cultivares de bananeira.

3.9.2 Análise centesimal do cogumelo

A Tabela 6 mostra os resultados da composição centesimal dos basidiomas de *P.ostreatus* cultivado nos diferentes substratos. As análises da composição nutricional do cogumelo foram feitas no basidioma por inteiro (píleo e estipe). Todas as análises nutricionais foram realizadas em base seca.

Os teores de proteína bruta presentes nos cogumelos variaram com os substratos de cultivo. Os maiores teores estiveram presentes nos cogumelos cultivados no substrato a base de engaço de thap-maeo (PSTM) com teores médios de proteína de 19,51%. O menor teor foi observado em cogumelos cultivados em substrato pseudocaule de prata-anã com teor médio de 16,04%.

Comparando os teores de proteína bruta dos substratos iniciais (Tabela 2) com os teores de proteína bruta nos cogumelos (Tabela 6), observa-se uma relação positiva, uma vez que, os substratos que apresentaram os maiores teores de proteína resultaram em corpos frutíferos também com maiores teores. Segundo Silva et al. (2007), cogumelos produzidos em substratos mais ricos em nitrogênio/proteína são os mais ricos em nitrogênio/proteína pois, ao realizarem o cultivo de *P. sajor caju* em substratos com diferentes concentrações de nitrogênio notaram que, quanto maior a sua concentração, maiores foram as quantidades de proteínas presentes nos cogumelos. Segundo Bernas et al. (2006), o teor de proteínas é dependente da composição do substrato, do tamanho do píleo, do tempo de cultivo e da espécie fúngica.

Sales-Campos et al. (2011) obteve 16,12% de proteína para o *P. ostreatus* cultivado em serragem de pau de balsa e 21,16% em serragem de marupá. Bonatti et al., (2004) trabalhando com palha de bananeira obteve 16,9% e 18,4% de proteína bruta para *P. ostreatus* e *P. sajor-caju*, respectivamente. Semelhantemente Duprat (2012) obteve cogumelos com teor de 19,32% cultivados em bainha de pupunheira. Dundar *et al.* (2008) obtiveram *P. ostreatus* com 17.12% de proteínas em palha de trigo.

Estudos de Carvalho et al, (2012) obtiveram cogumelos em substrato pseudocaule da cultivar prata-anã com 20% de proteínas e em substrato pseudocaule de thap-maeo 28% respectivamente, sendo estes resultados superiores aos da presente pesquisa.

Rampinelli et al. (2010) obteve teores de proteína bruta de corpos frutíferos de *P. djamor* cultivados em palha de bananeira no 1˚ e 2˚ fluxo de 20,5% e 19,8%. O conteúdo de proteína para estes cogumelos assemelham-se ao resultado apresentado para *P. ostreatus* cultivado em PSPA, ENPA, PSTM e ENTM no presente estudo. Estando de acordo com Furlani e Godoy (2005) que menciona que os teores para *Pleurotus* ficam entre 10,5 a 30,4%.

No entanto em pesquisas de Fonseca et al., (2015) *P. ostreatusroseus* cultivado em casca de cupuaçu suplementada com farelo de arroz apresentou 23,53% de proteína bruta. Já Bernardil e Nascimento (2011) cultivaram *pleurotus sajor-caju* em diferentes substratos pasteurizados e obtiveram percentuais de 23,45 a 43,13 para capim-elefante e bagaço de cana-se açúcar.

Segundo Rampinelli (2010) a variação dos valores de proteínas para *Pleurotus* spp, mostrada na literatura, demonstram a influência da espécie e da composição do substrato sobre este componente.

No que diz respeito ao teor de FDN, os cogumelos produzidos no substrato engaço de thap-maeo (ENTM) apresentaram os maiores teores (59,01%), seguidos dos cogumelos produzidos em substrato pseudocaule de prata-anã (PSPA) (56,42%). A menor média observada foi em substrato pseudocaule de thap-maeo (PSTM) (43,59%) (Tabela 6).

Carvalho et al., (2012) obteve cogumelos com teores de FDN inferiores nos pseudocaules de prata-anã e thap-maeo, com 41,9 e 35,5% respectivamente. Morais et al., (2017) utilizou subprodutos da agroindústria do óleo de palma na produção de diversas linhagens de *P. ostreatus* com vista a nutrição de peixes e observou cogumelos com 45% de teor de FDN (*P. ostreatus* CC389). Fonseca et al., (2017) cultivaram cogumelos de diferentes espécies em torta de caroço de algodão e observaram médias de FDN de 29,82%. O teor de fibras varia de acordo com o tipo de substrato e linhagem fúngica e pelo seu comportamento metabólico.

Os teores de FDA também variaram dependendo do substrato de cultivo, os maiores teores foram observados no engaço da cultivar thap-maeo, com 31,83% e o menor teor em pseudocaule da thap-maeo (21,9%). Carvalho et al., (2012) observou resultados diferentes para estes substratos, 31,6% e 20% nos substratos de pseudocaule e prata-anã e thap-maeo respectivamente.

Resultados diferentes foram observados para cogumelos *P. ostreatus* cultivados em torta de caroço de algodão e subprodutos da agroindústria do óleo de dedê, com teores de 12,95% e 22,2% respectivamente (FONSECA et al., 2017; MORAIS et al., 2017).

Os teores de lipídios foram baixos variando de 0,52 a 1,19%, o maior teor em pseudocaule de thap-maeo e o menor em substrato pseudocaule de prata-anã respectivamente. O conteúdo está abaixo de diversas literaturas, isso se deve à constituição lipídica dos substratos utilizados no cultivo.

Vieira et al., (2016) cultivou *P. ostreatus* em casca de café e alcançou média de lipídios de 1,07%. Teores de 2,06% foi observado por Morais et al., (2017), Sales-Campos *et al.* (2011), observou teores de 1,27 a 2,14% em resíduos madeireiros e agroindustriais. Rampinelli (2010) observou média de 1,1% de lipídios em dois fluxos produtivos de P.ostreatus cultivado em palha de bananeira.

Por outro lado, teores mais elevados de lipídios são registrados na literatura. Rahman et al. (2012) ao cultivar *P. ostreatus* em palha de arroz com farelo de trigo, observou teores que variaram de 3,24 a 5,08%. Bonatti et al. (2004) estudando o cogumelo *P. ostreatus* cultivados em folhas de bananeira suplementada com farelo de

arroz obtiveram 5,97% de lipídios no primeiro fluxo e 2,24% no segundo fluxo de produção e Fonseca et al., (2013) observaram teor de 3,08% de lipídios em *P.ostreatusroseus* cultivado em casca de cupuaçu.

Em relação ao teor de cinzas, os maiores teores foram observados nos cogumelos cultivados nos substratos da cultivar thap-maeo, com 8,20 e 8,37% para pseudocaule e engaço respectivamente. Os menores teores foram observados para os cogumelos cultivados nos substratos de prata-anã (7,27 e 7,87%).

A determinação das cinzas fornece uma indicação da riqueza da amostra em elementos minerais, representando cerca de 10% da matéria seca em cogumelos comestíveis (BANO e RAJARATHNAM, 1988).

Carvalho et al., (2012) encontrou teor de cinzas em pseudocaules de prata-anã e thap-maeo inferiores (5,7%). Já Furlani e Godoy (2007) observaram teores de cinzas de shimeji de 5,6 a 8,77% em diferentes lotes comprados no comércio das cidades de Campinas e São Paulo. E Sales-Campos (2008) alcançou médias de 7,36 % em corpos frutíferos de *Pleurotus ostreatus* cultivados em resíduos de estipe de pupunheira e 8,97% em substrato serragem de marupá, similares aos teores encontrados no presente trabalho.

No que diz respeito aos carboidratos totais, variaram de 59,60 a 64,33%, sendo o menor teor para o substrato engaço de thap-maeo e o maior para pseudocaule de prata-anã. Estatisticamente ao nível de 95% de probabilidade ($p<0,05$) houve diferença no teor de carboidratos totais entre PSPA e PSTM, bem como entre PSPA e ENPA, entre os demais tratamentos a diferença não foi significativa ($p>0,05$).

Segundo Furlani e Godoy (2007) os carboidratos são os principais constituintes nutricionais apresentando um teor médio, para *Pleurotus* spp., de 65,82%, em base seca, o que corrobora com os resultados observados no presente estudo.

Sales-campos (2008) observou teores de carboidratos similares aos encontrados na presente pesquisa, ao cultivar *P. ostreatus* em substrato serragem de pau de balsa, estipe de pupunheira e bagaço de cana-de-açúcar com teores de 63,47%, 66,89% e 67,52% respectivamente. Já em pesquisas de Bonatti et al. (2004) foi observado teores inferiores em dois fluxos produtivos com a linhanhem *P. ostreatus* DSM 1833 em palha de bananeira, com 46,97 e 40,53% de carboidratos. Bernardi e Nascimento (2011) alcançaram teores de 58,66% em cogumelos cultivados em substrato capim elefante suplementado com palha de arroz.

Segundo Bernas et al. (2006) os carboidratos podem constituir de 16 a 85% em massa seca do peso do cogumelo.

De acordo com Cogorni et al. (2014) e Rampinelli et al. (2010), cogumelos do gênero *Pleurotus* constituem alimento com excelente valor nutritivo, pois apresentam alto teor de proteínas, fibras alimentares e carboidratos além de baixo teor de lipídeos.

Tabela 6: Composição centesimal do cogumelo.

Cultivar	Substrato	PB %	FDN %	FDA%	EE%	MM%	Carboidratos Totais
Prata-Anã	PSPA	16.04 Bb (0.55)	56.42 Aa (0.33)	31.46 Aa (1.02)	0.52 Bb (0.56)	7.27 Ba (0.12)	64.33 Aa (0.33)
	ENPA	19.2 Aa (0.26)	49.84 Bb (0.75)	29.34 Ba (2.03)	0.71 Aa (0.06)	7.87 Ba (0.05)	60.36 Bb (0.50)
Thap-Maeo	PSTM	17.95 Ab (0.57)	43.59 Bb (0.76)	21.9 Bb (0.78)	1.19 Aa (0.14)	8.20 Aa (0.32)	60.19 Aa (0.50)
	ENTM	19.51 Aa (0.16)	59.01 Aa (0.81)	31.83 Aa (1.10)	0.76 Ab (1.16)	8.37 Aa (0.21)	59.60 Aa (0.48)

Composição centesimal dos substratos pós-cultivo (pseudocaule e engaço) de duas cultivares de bananeira (Thap-maeo e Prata-anã). PSPA: substrato pseudocaule de prata-anã; ENPA: substrato engaço de prata-anã; PSTM: susbstrato pseudocaule de thap-maeo; ENTM: substrato engaço de thap-maeo. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão. Letras maiúsculas comparam médias dentro de um mesmo tipo de substrato de bananeira; letras minúsculas comparam médias dentro de substratos de uma mesma cultivar. Média de três repetições. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).

2.9.3 Análise mineral do cogumelo

A Tabela 7 mostra os resultados da composição mineral dos basidiomas de *P.ostreatus* cultivado nos diferentes substratos.

Dados coletados na literatura mostram que existe uma grande diferença nos percentuais de macro e micronutrientes encontrados nos cogumelos. Esses valores, muitas vezes discrepantes, podem ter origem em diversos pontos, desde a escolha da espécie, cepas e variedades até o tipo de substrato utilizado, o grau de maturação e o tipo de armazenamento e o processo de conservação (FURLANI, 2004).

De acordo com a tabela 7, os cogumelos produzidos nos diferentes substratos da bananicultura estudados apresentaram altos teores de zinco, potássio e magnésio. Comparando os resultados de minerais dos substratos de cultivo com os presentes nos cogumelos cultivados nos diferentes substratos, verifica-se que os teores de cobre, zinco, ferro (PSTM e ENPA) estão em maiores quantidades nos cogumelos do que no substrato de cultivo. Vale ressaltar que não foi observado nenhum teor de cobalto nos cogumelos, sendo seu teor muito baixo nos substratos pré e pós-cultivo.

Quando relacionado à maior eficiência biológica, ocorrida em substrato PSPA (Figura 7), observa-se os maiores teores de ferro e elevados teores de cálcio nesse substrato, já nos basidiomas produzidos em PSPA são ricos ferro, cálcio, potássio e magnésio.

O processo de translocação do zinco, do potássio e do magnésio para o basidioma parece ter sido bastante eficiente, pois quanto maior o seu conteúdo no cogumelo, menor é o seu conteúdo no substrato residual (Tabela 3) correspondente.

Semelhantemente, Hoa et al., (2015) utilizando resíduos serragem, bagaço de cana-de-açúcar e espiga de milho em diferentes proporções para o cultivo de cogumelos, observaram níveis elevados de potássio (2624 e 2308 mg/100 g) e magnésio (237.07 e 233.07 mg/100 g) para *P. ostreatus* e *P. sajor caju*.

Pauli (2010) também encontrou *Pleurotus ostrea*tus com altos teores de potássio (18.640 mg kg-1), fósforo (7.070 mg kg-1) e magnésio (1.085 mg kg-1). Holtz et al., (2009) também observou cogumelos com teores de potássio elevados em *Pleurotus ostreatus* cultivados em substrato composto por 67% de resíduo têxtil da fiação e 33% de resíduo têxtil da tecelagem.

A variação do conteúdo mineral no cogumelo é reflexo da variação do conteúdo mineral no substrato elaborado. Nesse sentido, os resíduos da bananicultura utilizados apresentaram altos teores de potássio, cálcio e magnésio refletindo em corpos frutíferos também ricos nesses minerais. Vale ressaltar, que os cogumelos cultivados nos engaços apresentaram os maiores teores de zinco, por outro lado, cogumelos produzidos nos pseudocaules apresentaram maiores teores de cálcio e magnésio, em decorrência da dinâmica mineral da bananeira.

Os teores de zinco e ferro apresentaram-se muito maiores nos cogumelos do que nos substratos elaborados e pós-cultivo, possivelmente pela solubilização destes minerais ocorrida durante o processo de biodegradação permitindo, desta forma, os resíduos inorgânicos presentes nos substratos (PATIL et al. 2010; SALES-CAMPOS, 2008).

De modo geral, os cogumelos produzidos nos diferentes substratos oriundos das duas cultivares de bananeira estudados apresentaram maiores teores de zinco, ferro, cálcio, potássio e magnésio.

Tabela 7 - Composição mineral do cogumelo *Pleurotus ostreatus* cultivado nos diferentes substratos.

	Micro-minerais (mg/kg)						Macro-minerais (g/kg)			
Substrato	**Cu**	**Mn**	**Zn**	**Ni**	**Fe**	**Co**	**Na**	**Ca**	**K**	**Mg**
PSPA	6.45	13.57	127.2	0.24	238.4	0.00	52.41	90.58	384.6	151.1
PSTM	7.44	13.13	134.7	0.26	123.5	0.01	65.40	75.19	221.3	157.5
ENPA	7.28	13.93	179.0	0.17	166.1	0.00	51.25	69.34	297.7	129.7
ENTM	6.89	10.40	171.0	0.12	150.8	0.00	43.18	34.84	536.7	123.9

Substratos (pseudocaule e engaço) de duas cultivares de bananeira (thap-maeo e prata-anã). PSPA e PSTM: substratos elaborados a partir do pseudocaule de prata-anã e thap-maeo respectivamente. ENPA e ENTM: substratos elaborados a partir dos engaços de prata-anã e de thap-maeo respectivamente.

2. 10 Conclusões

- Os substratos influenciaram os parâmetros produtivos, como a relação carbono: nitrogênio;
- A melhor eficiência biológica e rendimento ocorreu no substrato a base de pseudocaule da cultivar prata-anã;
- Os teores de nitrogênio foram diferentes entre os tipos de substratos, ressaltando que os teores nos engaços foram superiores, refletindo em cogumelos com maiores teores de proteína;
- Foi observado o incremento no teor de proteína bruta nos substratos pós-cultivo, possivelmente explicado pela presença do micélio nos substratos;
- Os substratos testados resultaram em corpos frutíferos ricos em proteínas, fibras, cinzas e carboidratos e baixos teores lipídicos e corpos frutíferos ricos em potássio, cálcio, magnésio, ferro e zinco.

2. 11 Referências Bibliográficas

AGUIAR, L.V.B. **Cultivo e avaliação nutricional de *pleurotus ostreatus* de ocorrência na Amazônia, em condições ambientais não controladas**. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional De Pesquisas da Amazônia, Programa de Pós-Graduação em Agricultura no Trópico Úmido, 2016, 109p.

AKINFEMI, A.; OGUNWOLE, O.A. Chemical composition and *in vitro* digestibility of rice straw treated with *Pleurotus ostreatus, Pleurotus pulmonarius* and *Pleurotus tuber-regium.* **Slovak Journal of Animal Science**, v.45, n.1, p.14-20, 2012.

ALVES, E.J.; OLIVEIRA, M.A. Práticas culturais, In: ALVES, E.J. **A cultura da banana: Aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais.** Brasília: Embrapa-SPI, 335-351. 1999.

ARAÚJO, S. P. **Potencial dos Fungos Amazônicos *Pycnoporus Sanguineus* e *Trametes Elegans* para Biopolpação.** (Dissertação de Mestrado) Universidade do Estado do Amazonas .Manaus-Amazonas. 2009.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS**. Official Methods of Analysis of A.O.A.C**. International. 16a. ed. 3a. rev. A.O.A.C. International. Gaithersburg, MD, 1997.

AVIN, F. A., BHASSU, S., SHIN, T. Y. AND SABARATNAM, V. Molecular classification and phylogenetic relationships of selected edible Basidiomycetes species. **Mole. Biol. Reports** v. 39, p.1-10, 2012.

BANO, Z. A., RAJARATHNAM, S. *Pleurotus* mushrooms. Part II. Chemical composition, preservation, ad role and human food. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition,** v. 27, n. 2, p. 87-158, 1988.

BARBOSA CR., CÂNDIDO, EJ, SILVA, J.B.A. Caracterização dos compostos inibidores do hidrolisado hemicelulósico de palha de cevada utilizado para produção biotecnológica de xilitol. **In: Anais do VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química** – COBEQ, São Paulo, 2005.

BARRETTO, W.S.; BARRETO, F.S.; SILVA, M.G.C.P.C.; SANTOS, I.C.;RIBEIRO, M.A.Q.;MELO NETO, B.A.;VALLE, R.R. Concentração de nutrientes e carboidratos em perfílhos de pupunheira (*Bactris gasipaes*). **In: Anais do I Simpósio Brasileiro da pupunheira:Desenvolvimento com sustentabilidade**. Ilhéus. 2011.

BELEWU, M. A. Conversion of mansonia tree sawdust and cotton plant by-product into feed by white rot fungus (*Pleurotus sajor caju*). **African Journal of Biotechnology**, Nairob, v. 5, n. 6, p.503-504, 2006.

BELEWU, M. A.; BELEWU, K. Y. Cultivation of mushroom (*Volvariella volvaceae*) on banana leaves. **African Jounal of Biotechnology, Nairob,** v. 4, n.12, p.1401-1403, 2005.

BERNARDIL, E; NASCIMENTO, J.S**.** Cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em diferentes substratos pasteurizados. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.78, n.2, p.217-223, 2011.

BERNAS, E., JAWORSKA, G., LISIEWSKA, Z. Edible mushrooms as a source of valuable nutritive constituents. **Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria**, v. 5, n.1, p. 5-20, 2006.

BHATTI, M.I; JISKANI, M.M; WAGAN, K.H; PATHAN, M.A; MAGSI, M.R. Growth, development and yield of oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus* (JACQ.EX.FR) Kummer as affected by different spawn rates. **Pakistan Journal of Botany**, v. 39, n.7, p. 2685-2692, 2007.

BONATTI, M. **Estudo do potencial nutricional de cogumelos do gênero Pleurotus cultivados em resíduos agroindustriais.** Dissertação de Mestrado, Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001, 148p.

BONATTI, M; KARNOPP, P; SOARES, H.M; FURLAN, S.A. Studies of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* mushrooms composition cultivated in banana straw. **Revista Saúde e Ambiente**, v. 4, n. 1, p.31-35, 2003.

BONATTI, M., KARNOPP, P., SOARES, H.M., FURLAN, S.A. Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteridtics when cultivated in different lignocellulosic wastes. **Food Chemistry**, v. 88, p. 425-428, 2004.

CARVALHO, H. H.; JONG, E. V.; BELLÓ, R. M.; SOUZA, R. B.; TERRA, M. F. **Alimentos: Métodos físicos e químicos de análise**. Ed. Universidade/UFRGS. p.163-165, 2002.

CARVALHO, C.S.M, AGUIAR, L.V.B, SALES-CAMPOS, C, MINHONI, M.T.A, ANDRADE, MCN. Applicability of the use of waste from different banana cultivars for the cultivation of the oyster mushroom. **Brazilian Journal of Microbiology**. p.819-826, 2012.

CARVALHO, C.S.M.; SALES-CAMPOS, C.; AGUIAR, L.V.B.; MINHONI, M.T.A.; ANDRADE, M.C.N. Composição mineral de substratos à base de resíduos de bananeira durante o cultivo de *Pleurotus ostreatus.* **Arq. Inst. Biol**., São Paulo, v.81, n.3, p. 272-281, 2014.

CARVALHO, C.S.S; AGUIAR, L.V.B; SALES-CAMPOS, C; Andrade, M.C.N. Análise bromatológica e química de substratos à base de resíduos de bananeira antes e após o cultivo de *Pleurotus ostreatus.* **Ambiência**, v.10 n.3, 2014.

CASTRO, A. L. A. **Resíduo de lixadeira do algodão:** produção de cogumelo, ensilagem e alterações da composição bromatológica e degradabilidade. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 69p. 2003.

CHENG, G.Y.; LIU, J.; TAO, M. X.; LU, C. M.; WU, G. R. Activity, thermostability and isozymes of superoxide dismutase in 17 edible mushrooms. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 26, p. 136–143, 2012.

COELHO, R.R.; MATA, M.E.C.; BRAGA, M.E.D. Alterações dos componentes nutricionais do pseudocaule da bananeira quando processado visando sua transformação em palmito. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.3, n.1, 21-30, 2001.

COGORNI, P.F.B.O.; SCHULZ, J.G.; ALVES, E.P.; GERN, R.M.M.; FURLAN, S.A.; WISBECK, E. The production of *Pleurotus sajor-caju* in peach palm leaves (*Bactris gasipaes*) and evaluation of its use to enrich wheat flour. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.34, n.2, p. 267-274, 2014.

DONINI, L.P.; BERNARDI, E.; MINOTTO, E.; DO NASCIMENTO, J.S. Desenvolvimento in vitro de *Pleurotus* spp. sob a influência de diferentes substratos e dextrose. **Arquivos do Instituto Biológico**. v.72, n 3, 331-338, 2005.

DUNDAR, A; ACAY, H.; YILDIZ, A. Yield performances and nutritional contents of three oyster mushroom species cultivated on wheat stalk. **African Journal of Biotechnology**, v.7, n.19, p. 3497-3501, 2008.

DUPRAT, M.F.L.B. **Estudo da produção de *pleurotus ostreatus* em resíduos de *bactris gasipaes* (pupunheira)**. Dissertação de mestrado, Universidade da Região de Joinville, UNIVILLE, 2012, 107p.

DUPRAT, M.F.L.B; RAMPINELLI, J.R; LIMA, S.G; SILVA, D.A.K; FURLAN, S.A; WISBECK, E. Potencial nutrivo de cogumelo *Pleurotus* ostreatus cultivados em folhas de pupunheira. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 33, n. 1, p.11-29, 2015.

EIRA, A. F. Fungos comestíveis. In: ESPÓSITO, E.; AZEVEDO, J.L. (Ed.). **Fungos uma introdução a biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: Educs,. Cap.12, p.379-448, 2004.

EIRA, A.F.; MINHONI, M.T.A. **Manual do cultivo do "hiratake" e "shimeji"** *(Pleurotus* spp.*)*. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais-UNESP, 1997. 63p. 1997.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Agricultural Production Crops Primary. 2014. Disponível em <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>. Acesso em: 20 nov. 2017.

FAQUIN, V. **Nutrição mineral de plantas.** Lavras: UFLA/FAEPE, 2005. 183 p.

FIGUEIRÓ, G.G; GRACIOLLI, L.A. Influência da composição química do substrato no cultivo de *Pleurotus florida*. Ciência e Tecnologia. **Ciência Agrotécnica de Lavras**, v. 35, n. 5, p. 924-930, 2011.

FILHO, A. G. **Formação econômica de Santa Catarina**. Florianópolis: Cidade Futura, 2002.

FINIMUNDI, J.M. **Produção de cogumelos comestíveis e fenol-oxidases de *Pleurotus sajor-caju* e *Lentinula edodes* em resíduos lignocelulósicos.** Dissertação de Mestrado, Universidade de Caxias do Sul. 2016, 134p.

FLORA, A. P; BRUGGER, B.P; SANTOS, F.B; COUTO, F.P; NEGRÃO, R.G. **Estresse nutricional em plantas**. 2010. Disponível em: < https://www.webartigos.com/artigos/estresse-nutricional-em-plantas/34518/. Acesso em: 08 outubro de 2017.

FONSECA, L.S; ARAÚJO, A.P.F; MACHADO, A.E.V; SIQUEIRA, F.G; LEMOS, M; MENDONÇA, S. Caracterização química do resíduo pós-cultivo de cogumelos destoxificantes em torta de algodão. In: **IV Encontro de Pesquisa e Inovação da Embrapa Agroenergia**: Anais, Brasília, 2017.

FONSECA, T.R.B. *Pleurotus ostreatoroseus* **DPUA 1720: Avaliação do crescimento, produção de basidioma e determinação da atividade proteolítica em resíduos agroindustriais**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Amazonas UFAM, 2013, 78p.

FURLAN, S.A; GERN, R.M.M; WISBECK, E; BONATTI, M; SILVEIRA, M.L.L; SILVA, H.H. Possibilities of *Pleurotus* aplications in food health and environmental technologies. In: Koutinas A, Pandey A, Larroche C. (Ed**.). Current topics on bioprocess in food industry**. Asiatech Publishers, INC, India, pp.197-203.2008.

FURLANI, R. P. Z. **Valor nutricional de cogumelos comestíveis cultivados no Brasil**. Tese de Doutorado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004, 88p.

FURLANI, R. P. Z.; GODOY, H. T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis: uma revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.64, n. 2, p.149-154, 2005.

FURLANI, R.P.Z.; GODOY, H.T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.1, p. 154-157, 2007.

GONÇALVES, C.C.M; PAIVA, P.C.A; DIAS, E.S; SIQUEIRA, F.G; FÁBIO HENRIQUE, F. Avaliação do cultivo de *Pleurotus sajor-caju* (Fries) Sing. sobre o resíduo de algodão da indústria têxtil para a produção de cogumelos e para alimentação animal. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 34, n. 1, p. 220-225, 2010.

GRACIOLLI, L. A.; CAETANO, C. P. S.; LEONEL, M.; AGUIAR, E. B. Cultivo do cogumelo comestível *Pleurotus florida* em ramas de mandioca. **Revista Raízes e Amidos Tropicais, Botucatu**, v.6, p. 26-39, 2010.

GRIFTIN, D.H. **Fungal physiology.** 2.ed. New York: Wiley Liss, 1994.

HOLTZ, M; BORGES, G.M; FURLAN, S.A; WISBECK, E. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* using cotton residues of textile industry. **Revista Ciência e Ambiente**, v.3, n.1, p. 37-51, 2009.

KEREM, Z.; HADAR, Y. Effect of manganese on preferential degradation of lignin by *Pleurotus ostreatus* during solid-state fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.61, n.8, p.3057-3062, 1995.

LÓPEZ, M. A.; ESPINOSA, M. J. **Manual de nutrition y fertilización del banano**. Quito: Instituo de la Potasa y el Fósforo, 1995.

MENDONÇA, E. S.; MATOS, E. S. **Matéria Orgânica do Solo: Métodos de Análises**. Viçosa, UFV, 107 p., 2005.

MILES, P. G.; CHANG, S.-T. **Mushroom biology:** concise basics and current developments. Singapore: World Scientific, 1997. 194 p.

MODA. E.M.; HORII. J.; SPOTO, M.H.F. Edible Mushroom *Pleurotus sajor-caju* production on washed and supplemented sugarcane bagasse. **Scientia Agricola**, v.62, n. 2, 127-132, 2005.

MORAIS, K.S; MARQUEZ, A.F; GOMES, T.G; MACHADO, A.E.V; LEMOS, M; OLIVEIRA, M.E.C; JUNIOR, H.M; MENDONÇA, S; SIQUEIRA, F.G. Subprodutos da agroindústria do óleo de palma (dendê) para cultivo de cogumelos comestíveis e nutrição de peixes. **Revista Biotecnologia & Ciência** v.6, n.1, p.25-54, 2017.

MOREIRA, A.; FAGERIA, N.K. Repartição e remobilização de nutrientes na bananeira. Revista Brasileira de Fruticultura, v.31, p.574-581, 2009.

MOTA, S. **Introdução à engenharia ambiental**. Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental - ABES, Rio de Janeiro, 4ª edição, 2006, 343p.

MOTATO, R.; MEJÍA, I.A.; LEÓN, A. Evaluación de los residuos agroindustriales de plátano (*Musa paradisíaca*) y aserrín de abarco (*Cariniana piriformes*) como substratos para el cultivo del hongo *Pleurotus djamor*. **Vitae**, v.13, n.1, p.24-29, 2006.

NUNES, A.S; PEDRENO, G.Y.O; ANSELMO, M.L; GALUCIO, V.C.A; NETA, I.B.B; SOUZA, J.N.C; SALES-CAMPOS, C. Cultivo de cogumelo comestível em substrato amazônico *Astrocariumaculeatum.* **In: Anais do IX Simpósio Internacional sobre cogumelos no Brasil e XVIII Simpósio Nacional sobre cogumelos comestíveis**, São José dos Campos, 2017.

OKANO, K.; FUKUI, S.; KITAO, R.; USAGAWA, T. Effects of culture length of *Pleurotus eryngii* grown on sugarcane bagasse on in vitro digestibility and chemical composition. **Animal Feed Science and Technology**, v. 136, p. 240–247, 2007.

PAPAGIANNI, M. Fungal morphology and metabolite production in submerged mycelia processes. **Biotechnology Advances**, v. 22, p. 189–259, 2004.

PATHAK, R.; JOSHI, N.; DWIVEDI, R. R. Eco-friendly production of *Agaricus bisporus* (lange) imbach (white button mushroom). **Natural Sciences**, v. 6, p.57–60, 2009.

PATIL, S.S.; AHMED, S.A.; TELANG, S.M.; BAIG, M.M.V. The nutritional value of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kumm cultivated on different lignocellulosic agrowastes. **Innovative Romanian Food Biotechnology**, v.7, p.66-76, 2010.

PEDRA, W.N; MARINO, R.H. Axenic cultivation of *Pleurotus* spp. in coconut exocarp (*Cocos nucifera* Linn.) sawdust supplemented with rice bran ou wheat bran. **Arquivos do Instituto Biológico**. v.73, n. 2, p. 219-225, 2006.

PERALTA, R.M; OLIVEIRA, A.L; ELER, G.J; SOARES, A.A; BRACHAT, A. Functional properties of edible and medicinal mushrooms. **Curr Trends Microbiology**, v. 4, p. 45-60, 2008.

PHILIPPOUSSIS, A.; ZERVAKIS, G.; DIAMANTOPOULOU, P. Bioconversion of agricultural lignocelullolosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms Agrocybe aegerita, Volvariella volvaceae and Pleurotus spp. **World. Journal of Microbiology & Biotechnology**, Oxford, v.17, p.191-200, 2001.

RAGUNATHAN R.; SWAMINATHAN, K. Nutrional status of *Pleurotus* spp. Grown onvarious agro-wastes. **Food Chemistry**, London, v. 80, n. 3, p.371-375, 2003.

RAHMAN, M.H.; AHMED, K.U.; ROY, T. S.; SHELLY, N.J.; RAHMAN, M.S. Effect of wheat bran supplements with rice straw on the proximate composition of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). **Bangladesh Res. Pub. J.**, v.7,n.4, p. 306-311, 2012.

RAJARATHNAM, S; SHASHIREKA, M.N; BANO, Z. Biopotentialites of the basidiomacromycetes. **Advances in Applied Microbiology**, 37:223-361, 1992.

RAMPINELLI, J.R; SILVEIRA, M.L.L; GERN, R.M.M; FURLAN, A.S; NINOW, J.L; WISBECK, E. Nutritional value of *Pleurotus djamor* cultivated in banana straw. **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n. 2, p.197-202, 2010.

RAMPINELLI, J.R. **Utilização da casca de banana para a produção de lacase por** *Pleurotus sajor-caju* **CCB 019.** Tese de Doutorado, Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina. 2016, 132p.

SALES-CAMPOS, C. **Aproveitamento de resíduos madeireiros e da agroindústria regional para o cultivo de fungos comestíveis de ocorrência na região amazônica**. Tese (Doutorado em Biotecnologia), Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 2008, 197p.

SALES-CAMPOS, EIRA, A.F.C.; MINHONI, M.T.A.; ANDRADE, M.C.N. Mineral composition of raw material, substrate and fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus* in culture. **Interciencia**, v.34, p.432-436, 2009.

SALES-CAMPOS, C.; ARAUJO, L.M.; MINHONI, M.T.A.; ANDRADE, M.C.N. Análise físico-química e composição nutricional da matéria prima e de substratos pré e pós cultivo de *Pleurotus ostreatus*. **Interciencia**, v.35, n.1, p.70-76, 2010.

SALES-CAMPOS, C; MINHONI, M.T.A; ANDRADE, M.C.N. Productivity of *Pleurotus ostreatus* in amazonic residues. **Interciencia**, v. 35, n. 3, p.198-201, 2010.

SALES-CAMPOS, C.; ANDRADE, M.C.N. Aproveitamento de resíduos madeireiros para o cultivo do cogumelo comestível *Lentinus strigosus* de ocorrência na Amazônia. **Acta Amazonica**, v.41, n.1, p.1-8, 2011.

SANTOS, V.M.C.S; CASSOU, R; GERN, R.M.M; MENDONÇA, M.M; FURLAN, S.A. Estudo da fração de inóculo e da suplementação de palha de bananeira para a produção de *Pleurotus sajor-caju*. **Revista Saúde e Ambiente**, v. 1, n. 1, p.64-67, 2000.

SILVA, ASC. **Parâmetros industriais para produção de *Pleurotus ostreatus.*** Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2016, 137p.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos** 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2006. 235 p.

SILVEIRA, M. L. **Comparação entre o desempenho de inóculo sólido e inóculo líquido para o cultivo de *Pleurotus ostreatus* DSM 1833.** Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003, 90p.

SIQUEIRA, F.G. **Efeito do teor de nitrogênio, inoculantes e métodos de compostagem para o cultivo de *Agaricus blazei*.** 2006. 139p. Dissertação de Mestrado, Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2006.

SIQUEIRA, F.G; MARTOS, E.T; SILVA, R; DIAS, E.S. Cultivation of *Pleurotus sajor-caju* on banana stalk and Bahia grass based substrates. **Horticultura Brasileira**, v. 29, p.199-204, 2011.

SOARES, Naisy Silva. et al. **A cadeia produtiva da celulose e do papel no Brasil**. FLORESTA, Curitiba, PR, v. 40, n. 1, p. 1-22, jan./mar. 2010.

SOFFNER, M.L.A.P. **Produção de polpa celulósica a partir de engaço de bananeira**. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura. USP, 2001, 56p.

SOUZA, G. B.; NOGUEIRA, A. R. A. **Manual de laboratórios:** solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos. São Carlos: Embrapa, 2005.

STURION, G.L. **Utilização da folha de bananeira como substrato para o cultivo de cogumelos comestíveis** (*Pleurotus* spp.). Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, USP, Piracicaba, 147p. 1994.

VIEIRA, F.R. **Potencial de uso de gramíneas como substrato pasteurizado no cultivo do cogumelo *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm**. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP, Botucatu, 2012, 115p.

ZADRAZIL, F. Cultivation of *Pleurotus. In:* CHANG, S. T; HAYES, W. A. **The biology and cultivation of edible mushrooms**. New York: Academic Pess. p. 521-557, 1978.