



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
PROGRAMA DE PÓS – GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA



**PRODUÇÃO DE UMA ESPÉCIE DE COGUMELO SALMÃO COMERCIAL PARA
ELABORAÇÃO DE UM PRODUTO ALIMENTÍCIO**

ANA KEZIA PIMENTEL DE BRITO

MANAUS - AMAZONAS

2021

ANA KEZIA PIMENTEL DE BRITO

**PRODUÇÃO DE UMA ESPÉCIE DE COGUMELO SALMÃO COMERCIAL PARA
ELABORAÇÃO DE UM PRODUTO ALIMENTÍCIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas em cumprimento às exigências para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof^ª. Doutora. Maria Francisca Simas Teixeira
Co-orientador: Prof^º. Doutor. Salomão Rocha Martim

MANAUS - AMAZONAS

2021

Ficha Catalográfica

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

B862p Brito, Ana Kezia Pimentel de
Produção de uma espécie de cogumelo salmão comercial para
elaboração de um produto alimentício / Ana Kezia Pimentel de Brito
. 2021
60 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Maria Francisca Simas Teixeira
Coorientadora: Salomão Rocha Martim
Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal
do Amazonas.

1. P. djamor. 2. Cultivo. 3. Resíduos agroindustriais. 4. Farinha de
cogumelo. I. Teixeira, Maria Francisca Simas. II. Universidade
Federal do Amazonas III. Título

Dedico principalmente a Deus, aos meus pais, família e a minha orientadora.
A todos aqueles que fizeram parte deste projeto.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por ter me dado vida, por continuar guiando meus passos e sonhos e por ser meu maior exemplo.

Aos meus pais, Maria e Walter, pelos valores e incentivos transmitidos a mim e aos meus irmãos. Por todo o sacrifício que fizeram para que eu pudesse concluir esta etapa de formação acadêmica.

Aos meus irmãos queridos, Lemoel e Walter Lucas, que sempre me apoiaram e incentivaram. A minha irmã e amiga, Alderlene, que sempre serviu de exemplo, e por ter me ajudado e alegrado durante este período.

Ao marido, Maxwell Medeiros, por todo amor, companheirismo, incentivo a pesquisa e animação que transmite.

Agradeço a minha amiga Laynah Pimenta pelos momentos de descontração, pelas conversas, apoio e incentivo.

À Universidade Federal do Amazonas – UFAM pelo apoio financeiro e estrutural que possibilitaram a execução deste projeto.

Ao Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela concessão de bolsa ao longo desses dois anos.

Agradeço ao Programa de Pós Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas, por proporcionar muitas oportunidades e aprendizagem. Ao Laboratório de Micologia da UFAM, por todo ensino, companheirismo e alegrias que obtive.

A minha orientadora, Professora Doutora Maria Francisca Simas Teixeira, por transmitir seus ensinamentos, e pelo encorajamento na ciência e na vida, por ter sido nosso grande alicerce durante esta Pandemia.

Agradeço a meus amigos de laboratório pelo convívio, auxílio e pelos momentos de descontração. Em especial ao Dr. Raimundo Felipe, que foi um grande professor e que sempre estava disposto a ajudar e alegrar com as suas piadas nas horas mais críticas.

“Posso todas as coisas por
meio de Cristo, que me dá
forças.”

Filipenses 4:13

RESUMO

Espécies de *Pleurotus* vêm sendo utilizados como alimentos e fontes de compostos bioativo. Muitas têm sido cultivadas em resíduos lignocelulósicos de baixo custo para obtenção de basidiomas alto valor nutricional. O objetivo deste trabalho foi verificar a produção de *Pleurotus djamor* DPUA 1818 em resíduos da fruticultura amazônica para utilização dos basidiomas na elaboração de produto alimentício. A espécie *Pleurotus djamor*, cedida pela coleção de culturas DPUA, da Universidade Federal do Amazonas, foi cultivada em ágar batata dextrose + Extrato de Levedura 0,5% (p/v). Para avaliar a velocidade do crescimento micelial radial (VCR) e densidade micelial, *P. djamor* foi cultivado em cinco meios com YE 0,5% (p/v): ágar Batata Dextrose, ágar Sabouraud, ágar Extrato de Malte, ágar Inhame-Roxo (*Dioscorea alata*) e ágar Cará-de-Espinho (*Dioscorea alata*). A atividade proteolítica foi determinada pelo método de bloco de gelose em ágar leite. Na avaliação do crescimento micelial vertical (VCM) foram utilizados exocarpos de cupuaçu [CC(*Theobroma grandiflorum*)] e abacaxi [CA(*Ananas comosus*)], semente de açaí [SA(*Euterpe oleracea*)] e serragem (SERR), suplementados com farelo de arroz ou farelo de trigo. Em seguida, para a produção de *Pleurotus djamor* foram utilizados meio de cultivo e resíduo que apresentaram crescimento micelial significativo e micélio vigoroso. Os basidiomas obtidos foram avaliados quanto as características morfológicas e os parâmetros da produção avaliados. Para a elaboração do produto alimentício do tipo farinha, os basidiomas foram desidratados, determinada a granulometria. Foram feitas análises centesimais, microbiológicas e propriedades tecnológicas: índice de absorção de água (g/g), solubilidade em água (%) e capacidade de intumescimento (g/g). A VCR significativa foi observada em ágar Cará-de-Espinho + YE (11,26 mm/dia) e ágar Inhame-Roxo + YE (10,97 mm/dia). Contudo, ágar Sabouraud + YE favoreceu a densidade micelial, sendo o meio selecionado para obtenção de inóculo nos testes de avaliação do crescimento micelial de *P. djamor* em resíduos lignocelulósicos e produção de basidiomas. Atividade proteolítica significativa foi determinada em BDA+YE (17,7 mm), MEA+YE (17,6 mm) e SAB+YE (17,0 mm). Forte densidade micelial e VCM significativa foi determinada em CC+FT (0,37 cm/dia) e CC+FA (0,30 cm/dia). O cultivo de *P. djamor* em CC+FA apresentou parâmetros de produção significativos, eficiência biológica 137,91%, taxa de produção 8,11 g/dia, produtividade 21,81% e perda de matéria orgânica 31,86%, demonstrando o potencial amazônico quanto a cultivo de cogumelos. Os basidiomas apresentaram tamanho médio de 12,2 x 7,5 cm e estipe 2,5cm. A farinha apresentou qualidade nutricional muito apreciadas comercialmente, sendo rica em proteínas, fibras e carboidratos. As propriedades funcionais da farinha corresponderam a IAA 6,29 g/g, ISA 52% e CI 5,68g/g sendo uma excelente alternativa para a elaboração de alimentos funcionais saudáveis como pães, sopas e produtos cárneos. Meios de cultivo a base de tubérculos e resíduos Amazônicos são alternativas viáveis para cultivo micelial, produção de proteases por *P. djamor* e obtenção de cogumelos como produtos alimentícios nutricionalmente ricos com potencial uso e formulações alimentares.

Palavras-Chave: *P. djamor*; Cultivo; Resíduos agroindustriais; Farinha de cogumelo.

ABSTRAT

Pleurotus species have been used as food and sources of bioactive compounds. Many have been cultivated in low cost lignocellulosic residues to obtain basidiomes of high nutritional value. The objective of this work was to verify the production of *Pleurotus djamor* DPUA 1818 in Amazonian fruit culture residues in order to use the basidiomes in the elaboration of a food product. The *Pleurotus djamor* species, provided by the DPUA culture collection from the Federal University of Amazonas, was cultivated in Potato Dextrose agar + Yeast Extract 0.5% (w/v). To evaluate the radial mycelial growth velocity (RCV) and mycelial density, *P. djamor* was grown on five media with YE 0.5% (w/v): Potato Dextrose agar, Sabouraud agar, Malt Extract agar, Purple Yam (*Dioscorea alata*) agar and Yam Spiked (*Dioscorea altissima*) agar. Proteolytic activity was determined by the gelose block method on milk agar. For the evaluation of vertical mycelial growth (VCM), cupuaçu [CC(*Theobroma grandiflorum*)] and pineapple [CA(*Ananas comosus*)] exocarps, açaí [SA(*Euterpe oleracea*)] seed and sawdust (SERR), supplemented with rice bran (FA) or wheat bran (FT) were used. Then, for the production of *Pleurotus djamor*, culture medium and residue that showed significant mycelial growth and vigorous mycelium were used. The basidiomes obtained were evaluated for morphological characteristics and the production parameters evaluated. For the elaboration of the flour type food product, the basidiomes were dehydrated, determined the granulometry. Centesimal, microbiological and technological properties were analyzed: water absorption index (g/g), water solubility (%) and swelling capacity (g/g). Significant RCV was observed in Cará-de-Espinho agar (11.26 mm/day) and Inhame-Roxo agar (10.97 mm/day). However, Sabouraud agar favored the mycelial density, being the medium selected to obtain inoculum in the tests to evaluate the mycelial growth of *P. djamor* on lignocellulosic waste and basidiom production. Significant proteolytic activity was determined on BDA+YE (17.7 mm), MEA+YE (17.6 mm) and SAB+YE (17.0 mm). Strong mycelial density and significant VCM was determined in CC+FT (0.37 cm/day) and CC+FA (0.30 cm/day). The cultivation of *P. djamor* in CC+FA showed significant production parameters, biological efficiency 137.91%, production rate 8.11 g/day, productivity 21.81% and loss of organic matter 31.86%, demonstrating the Amazonian potential regarding mushroom cultivation. The basidomas presented an average size of 12.2 x 7.5 cm and 2.5 cm stipe. The flour presented nutritional quality that was commercially very appreciated, being rich in protein, fiber and carbohydrates. The functional properties of the flour corresponded to WAI 6.29 g/g, WS 52% and SC 5.68g/g being an excellent alternative for the elaboration of healthy functional foods as breads, soups and meat products. Growing media based on Amazonian tubers and wastes are viable alternatives for mycelial culture and protease production by *P. djamor* to obtain nutritionally rich mushrooms and food products with potential use and food formulations.

Key-words: *P. djamor*; Cultivation; Agroindustrial waste; Mushroom meal.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Forma do Píleo de <i>Pleurotus djamor</i>	16
Figura 2 - Coloração de basidiomas de <i>Pleurotus djamor</i>	16

CAPÍTULO 01

Figura 1 - Densidade micelial de <i>P. djamor</i> em diferentes meios de cultivo.....	31
--	----

CAPÍTULO 02

Figura 1 - Ciclo de crescimento de <i>Pleurotus djamor</i> em exocarpo de cupuaçu suplementado com farelo de arroz.....	40
Figura 2 – <i>Pleurotus djamor</i>	42
Figura 3 - Farinha elaborada com basidiomas de <i>Pleurotus djamor</i>	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Aplicação biotecnológicas de cogumelos do gênero <i>Pleurotus</i>	15
--	----

CAPÍTULO 01

Tabela 1. Média da velocidade do crescimento micelial <i>in vitro</i> e vigor micelial de <i>P. djamor</i> DPUA 1818 em meios naturais e sintéticos.....	30
---	----

Tabela 2. Média de atividade de proteases de <i>P. djamor</i> utilizando meios de cultura sólidos e naturais.....	31
--	----

Tabela 3. Média de velocidade de crescimento vertical em resíduos lignocelulósicos e vigor micelial de <i>Pleurotus djamor</i>	32
---	----

CAPÍTULO 02

Tabela 1. Parâmetros quantitativos referentes à produção de <i>Pleurotus djamor</i> em exocarpo de cupuaçu misturado com farelo de arroz.....	41
--	----

Tabela 2. Composição centesimal de <i>Pleurotus djamor</i> (g/ 100g de substrato em base seca)	43
---	----

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1	Cogumelos comestíveis.....	14
2.2	Gênero <i>Pleurotus</i> (Fr.) Quél.....	14
2.3	<i>Pleurotus djamor</i> (Fr.) Boedijn.....	15
2.4	Resíduos agroindustriais	17
2.5	Produtos alimentícios elaborados a partir de <i>Pleurotus</i> spp.....	17
3.	OBJETIVO.....	18
3.1	Objetivo Geral.....	18
3.2	Objetivos Específicos.....	18
4.	MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1	Cogumelo	19
4.2	Crescimento micelial radial.....	19
4.3	Efeito da composição do meio de cultura na produção de proteases	19
4.4	Seleção de resíduos lignocelulósicos para produção de basidiomas de cogumelo comestível	20
4.4.1	Resíduos lignocelulósicos	20
4.4.2	Tratamento dos resíduos lignocelulósicos.....	20
4.4.3	Cultivo de <i>Pleurotus djamor</i> em resíduo lignocelulósico	20
4.5	Produção de <i>Pleurotus djamor</i>	21
4.5.1	Produção do <i>Spawn</i> de <i>P. djamor</i> em grãos.....	21
4.5.2	Produção de basidiomas de <i>Pleurotus djamor</i> em resíduo lignocelulósico	21
4.5.3	Determinação dos parâmetros da produção de <i>Pleurotus djamor</i>	22
4.6	Elaboração de produto alimentício utilizando basidiomas de <i>Pleurotus djamor</i>	22
4.7	Caracterização da farinha de <i>Pleurotus djamor</i>	22
4.7.1	Determinação da composição centesimal da farinha do processamento dos basidiomas de <i>P. djamor</i>	22
4.8	Análise microbiológica da farinha de <i>P. djamor</i>	23
4.9	Análise das propriedades funcionais tecnológicas da farinha de <i>P. djamor</i>	23
4.9.1	Índice de Absorção de Água (IAA).....	23
4.9.2	Índice de Solubilidade em Água (ISA)	24
4.9.3	Capacidade de Intumescimento (CI).....	24
4.10	Análise estatística.....	24
	CAPÍTULO 01.....	25

Avaliação de substratos de floresta tropical para cultivo e produção de proteases por <i>Pleurotus djamor</i>	26
CAPÍTULO 02	35
Performance da produção de <i>Pleurotus djamor</i> em resíduo de floresta tropical e elaboração de produto alimentício funcional.....	36
5. CONCLUSÕES.....	48
6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	49

1. INTRODUÇÃO

Devido a busca por alimentação saudável em resposta ao aumento da expectativa de vida sadia, indivíduos estão optando por hábitos alimentares saudáveis, assim priorizando o consumo de cogumelos para promoção da saúde humana (SALEHI, 2019; WANG et al., 2018).

Cogumelos são usados como alimentos há milênios pelo homem (BONNEVILLE et al., 2020). Constituindo esse grupo, está a diversidade de *Pleurotus* que tem forma pleurotóide do basidioma, semelhante a ostra e cor variando de rosa, salmão, cinza a branco, são encontrados em florestas tropicais e subtropicais, em troncos de árvores em decomposição (GANESAN, et al., 2018; GARGANO et al., 2017; KIM et al., 2009; MASRI et al., 2017; PUTZKE, 2019).

Resíduos lignocelulósicos são substratos que promovem o crescimento de cogumelos comestíveis por fermentação no estado sólido, processo que, além de contribuir para o descarte adequado e redução dos impactos ambientais, promove a sustentabilidade ambiental (JACOB, 2015).

Pleurotus djamor (Fr.) Boedijn, conhecido como cogumelo ostra salmão, contém altos níveis de proteína e elementos essenciais, como vitaminas e minerais, além de ser fonte de fibras, antioxidantes, com potencial para uso como ingrediente alimentício (HASAN et al., 2015; SATHYAN et al., 2017; ZURBANO et al., 2017; SILVA et al., 2018).

Como forma de aumentar a diversidade alimentar e promover o desenvolvimento de processos sustentáveis, estudos realizados na Amazônia mostram que resíduos da produção de abacaxi (*Ananas comosus*) e cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) são eficientes substratos para cultivo de espécies de *Pleurotus* e *Lentinula* e a aplicação desses cogumelos nos desenvolvimentos de produtos alimentícios (FONSECA et al., 2015; MACHADO et al., 2016; SOUZA et al., 2016).

A eficácia da aplicação de cogumelos comestíveis na elaboração de preparações alimentícias com características nutricionais e sensoriais diferenciadas está relacionada, não apenas, ao seu valor nutricional, mas também ao sabor e aroma único e específico (IBRAHIUM, et al., 2014; NAYAK et al., 2018; WAN-MOHTAR et al., 2018; SUN et al., 2020).

Para a elaboração de produtos alimentícios à base de cogumelos, pode ser utilizado o basidioma *in natura* ou desidratado. A elaboração de farinha dos corpos de frutificação constitui uma alternativa lucrativa e viável para elaboração de novos produtos contendo nutrientes não convencionais que contribuem para uma dieta saudável e melhoria da qualidade de vida (SATHYAN et al., 2017; NAYAK et al., 2018).

Diversos alimentos já foram fabricados com massa micelial de cogumelos comestíveis, a exemplo de basidiomas de *Boletus* sp. e *Agaricus* sp. na formulação de uma massa alimentícia (LU et al., 2018). A adição de 1% (p/p) de biomassa de *P. ostreatus* aumentou a qualidade nutricional e aceitação sensorial de um iogurte natural (TUPAMAHU et al., 2017). Biscoitos formulados com basidioma de *L. edodes* apresentaram predominância de fibras, proteínas e cinzas quando comparados à amostra padrão (TOAN et al., 2018).

Na literatura científica há carência de estudos reportando a utilização de resíduos tropicais para produção de *P. djamor* e posterior aplicação em produtos alimentícios, o que possibilita investigações do potencial desse cogumelo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cogumelos comestíveis

Os cogumelos são macrofungos cosmopolitas e estacionais muito importantes para o equilíbrio ecológico do ambiente florestal. Eles podem ser ou não consumidos como alimento, sendo os comestíveis utilizados desde a pré-história. As espécies comestíveis vêm beneficiando a saúde humana devido a propriedades que as constituem, qualidade que tem estimulado o interesse de indústrias de alimentos para o uso de fontes nutricionais e medicinais alternativas (MAJESTY et al., 2019; MLECZEK et al., 2017; MURUGESAN et al., 2017).

Dados da literatura mostram que o alto valor nutricional aos cogumelos comestíveis os insere como fontes de alimentos, pois possuem nutrientes disponíveis que variam de acordo com as espécies. Nos cogumelos comestíveis, o acúmulo de água é alto quando comparado com carne bovina e legumes, são organismos que contêm carboidratos, proteínas, vitamina B e D, elementos minerais, aminoácidos essenciais e compostos bioativos com ação antioxidantes, agentes anti-inflamatórios, entre outras atividades medicinais à saúde do homem. (BACH et al., 2017; MAJESTY et al., 2019; SINGH, 2017).

2.2 Gênero *Pleurotus* (Fr.) Quél

O gênero *Pleurotus* (Fr.) Quél ocorre em regiões tropicais e temperadas, produz micélio branco e apresenta excepcional capacidade de degradar a lignina presente nos vegetais e em substratos lignocelulósicos não compostados. É o segundo gênero de cogumelos comestíveis mais cultivados no mundo, composto por mais de 40 espécies, sendo a China contribuidora de 83% na produção enquanto o resto do mundo contribui apenas 13%. (MARTÍNEZ-CARRERA et al., 1998; SALES-CAMPOS, 2010; CORRÊA et al., 2016; SANTAKAR et al., 2018; CARRASCO-GONZÁLEZ et al., 2019; BARH et al., 2019).

As espécies de *Pleurotus* são reconhecidas por possuir propriedades alimentícias, por exemplo, sabor e funções fisiológicas. Nos atributos sensoriais a cor proporciona maior influência na escolha do consumidor, assim como, o atributo de maior flutuação por ação do armazenamento, processamento e outros procedimentos. Produtos originários do processamento da biomassa de *Pleurotus* têm propriedades medicinais e são utilizados em processos biotecnológicos (Tabela 1), como a limpeza de contaminantes ambientais (HOSSAIN et al., 2003; CORRÊA et al., 2016; YUAN et al., 2017; GANESEN, 2018; PROSERPIO et al., 2019; SEKAN et al., 2019; TELLÉZ-TELLÉZ et al., 2019).

Tabela 1. Aplicação biotecnológicas de cogumelos do gênero *Pleurotus*.

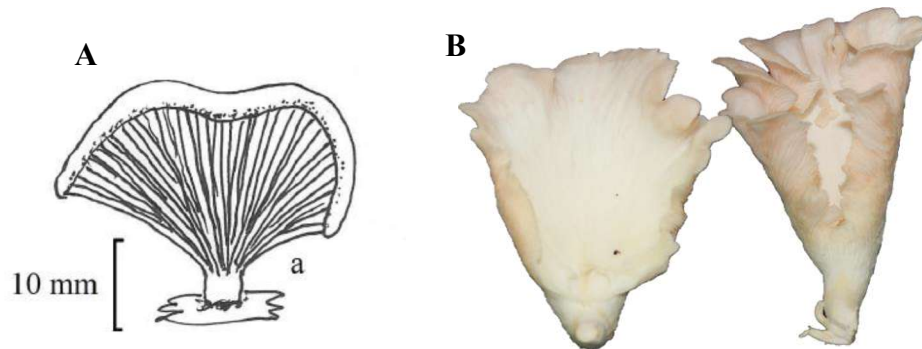
Espécies	Aplicações Industriais e Ambiental	Referências
<i>Pleurotus cornucopiae</i>	Tratamento de hipertensão	Jang et al., 2011
<i>P. pulmonarius</i>	Tratamento de câncer de fígado	Xu et al., 2012
<i>P. albidus</i>	Elaboração de barras de cereais	Kirsch et al., 2013
<i>P. ostreatus</i>	Tratamento de efluentes	Hein, 2017
<i>P. eryngii</i>	Alimento funcional na forma de bebida	Lin et al., 2017
<i>P. ostreatoroseus</i>	Farinha para a formulação de capeletti	Machado et al., 2017
<i>P. albidus</i>	Produção de queijo	Martim et al., 2017
<i>P. djamor</i>	Tratamento anti-helmíntico alternativo	Pineda-Alegría et. al., 2017
<i>P. eryngii</i>	Tratamento de câncer do cólon	Yun et al., 2017
<i>P. ostreatus</i>	Pó para waffles	Arza, 2018
<i>P. eryngii</i>	Micélio para sola de tênis	Silverman, 2018
<i>P. ostreatus</i>	Suplementação de sopas	Proserpio, 2018
<i>P. sajor-caju</i>	Removedor de corantes	Zaccaria et al., 2019
<i>P. ostreatus</i>	Removedor de corantes sintéticos.	Zhuo et al., 2019
<i>P. eryngii</i>	Degradador de aflotoxina B1	Braná et al., 2020
<i>P. ostreatus</i>	Novo corante têxtil	Wlizlo et al., 2020
<i>P. ostreatus</i>	Degradador de produtos de higiene plástica	Mismisuraya et al., 2021
<i>P. albidus</i>	Elaboração de biscoito micoproteico	Stoffel et al., 2021

2.3 *Pleurotus djamor* (Fr.) Boedijn

Pleurotus djamor (Fr.) Boedijn está classificado na família Pleurotaceae, ordem Agaricales. É uma espécie que apresenta características como píleo espatulado a flabeliforme (Figura 1), branco a rosa vibrante quando fresco e marrom quando desidratado, estipe excêntrico a lateral, esporada branca, que segundo Lechner et al. (2004), difere de *P. ostreatoroseus* na cor da esporada e tipo de queilocistídeos.

Nativo dos trópicos, os corpos de frutificação rosa (Figura 2), são abundantes em temperaturas mais quentes e que podem ser cultivadas em resíduos agroindustriais como alternativa de baixo custo e rentável (LECHNER et al., 2004; ZURBANO et al., 2017; PUTZKE, 2019).

Figura 1 - Forma do píleo de *Pleurotus djamor*, (A) Desenho esquemático mostrando a estrutura do píleo flabeliforme (B) Imagem do píleo *in natura* de *Pleurotus djamor*



Fonte: Putzke et al., 2019.

Fonte: A autora (2019).

Apresenta aroma agradável, leve dureza nos basidiomas frescos, característica que varia de acordo com a cepa utilizada no cultivo, quanto ao seu sabor, estudos apontam a influência direta de 16 compostos (RAJARATHNAM et al., 1998; ZAWIRSKA-WOJTASIAK et al., 2009).

Figura 2 - Coloração de basidiomas de *Pleurotus djamor*



Fonte: A autora (2021).

Alvarez et al. (2010), demonstraram que *Pleurotus djamor* tem potencial para aplicação biotecnológica, podendo ser empregada na forma medicinal e como alimento dietético e orgânico. Os autores citam também que essa espécie adquirida no ecossistema do Panamá já foi apreciada tanto *in natura* quanto na formulação de pizzas, sopas e molhos, produtos de panificação, consumidas em restaurantes gourmets, hotéis, pizzarias e padarias. Medicinalmente é estudado como agente anti-helmíntico, antioxidante, antimicrobiano,

antitumoral, no tratamento de hipertensão e diminuição de níveis de colesterol (DHARMARAJ et al., 2014; RAGASA et al., 2016; SUDHA et al., 2016).

2.4 Resíduos agroindustriais

Pleurotus é frequentemente cultivado em substrato como, palha de arroz, trigo e algodão e em toras ao ar livre, substratos que fornecem nutrientes essenciais para crescimento desses fungos. Todavia, existem outras alternativas economicamente de maior viabilidade para cultivo de cogumelos, como exocarpos, sementes e a serrapilheira. A utilização desses substratos lignocelulósicos proporciona a utilização adequada da matéria orgânica na produção de alimentos e auxilia na redução do descarte incorreto dos rejeitos originários da agricultura (CHANAKYA, 2015; CSÓKA et al., 2017; KAMTHAN, 2017; GRIMM et al., 2018).

O rendimento no cultivo de cogumelos está associado as exigências nutricionais para cada espécie, em uma concentração ideal. Em se tratando de baixo rendimento de biomassa, essa ocorrência pode ser explicada pela alta ou baixa concentração de nutrientes disponíveis para o cogumelo (KAMTHAN et al., 2017; GRIMM et al., 2018; CARRASCO et al., 2019).

Outros fatores que influenciam no desenvolvimento dos cogumelos são temperatura ideal, pH do substrato de 6,5, o nível de dióxido de carbono (15-20%) disponível no ambiente, umidade (60-100%). Temperatura e umidade devem ser controlas simultaneamente, esses fatores são essências para um alto desempenho de produção e obtenção de basidiomas viáveis ao consumo (HOLTZ, 2009;CONDÉ et al., 2016; KAMTHAN et al., 2017).

2.5 Produtos alimentícios elaborados a partir de *Pleurotus* spp.

Pleurotus spp. são utilizadas na elaboração de produtos alimentícios com valor nutricional maior que o convencional. Por serem considerados alimentos perecíveis, com prazo de validade de 24-48h, técnicas de armazenamento corretas, como a secagem, preserva a composição nutricional e não é alterada quando são aplicadas corretamente. Cogumelos desidratados são ingredientes para uma variedade de produtos alimentícios com potencial funcional (farinhas, pão, molhos e sopas) (SALEHI et al., 2019).

O mercado global de alimentos funcionais foi avaliado em US \$ 176.518,97 milhões em 2020, com previsão de crescimento de 2,7% no período de 2021 a 2026. Os alimentos funcionais são apreciados devido ao valor nutricional e por serem elaborados ou enriquecidos utilizando farinhas ricas em proteínas de diversos tipos, como amêndoas, castanha e até de cogumelos. Muitas farinhas são incorporadas a diversos tipos de alimentos, mas o que mais tem

destaque são os alimentos de padaria, tais como pães, bolos, biscoitos, muffins e suflês (SURESH et al., 2017; SALEHI, 2019; MORDOR INTELLIGENCE, 2020).

3. OBJETIVO

3.1 Objetivo Geral

- Verificar o crescimento de *Pleurotus djamor* DPUA 1818 em diferentes substratos para selecionar resíduo lignocelulósico utilizado na produção de basidiomas com características nutricionais para elaboração de produto alimentício.

3.2 Objetivos Específicos

- Investigar a influência de diferentes meios de cultivo no crescimento micelial de *P. djamor*;
- Avaliar atividade qualitativa de proteases excretadas por *P. djamor* em cultivo *in vitro*;
- Avaliar o crescimento de *P. djamor* para selecionar resíduos lignocelulósicos para produção de basidiomas;
- Promover a produção de *P. djamor* em resíduo lignocelulósicos e elaborar um produto alimentício com basidiomas dessa espécie;
- Determinar a composição centesimal e qualidade microbiológica do produto formulado com *P. djamor*;
- Analisar a propriedades tecnológicas da farinha de *P. djamor*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Cogumelo

Nesta pesquisa foi utilizado *P. djamor* DPUA 1818, cedido pelo acervo da coleção de culturas DPUA do Departamento de Parasitologia, da Universidade Federal do Amazonas. Para obtenção da forma micelial foi inoculado o fragmento de micélio em Ágar Batata Dextrose (BDA), suplementado com 0,5 % (p/v) de extrato de levedura (YE). De cada cultura pura e viável, em triplicata, foi transferido disco micelial de 10 mm de diâmetro para ágar BDA+YE em placas Petri (100 mm x 15 mm). Os cultivos foram mantidos a 25 °C na ausência de luz, por oito dias para uso nos demais experimentos (FONSECA et al., 2015).

4.2 Crescimento micelial radial

O crescimento micelial radial foi avaliado em cinco meios de cultura adicionados de YE 0,5% (p/v): ① ágar batata dextrose + YE (BDA+YE), ② ágar Sabouraud + YE (SAB+YE), ③ ágar extrato de malte + YE (MEA+YE), ④ ágar inhame-roxo (*Dioscorea alata*) + YE (PYA+YE) e ⑤ ágar cará-de-espinho (*Dioscorea altissima*) + YE (SYA+YE). Em cada meio, contido placa de Petri, foi inoculado um disco micelial de 10 mm de diâmetro. As culturas foram mantidas a 28 °C por 8 dias, na ausência de luz. O crescimento de *P. djamor* foi analisado em milímetros, medindo o diâmetro da colônia em sentidos diametralmente opostos, utilizando uma régua graduada, a cada 24 horas por oito dias. Todos os experimentos foram realizados em quintuplicata, segundo as recomendações de Castillo (2009). A velocidade de crescimento radial (VCR) foi determinada conforme Equação I:

$$\text{Equação I: VCR} = \frac{\text{diâmetro colônia (mm)}}{\text{Tempo de cultivo (dias)}}$$

A densidade do micélio, com base no vigor micelial de *P. djamor*, foi o critério utilizado para selecionar o meio de cultura para crescimento radial desse cogumelo. A avaliação do vigor micelial de cada cultura foi classificada pelo método subjetivo de notas: nota 1 (fracamente adensado); nota 2 (mediamente adensado); e nota 3 (fortemente adensado). Critério que definiu a seleção da cultura inóculo (MARINO et al., 2008).

4.3 Efeito da composição do meio de cultura na produção de proteases

Para avaliar a atividade de proteases de *P. djamor* foram utilizados discos miceliais das culturas obtidas em cinco meios. A atividade proteolítica foi determinada em meio sólido pelo método de bloco de gelose. De cada cultura foram retirados discos miceliais de 10 mm de

diâmetro e inoculados na superfície de ágar leite 5 % (p/v), em placa de Petri. As placas foram mantidas a 37 °C. Após 18 horas foi determinada a atividade de proteases, medindo o diâmetro do halo em milímetros (TEIXEIRA et al., 2011). Os testes foram realizados em sextuplicata.

4.4 Seleção de resíduos lignocelulósicos para produção de basidiomas de cogumelo comestível

4.4.1 Resíduos lignocelulósicos

Na avaliação do crescimento micelial vertical foram utilizados os resíduos lignocelulósicos da fruticultura amazônica e serragem: ① exocarpo de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum) - CE, ② semente de açaí (*Euterpe oleracea*) - AS, ③ serragem - SAW e ④ exocarpo de abacaxi (*Ananas comosus*) – PE. Cada resíduo foi suplementado com farelo de arroz - RB ou farelo de trigo - WB, separadamente.

4.4.2 Tratamento dos resíduos lignocelulósicos

Os resíduos foram lavados em água corrente para retirada do excesso de sujeira, em seguida, higienizados com solução desinfetante para hortifrutícolas contendo cloro ativo 0,85% (p/p). Após 15 minutos foram submetidos à lavagem sucessiva, seguindo a drenagem do excesso de líquido. Cada resíduo foi misturado com RB ou WB e a umidade e o pH aferidos para 60% e 6,0, respectivamente. Os substratos foram acondicionados em tubos de ensaio (200 mm x 25 mm) contendo na sua base algodão umedecido com água destilada, formando uma coluna de 15 cm (PALHETA et al., 2011). Os tubos contendo as misturas de resíduos foram esterilizados a 121 °C, durante 60 minutos, por três dias consecutivos, procedendo ao resfriamento por 24 horas. Em cada tubo foi afixado externamente três fitas milimetradas (130 mm x 10 mm).

4.4.3 Cultivo de *Pleurotus djamor* em resíduo lignocelulósico

Da cultura inóculo foram retirados três discos miceliais de 10 mm de diâmetro e transferidos para superfície dos substratos lignocelulósicos (item 4.2), em tubo de ensaio de (200 mm x 25 mm). Nesses cultivos mantidos a 28 °C, na ausência de luz, o crescimento micelial vertical e a velocidade de miceliação foram observados a cada 24 horas por 15 dias consecutivos. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. A velocidade do crescimento micelial vertical (VCM) foi determinada em milímetros, de acordo com a equação II (ISRAEL, 2005; PALHETA et al., 2011). A avaliação do vigor micelial foi realizado método subjetivo descrito no item 4.2.

$$\text{Equação II: } VCM = \frac{V_f - V_i}{T_f}$$

Onde:

VCM = Velocidade média do crescimento micelial ao dia;

V_f = medida do crescimento micelial no tempo final (mm);

V_i = medida do crescimento micelial no tempo inicial (mm);

T_f = Tempo final (dias).

4.5 Produção de *Pleurotus djamor*

4.5.1 Produção do *Spawn* de *P. djamor* em grãos

Para produção do *spawn*, 600 g de grãos de trigo foram deixados em recipiente contendo água e após 12 horas foram tratados com desinfetante para hortifrutícolas por 10 minutos. Nos grãos pré-cozidos por 15 minutos, foi adicionado carbonato de cálcio (3,5 g/kg, em base seca) e armazenados em sacos de polietileno. Os grãos foram esterilizados a 121 °C durante 15 minutos. Após resfriamento, foram semeados 15 discos miceliais de 10 mm de diâmetro, da cultura inóculo (item 4.2), na superfície dos grãos. Os cultivos foram mantidos a 28 °C, na ausência de luz até completa colonização do substrato.

4.5.2 Produção de basidiomas de *Pleurotus djamor* em resíduo lignocelulósico

Para produção dos basidiomas de *P. djamor* foi utilizado resíduo lignocelulósico da fruticultura amazônica: selecionado no item 4.4.3 [CE (*Theobroma grandiflorum* Schum)] que foi higienizado em solução de hipoclorito 1% (v/v) por 12 horas. Após lavagem sucessiva, o resíduo foi misturado com a suplementação selecionada no item 4.4.3 [RB (farelo de arroz)] na proporção 800:200 e armazenado em sacos de polietileno. Esta mistura de resíduos com umidade 60%, pH 6,0 foi acondicionada em embalagens de polietileno de 5000 g e esterilizada a 121°C, por uma hora. Após o resfriamento, os *spawn* (100 g/kg) foram semeados na superfície da mistura de resíduos.

A produção foi realizada em três etapas: a primeira que consistiu no desenvolvimento do micélio a 28°C, na ausência de luz até completa miceliação do resíduo, umidade ambiente 60%, seguido de perfuração das embalagens após 72 horas. Na segunda, foi realizada a indução dos primórdios a 12 °C, umidade ambiental 90%, luz alternada a cada 12 horas a 28 °C. A

terceira foi o desenvolvimento de basidiomas a 28°C com umidade 100% e alternância de luz (FONSECA et al., 2015).

4.5.3 Determinação dos parâmetros da produção de *Pleurotus djamor*

Ao término da produção foi determinada a quantificação, peso médio e o tamanho dos basidiomas e determinado o tamanho das hastes (mm). Após esses procedimentos, os basidiomas foram desidratados a 40 °C até umidade final de 5%. Ao término da desidratação, o produto foi triturado em processador e embalado em potes de vidro com tampa rosqueável.

Para determinação dos parâmetros da produção de *P. djamor* foram avaliados quatro parâmetros: a eficiência biológica (EB), produtividade (P), taxa de produção (TP) e a perda de matéria orgânica do substrato (PMO) correspondendo a equação I, II, III e IV, respectivamente (DIAS et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2007; HOLTZ et al., 2009; AHMED et al., 2013).

$$\text{Equação I. Eficiência biológica (\%)} = \frac{\text{Peso do basidioma fresco}}{\text{Peso de substrato seco}} \times 100$$

$$\text{Equação II. Produtividade (\%)} = \frac{\text{Peso do basidioma fresco}}{\text{Peso de substrato utilizado}} \times 100$$

$$\text{Equação III. Taxa de Produção (g/dia)} = \frac{\text{Eficiência biológica}}{\text{Dias de cultivo}}$$

$$\text{Equação IV. Perda de Matéria Orgânica} = \frac{\text{Peso do substrato residual (base seca)}}{\text{Peso do substrato inicial (base seca)}} \times 100$$

4.6 Elaboração de produto alimentício utilizando basidiomas de *Pleurotus djamor*

Os basidiomas desidratados por 8h a 40 °C de *P. djamor* foram processados para obtenção de um produto alimentício do tipo farinha. As amostras de biomassa desidratadas foram trituradas em processador de alimentos para determinação da granulometria em peneira de 60 mesh (DIAS et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2007).

4.7 Caracterização da farinha de *Pleurotus djamor*

4.7.1 Determinação da composição centesimal da farinha do processamento dos basidiomas de *P. djamor*

A análise de composição centesimal do cogumelo foi realizada no laboratório de Tecnologia do Pescado da Universidade Federal do Amazonas-UFAM, citadas a seguir.

Umidade: foi determinada por dessecação em estufa com circulação de ar a 60 °C (método gravimétrico) até obtenção de peso constante (A.O.A.C, 2006).

Proteína total: foi determinada pela concentração de nitrogênio (%) segundo o método micro Kjeldahl e aplicando o fator de conversão 4,38 [valor adotado para a determinação da porcentagem de proteína para cogumelo, pois é admitido que apenas 70% dos compostos nitrogenados existentes nesses fungos sejam digeríveis pelo organismo humano ($0,70 \times 6,25 = 4,38$)] (FURLANI et al., 2005).

Cinzas (resíduo mineral fixo): foi determinada por incineração do material em mufla a 550°C - 660 °C até obtenção de peso constante (A.O.A.C, 2006).

Lipídios: foi determinado de acordo com o método descrito por Bligh et al. (1959).

Fibras totais: A fibra bruta foi determinada através de digestão ácido-básica, segundo método de Weende estabelecido pela A.O.A.C (1997).

Carboidratos totais: foram estimados por diferença entre o somatório das porcentagens de umidade, proteína, lipídios, cinzas (LATINFOODS 2002, NEPA 2006).

Energia: a energia total metabolizável = (4k de proteína) + (4kcal/g carboidratos totais) + (9kcal/g de lipídeos), preconizados pelo Latinfoods (2002) e Nepa (2006).

4.8 Análise microbiológica da farinha de *P. djamor*

Na determinação de *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., fungos filamentosos e leveduras na biomassa desidratada de *P. djamor* foi processada pelo método de diluição seriada (MASSAGUER, 2005; ALI, 2016). Da amostra de biomassa desidratada foi utilizado 25 g para ser homogeneizado com 225 ml de água peptonada (diluição 10^{-1}). Desta suspensão foram preparadas diluições sucessivas, transferindo 1 mL para 9 mL de água peptonada 0,1 % (p/v), até obtenção da diluição 10^{-3} . As diluições foram submetidas à agitação por dois minutos em vortex. De cada diluição foi transferido 100µL para superfície de ágar EMB Levine (KASVI[®]), ágar SS (KASVI[®]) e ágar batata dextrose (KASVI[®]). As placas de Petri foram incubadas a 37°C por 24 horas.

4.9 Análise das propriedades funcionais tecnológicas da farinha de *P. djamor*

4.9.1 Índice de Absorção de Água (IAA)

O índice de absorção de água foi determinado de acordo com metodologia descrita por Ruiz et al. (2003). Em tubo do tipo Falcon, foi adicionado um grama de biomassa desidratada em pó com 10 mL de água destilada, incubados a 25 °C por 30 minutos. Em seguida as amostras foram centrifugadas por 30 minutos, o precipitado foi recuperado para determinação do peso da massa úmida e o sobrenadante foi separado para posteriores análises.

$$\text{Equação V. IAA (\%)} = \frac{\text{Peso do precipitado (g)}}{\text{Peso da biomassa desidratada (g)}}$$

4.9.2 Índice de Solubilidade em Água (ISA)

O índice de solubilidade em água (ISA) foi determinado utilizando o sobrenadante adquirido no item 4.9.2 (IAA). O líquido sobrenadante recuperado foi transferido cuidadosamente para placa de Petri, evaporado em banho-maria a 100 °C e secagem em estufa a 105°C por três horas, após foi determinado seu peso. O índice de solubilidade foi determinado de acordo com a equação VI (BEUCHAT et al., 1977).

$$\text{Equação VI. ISA (\%)} = \frac{\text{Peso dos sólidos dissolvidos no sobrenadante (g)}}{\text{Peso da biomassa desidratada (g)}} \times 100$$

4.9.3 Capacidade de Intumescimento (CI)

A capacidade de inchamento foi determinada de acordo com o método descrito por Leach et al. (1959). Em cada tubo de ensaio foi adicionado um grama da amostra e 10 mL de água destilada e incubado a 80 °C por 30 minutos, sob agitação. Após atingir temperatura ambiente, as amostras foram centrifugadas por 15 minutos. O sobrenadante foi descartado e o peso da amostra aferido (pasta). O poder de intumescimento foi determinado conforme a equação VII.

$$\text{Equação VII. CI (g/g)} = \frac{\text{Peso da pasta (g)}}{\text{Peso da biomassa desidratada (g)}}$$

4.10 Análise estatística

Os resultados experimentais foram expressos como média ± erro padrão da média e submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida de teste de Tukey que determina a significância das diferenças observadas nas amostras, ao nível de significância de 5% (MINITAB, 2018).

CAPÍTULO 01

Avaliação de substratos de floresta tropical para cultivo e produção de proteases por *Pleurotus djamor*

Evaluation of tropical forest substrates for cultivation and production of proteases by *Pleurotus djamor*

Evaluación de sustratos de bosque tropical para cultivo y producción de proteasas de *Pleurotus djamor*

Recebido: 00/12/2020 | Revisado: 00/01/2021 | Aceito: 00/01/2021 | Publicado: 18/01/2021

Ana Kezia Pimentel de Brito

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7925-4908>
Universidade Federal do Amazonas, Brasil
E-mail: anakeziapimentel@gmail.com

Laynah Pimenta

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9962-0397>
Universidade Federal do Amazonas, Brasil
E-mail: laynah.pimenta7@gmail.com

Elliza Emily Perrone Barbosa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2832-2629>
Universidade Federal do Amazonas, Brasil
E-mail: elliza.perrone01@gmail.com

Samara Claudia Picanço Batista

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7430-6104>
Universidade Federal do Amazonas, Brasil
E-mail: samara.claudia18@gmail.com

Maria do Perpétuo Socorro de Lima Verde Coelho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0626-3456>
Universidade Federal do Amazonas, Brasil
E-mail: lvcoelho1@gmail.com

Teresa Alarcón Castillo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3107-1704>
Universidad Nacional Intercultural de la Amazonia, Peru
E-mail: taalarconc@unia.edu.pe

Salomão Rocha Martim

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0789-2411>
Universidade Nilton Lins, Brasil
E-mail: salomao.martim@gmail.com

Maria Francisca Simas Teixeira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9703-1932>
Universidade Federal do Amazonas, Brasil
E-mail: mteixeira@ufam.edu.br

Resumo

Cogumelos do gênero *Pleurotus* são cultivados para fins alimentícios, medicinais e por serem fontes de enzimas de interesse industrial. O presente estudo teve como objetivo avaliar o crescimento micelial e verificar a atividade de proteases de *P. djamor*. Este cogumelo foi cultivado em ágar batata dextrose (BDA) com extrato de levedura (YE) 0,5% (p/v). Para avaliar a velocidade do crescimento micelial radial (VCR) e densidade micelial, *P. djamor* foi cultivado em cinco meios com YE 0,5% (p/v): ágar batata dextrose (BDA+YE), ágar Sabouraud (SAB+YE), ágar extrato de malte (MEA+YE), ágar inhame-roxo (PYA+YE) e ágar cará-de-espinho (SYA+YE). A atividade proteolítica foi determinada pelo método de bloco de gelose. Na avaliação do crescimento micelial vertical (VCM) foram utilizados exocarpos de cupuaçu (CE) e abacaxi (PE), semente de açaí (AS) e serragem (SAW), suplementados com farelo de arroz (RB) ou farelo de trigo (WB). A VCR significativa foi observada em SYA+YE (11,26 mm/dia) e

PYA+YE (10,97 mm/dia). Porém, SAB+YE favoreceu a densidade micelial, portanto foi o meio selecionado para obtenção de inóculo nos testes de avaliação do crescimento micelial de *P. djamor* em resíduos lignocelulósicos. Atividade proteolítica significativa foi determinada em BDA+YE (17,7 mm), MEA+YE (17,6 mm) e SAB+YE (17,0 mm). Forte densidade micelial e VCM significativa foi determinada em CE+WB (0,37 cm/dia) e CE+RB (0,30 cm/dia). Substratos de floresta tropical são eficientes para o cultivo micelial e produção de proteases por *P. djamor*.

Palavras-chave: Amazônia; Cogumelo comestível; Enzimas; Resíduo lignocelulósico.

Abstract

Mushrooms of the genus *Pleurotus* are cultivated as food, for medicinal purposes and also because they are sources of enzymes of industrial interest. The present study aimed to evaluate mycelial growth and verify the activity of *P. djamor* proteases. This mushroom was grown on potato dextrose agar (BDA) with yeast extract (YE) 0.5% (w/v). In order to evaluate the speed of radial mycelial growth (VCR) and mycelial density, *P. djamor* was grown in five media with 0.5% YE (w/v): potato dextrose agar (BDA+YE), Sabouraud agar (SAB + YE), malt extract agar (MEA+YE), purple yam agar (PYA+YE) and cará-de-espinho agar (SYA+YE). Proteolytic activity was determined by the agar block method. For the vertical mycelial growth evaluation (VCM), cupuaçu (CE) and pineapple (PE), açai seed (AS) and sawdust (SAW) exocarps were used, supplemented with rice bran (RB) or wheat bran (WB). Significant VCR was observed in SYA+YE (11.26 mm / day) and PYA+YE (10.97 mm / day). However, SAB+YE favored mycelial density, so it was the medium selected for obtaining inoculum for the tests to evaluate mycelial growth of *P. djamor* in lignocellulosic residues. Significant proteolytic activity was determined in BDA+YE (17.7 mm), MEA+YE (17.6 mm) and SAB+YE (17.0 mm). Strong mycelial density and significant CMV was determined in CE+WB (0.37 cm / day) and CE+RB (0.30 cm / day). Rainforest substrates are efficient for mycelial cultivation and protease production by *P. djamor*.

Keywords: Amazon; Edible mushroom; Enzymes; Lignocellulosic residue.

Resumen

Hongos del género *Pleurotus* son cultivados para fines alimenticios, medicinales y por ser fuentes de enzimas de interés industrial. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el crecimiento micelial y verificar la actividad de proteasas de *P. djamor*. Este hongo se cultivó en agar papa dextrosa (APD) con extracto de levadura (EL) 0.5% (p/v). Para evaluar la velocidad de crecimiento micelial radial (VCMR) y la densidad micelial, *P. djamor* fue cultivado en cinco medios con EL 0.5% (p/v): agar papa dextrosa (APD+EL), agar Sabouraud (AS+LE), agar extracto de malta (AEM+EL), agar ñame morado (AÑM+EL) e agar cará espinoso (ACE+EL). La actividad proteolítica se determinó por el método del bloque de gelosa. En la evaluación del crecimiento micelial vertical (CMV) fueron utilizados exocarpos de copoazú (EC) y piña (EP), semilla de asaí (SA) y aserrín (A), suplementados con salvado de arroz (SA) o salvado de trigo (ST). La VCMR resultó ser significativa en ACE+EL (11.26 mm/dia) y AÑM+EL (10.97 mm/dia). Sin embargo, AS+EL favoreció la densidad micelial, siendo el medio seleccionado para la obtención de inóculo en las pruebas de evaluación del crecimiento micelial de *P. djamor* en residuos lignocelulósicos. Por otra parte, la actividad proteolítica demostró significancia en APD+EL (17.7 mm), AEM+EL (17.6 mm) y AS+EL (17.0 mm). Finalmente, una fuerte densidad micelial y CMV significativa fue evidenciada en EC+ST (0.37 cm/dia) y EC+SA (0.30 cm/dia). Así, los sustratos de bosque tropical son eficientes para el cultivo micelial y producción de proteasas por *P. djamor*.

Palabras clave: Amazonia; Hongo comestible; Enzimas; Residuo lignocelulósico.

1. Introdução

Cogumelos do gênero *Pleurotus* (Jacq.: Fr.) Kumm têm propriedades terapêuticas, características sensoriais atrativas, valor nutricional relevante e continua como a segunda espécie de macrofungo comestível mais distribuída mundialmente (Balan et al., 2018; Putzke & Putzke, 2019; Sekan, Myronycheva, Karlsson, Grygansky, & Blume, 2019). Na Região Norte brasileira, diversos estudos vêm sendo desenvolvidos para adequar métodos de cultivo de espécies de *Pleurotus* visando à comercialização e à elaboração de bioprodutos, além de incentivar o consumo de alimentos saudáveis pela população (Machado, Teixeira, Kirsch, Campelo, & Oliveira, 2016; Souza et al., 2016).

Pleurotus djamor (Fr.) Boedijn está classificado na família Pleurotaceae, ordem Agaricales (Oropenza-

Guerrero et al., 2018; Raman, Hariprasath, Jang, Vikineswary, & Nanjian, 2018). Esta espécie comestível, também denominada de cogumelo ostra rosa ou salmão, possui basidiomas grandes, com coloração atraente e sabor agradável. Além disso, pode ser cultivado em faixa ampla de temperatura (26 °C a 35 °C) e umidade ambiental superior a 80% (Jegadeesh, Lakshmanan, Kab-Yeul, Sabaratnam, & Raaman, 2018).

Nos últimos anos, pesquisas têm demonstrado que *P. djamor* tem potencial para aplicações biotecnológica e medicinal, além de ser alimento orgânico (Ragasa et al., 2016; Sudha et al., 2016). As características físicas, sensoriais e fisiológicas, além do consumo crescente de *P. djamor*, tem estimulado a realização de investigação com a finalidade de avaliar a adaptação dessa espécie em substratos alternativos para crescimento e produção de basidiomas (Satpal et al., 2017). A avaliação de substratos que promovam rápida e vigorosa colonização micelial é importante para selecionar materiais lignocelulósicos que proporcionem a produção significativa de cogumelos (Carrasco-González, Serna-Saldívar, & Gutiérrez-Urbe, 2017; Barh et al., 2019).

Fonseca, Silva, Alecrim, Cruz e Teixeira (2015) e Machado et al. (2016) citaram que resíduos lignocelulósicos da floresta amazônica constituem uma alternativa biotecnológica para cultivo e produção significativa de proteases por *P. ostreatoroseus*, contudo não há relatos na literatura para *P. djamor*.

Outras enzimas também são produzidas por representantes do gênero *Pleurotus*, como celulasas, amilases, entre outras (Devi et al., 2020). Destes biocatalisadores, predominam as proteases, que representam mais de 70% do mercado mundial e são utilizadas numa diversidade de processos industriais, com destaque para a produção de alimentos, medicamentos e detergentes (Benmradi et al., 2019). O objetivo desta investigação foi avaliar fontes nutricionais orgânicas oriundas de floresta tropical para crescimento de *P. djamor* e a produção de proteases extracelulares como substratos alternativos para cultivo de cogumelos em área tropical.

2. Metodologia

2.1 Cogumelo

Nesta pesquisa foi utilizado *P. djamor* DPUA 1818, cedido pelo acervo da coleção de culturas DPUA do Departamento de Parasitologia, da Universidade Federal do Amazonas. Para obtenção da forma micelial foi inoculado o fragmento de micélio em Ágar Batata Dextrose (BDA), suplementado com 0,5 % (p/v) de extrato de levedura (YE). De cada cultura pura e viável, em triplicata, foi transferido disco micelial de 10 mm de diâmetro para ágar BDA+YE em placas Petri (100 mm x 15 mm). Os cultivos foram mantidos a 25 °C na ausência de luz, por oito dias para uso nos demais experimentos (Fonseca et al., 2015).

2.2 Crescimento Micelial Radial

O crescimento micelial radial foi avaliado em cinco meios de cultura adicionados de YE 0,5% (p/v): ① ágar batata dextrose + YE (BDA+YE), ② ágar Sabouraud + YE (SAB+YE), ③ ágar extrato de malte + YE (MEA+YE), ④ ágar inhame-roxo (*Dioscorea alata*) + YE (PYA+YE) e ⑤ ágar cará-de-espinho (*Dioscorea altissima*) + YE (SYA+YE). Em cada meio, contido placa de Petri, foi inoculado um disco micelial de 10 mm de diâmetro. As culturas foram mantidas a 28 °C por 8 dias, na ausência de luz. O crescimento de *P. djamor* foi analisado em milímetros, medindo o diâmetro da colônia em sentidos diametralmente opostos, utilizando uma régua graduada, a cada 24 horas por oito dias. Todos os experimentos foram realizados em quintuplicata, segundo as recomendações de Castillo (2009). A velocidade de crescimento radial (VCR) foi determinada conforme Equação I:

$$\text{Equação I: VCR} = \frac{\text{diâmetro colônia (mm)}}{\text{Tempo de cultivo (dias)}}$$

A densidade do micélio, com base no vigor micelial de *P. djamor*, foi o critério utilizado para selecionar o meio de cultura para crescimento radial desse cogumelo. A avaliação do vigor micelial de cada cultura foi classificada pelo método subjetivo de notas: nota 1 (fracamente adensado); nota 2 (mediamente adensado); e nota 3 (fortemente adensado), conforme classificação citada por Marino, Abreu, Mesquita e Ribeiro (2008).

2.3 Efeito da Composição do Meio de Cultura na Produção de Proteases

Para avaliar a atividade de proteases de *P. djamor* foram utilizados discos miceliais das culturas obtidas em cinco meios. A atividade proteolítica foi determinada em meio sólido pelo método de bloco de gelose. De cada cultura foram retirados discos miceliais de 10 mm de diâmetro e inoculados na superfície de ágar leite 5 % (p/v), em placa de Petri. As placas foram mantidas a 37 °C. Após 18 horas foi determinada a atividade de proteases, medindo o diâmetro do halo em milímetros (Teixeira, Silva, Palheta, Carneiro, & Ataíde, 2011). Os testes foram realizados em sextuplicata.

2.4 Crescimento Micelial Vertical em Resíduos Lignocelulósicos

2.4.1 Resíduos Lignocelulósicos

Na avaliação do crescimento micelial vertical foram utilizados os resíduos lignocelulósicos da fruticultura amazônica e serragem: ① exocarpo de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum) - CE, ② semente de açaí (*Euterpe oleracea*) - AS, ③ serragem - SAW e ④ exocarpo de abacaxi (*Ananas comosus*) – PE. Cada resíduo foi suplementado com farelo de arroz - RB ou farelo de trigo - WB, separadamente.

2.4.2 Tratamento dos Resíduos Lignocelulósicos

Os resíduos foram lavados em água corrente para retirada do excesso de sujeira, em seguida, higienizados com solução desinfetante para hortifrutícolas contendo cloro ativo 0,85% (p/p). Após 15 minutos foram submetidos à lavagem sucessiva, seguindo a drenagem do excesso de líquido. Cada resíduo foi misturado com RB ou WB e a umidade e o pH aferidos para 60% e 6,0, respectivamente. Os substratos foram acondicionados em tubos de ensaio (200 mm x 25 mm) contendo na sua base algodão umedecido com água destilada, formando uma coluna de 15 cm (Palheta, Vieira, Neves, & Teixeira, 2011). Os tubos contendo as misturas de resíduos foram esterilizados a 121 °C, durante 60 minutos, por três dias consecutivos, procedendo ao resfriamento por 24 horas. Em cada tubo foi afixado externamente três fitas milimetradas (130 mm x 10 mm).

2.4.3 Inóculo

Para a obtenção do inóculo, da cultura estoque de *P. djamor* foi retirado um disco micelial de 10 mm e transferido para superfície do meio sólido selecionado com base no vigor micelial, em experimento anterior. Os cultivos em placas Petri (100 mm x 15 mm) foram mantidos a 25°C, na ausência de luz por oito dias (Palheta et al., 2011).

2.4.4 Cultivo de *P. djamor* em Resíduo Lignocelulósico

Da cultura inóculo foram retirados três discos miceliais de 10 mm de diâmetro e transferidos para superfície dos substratos lignocelulósicos (item 2.4.1), em tubo de ensaio de (200 mm x 25 mm). Nesses cultivos mantidos a 28 °C, na ausência de luz, o crescimento micelial vertical e a velocidade de miceliação foram observados a cada 24 horas por 15 dias consecutivos. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. A velocidade do crescimento micelial vertical (VCM) foi determinada em milímetros, de acordo com a equação II

(Israel, 2005; Palheta et al., 2011). A avaliação do vigor micelial foi realizado método subjetivo descrito por Marino et al. (2008).

$$\text{Equação II: } VCM = \frac{Vf - Vi}{Tf}$$

Onde:

VCM = Velocidade média do crescimento micelial ao dia;

Vf = medida do crescimento micelial no tempo final (mm);

Vi = medida do crescimento micelial no tempo inicial (mm);

Tf = Tempo final (dias).

2.5 Análise Estatística

Em todos os experimentos, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) (Minitab, 2018).

3. Resultados e Discussão

A tabela 1 apresenta os resultados da velocidade média de crescimento radial (VCR) e a densidade micelial *P. djamor*. Em todos os meios de cultivo naturais e sintéticos foi observado o crescimento micelial radial. Os dados demonstraram que a VCR significativa foi determinada nos cultivos à base de tubérculos, SYA+YE (11,26 mm/dia) e PYA+YE (10,97 mm/dia). Em BDA+YE, SAB+YE e MEA+YE, o crescimento foi mais lento, com redução da VCR inferior em 9,77%, 20,15%, 20, 24%, respectivamente, quando comparado ao crescimento em ágar Cará-de-Espinho (SYA+YE). A diferença no crescimento micelial em meios distintos, provavelmente seja devido à disponibilidade de diferentes fontes de carbono e outros nutrientes imprescindíveis para o crescimento de espécies de *Pleurotus* (Sardar et al., 2015). Esses dados sugerem que os tubérculos avaliados neste estudo são importantes reservas nutricionais e constituem uma alternativa viável como substratos para o crescimento *in vitro* de *P. djamor*.

Tabela 1. Média da velocidade do crescimento micelial *in vitro* e vigor micelial de *P. djamor* DPUA 1818 em meios naturais e sintéticos.

Meios de cultivo	Velocidade do Crescimento (mm/dia)	Vigor Micelial	Nota (Critério Subjetivo)
SYA+YE	11,26 ± 0,82 ^a	Fracamente adensado	1
PYA+YE	10,97 ± 0,28 ^{ab}	Fracamente adensado	1
BDA+YE	10,16 ± 0,42 ^b	Mediamente adensado	2
SAB+YE	8,992 ± 0,794 ^c	Fortemente adensado	3
MEA+YE	8,9833 ± 0,1675 ^c	Mediamente adensado	2

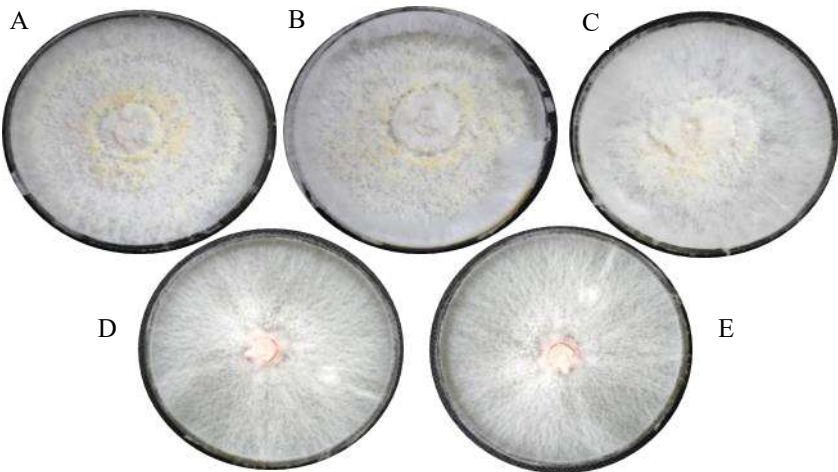
SYA+YE (ágar cará-de espinho + extrato de levedura), PYA+YE (ágar inhame roxo + extrato de levedura), BDA+YE (ágar batata dextrose + extrato de levedura), SAB+YE (ágar Sabouraud + extrato de levedura), MEA+YE (ágar extrato de malte + extrato de levedura). Médias que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes.

Fonte: autores.

Na figura 1 está demonstrada a velocidade do crescimento e a densidade do micélio com base no vigor micelial. Nos cultivos em ágar SAB+YE foi observado crescimento lento, mas formação de micélio fortemente

adensado de *P. djamor*, propriedade que evidencia esse meio de cultura como promissor para o cultivo dessa espécie. Com exceção de ágar MEA+YE, predominou o crescimento micelial rápido. Em BDA+YE e MEA+YE a densidade micelial foi mediantemente adensado e, fracamente adensado em SYA+YE e PYA+YE. Estudos demonstraram o desenvolvimento de micélio fortemente adensado de *P. djamor* e *P. ostreatus* nos cultivos em BDA+YE e BDA, respectivamente (Bumanlag, Kalaw, Dulay, & Reyes, 2018; Fletcher, 2019). E para *P. sapidus* micélio mediantemente adensado nos cultivos em ágar Sabouraud, dado que diverge do encontrado no presente estudo (Mahadevan & Shanmugasundaram, 2018). Portanto, além de nutrientes, outros fatores como pH, temperatura e concentração do substrato também influenciam no crescimento e na densidade micelial das espécies de *Pleurotus* (Laursen, 2018; Toan & Qui, 2020; Raman et al., 2021).

Figura 1: Densidade micelial de *P. djamor* em diferentes meios de cultivo.



A- Ágar batata dextrose + extrato de levedura (BDA+YE) = mediantemente adensado; B- Ágar extrato de malte + extrato de levedura (MEA+YE) = mediantemente adensado; C- Ágar Sabouraud + extrato de levedura (SAB+YE) = fortemente adensado; D- Ágar cará-de-espinho + extrato de levedura (SYA+YE) = fracamente adensado; E- Ágar inhame-roxo + extrato de levedura (PYA+YE) = fracamente adensado.

Fonte: autores.

A tabela 2 demonstra a atividade de proteases determinada nos meios de cultura (ágar BDA+YE, MEA+YE, SAB+YE, PYA+YE e SYA+YE) usados para crescimento radial de *P. djamor*. Nos cinco meios de cultivo a média do diâmetro do halo correspondeu a 12,78 mm e o valor de atividade significativa foi determinado em BDA+YE (17,7 mm), MEA+YE (17,6 mm) e SAB+YE (17,0 mm). Nos meios naturais, PYA+YE e SYA+YE, a atividade das proteases foi inferior 17,52% e 26,42%, respectivamente. Nos estudos realizados por Sabri et al. (2020), *P. ostreatus* também excretou proteases em BDA+ folhas de *Stevia rebaudian* e atividade determinada em ágar leite, contudo o diâmetro do halo foi de aproximadamente 15 mm.

Tabela 2. Média de atividade de proteases de *P. djamor* utilizando meios de cultura sólidos e naturais.

Meios de cultivo	Atividade de Proteases [halo (mm)]
Meios Sintéticos	
BDA+YE	17,7 ± 0,04 ^a
MEA+YE	17,6 ± 0,02 ^{ab}
SAB+YE	17,0 ± 0,07 ^{abc}
Meios Naturais	
PYA+YE	14,6 ± 0,09 ^{bc}
SYA+YE	14,0 ± 0,09 ^c

SYA+YE (Ágar cará-de espinho + extrato de levedura), PYA+YE (Ágar inhame roxo + extrato de levedura), BDA+YE (ágar batata dextrose + extrato de levedura), SAB+YE (ágar Sabouraud + extrato de levedura), MEA+YE (ágar extrato de malte + extrato de levedura). Médias que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes.

Fonte: autores.

O crescimento micelial de *P. djamor* em resíduos lignocelulósicos da fruticultura amazônica foi positivo em 75% das misturas de substratos (Tabela 3). A VCM significativa foi observada em SAW+WB (0,37 cm/dia), CE+WB (0,37 cm/dia), CE+RB (0,30 cm/dia) e AS+RB (0,23 cm/dia). Nos cultivos em SAW+RB e AS+WB, o crescimento foi inferior 37,83% (0,23 cm/dia) e 48,64% (0,19 cm/dia), respectivamente, comparado aos resultados registrados em SAW+WB e CE+WB. A forma micelial de *P. djamor* não foi observada em PE+RB e PE+WB. Ademais, nos cultivos em exocarpo de cupuaçu (CE+WB e CE+RB) *P. djamor* desenvolveu micélio fortemente adensado. E nos cultivos à base de açaí (AS+WB e AS+RB) e serragem (SAW+WB e SAW+RB) a o micélio foi classificada como mediantemente adensado e fracamente adensado, respectivamente. Nos experimentos realizados por Palheta et al. (2011), os resultados indicaram que exocarpo de cupuaçu favoreceu o crescimento de *P. ostreatus* e *P. florida*.

Tabela 3. Média de velocidade de crescimento vertical em resíduos lignocelulósicos e vigor micelial de *Pleurotus djamor*

Tratamento	VCM (cm/dia)	Densidade	Nota
SAW+WB	0,37±0,37 ^a	Fracamente adensado	1
CE+WB	0,37±0,01 ^a	Fortemente adensado	3
CE+RB	0,30±0,01 ^{ab}	Fortemente adensado	3
AS+RB	0,23±0,01 ^{ab}	Mediantemente adensado	2
SAW+RB	0,23±0,12 ^b	Fracamente adensado	1
AS+WB	0,19±0,01 ^b	Mediantemente adensado	2
PE+RB	ND	ND	ND
PE+WB	ND	ND	ND

SAW+WB = serragem + farelo de trigo; CE+WB = exocarpo de cupuaçu + farelo de trigo; CE+RB= exocarpo de cupuaçu + farelo de arroz; AS+RB = semente de açaí + farelo de arroz; SAW+RB = serragem + farelo de arroz; PE+RB= exocarpo de abacaxi + farelo de arroz; PE+WB = exocarpo de abacaxi + farelo de trigo; ND = não determinado; Médias que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes.

Fonte: autores

Dados da literatura demonstram que o gênero *Pleurotus* demonstra grande preferência por resíduos lignocelulósicos, substratos ricos em celulose, hemicelulose e lignina que estimulam a síntese de enzimas degradadoras essenciais para o crescimento dos cogumelos (Salmones, 2018; Singh & Singh, 2018). Assim como as demais espécies do gênero, *Pleurotus djamor* também apresenta a habilidade para degradar lignina e polímeros presentes na parede celular vegetal, capacidade comprovada ao utilizar fibra de coco (Theradinami, Thangeshwari, Arulsamy, & Parthasarathy, 2019). Resíduos agroindustriais influenciam significativamente no crescimento, na qualidade do micélio e na formação de basidiomas. A estrutura, a composição desses substratos e a relação carbono/nitrogênio provavelmente fornecem condições físicas e nutricionais, parâmetros favoráveis para o desenvolvimento do micélio e reprodução das diversas espécies de cogumelos (Salmones, 2018; Osunde, Olayinka, Fashina, & Torimiro, 2019; Toan & Qui, 2018; Wu et al., 2019).

4. Conclusão

O meio de cultivo influencia no crescimento e na produção de enzimas proteolíticas por *Pleurotus djamor*. Ágar Sabouraud+extrato de levedura (SAB+YE) é o meio sintético promissor para desenvolvimento da densidade

micelial máxima. Entre os resíduos lignocelulolíticos, a mistura formulada com exocarpo de cupuaçu com farelo de arroz (CE+RB) ou farelo de trigo (CE+WB) estimulou o crescimento, assim como, a forte densidade micelial. *Pleurotus djamor* sintetiza proteases tanto em meios de cultura sintéticos como em substratos naturais. Os meios de cultivo à base de tubérculo amazônicos constituem uma alternativa tecnológica sustentável e ecoamigável para o crescimento e biossíntese de proteases por *P. djamor*.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Universidade Federal do Amazonas (UFAM), pelo apoio técnico, científico e financeiro.

Referências

- Balan, V., Munafo, J. P. J., Pattathill, S., Merritt, B. B., Venketachalam, S. & Ng, W. (2018). Protocols to Evaluate the Nutritional and Potential Health Benefits of Edible Mushrooms. *Current Biotechnology*, 7(1), 34-58.
- Barh, A., Sharma, V. P., Annepu, S. K., Kamal, S., Sharma, S., & Bhatt P. (2019). Genetic improvement in *Pleurotus* (oyster mushroom): a review. *3 Biotech*, 9(322), 1-14.
- Benmradi, M. O., Mechri, S., Jaouadi, N. Z., Elhouli, M. B., Rekik, H., Sayadi, S., Bejar, S., Kechaou, N., & Jaouadi, B. (2019). Purification and Biochemical Characterization of a Novel Thermostable Protease from the Oyster Mushroom *Pleurotus sajor-caju* Strain CTM10057 with Industrial Interest. *BMC Biotechnology*, 19(43), 1-18.
- Bumanlag, C. P. B., Kalaw, S. P., Dulay, R. M. R., & Reyes, R. G. (2018). Optimum Conditions for Mycelial Growth and Basidiocarp Production of *Pleurotus djamor* on Corn-based Media. *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences*, 7(4), 558–575.
- Castillo, T. A. (2009). Caracterização fisiológica, produção de biocompostos e biomassa em substrato agroflorestal amazônico de *Pleurotus* e *Lentinus*. 151 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus.
- Carrasco-González, J. A., Serna-Saldívar, S. O., & Gutiérrez-Urbe, J. A. (2017). Nutritional attributes of *Pleurotus* mushroom. *Journal of Food Composition and Analysis*, 58, 69-81.
- Devi, S. K., Prabhu, N., Monika, S., Swapna, N. M., Vaishali, S., & Gajendran, T. (2020). Sequestration and purification of essential enzyme from *Pleurotus florida* compost waste and its application studies. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 8(1), 64-68.
- Fletcher, I. A. (2019). Effect of Temperature and Growth Media on Mycelium Growth of *Pleurotus ostreatus* and *Ganoderma Lucidum* Strains. *Cohesive journal of microbiology and infectious disease*, 2(5), 1-5.
- Fonseca, R. B. T., Silva, T. A., Alecrim, M. M., Cruz, R. F., Filho & Teixeira, M. F. S. (2015). Cultivation and nutritional studies of an edible mushroom from North Brazil. *African Journal of Microbiology Research*, 9(30), 1814–1822.
- Israel, C. M. (2005). Utilização do resíduo do processamento do palmito para a produção de enzimas hidrolíticas por fungos do gênero *Polyporus*. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Centro de Ciências Tecnológicas, Universidade Regional de Blumenau, Blumenau. 136 f.
- Jegadeesh, R., Lakshmanan, H., Kab-Yeul, J., Sabaratnam, V., & Raaman, N. (2018). Cultivation of Pink Oyster mushroom *Pleurotus djamor* var. *roseus* on various agro-residues by low cost technique. *Journal of Mycopathological Research*, 53(3), 213-220.
- Laursen, A. (2018). The Effect of Different Nitrogen Sources on Mycelial Growth of Oyster Mushroom, *Pleurotus ostreatus*. *Online publication*: <http://stud.epsilon.slu.se>, p. 1-60.
- Machado, A. R. G., Teixeira, M. F.S., Kirsch, L. S., Campelo, M. C. L., & Oliveira, I. M. A. (2016). Nutritional value and proteases of *Lentinus citrinus* produced by solid state fermentation of lignocellulosic waste from tropical region. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23(5), 621–627.
- Mahadevan, K., & Shanmugasundaram, K. (2018). Comparative effect of different culture media on mycelial growth performance of *Pleurotus sapidus*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(4), 874-878.
- Marino, R. H.; Abreu, L. D.; Mesquita, J. B., & Ribeiro, G. T. (2008). Crescimento e cultivo de diferentes isolados de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer em serragem da casca de coco. *Arquivos do Instituto Biológico*, 75(1), 29-36.
- Minitab, 2017. Minitab statistical software. LEAD Technologies, Inc. Version 18.0.
- Oropeza-Guerrero, M. P., Santos-Sánchez, N. F., Salas-Coronado, R.; Valadez-Blanco, R.; Hernández-Carlos, B., & Guadarrama-Mendoza, P. C. (2018). Productivity and Antioxidant Activity of Wild, Reconstituted, and Hybrid Strains of the Pink Oyster Mushroom, *Pleurotus djamor* (Agaricomycetes), from Mexico. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 20(7), 607-621.
- Osunde, O. M., Olayinka, A., Fashina, C. D., & Torimiro, N. (2019). Effect of Carbon-Nitrogen Ratios of Lignocellulosic Substrates on the

Yield of Mushroom (*Pleurotus pulmonarius*). *Open Access Library Journal*, 6, 1-8.

Palheta, R. A., Vieira, J. N., Neves, K. C. S., & Teixeira, M. F. S. (2011). Crescimento micelial vertical de duas espécies de *Pleurotus* em resíduo agroindustrial da Amazônia utilizando planejamento fatorial. *Caderno de Pesquisa Série Biologia*, 23(3), 52-60.

Putzke, J., & Putzke M. T. L. (2019) Cogumelos (fungos Agaricales) no Brasil - Ordens Boletales (Boletaceae, Paxillaceae), Polyporales (Lentinaceae/ Pleurotaceae, Polyporaceae). Russalales (Russaleceae) e Agaricales (Cortinariaceae, Inocybaceae, Pluteaceae e Strophariaceae), São Gabriel: e-book, 380 f.

Ragasa, C., Tan, M. C. S., Ting, J., Reyes, R. G., Brkljača, R., & Urban, S. (2016). Chemical constituents of *Pleurotus djamor*. *Der Pharma Chemica*, 8(2),343-346.

Raman, J., Jang, K. Y., Oh, Y. L., Oh, M., Im, J. H., Lakshmanan, H., & Sabaratnam, V. (2021). Cultivation and nutritional value of prominent *Pleurotus* spp.: An overview. *Mycobiology*, 49(1), 1-14.

Raman, J., Hariprasath, L., Jang, K. Y., Vikineswary, S. A., & Nanjian, R. (2018). Cultivation of Pink Oyster mushroom *Pleurotus djamor* var. *roseus* on various agro-residues by low cost technique. *J. Mycopathol. Res.*, 56(3), 213-220.

Sabri, M. A., Shafiq, A., & Chechan, R. A. (2020). Production of Spawn With High Quality from Novel Iraqi Strains of Edible Mushrooms. *Plant Archives*, 20(1), 2135-2142.

Sardar, H., Ali, M. A., Ayyub, C. M., Ahmad, R. (2015). Effects of Different Culture Media, Temperature and pH Levels on the Growth of Wild and Exotic *Pleurotus* Species. *Pakistan Journal of Phytopathology*, 27(2),139-145.

Salmones, D. (2018). *Pleurotus djamor*, un hongo con potencial aplicación biotecnológica para el neotrópico. *Scientia Fungorum*, 46, 73-85.

Satpal, S., Gopal, S., N, R. S., Ankit, K., Bhanu, P., Priyanka, B., & Kumar, R. (2017). Effect of Different Substrates on the Growth and Yield of Oyster Mushrooms (*Pleurotus djamor*). *Research Article*, 9(4), 3721-3723.

Sekan, A. S., Myronycheva, O. S., Karlsson, O., Grygansky, A. P., & Blume, Y. (2019) Green potential of *Pleurotus* spp. in biotechnology. *PeerJ*, 1-21.

Singh, S., & Singh G. (2018). Effect of Environment Conditions (pH , Temperature and Media) on Radial Growth of Oyster Mushroom (*Pleurotus djamor*). *HortFlora Research Spectrum*, 5(4), 7-11.

Souza, R. A. T., Fonseca, T. R. B., Kirsch, L. S., Silva, L. S. C., Alecrim, M. M., Filho, R. F. C., & Texeira, M. F. S. (2016). Nutritional composition of bioproducts generated from semi-solid fermentation of pineapple peel by edible mushrooms. *African Journal of Biotechnology*, 15(12), 451-457.

Sudha, G., Janardhanan, A., Moorthy, A., Chinnasamy, M., Gunasekaran, S., Thimmaraju, A., & Gopalan, J. (2016). Comparative Study on the Antioxidant Activity of Methanolic and Aqueous Extracts from the Fruiting Bodies of an Edible Mushroom *Pleurotus djamor*. *Food Sci. Biotechnol.* 25(2), 371-377.

Teixeira, M. F. S., Silva, T. A., Palheta, R. A., Carneiro, A. L. B., & Ataíde, H. M. (2011). Fungos da Amazonia: uma riqueza inexplorada (Aplicações Biotecnológicas). Manaus: Edua.

Theradinami, M., Thangeshwari, S., Arulsamy, M., & Parthasarathy, S. (2019). Composted Coirpith using Edible Fungi (*Pleurotus* spp.) for the Management of Rice Sheath Blight and Sheath Rot. *Research Journal of Agricultural Sciences*, 10(3), 521-525.

Toan, N.V., & Qui, L. N. M. (2018). Preparation and Improved Quality Production of Flour and the Made Biscuits from Shitake Mushroom (*Lentinus edodes*). *Clinical Journal of Nutrition and Dietetics*, 1(1), 1-9.

Wu, N., Tian, F., Moodley, O., Song, B., Jia, C., Ye, J., LV, R., Qin, Z., & Li, C. (2019). Optimization of agro-residues as substrates for *Pleurotus pulmonarius* production. *AMB Expr*, 9, 1-9.

CAPÍTULO 02

Performance da produção de *Pleurotus djamor* em resíduo de floresta tropical e elaboração de produto alimentício funcional

Ana Kezia Pimentel de Brito¹, Laynah Pimenta¹, Elliza Emily Perrone Barbosa¹, Samara Claudia Picanço¹, Salomão Martim², Maria Francisca Simas Teixeira¹

1. Universidade Federal do Amazonas, Brasil; 2. Universidade Nilton Lins, Manaus-Amazonas.

E-mail: anakeziapimentel@gmail.com

Resumo

Cogumelos comestíveis vêm sendo utilizados como alimentos e fontes de compostos bioativos desde a antiguidade. Espécies de *Pleurotus* têm sido cultivadas em resíduos lignocelulósicos de baixo custo para obtenção de basidiomas que podem ser consumidos na forma *in natura* com alto valor nutricional. O objetivo desta pesquisa foi verificar a performance produtiva de *Pleurotus djamor* nos cultivos em resíduo lignocelulósico, características morfológicas e nutricionais, e as propriedades do produto elaborado com os basidiomas desidratados. A espécie, cedida pela coleção de culturas DPUA, da Universidade Federal do Amazonas, foi cultivada em ágar batata dextrose + Extrato de Levedura 0,5% (p/v). Para inóculo de *P. djamor* foi utilizado ágar Sabouraud, suplementado com extrato de levedura (0,5%, p/v). Em seguida, para a produção de *Pleurotus djamor* foi utilizado exocarpo de cupuaçu - CC (*Theobroma grandiflorum*) suplementados com farelo de arroz - FA (0,5%, p/v), com umidade de 60 %, pH 6,0, foi esterilizado a 121 °C, por dois dias consecutivos. O basidioma obtido foi submetido às análises morfológicas. Em seguida foram realizadas análises da composição centesimal, microbiológica e propriedades funcionais tecnológicas do produto alimentício elaborado do processamento dos basidiomas obtidos. A espécie *P. djamor* demonstrou adaptação e eficiência em CC+FA por ser uma mistura rica em nutrientes. Os parâmetros de produção avaliados foram significativos, apresentando eficiência biológica 137,91%, taxa de produção 8,11 g/dia, produtividade 21,81% e perda de matéria orgânica 31,86%, demonstrando o potencial amazônico quanto a cultivo de cogumelos. Os basidiomas apresentaram características flabeliforme, lamelas decurrentes e estipe lateral conforme descrito na literatura, o tamanho médio foi de 12,2 x 7,5 cm e estipe 2,5cm. O produto alimentício do tipo farinha não apresentou riscos de contaminação. A farinha apresentou qualidade nutricional muito apreciadas comercialmente, sendo rica em proteínas, fibras e carboidratos. As propriedades funcionais tecnológicas da farinha de *P. djamor* corresponderam a IAA 6,29 g/g, ISA 52% e CI 5,68g/g sendo uma excelente alternativa para a elaboração de alimentos funcionais saudáveis como pães, sopas e produtos carneos. Resíduos Amazônicos são alternativas viáveis para obtenção de cogumelos e produtos alimentícios nutricionalmente ricos com potencial uso e formulações alimentares.

Palavra Chave: Amazônia; Substrato; Produção; *Pleurotus djamor*; Alimentos Funcionais.

1. INTRODUÇÃO

Os *Pleurotus* (Fr.) são conhecidos popularmente como cogumelos ostra, estão representados por mais de 40 espécies comestíveis, constituem o segundo grupo mais cultivado no mundo. No mercado desses cogumelos, o maior produtor continua sendo a China, país que vem contribuindo com aproximadamente 87% da produção comercial (CARRASCO-GONZÁLEZ et al., 2019).

O gênero *Pleurotus* (Fr.) Quél ocorre em regiões tropicais e temperadas, cresce em troncos vegetais e em substratos lignocelulósicos não compostados, sintetizam e liberam enzimas extracelulares, inclusive para degradar a lignina (BARH et al., 2019). Dentre as diversas espécies, *Pleurotus djamor* (Fr.) Boedijn tem chamado a atenção por apresentar características marcantes como a cor que varia do branco a rosa vibrante, sabor e aroma peculiares (LECHNER et al., 2004; PUTZKE, 2019)

Pleurotus djamor comumente vem sendo cultivado em substratos lignocelulósicos, como palha de arroz, trigo e algodão, os quais fornecem nutrientes essenciais para crescimento dessa espécie. Contudo, existem outras alternativas economicamente rentáveis e vantajosas como a utilização de resíduos agrícolas viáveis para o cultivo desse cogumelo comestível, como exocarpos, sementes e a serrapilheira que proporciona excelentes características comerciais, nutricionais e a possível aplicabilidade do cogumelo na indústria alimentícia (CSÓKA et al., 2017; GRIMM et al., 2018).

Assim, estudos realizados na Amazônia mostram que resíduos da produção de abacaxi (*Ananas comosus*) e cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) são eficientes substratos para cultivo de espécies de *Pleurotus* e *Lentinula* e a aplicação desses cogumelos nos desenvolvimentos de produtos alimentícios ou consumo “*in natura*” com altas propriedades nutricionais, funcionais e presença de compostos bioativos que promovam mais saúde ao consumidor (MACHADO et al., 2017 ; SOUZA et al., 2016).

Com base no exposto, o objetivo desta pesquisa foi verificar a performance produtiva de *Pleurotus djamor* nos cultivos em resíduo lignocelulósico, características morfológicas e nutricionais, e as propriedades do produto elaborado com os basidiomas desidratados.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Cogumelo

Nesta pesquisa foi utilizado *P. djamor* DPUA 1818, cedido pelo acervo da Coleção de Culturas DPUA do Departamento de Parasitologia, da Universidade Federal do Amazonas. Para obtenção da forma micelial foi inoculado o fragmento de micélio em Ágar Batata Dextrose (BDA), suplementado com 0,5 % (p/v) de extrato de levedura (YE).

2.2 Produção de *P. djamor* em resíduos lignocelulósicos por fermentação no estado sólido

2.2.1 Inóculo

De cada cultura pura e viável foi transferido disco micelial de 10 mm de diâmetro para Ágar Sabouraud com extrato de levedura 0,5 % [YE (p/v)], em placas Petri de 100 mm x 15 mm (BRITO et al., 2021). Os cultivos foram mantidos a 28 °C na ausência de luz, por oito dias para uso nos demais experimentos.

2.2.2 Preparação do *spawn* e inoculação da massa micelial

Para produção do *spawn*, 600 g de grãos de trigo foram deixados em recipiente contendo água e após 12 horas foram tratados com desinfetante para hortifrútícolas por 10 minutos. Nos grãos pré-cozidos por 15 minutos, foi adicionado carbonato de cálcio (3,5 g/kg, em base seca) e armazenados em sacos de polietileno. Os grãos foram esterilizados a 121 °C durante 15 minutos. Após resfriamento, foram semeados 15 discos miceliais de 10 mm de diâmetro na superfície dos grãos. Os cultivos foram mantidos a 28 °C, na ausência de luz até completa colonização do substrato.

2.2.3 Fermentação no Estado Sólido (Produção de *P. djamor*)

Para produção dos basidiomas de *P. djamor* foi utilizado resíduo lignocelulósico da fruticultura amazônica: exocarpo de cupuaçu [CC (*Theobroma grandiflorum* Schum)] que foi higienizado em solução de hipoclorito 1% (v/v) por 12 horas. Após lavagem sucessiva, o resíduo foi misturado com farelo de arroz (FA) na proporção 800:200 e armazenado em sacos de polietileno. Esta mistura de resíduos com umidade 60%, pH 6,0 foi acondicionada em embalagens de polietileno de 5000 g e esterilizada a 121°C, por uma hora. Após o resfriamento, os *spawn* (100 g/kg) foram semeados na superfície da mistura de resíduos. Os cultivos, em triplicata, foram

mantidos a 28 °C, umidade ambiente 60%, na ausência de luz, até completa miceliação do substrato. A indução dos primórdios foi feita a 12 °C, umidade ambiental 90%, luz alternada a cada 12 horas e, os basidiomas com umidade 80%, luz alternada a cada 12 horas (FONSECA et al., 2015).

2.3 Determinação dos parâmetros da produção de *P. djamor*

Para avaliar a performance do crescimento de *P. djamor* em resíduos lignocelulósicos, ao término da produção foi verificada as características dos basidiomas [tamanho dos basidiomas e hastes (mm)], a quantificação e o peso médio. Após esses procedimentos, os basidiomas foram desidratados a 40 °C até umidade final de 5% para elaboração da farinha e cálculo dos parâmetros de produção. Ao término da desidratação, os basidiomas foram triturados em mini processador e embalado em potes de vidro para determinação da eficiência biológica (EB), produtividade (P), taxa de produção (TP) e a perda de matéria orgânica do substrato (PMO), equação I, II, III e IV, respectivamente (DIAS et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2007; HOLTZ et al., 2009; AHMED et al., 2013;).

$$\text{Equação I. Eficiência biológica (\%)} = \frac{\text{Peso do basidioma fresco}}{\text{Peso de substrato seco}} \times 100$$

$$\text{Equação II. Produtividade (\%)} = \frac{\text{Peso do basidioma fresco}}{\text{Peso de substrato utilizado}} \times 100$$

$$\text{Equação III. Taxa de Produção (g/dia)} = \frac{\text{Eficiência biológica}}{\text{Dias de cultivo}}$$

$$\text{Equação IV. Perda de Matéria Orgânica} = \frac{\text{Peso do substrato residual (base seca)}}{\text{Peso do substrato inicial (base seca)}} \times 100$$

2.4 Elaboração da Farinha dos basidiomas de *P. djamor*

Para elaboração da farinha, os basidiomas desidratados foram triturados novamente em processador de alimentos e a granulometria foi determinada utilizando peneira de 60 mesh (DIAS et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2007).

2.5 Composição centesimal da farinha do processamento dos basidiomas de *Pleurotus djamor*

A biomassa de *P. djamor* foi submetida à determinação de umidade, lipídeos, proteína, cinzas e carboidratos. A umidade foi determinada por dessecação em estufa com circulação de ar a 105 °C (método gravimétrico) até obtenção de peso constante segundo A.O.A.C. (2006). A determinação da fração protéica foi realizada pelo método micro *Kjeldahl*, aplicando o fator de conversão 4,38 para cogumelos por apresentarem componente nitrogenado não protéico (SILVA et al., 2007). A quantificação de lipídios foi obtida com misturas de solventes a frio de acordo com o método *Bligh* et al. (1959). As cinzas (resíduo mineral fixo) foram determinadas por incineração do material em mufla a 550-660 °C até obtenção de peso constante conforme A.O.A.C. (2006).

A fibra bruta foi determinada através de digestão ácido-básica, segundo método de Weende estabelecido pela A.O.A.C (1997). Carboidratos totais foram estimados por diferença entre o somatório das porcentagens de umidade, proteína, lipídios, cinzas (Latinfoods 2002, Nepa 2006). E a energia total metabolizável, (4k de proteína) + (4kcal/g carboidratos totais) + (9kcal/g de lipídeos), preconizados pelo Latinfoods (2002) e Nepa (2006).

2.6 Análise microbiológica da farinha de *P. djamor*

A análise microbiológica da farinha de *P. djamor* foi realizada para avaliar a presença de *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., fungos filamentosos e leveduras, através do método de diluição seriada. (MASSAGUER, 2005; ALI, 2016). Da amostra da farinha foi utilizado 25 g para ser homogeneizado com 225 ml de água peptonada (diluição 10^{-1}). Desta suspensão foram preparadas diluições sucessivas, transferindo 1 mL para 9 mL de água peptonada 0,1 % (p/v), até obtenção da diluição 10^{-3} . As diluições foram submetidas à agitação por dois minutos em vortex. De cada diluição foi transferido 100µL para superfície de ágar EMB Levine (KASVI[®]), ágar SS (KASVI[®]) e ágar batata dextrose (KASVI[®]). As placas de Petri foram incubadas a 37°C por 24 horas.

2.7 Análise das propriedades funcionais tecnológicas da farinha de *P. djamor*

2.7.1 Índice de Absorção de Água (IAA)

O índice de absorção de água foi determinado de acordo com metodologia descrita por Ruiz et al. (2003). Em tubo do tipo Falcon, foi adicionado um grama de biomassa desidratada em pó com 10 mL de água destilada, incubados a 25 °C por 30 minutos. Em seguida as amostras foram centrifugadas por 30 minutos, o precipitado foi recuperado para determinação do peso da massa úmida e o sobrenadante foi separado para posteriores análises.

$$\text{Equação V. IAA (\%)} = \frac{\text{Peso do precipitado (g)}}{\text{Peso da biomassa desidratada (g)}}$$

2.7.2 Índice de Solubilidade em Água (ISA)

O índice de solubilidade em água (ISA) foi determinado utilizando o sobrenadante adquirido no item 2.7.1 (IAA). O líquido sobrenadante recuperado foi transferido cuidadosamente para placa de Petri, evaporado em banho-maria a 100 °C e secagem em estufa a 105 °C por três horas, após foi determinado seu peso. O índice de solubilidade foi determinado de acordo com a equação VI (BEUCHAT et al., 1977).

$$\text{Equação VI. ISA (\%)} = \frac{\text{Peso dos sólidos dissolvidos no sobrenadante (g)}}{\text{Peso da biomassa desidratada (g)}} \times 100$$

2.7.3 Capacidade de Intumescimento (CI)

A capacidade de inchamento foi determinada de acordo com o método descrito por Leach et al. (1959). Em cada tubo de ensaio foi adicionado um grama da amostra e 10 mL de água destilada e incubado a 80 °C por 30 minutos, sob agitação. Após atingir temperatura ambiente, as amostras foram centrifugadas por 15 minutos. O sobrenadante foi descartado e o peso da amostra aferido (pasta). O poder de intumescimento foi determinado conforme a equação VII.

$$\text{Equação VII. CI (g/g)} = \frac{\text{Peso da pasta (g)}}{\text{Peso da biomassa desidratada (g)}}$$

2.8 Análise Estatística

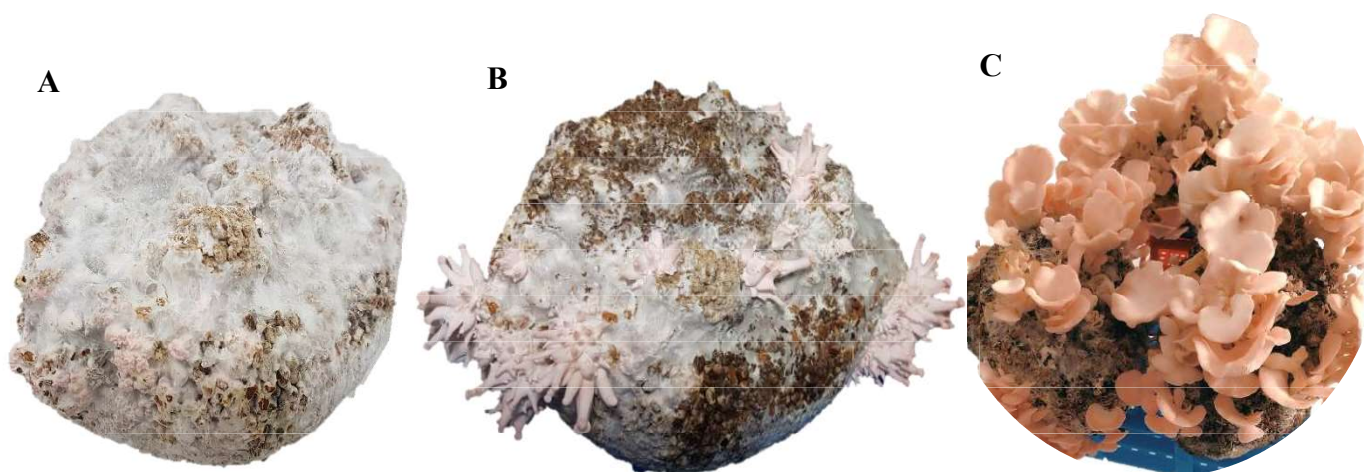
Os resultados experimentais foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média e submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida de teste de Tukey que determina a significância das diferenças observadas nas amostras, ao nível de significância de 5% (MINITAB, 2018).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da produção de *P. djamor* nos cultivos em resíduo lignocelulósico da fruticultura amazônica mostraram o ciclo de crescimento (Figura 1), no qual pode ser observado, o período de miceliação do substrato, a formação de primórdios e o tempo total de cultivo em 14, 16 e 17 dias, respectivamente. O padrão de crescimento de *P. djamor* em exocarpo de cupuaçu foi um experimento pioneiro que mostrou a adaptação e eficiência desse cogumelo com uma alternativa para renovação da matéria orgânica em alimento.

Em outros estudos, quando *P. djamor* var. *roseus* foi cultivado em palha de arroz, o período de miceliação ocorreu em 11 dias, com formação dos primórdios em 17 dias e o tempo total de cultivo no período de 21 dias (RAMAN et al., 2018). Para outra linhagem de *P. djamor* cultivado em grama e serragem o período de miceliação transcorreu 20 dias, formação de primórdios 6 dias e crescimento total em 26 dias foi registrado (RABUSKE et al., 2019).

Figura 1 – Ciclo de crescimento de *Pleurotus djamor* em exocarpo de cupuaçu suplementado com farelo de arroz: A - Período de miceliação do substrato; B – Formação de primórdios; C – Tempo total de cultivo



Fonte: A autora, 2021.

Em função desses dados, pode ser observado que, nos cultivos *in vitro*, são diversos os fatores que influenciam no crescimento e reprodução de cogumelos, mas dominam a características genéticas e fisiológicas de cada espécie, assim como, tem marcada importância os fatores nutricionais e ambientais para adaptação do cogumelo no substrato (SILVA et al., 2018) e, em consequência o sucesso dos experimentos em escala laboratorial.

Na tabela 1 está constando os valores dos parâmetros referentes à produção de *Pleurotus djamor* em exocarpo de cupuaçu misturado com farelo de arroz. As análises revelaram que os valores significativos de eficiência biológica foi 137,91%, taxa de produção 8,11 g/dia e produtividade 21,81%. *Pleurotus ostreoroseus*, quando cultivada no mesmo substrato utilizados nesta pesquisa (exocarpo de cupuaçu e farelo de arroz), a eficiência biológica e taxa de produção foi igual a 22,90% e 54,33%, respectivamente (FONSECA et al., 2015).

Rometo et al. (2010), observaram que a produção de *P. ostreatus* em palha de trigo a eficiência biológica foi superior (138,47%), aos dados observados nesta pesquisa. *P. djamor* var. *roseus* evidenciou grande aceitabilidade por palha de arroz, propriedade revelada pelo valor de EB (120%) (RAMAN et al., 2018). A

eficiência biológica de 82,34% foi determinada no cultivo de *Pleurotus djamor* na mistura de serragens com farelo de trigo (KABIR et al., 2019).

Segundo Lucio et al. (2021), a produção de *P. djamor* em bagaço de *Agave salmiana* demonstrou que resíduos alternativos permitem o crescimento do cogumelo. A espécie apresentou eficiência biológica, habilidade de converter o substrato em basidioma, de 70% e uma taxa de produção de 1,18 g/dia de cogumelos produzidos.

A porcentagem de material orgânico degradado por *P. djamor* em exocarpo de cupuaçu e farelo de arroz foi de 31,46% (Tabela 1). *P. ostreatoroseus* quando cultivado em exocarpo de cupuaçu e farelo de arroz, 37,68%, foi o valor da perda de matéria orgânica, dados que demonstraram adequada aceitação do substrato pela espécie cultivada (FONSECA et al., 2015).

A variação nos valores de produtividade e eficiência biológica está fortemente relacionada ao crescimento do micélio, período de colonização do cogumelo no substrato e germinação dos primórdios, parâmetros que revelam à resposta de cada espécie as condições de cultivo (ALVAREZ et al 2021, ZURBANO et al., 2017).

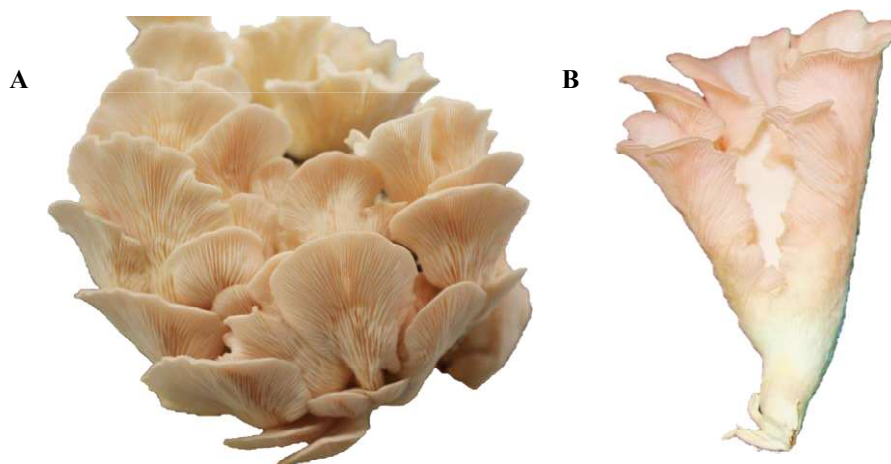
Tabela 1. Parâmetros quantitativos referentes à produção de *Pleurotus djamor* em exocarpo de cupuaçu misturado com farelo de arroz.

Variáveis	Média
Rendimento Total	
Eficiência Biológica (%)	137,91±9,72
Produtividade (%)	21,81±1,21
Taxa de Produção (g/dia)	8,11±0,45
Perda de Matéria Orgânica (%)	31,86± 1,71
Nº (Cogumelos)	471±2,33
Peso Total dos basidiomas <i>in natura</i> (g)	437,3 ±3,68
Dimensões dos Basidiomas	
Largura do Píleo (cm)	12,2±3,36
Comprimento do Píleo (cm)	7,5±2,25
Comprimento da Estipe (cm)	2,5±0,54
Média ± desvio-padrão	

Fontes de carbono, nitrogênio, minerais, pH, temperatura, umidade e oxigenação, além da relação C/N, tamanho das partículas do resíduo lignocelulósico, tanto nos cultivos *in vitro* quanto na natureza, são fatores que influenciam no crescimento dos cogumelos (ATILA, 2019). Além disso, a suplementação do resíduo melhora o desempenho do cultivo e equilibra a concentração de nitrogênio e carbono que pode inibir ou retardar o desenvolvimento do micélio e dificultar o surgimento de primórdios (MACHADO et al., 2017; FONSECA et al., 2015).

As características morfológicas dos basidiomas de *P. djamor* após colheita estão mostradas na figura 2. Os resultados mostraram elevado número de cogumelos (471). Os píleos apresentaram formato flabeliforme glabro, lamelas decurrentes e estipe excêntrica, (Figura 2), a coloração variou de rosada nos dois dias de desenvolvimento e no terceiro dia (colheita) a coloração era levemente rosa a branca, com tamanho médio 12,2 x 7,5 cm e estipe 2,5cm (Tabela 1).

Figura 2 - *Pleurotus djamor*: A – características morfológicas dos píleos; B - tamanho médio de píleos produzido.



Fonte: A autora, 2021.

As características morfológicas de *P. djamor* são compatíveis com as descritas por Putzke et al. (2019), píleo branco a rosado quando fresco, formato espatulado a flabeliforme com lamelas decurrentes, estipe excêntrico a lateral. Na produção em resíduo alternativo de *P. djamor*, os píleos apresentaram tamanho médio 8 x 13 cm dados aproximados ao desta pesquisa (LUCIO et al., 2021).

Ahamed et al (2013), observou que as dimensões de píleos 5,1 x 0,65 cm e do estipe 0,58cm para *P. ostreatus* produzido em resíduo lignocelulósico. Machado et al. (2016) e Alvarez et al. (2021) sugeriram que o número de basidiomas desenvolvidos, assim como suas dimensões, são propriedades importantes para demonstração da qualidade mercadológica.

Tesfay et al. (2020), observaram que o tamanho dos píleos de *P. ostreatus* variaram de 7,90 a 5,40 cm em diferentes substratos e fluxos, sendo constatado que píleos maiores e estipes mais curtos são melhores comercialmente do que píleos menores e estipes mais longos, indicando que a variação do píleo depende da aeração e incidência de luz.

Os resultados das análises microbiológicas demonstram ausência de *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., fungos filamentosos e leveduras nas amostras de biomassa de *P. djamor*.

A tabela 2 está demonstrando a umidade e a composição centesimal da biomassa de *P. djamor*. O conteúdo de proteínas foi 13,68%, lipídios (0,86 %), cinzas (3,52%), carboidratos (40,97%), fibras (9,84%) e valor energético de 329,82±0,28. Em outro experimento, utilizando palha de trigo para cultivo de *P. djamor*, na biomassa foi constatado conteúdo de proteína equivalente a 32,94%, carboidrato (58,90%), cinzas iguais a 7,11%, e valor energético 376,8 Kcal/100g (VALENZUELA-COBOS et al., 2020). Na biomassa de *P. djamor* var. *roseus* foi constatado 35,50% de proteínas, 44% de carboidratos, e 14,60% de fibras, nos cultivos em palha de arroz (RAMAN et al., 2020).

Tabela 2. Composição centesimal de *Pleurotus djamor* (g/ 100g de substrato em base seca)

Variáveis	Médias (%)
Umidade	14,73±0,06
Lipídios	0,86±0,01
Proteínas (N x 4,38)	13, 68±0,02
Cinzas	3,52±0,11
Carboidratos	40,97±0,05
Fibras	9,84±0,68

Valor energético/Kcal	329,82±0,28
Média ± desvio-padrão	

Comparando os resultados da composição centesimal de *P. djamor*, analisado neste estudo aos obtidos em palha de arroz e trigo, o teor de proteínas foi inferior 6,72% e 140,78%, respectivamente. A estrutura, a composição desses substratos e a relação carbono/nitrogênio provavelmente fornecem condições físicas e nutricionais, parâmetros que favorecem o desenvolvimento do micélio e reprodução das diversas espécies de cogumelos (SALMONES, 2018; NGUYEN et al., 2019; OSUNDE et al., 2019; WU et al., 2019).

Os dados das propriedades tecnológicas determinados na farinha elaborada (figura 3) com a biomassa de *P. djamor* corresponderam a 6,29 g/g, 52% e 5,68g/g de água/g de matéria seca, representando, respectivamente o índice de absorção da água (IAA), índice de solubilidade em água (ISA) e capacidade de intumescimento (CI) atributos determinam a aplicação em produtos alimentares.

Esses valores de propriedades tecnológicas estão na faixa dos teores determinados para farinha de *P. ostreatus*, IAA= 7,19; ISA= 50,99; CI= 11,36. Essas propriedades estão associadas, provavelmente pela presença de fibras e proteínas, além da morfologia porosa do produto que favorece a absorção, retenção e inchamento de partículas de farinha na água (OJINNAKA et al., 2017; ISHARA et al., 2018).

Adebowwale et al. (2012), observaram IAA de 3,47 (g/g), ISA 9,84% e CI 10,21(g/g) em farinha comercial de trigo muito utilizada para elaborações alimentícias. Além disso, Chandi et al. (2007) salientam que valores das propriedades de hidratação entre 1 e 4 (g/g) observados em farinhas são críticos para aplicação em alimentos viscosos como sopas e caldos.

Figura 3 - Farinha elaborada com basidiomas de *Pleurotus djamor*



Fonte: A autora, 2021.

Dados similares ao desta pesquisa foram observados em misturas de farinhas apresentando IAA de 7,43g/g e ISA de 42,13%, destacando a interação de proteínas com a água e a possibilidade da aplicação de farinhas no processamento de produtos cárneos, de panificação, sopas e instantâneos, corroborando assim com a utilização da farinha de *P. djamor* em formulações alimentícias (BIERNACKA et al., 2020).

Farinha de *P. djamor* é uma das alternativas para consumo de cogumelos como produto constituinte de alimentos, como sopa, pão, biscoitos, café, enriquecendo-os proteínas, fibras e minerais, entre outros constituintes nutricionais (MACHADO et al 2016; SOUZA et al 2016; CRUZ-SOLORIO et al., 2018; OLUWASEUN et al., 2020).

4. CONCLUSÃO

Exocarpos de cupuaçu com farelo de arroz despontaram como substrato viável para produção de *P. djamor*, produto fonte de proteínas, minerais e fibras que pode ser consumido na forma *in natura* ou desidratado na forma de farinha. Farinha da massa micelial de *P. djamor* tem características para uso numa diversidade de alimentos sólidos, semi-sólidos e pastosos.

5. AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Universidade Federal do Amazonas (UFAM), pelo apoio técnico, científico e financeiro.

6. REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA

ADEBOWALE, A. A. et al. Functional properties and biscuit making potentialsof sorghum – wheat flour composite. **American Journal of Food Technology**, v.7, n.6, p. 372-379, 2012.

AHAMED, M.; ABDULLAH, N.; AHMED, K. U.; BHUYAN, B. M. H. M. Yield and nutritional composition of oyster mushroom strains newly introduced in Bangladesh. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.48, n.2, p.197-202, 2013.

ALI, R.; HAYAT, A.; FATIMA, M.; NOMAM, M. Detection and enumeration of Enteric bacteria associated with food handlers and surfaces of food manufacturing industry located in Hub city, **Pakistan. World Scientific News**, v. 49, n. 2, p. 192-203, 2016.

ALVAREZ, L. V.; BAUTISTA, A. B. Growth and yield performance of *Pleurotus* on selected Lignocellulosic wastes in the vicinity of PUP main campus, Philippines. **Indian Journal of Science and Technology**, v. 14, n. 3, p. 259-260, 2021.

ATILA, F. Compositional changes in lignocellulosic content of some agro wastes duringthe production cycle of shiitake mushroom. **Scientia Horticulturae**, v.245, p.263–268, 2019.

BARH, A. *et al.* Genetic improvement in *Pleurotus* (oyster mushroom): a review. **3 Biotech**, v. 9, n. 9, 2019.

BEUCHAT, L. R. Functional and Electrophoretic Characteristics of Succinylated Peanut Flour Protein. **J. Agric. Food Chem.** V. 25, n. 2. 1977.

BIERNACKA, B.; DZIKI, D.; RÓZYLO, R.; GAWLIK-DZIKI, U. Banana poder as an additive to common wheat pasta. **Foods**, v. 9, n. 53, p.1-12, 2020.

BRITO, A. K. P. *et al.* Evaluation of tropical forest substrates for cultivation and production of proteases by *Pleurotus djamor*. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 3, p. e31810313385, 2021.

- CARRASCO-GONZÁLEZ, J. A. *et al.* Nutritional attributes of *Pleurotus* mushroom. **International Journal of Biotechnology for Wellness Industries**, v. 50, n. 3, p. 633–646, 2019.
- CHANDI, G. K.; SOGI, D. S. Functional properties of rice bran protein concentrates. **Journal of Food Engineering**, n. 79, p. 592–597, 2007.
- CRUZ-SOLORIO, A. *et al.* Functional properties of flours and protein concentrates of strains of the edible mushroom *Pleurotus ostreatus*. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, p. 3892-3901, 2018.
- CSÓKA, M. *et al.* Volatile composition of some cultivated and wild culinary-medicinal mushrooms from Hungary. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 19, n. 5, p. 433–443, 2017.
- DIAS, E. S.; KOSHIKUMO, E. M. S.; SCHWAN, R. F.; SILVA, R. Cultivo do cogumelo *Pleurotus sajor-caju* em diferentes resíduos agrícolas. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 6, p. 1363-1369, 2003.
- FONSECA, R. B. T. *et al.* Cultivation and nutritional studies of an edible mushroom from North Brazil. **African Journal of Microbiology Research**, v. 9, n. 30, p. 1814–1822, 2015.
- GRIMM, D.; WÖSTEN, H. A. B. Mushroom cultivation in the circular economy. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 18, p. 7795–7803, 2018.
- HOLTZ, M. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* utilizando resíduos de algodão da indústria têxtil. **Revista Ciências Ambientais**, v.3, n. 1, p.37-51, 2009.
- ISHARA, J. R. M.; SILA, D. N.; KENJI, G. M.; BUZERA, A. K. Nutritional and functional properties of mushroom (*Agaricus bisporus* & *Pleurotus ostreatus*) and their blends with maize flour. **American Journal of Food Science and Technology**, v. 6, n. 1, p. 33-41, 2018.
- KABIR, H.; HOSSAIN, A.; NURRUDIN, M. M. Effect of different sources of sawdust on the growth, yield, proximate and mineral composition of pink oyster mushroom (*Pleurotus djamor*), **J. Expt. Biosci.**, v. 10, n.2, p. 41-50, 2019.
- LEACH, H. W.; MCCOWEN, L. D.; SCHOCH, T. J. Structure of the starch granules. In: Swelling and solubility patterns of various starches. **Cereal Chem.** v.1, n, 36, p. 534-544. 1959.
- LECHNER, B. E.; WRIGHT, J. E.; ALBERTÓ, E. The genus *Pleurotus* in Argentina. **Mycologia**, v. 96, n. 4, p. 845–858, 2004.

LUCIO, B. S.V. *et al.* Biological efficiency and nutritional composition of *Pleurotus djamor* cultivated on bagasse of Agave salmiana. **Research square**, p. 1-15, 2021.

MACHADO, A. R. G. *et al.* Nutritional value and proteases of *Lentinus citrinus* produced by solid state fermentation of lignocellulosic waste from tropical region. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 23, n. 5, p. 621–627, 2016.

MACHADO, A. R. G.; MARTIM, S. R.; ALECRIM, M. M.; TEIXEIRA, M. F. S. Production and characterization of proteases from edible mushrooms cultivated on amazonic tubers. **African Journal of Biotechnology**, v. 16, n. 26, p. 2160-2166, 2017.

MASSAGUER, P. R. Microbiologia dos processos alimentares. **Revista Clínica de Nutrição e Dietética**, v. 1, n. 1, p. 1-9, 2005.

MINITAB, 2017. Minitab statistical software. LEAD Technologies, Inc. Version 18.0.

NGUYEN, B. T. T. *et al.* Optimal culture conditions for mycelial growth and fruiting body formation of Ling Zhi mushroom *Ganoderma lucidum* strain GA3. **Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering**, [S.l.], v. 61, n. 1, p. 62-67, 2019.

OJINNAKA, M. C.; OKUDU, H. O.; EZENWA, L.I.; EBEREONWU, H. O. Addition of edible mushroom (*Pleurotus tuber-regium*) on the nutrient composition and organoleptic properties of wheat-mushroom chinchin. **Production Agriculture and technology**, v. 13, n. 1p.80-88, 2017.

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 de resíduos da agroindústria. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 84-87, 2007.

OLUWAFEMI, G. I.; SEIDU, K. T.; FAGBEMI, T. N. Chemical composition, functional properties and protein fractionation of edible oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). **Annals. Food Science and Technology**, v. 17, n. 1, p. 218-223, 2016.

OSUNDE, O. M.; OLAYINKA, A.; FASHINA, C. D.; TORIMIRO, N. Effect of Carbon-Nitrogen Ratios of Lignocellulosic Substrates on the Yield of Mushroom (*Pleurotus pulmonarius*). **Open Access Library Journal**, v. 6, p. 1-8, 2019.

PUTZKE, J.; PUTZKE M. T. L. Cogumelos (fungos Agaricales) no Brasil - Ordens Boletales (Boletaceae, Paxillaceae), Polyporales (Lentinaceae/ Pleurotaceae, Polyporaceae). Russalales (Russaleceae) e Agaricales (Cortinariaceae, Inocybaceae, Pluteaceae e Strophariaceae), **e-book**, 380 f., 2019.

RABUSKE, E. R.; DUPONT, A.; PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. Substratos alternativos para o cultivo do cogumelo comestível ostra salmão: *Pleurotus djamor*. **Caderno de Pesquisa**. Santa Cruz do Sul, v. 31, n. 2, p. 22-24, 2019.

RAMAN, T. *et al.* Cultivation of Pink Oyster mushroom *Pleurotus djamor* var. *roseus* on various agro-residues by low cost technique. **Journal of Mycopathological Research**, v.53, n. 3, p. 213-220, 2018.

RAMAN, J. *et al.* Cultivation and Nutritional Value of Prominent *Pleurotus* spp.: An Overview, **Mycobiology**, v. 49, n. 1, p. 1-14, 2021.

ROMERO, O. *et al.* Evaluación de la capacidad productiva de *Pleurotus ostreatus* con el uso de hoja de plátano (*Musa paradisiaca* L., cv . Roatan) deshidratada, en relación con otros sustratos agrícolas. **Agronomía Costarricense**, v. 34, n. 1, p. 53-63, 2010.

RUIZ, W. A.; CASTIGLIONI, G. L.; DORS, G. C. Utilização da farinha de arroz na elaboração de sobremesa. **Vetor**. v.1, n, 16, p. 63-67. 2003.

SALMONES, D. *Pleurotus djamor*, un hongo con potencial aplicación biotecnológica para el neotrópico. **Scientia Fungorum**, v. 46, p. 73–85, 2018.

SILVA, L.; DULAY, R. M.; KALAW, S. Mycelial growth of pink oyster mushroom (*Pleurotus djamour*) on banana sucrose gulaman and fruiting body production on banana-based substrate formulations. **CLSU International Journal of Science & Technology**, v. 3, n. 2, p. 24–32, 2018.

SOUZA, R. A. T. *et al.* Nutritional composition of bioproducts generated from semi-solid fermentation of pineapple peel by edible mushrooms. **African Journal of Biotechnology**, v. 15, n. 12, p. 451–457, 2016.

TESFAY T.; GODIFEY, T.; MESFIN, R.; KALAYU, G. Evaluation of waste paper for cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) with some added supplementary materials. **AMB Expr**, v. 10, n. 15, p. 1-8, 2020.

VALENZUELA-COBOS, J.; GRIJALVA-ENDARA, A.; MARCILLO-VALLEJO, R.; GARCÉS-MONCAYO, M. Production and characterization of reconstituted strains of *Pleurotus* spp. cultivated on different agricultural wastes. **Revista Mexicana De Ingeniería Química**, v. 19, n. 3, p. 1493-1504, 2020.

WU, N.; TIAN, F.; MOODLEY, O.; SONG, B.; JIA, C.; YE, J.; LV, R.; QIN, Z.; LI, C. Optimization of agro-residues as substrates for *Pleurotus pulmonarius* production. **AMB Expr**, 9, 1-9, 2019.

ZURBANO, L.; BELLERE, A.; SAVILLA, L. Mycelial growth, fruiting body production and proximate composition of *Pleurotus djamor* on different substrate. **CLSU International Journal of Science & Technology**, v. 2, n. 1, 2017.

5. CONCLUSÕES

Os meios de cultivo sintéticos e naturais influenciam no crescimento e na produção de enzimas proteolíticas de cogumelo ostra salmão. Ágar Sabouraud+extrato de levedura (SAB+YE) é o meio sintético promissor para desenvolvimento da densidade micelial máxima e fornecimento de cultura matriz com características excelentes para produção de basidiomas.

Entre os resíduos lignocelulolíticos, a mistura formulada com exocarpo de cupuaçu com farelo de arroz (CC+FA) ou farelo de trigo (CC+FT) estimulou o crescimento, assim como, a forte densidade micelial. Os substratos à base de tubérculos e resíduos lignocelulósicos amazônicos constituem uma alternativa tecnológica sustentável e ecoamigável para o desenvolvimento de espécies de *Pleurotus* e enzimas de interesse industrial.

Substratos a base de exocarpos de cupuaçu com farelo de arroz são viáveis para produção de *P. djamor*. Os basidiomas de cogumelo ostra salmão são produtos fonte de proteínas, minerais e fibras que podem ser consumidos na forma *in natura* ou desidratado na forma de farinha. O produto alimentício farinha da massa micelial de *P. djamor* tem características para uso como aditivo numa diversidade de alimentos como sopas, massas e pães, trazendo benefícios a saúde humana.

A espécie *Pleurotus djamor* DPUA 1818 proporcionou a obtenção de produtos e subprodutos capazes de movimentar novos e diversificados mercados de base biológica, como a fungicultura, e produtos alimentícios. Além disso, podem gerar o desenvolvimento de uma bioeconomia de pequenos produtores, atividade rural e agricultura familiar promovendo crescimento econômico e geração de empregos.

6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ADEBOWALE, A. A. et al. Functional properties and biscuit making potentialsof sorghum – wheat flour composite. **American Journal of Food Technology**, v.7, n.6, p. 372-379, 2012.

AHAMED, M.; ABDULLAH, N.; AHMED, K. U.; BHUYAN, B. M. H. M. Yield and nutritional composition of oyster mushroom strains newly introduced in Bangladesh. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.48, n.2, p.197-202, 2013.

ALI, R.; HAYAT, A.; FATIMA, M.; NOMAM, M. Detection and enumeration of Enteric bacteria associated with food handlers and surfaces of food manufacturing industry located in Hub city, Pakistan. **World Scientific News**, v. 49, n. 2, p. 192-203, 2016.

ALVAREZ, L. V.; BAUTISTA, A. B. Growth and yield performance of *Pleurotus* on selected Lignocellulosic wastes in the vicinity of PUP main campus, Philippines. **Indian Journal of Science and Technology**, v. 14, n. 3, p. 259-260, 2021.

ÁLVAREZ, M. Z.; RÍOS, A. Aceptación y Apreciación de Hongos Comestibles *Pleurotus djamor* por Expertos de Cocina Internacional y Su Perspectiva de Comercialización en Restaurantes de Hoteles de Panamá. **RIDTEC**, v. 9, n. 1, 2013.

ASSOCIAÇÃO NACIONAL DE PRODUTORES DE COGUMELO - ANPC. Cogumelos. Disponível em: <https://www.anpccogumelos.org/cogumelos>. Acessado em: 18 de dezembro de 2019.

ATILA, F. Compositional changes in lignocellulosic content of some agro wastes duringthe production cycle of shiitake mushroom. **Scientia Horticulturae**, v.245, p.263–268, 2019.

BALAN, V.; MUNAFO, J. P. J.; PATTATHILL, S.; MERRITT, B. B.; VENKETACHALAM, S.; NG, W. Protocols to Evaluate the Nutritional and Potential Health Benefits of Edible Mushrooms. **Current Biotechnology**, v.7, n. 1, p. 34-58, 2018.

BARH, A. *et al.* Genetic improvement in *Pleurotus* (oyster mushroom): a review. **3 Biotech**, v. 9, n. 322, p. 1-14, 2019.

BENMRAD, M. O. *et al.* Purification and Biochemical Characterization of a Novel Thermostable Protease from the Oyster Mushroom *Pleurotus sajor-caju* Strain CTM10057 with Industrial Interest. **BMC Biotechnology**, v.19, n. 43, p. 1-18, 2019.

BELLETTINI, M. B. *et al.* Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. Saudi Journal of Biological Sciences, v. 26, n. 4, p. 633–646, 2019.

BEUCHAT, L. R. Functional and Electrophoretic Characteristics of Succinylated Peanut Flour Protein. **J. Agric. Food Chem.** V. 25, n. 2. 1977.

BONNEVILLE, S. *et al.* Molecular identification of fungi microfossils in a Neoproterozoic shale rock. Science Advances, v. 6, n. 4, p. 7599, 2020.

BIERNACKA, B.; DZIKI, D.; RÓZYLO, R.; GAWLIK-DZIKI, U. Banana powder as an additive to common wheat pasta. **Foods**, v. 9, n. 53, p.1-12, 2020.

BRITO, A. K. P. *et al.* Evaluation of tropical forest substrates for cultivation and production of proteases by *Pleurotus djamora*. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 3, p. e31810313385, 2021.

BUMANLAG, C. P. B.; KALAW, S. P.; DULAY, R. M. R.; REYES, R. G. Optimum Conditions for Mycelial Growth and Basidiocarp Production of *Pleurotus djamora* on Corn-based Media. **International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences**, v. 7, n. 4, p. 558–575, 2018.

CARRASCO-GONZÁLEZ, J. A. *et al.* Nutritional attributes of *Pleurotus* mushroom. **International Journal of Biotechnology for Wellness Industries**, v. 50, n. 3, p. 633–646, 2019.

CARRASCO, J.; PRESTON, G. M. Growing edible mushrooms: a conversation between bacteria and fungi. **Environmental Microbiology**, v. 00, 2019.

CASTRONUOVO, D. *et al.* Morphological and productivity comparison between commercial and wild isolates of *Pleurotus eryngii* (D.c.: Fr.) quel. Italian Journal of Agronomy, v. 14, n. 3, p. 170–175, 2019.

CHANAKYA, H. N.; MALAYIL, S.; VIJAYALAKSHMI, C. Cultivation of *Pleurotus* spp. on a combination of anaerobically digested plant material and various agro-residues. Energy for Sustainable Development, v. 27, p. 84–92, 2015.

CHANDI, G. K.; SOGI, D. S. Functional properties of rice bran protein concentrates. **Journal of Food Engineering**, n. 79, p. 592–597, 2007.

CONDÉ, V. F.; OLIVEIRA, J. E. Z.; OLIVEIRA, D. M. F. *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. flour (Hiratake mushroom) enriched in iron. Ciência e Natura, v. 39, n. 1, p. 01, 2016.

CORRÊA, R. C. G. *et al.* Biotechnological, nutritional and therapeutic uses of *Pleurotus* spp. (Oyster mushroom) related with its chemical composition: A review on the past decade findings. Trends in Food Science and Technology, v. 50, p. 103–117, 2016.

CRUZ-SOLORIO, A. *et al.* Functional properties of flours and protein concentrates of strains of the edible mushroom *Pleurotus ostreatus*. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, p. 3892-3901, 2018.

CSÓKA, M. *et al.* Volatile composition of some cultivated and wild culinary-medicinal mushrooms from Hungary. International Journal of Medicinal Mushrooms, v. 19, n. 5, p. 433–443, 2017.

DEVI, S. K., PRABHU, N.; MONIKA, S.; SWAPNA, N. M.; VAISHALI, S.; GAJENDRAN, T. Sequestration and purification of essential enzyme from *Pleurotus florida* compost waste and its application studies. Journal of Applied Biology & Biotechnology, v. 8, n. 1, p. 64-68, 2020.

DHARMARAJ, K.; KUBERAN, T.; MAHALAKSHMI, R. Comparison of Nutrient Contents and Antimicrobial Properties of *Pleurotus djamor*, *Agaricus bisporus* and *Ganoderma tsugae*.

International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, v. 3, n. 6, p. 518–526, 2014.

DIAS, E. S.; KOSHIKUMO, E. M. S.; SCHWAN, R. F.; SILVA, R. Cultivo do cogumelo *Pleurotus sajor-caju* em diferentes resíduos agrícolas. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 6, p. 1363-1369, 2003.

FLETCHER, I. A. Effect of Temperature and Growth Media on Mycelium Growth of *Pleurotus ostreatus* and *Ganoderma Lucidum* Strains. **Cohesive journal of microbiology and infectious disease**, v. 2, n. 5, p. 1-5, 2019.

FONSECA, R. B. T. *et al.* Cultivation and nutritional studies of an edible mushroom from North Brazil. **African Journal of Microbiology Research**, v. 9, n. 30, p. 1814–1822, 2015.

FURLANI, Z.; PRADO, R.; GODOY, H. T. Nutritional value of edible mushrooms. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 154–157, 2007.

GANESAN, K.; XU, B. Anti-obesity effects of medicinal and edible mushrooms. **Molecules**, v. 23, n. 11, 2018.

GARGANO, M. L. *et al.* Medicinal mushrooms: Valuable biological resources of high exploitation potential. **Plant Biosystems**, v. 151, n. 3, p. 548–565, 2017.

GIRMAY, Z. *et al.* Growth and yield performance of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Fr.) Kumm (oyster mushroom) on different substrates. **AMB Express**, v. 6, n. 1, p. 1–7, 2016.

GRIMM, D.; WÖSTEN, H. A. B. Mushroom cultivation in the circular economy. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 18, p. 7795–7803, 2018.

HASAN, M. T. *et al.* Effect of wheat bran supplement with sugarcane bagasse on growth, yield and proximate composition of pink oyster mushroom (*Pleurotus djamor*) effect of wheat bran supplement with sugarcane bagasse on growth , yield and proximate composition of pink oyster. **American Journal of Food Science and Technology**, v. 3, n. May, p. 150–157, 2015.

HOLTZ, M. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* utilizando resíduos de algodão da indústria têxtil. **Revista Ciências Ambientais**, v.3, n. 1, p.37-51, 2009.

IBRAHIUM, M. I.; HEGAZY, A. I. Effect of Replacement of Wheat Flour with Mushroom Powder and Sweet Potato Flour on Nutritional Composition and Sensory Characteristics of Biscuits. **Current Science International**, v. 3, n. 1, p. 26–33, 2014.

ISRAEL, C. M. (2005). Utilização do resíduo do processamento do palmito para a produção de enzimas hidrolíticas por fungos do gênero *Polyporus*. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Centro de Ciências Tecnológicas, Universidade Regional de Blumenau, Blumenau. 136 f.

ISHARA, J. R. M.; SILA, D. N.; KENJI, G. M.; BUZERA, A. K. Nutritional and functional properties of mushroom (*Agaricus bisporus* & *Pleurotus ostreatus*) and their blends with maize flour. **American Journal of Food Science and Technology**, v. 6, n. 1, p. 33-41, 2018.

JACOB, J. Mycelial Growth Performance of Three Species of *Pleurotus* on Coconut Water Gelatin. **Current. Research in Environmental & Applied Mycology**, v. 5, n. 3, p. 263–268, 2015.

KABIR, H.; HOSSAIN, A.; NURRUDIN, M. M. Effect of different sources of sawdust on the growth, yield, proximate and mineral composition of pink oyster mushroom (*Pleurotus djamor*), **J. Expt. Biosci.**, v. 10, n.2, p. 41-50, 2019.

KAMTHAN, R.; TIWARI, I. Agricultural Wastes- Potential Substrates For Mushroom Cultivation. **European Journal of Experimental Biology**, v. 7, n. 5, p. 3–6, 2017.

KIM, J. H. *et al.* The different antioxidant and anticancer activities depending on the color of oyster mushrooms. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 3, n. 12, p. 1016–1020, 2009.

LAURSEN, A. The Effect of Different Nitrogen Sources on Mycelial Growth of Oyster Mushroom, *Pleurotus ostreatus*. Online publication: <http://stud.epsilon.slu.se>, p. 1-60, 2018.

LAVELLI, V. *et al.* Circular Reuse of Bio-Resources: The Role of *Pleurotus* spp. In The Development of Functional Foods. **Food & Function**, v. 9, P. 1353-1372, 2018.

LEACH, H. W.; MCCOWEN, L. D.; SCHUCH, T. J. Structure of the starch granules. In: Swelling and solubility patterns of various starches. **Cereal Chem.** v.1, n, 36, p. 534-544, 1959.

LECHNER, B. E.; WRIGHT, J. E.; ALBERTÓ, E. The genus *Pleurotus* in Argentina. **Mycologia**, v. 96, n. 4, p. 845–858, 2004.

MACEDO, A. J. P. *et al.* Crescimento micelial de *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst. em resíduos lignocelulósicos deponíveis na Amazonia. **Caderno de Pesquisa**, Serie Biologia, v. 23, p. 16–25, 2011.

MACHADO, A. R. G. *et al.* Nutritional value and proteases of *Lentinus citrinus* produced by solid state fermentation of lignocellulosic waste from tropical region. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 23, n. 5, p. 621–627, 2016.

MACHADO, A. R. G.; MARTIM, S. R.; ALECRIM, M. M.; TEIXEIRA, M. F. S. Production and characterization of proteases from edible mushrooms cultivated on amazonic tubers. **African Journal of Biotechnology**, v. 16, n. 26, p. 2160-2166, 2017.

MAJESTY, D. K. C. *et al.* Nutritional, Anti-nutritional and Biochemical Studies on the Oyster Mushroom. **EC Nutrition**, v. 14, n1, p. 36–59, 2019.

MAHADEVAN, K.; SHANMUGASUNDARAM, K. Comparative effect of different culture media on mycelial growth performance of *Pleurotus sapidus*. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 7, n. 4, p. 874-878, 2018.

MARTÍNEZ-CARRERA, D. Cultivation of Oyster Mushrooms. **McGraw-Hill Yearbook of Science & Technology**, v. 447, p. 242–245, 1998.

MARINO, R. H.; ABREU, L. D.; MESQUITA, J. B.; RIBEIRO, G. T. Crescimento e cultivo de diferentes isolados de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer em serragem da casca de coco. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, n. 1, p. 29-36, 2008.

MASRI, H. J. *et al.* The Edible Mushroom *Pleurotus* spp.: II. Medicinal Values. **International Journal of Biotechnology for Wellness Industries**, v. 6, p. 1–11, 2017.

MASSAGUER, P. R. Microbiologia dos processos alimentares. **Revista Clínica de Nutrição e Dietética**, v. 1, n. 1, p. 1-9, 2005.

MORDOR INTELLIGENCE, functional food market - growth, trends, covid-19 impact, and forecasts (2021 - 2026). **Disponível em:** <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/global-functional-food-market>. Acessado em 15 de junho de 2021.

MINITAB, 2017. Minitab statistical software. LEAD Technologies, Inc. Version 18.0.

MLECZEK, M. *et al.* Cultivation of mushrooms for production of food biofortified with lithium. **European Food Research and Technology**, v. 243, n. 6, p. 1097–1104, 2017.

MURUGESAN, S. Sustainable food security: Edible and medicinal Mushroom. **Sustainable Agriculture towards Food Security**, p. 185–196, 2017.

NADU, T. *et al.* Morphological and Molecular characterization of *Pleurotus flabellatus* from Paechiparai forest of. **Kavaka**, v. 48, n. 2, p. 70–75, 2017.

NAYAK, H. *et al.* Effect of drying parameters on water activity of pink oyster mushroom (*Pleurotus djamor*) powder. **PhytojournalCom**, v. 7, n. 2, p. 2288–2292, 2018.

NGUYEN, B. T. T. *et al.* Optimal culture conditions for mycelial growth and fruiting body formation of Ling Zhi mushroom *Ganoderma lucidum* strain GA3. **Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering**, [S.l.], v. 61, n. 1, p. 62-67, 2019.

OJINNAKA, M. C.; OKUDU, H. O.; EZENWA, L.I.; EBEREONWU, H. O. Addition of edible mushroom (*Pleurotus tuber-regium*) on the nutrient composition and organoleptic properties of wheat-mushroom chinchin. **Production Agriculture and technology**, v. 13, n. 1p.80-88, 2017.

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 de resíduos da agroindústria. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 84-87, 2007.

OLUWAFEMI, G. I.; SEIDU, K. T.; FAGBEMI, T. N. Chemical composition, functional properties and protein fractionation of edible oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). **Annals. Food Science and Technology**, v. 17, n. 1, p. 218-223, 2016.

OROPEZA-GUERRERO, M. P. *et al.* Productivity and Antioxidant Activity of Wild, Reconstituted, and Hybrid Strains of the Pink Oyster Mushroom, *Pleurotus djamor* (Agaricomycetes), from Mexico. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 20, n. 7, p. 607-621, 2018.

OSUNDE, O. M.; OLAYINKA, A.; FASHINA, C. D.; TORIMIRO, N. Effect of Carbon-Nitrogen Ratios of Lignocellulosic Substrates on the Yield of Mushroom (*Pleurotus pulmonarius*). **Open Access Library Journal**, v. 6, p. 1-8, 2019.

PALHETA, R. A.; VIEIRA, J. N.; NEVES, K. C. S.; TEIXEIRA, M. F. S. Crescimento micelial vertical de duas espécies de *Pleurotus* em resíduo agroindustrial da Amazônia utilizando planejamento fatorial. **Caderno de Pesquisa**, série Biologia, v. 23, n. 3, p. 52-60, 2011.

PRASAD, S. *et al.* Medicinal Mushrooms as a Source of Novel Functional Food. **Int J Food Sci Nutr Diet**. v. 4, v. 5, p. 221-225, 2015.

PROSERPIO, C. *et al.* Effect of *Pleurotus ostreatus* Powder Addition in Vegetable Soup on β -glucan Content, Sensory Perception, and Acceptability. **Food Sci Nutr**. v. 7, p. 730–737, 2019.

PUTZKE, J.; PUTZKE M. T. L. Cogumelos (fungos Agaricales) no Brasil - Ordens Boletales (Boletaceae, Paxillaceae), Polypolares (Lentinaceae/ Pleurotaceae, Polyporaceae). Russalales

(Russaleceae) e Agaricales (Cortinariaceae, Inocybaceae, Pluteaceae e Strophariaceae), **e-book**, 380 f., 2019.

RABUSKE, E. R.; DUPONT, A.; PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. Substratos alternativos para o cultivo do cogumelo comestível ostra salmão: *Pleurotus djamor*. **Caderno de Pesquisa**. Santa Cruz do Sul, v. 31, n. 2, p. 22-24, 2019.

RAGASA, C. Y. *et al.* Chemical constituents of *Pleurotus djamor*. **Der Pharma Chemica**, v. 8, n. 2, p. 343–346, 2016.

RAJARATHNAM, S., *et al.* Biodegradative and biosynthetic capacities of mushrooms: present and future strategies. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 18, n. 91-236, 1998.

RAMAN, J. *et al.* Cultivation and nutritional value of prominent *Pleurotus* spp.: An overview. **Mycobiology**, v. 49, n. 1, p. 1-14, 2021.

RAMAN, J.; HARIPRASATH, L.; JANG, K. Y.; VIKINESWARY, S. A.; NANJIAN, R. Cultivation of pink oyster mushroom *Pleurotus djamor* var. *roseus* on various agro-residues by low cost technique. **J. Mycopathol. Res.**, v. 56, n. 3, p. 213-220, 2018.

ROMERO, O. *et al.* Evaluación de la capacidad productiva de *Pleurotus ostreatus* con el uso de hoja de plátano (*Musa paradisiaca* L., cv . Roatan) deshidratada, en relación con otros sustratos agrícolas. **Agronomía Costarricense**, v. 34, n. 1, p. 53-63, 2010.

RUIZ, W. A.; CASTIGLIONI, G. L.; DORS, G. C. Utilização da farinha de arroz na elaboração de sobremesa. **Vetor**. v.1, n, 16, p. 63-67. 2003.

SABRI, M. A.; SHAFIQ, A.; CHECHAN, R. A. Production of spawn with high quality from novel Iraqi strains of edible mushrooms. **Plant Archives**, v. 20, n. 1, p. 2135-2142, 2020.

SALEHI, F. Characterization of different mushrooms powder and its application in bakery products: A review. **International Journal of Food Properties**, v. 22, n. 1, p. 1375–1385, 2019.

SALMONES, D. *Pleurotus djamor*, un hongo con potencial aplicación biotecnológica para el neotrópico. **Scientia Fungorum**, v. 46, p. 73–85, 2018.

SARDAR, H.; ALI, M. A.; AYYUB, C. M.; AHMAD, R. Effects of Different Culture Media, Temperature and pH Levels on the Growth of Wild and Exotic *Pleurotus* Species. **Pakistan Journal of Phytopathology**, v. 27, n. 2, p. 139-145, 2015.

SATHYAN, A. *et al.* A Comparative study of antioxidant and antimicrobial activities of *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus eryngii* and *Pleurotus djamor*. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, v. 5, n. 6, p. 907–912, 2017.

SATPAL, S. *et al.* Effect of different substrates on the growth and yield of oyster mushrooms (*Pleurotus djamor*). **Research Article**, v. 9, n. 4, p. 3721-3723, 2017.

SEKAN, A. S.; MYRONICHEVA, O. S.; KARLSSON, O.; GRYGANSKY, A. P.; BLUME, Y. Green potential of *Pleurotus* spp. in biotechnology. **PeerJ**, p. 1-21, 2019.

SILVA, L.; DULAY, R. M.; KALAW, S. Mycelial growth of pink oyster mushroom (*Pleurotus djamour*) on banana sucrose gulaman and fruiting body production on banana-based substrate formulations. **International Journal of Science & Technology**, v. 3, n. 2, p. 24–32, 2018.

SINGH, D. R. A review on different benefits of mushroom. **Journal of Pharmacy and Biological Sciences**, v. 12, n. 01, p. 107–111, 2017.

SINGH, S.; SINGH, G. Effect of environment conditions (pH , Temperature and Media) on Radial Growth of Oyster Mushroom (*Pleurotus djamor*). **HortFlora Research Spectrum**, v. 5, n. 4, p. 7-11, 2018.

SOUZA, R. A. T. *et al.* Nutritional composition of bioproducts generated from semi-solid fermentation of pineapple peel by edible mushrooms. **African Journal of Biotechnology**, v. 15, n. 12, p. 451–457, 2016.

SUDHA, G. *et al.* Comparative study on the antioxidant activity of methanolic and aqueous extracts from the fruiting bodies of an edible mushroom *Pleurotus djamor*. **Food Science and Biotechnology**, v. 25, n. 2, p. 371–377, 2016.

SURESH, N. *et al.* Pink Oyster Mushroom (*Pleurotus djamor*) and its efficacy against human pathogen. **IJSIT**, v. 6, n. 6, p. 749–757, 2017.

TEIXEIRA, M. F. S.; SILVA, T. A.; PALHETA, R. A.; CARNEIRO, A. L. B.; ATAÍDE, H. M. Fungos da Amazonia: uma riqueza inexplorada (Aplicações Biotecnológicas). Manaus: **Edua**, 2011.

TESFAY T.; GODIFEY, T.; MESFIN, R.; KALAYU, G. Evaluation of waste paper for cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) with some added supplementary materials. **AMB Expr**, v. 10, n. 15, p. 1-8, 2020.

THERADINAMI, M.; THANGESHWARI, S.; ARULSAMY, M.; PARTHASARATHY, S. Composted coirpith using edible fungi (*Pleurotus* spp.) for the management of rice sheath blight and sheath rot. **Research Journal of Agricultural Sciences**, v. 10, n. 3, p. 521-525, 2019.

TOAN, N. V.; QUI, L.N.M. Preparation and improved quality production of flour and the made biscuits from shitake mushroom (*Lentinus edodes*). **Clinical Journal of Nutrition and Dietetics**, v. 1. n.1, p.1-9, 2018.

TUPAMAHU, I. P. C.; BUDIARSO, T. Y. The effect of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) powder as prebiotic agent on yoghurt quality. **AIP Conference Proceedings**, v. 1844, n. May, 2017.

VALENZUELA-COBOS, J.; GRIJALVA-ENDARA, A.; MARCILLO-VALLEJO, R.; GARCÉS-MONCAYO, M. Production and characterization of reconstituted strains of *Pleurotus* spp. cultivated on different agricultural wastes. **Revista Mexicana De Ingeniería Química**, v. 19, n. 3, p. 1493-1504, 2020.

WAN-MOHTAR, W. A. A. Q. I. *et al.* Fruiting-body-base flour from an oyster mushroom-a

waste source of antioxidative flour for developing potential functional cookies and steamed-bun. **Agriculture and Food**, v. 3, n. 4, p. 481–492, 2018.

WANG, X. *et al.* Use of straw mushrooms (*Volvariella volvacea*) for the enhancement of physicochemical, nutritional and sensory profiles of Cantonese sausages. **Meat Science**, v. 146, n. April, p. 18–25, 2018.

WU, N. *et al.* Optimization of agro-residues as substrates for *Pleurotus pulmonarius* production. **AMB Expr**, 9, 1-9, 2019.

YUAN, B *et al.* Anti-inflammatory effects of *Pleurotus eryngii* (mushroom) in the colon: role of gut microbiota. **The Faseb Jornal**. v. 31, n. 1, 2017.

ZAWIRSKA-WOJTASIAK, R., SIWULSKI, M.; MILDNER-SZKUDLARZ, S.; WĄSOWICZ, E. Studies on the aroma of different species and strains of *Pleurotus* measured by GC/MS, sensory analysis and electronic nose. **Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria**, v. 8, n. 1, p. 47-61, 2009.

ZIED, D. C. *et al.* Use of peanut waste for oyster mushroom substrate supplementation—oyster mushroom and peanut waste. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 50, n. 4, p. 1021–1029, 2019.

ZURBANO, L.; BELLERE, A.; SAVILLA, L. Mycelial growth, fruiting body production and proximate composition of *Pleurotus djamor* on different substrate. **International Journal of Science & Technology**, v. 2, n. 1, 2017.