

INSTITUTO FEDERAL DO PARANÁ
INGRID EMANUELLY BUENO SILVA

**RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DE IVAIPORÃ - PR: POTENCIAL
BIOTECNOLÓGICO PARA A PRODUÇÃO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS E
ENZIMAS INDUSTRIAIS**

IVAIPORÃ

2024

INGRID EMANUELLY BUENO SILVA

**RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DE IVAIPORÃ - PR: POTENCIAL
BIOTECNOLÓGICO PARA A PRODUÇÃO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS E
ENZIMAS INDUSTRIAIS**

TCC apresentado ao Curso de Graduação em Engenharia Agrônoma, do Instituto Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia Agrônoma.

Orientadora: Prof^a. Dr^a Jaqueline Coelho Moreira.

IVAIPORÃ

2024

FOLHA DE APROVAÇÃO

Ingrid Emanuely Bueno Silva

RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DO VALE DO IVAÍ-PR: POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO PARA A PRODUÇÃO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS E ENZIMAS INDUSTRIAIS

O presente trabalho em graduação foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:



Profa. Dra. Marcibela Stulp
Instituto Federal do Paraná – Campus Ivaiporã

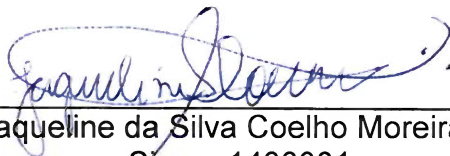


Profa. Dra. Nayara Norrene Lacerda Durães
Instituto Federal do Paraná – Campus Ivaiporã

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado como parte das exigências para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Agrônoma pelo Instituto Federal do Paraná, Campus Ivaiporã.



Coordenação do Curso Engenharia Agrônoma
Profa. Drº Denis Santiago da Costa
Siape: 1400880



Profa. Dra. Jaqueline da Silva Coelho Moreira (Orientadora)
Siape: 1400001

Ivaiporã, 23 de agosto de 2024.

A eles, que vivem meus sonhos como se fossem seus, porque o amor tem o poder de transformar o “meu” em “nosso” e constituir-me nesse plural é a melhor das sensações.

Família!

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida, por sempre estar ao meu lado sendo o meu Porto Seguro e por todas as coisas maravilhosas que me foram concedidas.

Aos meus pais Graciele e Valdir, meus primeiros professores e pilares da minha formação como ser humano, pela educação, paciência, apoio, incentivo, carinho e sobretudo pelo amor incondicional em todos os momentos da minha vida.

A minha orientadora Dr^a Jaqueline da Silva Coelho Moreira por seu apoio, ajuda e inspiração no amadurecimento dos meus conhecimentos e conceitos que me levaram a execução deste trabalho.

Aos meus amigos e colegas por todos os momentos de descontração e por terem me apoiado por todos esses anos de faculdade.

Ao meu namorado por todo o amor, apoio e compreensão durante esta jornada.

Aos professores, por todos os conselhos, pela ajuda e pela paciência com a qual guiaram o meu aprendizado, contribuindo com a minha formação acadêmica.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Os resíduos agroindustriais são fontes importantes de matérias primas com potencial biotecnológico, no cultivo de cogumelos comestíveis e produção de enzimas industriais. A gestão eficiente dos resíduos gerados pela agroindústria reduz impactos ambientais causados por seus descartes inadequados e potencializa desenvolvimento de tecnologias sustentáveis. Os resíduos gerados na produção agroindustrial, que se acumulam no ambiente, tornam-se uma preocupação crescente, com isso a destinação sustentável é uma alternativa crucial para reduzir impactos ambientais e agregar valor econômico. Desta forma, este trabalho teve como objetivos a) eleger resíduos agroindustriais gerados no Vale do Ivaí para o cultivo de cogumelos comestíveis do gênero *Pleurotus* e b) avaliar o potencial biotecnológico para produção de enzimas extracelulares. Inicialmente foram feitos testes de crescimento com três cepas de *Pleurotus sp.*, popularmente conhecidas como shimeji preto, shimeji branco e shimeji salmão, empregando-se quatro diferentes resíduos agroindustriais. A análise da produção de enzimas celulases, fenoloxidasas e amilases para cada uma das cepas de basidiomicetos foi realizada pela técnica *cup plate*, com substratos enzimáticos específicos. A enzima fenoloxidase foi produzida em todos os meios de cultivos e cepas de shimeji. A atividade enzimática de celulase foi identificada apenas nos cultivos com cepas de *shimeji salmão*. Embora não tenha ocorrido a formação de primórdios de frutificação durante a etapa de produção de cogumelos, observou-se o desenvolvimento completo da micelização nos meios de cultivo. Conclui-se que a gestão adequada dos resíduos agrícolas, aliada ao cultivo de cogumelos comestíveis e a produção de enzimas, apresenta uma alternativa inovadora e sustentável. Essa abordagem contribui significativamente para a redução do impacto ambiental e o desenvolvimento de soluções economicamente viáveis.

Palavras-chave: *Pleurotus sp.*; Impacto ambiental; Sustentável.

ABSTRACT

Agro-industrial residues are important sources of raw materials with biotechnological potential, in the cultivation of edible mushrooms and production of industrial enzymes. The efficient management of waste generated by agroindustry reduces environmental impacts caused by inadequate disposal and enhances the development of sustainable technologies. Waste generated in agro-industrial production, which accumulates in the environment, becomes a growing concern, meaning sustainable disposal is a crucial alternative to reduce environmental impacts and add economic value. Therefore, this work aimed to a) select agro-industrial waste generated in the Ivaí Valley for the cultivation of edible mushrooms of the genus *Pleurotus* and b) evaluate the biotechnological potential for the production of extracellular enzymes. Initially, growth tests were carried out with three strains of *Pleurotus* sp., popularly known as black shimeji, white shimeji and salmon shimeji, using four different agro-industrial residues. The analysis of the production of cellulase, phenoloxidase and amylase enzymes for each basidiomycete strain was carried out using the cup plate technique, with specific enzyme substrates. The phenoloxidase enzyme was produced in all culture media and shimeji strains. Cellulase enzymatic activity was identified only in cultures with shimeji salmon strains. Although the formation of fruiting beginnings did not occur during the mushroom production stage, complete development of micellization was observed in the cultivation media. It is concluded that the appropriate management of agricultural waste, combined with the cultivation of edible mushrooms and the production of enzymes, presents an innovative and sustainable alternative. This approach significantly contributes to reducing environmental impact and developing economically viable solutions.

Keywords: *Pleurotus* sp.,; environmental impact; sustainable.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Processo de incubação shimeji salmão.....	18
Figura 2 - Processo de frutificação shimeji preto.....	19
Figura 3 - Processo de frutificação shimeji salmão.....	19
Figura 4 - Produção de biomassa seca em diferentes resíduos agroindustriais e cepas de shimeji preto e salmão.....	21
Figura 5 - Produção de enzimas fenoloxidasas por shimeji preto e salmão em resíduos agroindustriais.....	22
Figura 6 - Produção de celulase por shimeji salmão em resíduos agroindustriais.	23

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
1.1 PROBLEMA	10
1.2 HIPÓTESE	10
1.3 OBJETIVOS	11
1.3.1 Objetivo geral	11
1.3.2 Objetivos específicos	11
2. DESENVOLVIMENTO	
RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DO VALE DO IVAÍ-PR: POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO PARA A PRODUÇÃO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS E ENZIMAS INDUSTRIAIS	12
1 INTRODUÇÃO	13
2 MATERIAL E MÉTODOS	15
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
4 CONCLUSÃO	25
REFERÊNCIAS	27

1 INTRODUÇÃO

Segundo Bett (2016), os cogumelos que fazem parte do reino Fungi, reproduzindo-se por meio da produção de esporos, os quais germinam e produzem hifas, originando novos organismos. No entanto, a parte “vegetativa” são formadas pelo conjunto de hifas, que posteriormente formarão os cogumelos. Desse modo, compreende o reino Fungi, fungos verdadeiros heterotróficos, que não sintetizam seu próprio alimento sendo necessário da absorção de matéria orgânica viva ou morta. Quanto à organização celular, são organismos eucarióticos podendo ser unicelulares (única célula) ou multicelulares (várias células) (FERRIOL, 2023).

Conforme Ferriol (2023), os cogumelos comestíveis são organismos aeróbicos e fazem uso de oxigênio em seu metabolismo, desenvolvendo-se em uma ampla faixa ecológica. Os fatores para o seu desenvolvimento se dá pela presença de luz, água, matéria orgânica, e pH.

A propagação na natureza dos fungos se dá pela produção de esporos e quando se deparam com um ambiente apropriado ramificam-se e colonizam no substrato, a partir de pequenas e finas teias de filamentos, iniciando o corpo vivo do fungo nomeado de micélio (OLIVEIRA, 2022).

Segundo Dos Santos (2016), no Brasil a produção de cogumelos comestíveis é considerada pequena quando comparada com outros setores do agronegócio, no entanto há uma forte propensão do mercado contínuo e no crescimento de consumidores que procuram produtos sustentáveis, com apelo nutricional e inseridos em uma economia circular.

Além do papel de apresentar alta importância nutricional, por serem fontes de proteínas de alta qualidade e eficiência, possuem baixo teor de gordura, muitas vitaminas e poucas calorias (ALMEIDA *et al.*, 2018). Os cogumelos comestíveis apresentam também importância ecológica, devido a sua ação de agente na biodegradação de resíduos (SILVA *et al.*, 2017).

De acordo com Martins *et al.* (2018), a ampla gama de substratos em que os cogumelos comestíveis podem ser cultivados é viável na ampliação da fonte de renda de pequenos e grandes produtores de maneira sustentável, isso se torna importante do ponto de vista de crise ambiental e econômica.

O cultivo cogumelo comestível é uma estratégia sustentável que possui vantagens como o uso de resíduos agrícolas, aquisição de níveis altos de produção por área

cultivada, e como alternativa de se utilizar substrato residual como condicionador de solo após a colheita dos cogumelos comestíveis (NIEUWENHUIJZEN, 2006).

Já na esfera do setor agroindustrial, a atividade econômica é responsável por impulsionar o país, entretanto é encarregado pela grande geração de resíduos, provocando diversos problemas ambientais pela ação contaminante desses resíduos para o solo e os corpos hídricos (CORDEIRO *et al.*, 2020).

De acordo com a CONAMA resolução 001 (Brasil, 1986) é considerado impacto ambiental toda alteração ao meio ambiente sendo ela de forma direta ou indiretamente que afetam a saúde, o bem-estar social dos cidadãos, a segurança, a biota do solo, condições estética, atividades sociais e econômicas, e a qualidade dos recursos ambientais.

Uma forma alternativa de dar atenção aos resíduos agroindustriais é o seu reaproveitamento em diferentes processos industriais, como na produção de enzimas, o qual representa uma alternativa interessante alinhada aos princípios de sustentabilidade e inovação industrial, ao transformar resíduos em insumos para a produção de enzimas (ABUD *et al.*, 2015).

1.1 PROBLEMA

A geração excessiva de resíduos da produção agroindustrial tem sido uma preocupação crescente nas últimas décadas por se acumularem no ambiente, fazendo da destinação sustentável uma alternativa crucial. O custo elevado de produção dos cogumelos do tipo shimeji pode envolver questões como a necessidade de buscar alternativas mais eficientes e sustentáveis, visando a redução dos custos e maior acessibilidade aos consumidores.

1.2 HIPÓTESE

A intensificação da produção de cogumelos comestíveis e a destinação a produção de enzimas a partir da reutilização de resíduos agroindustriais, promove a redução do impacto ambiental, agregando valor aos resíduos gerados, e colaborando para a sustentabilidade e a viabilidade econômica.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo geral

Eleger resíduos agroindustriais gerados no Vale do Ivaí para o cultivo de cogumelos comestíveis do gênero *Pleurotus* e avaliar o potencial biotecnológico para produção de enzimas extracelulares.

1.3.2 Objetivos específicos

- Reaproveitar resíduos agroindustriais para a produção de cogumelos comestíveis e de enzimas extracelulares;
- Selecionar melhores substratos para o desenvolvimento de cogumelos shimeji;
- Contribuir com a sustentabilidade, reduzindo impactos ao meio ambiente;
- Selecionar resíduos e cepas de cogumelos shimeji com potencial para a produção de enzimas com aplicações biotecnológicas.

2. DESENVOLVIMENTO

RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DE IVAIPORÃ - PR: POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO PARA A PRODUÇÃO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS E ENZIMAS INDUSTRIAIS

AGROINDUSTRIAL WASTE FROM IVAIPORÃ - PR: BIOTECHNOLOGICAL POTENTIAL FOR THE PRODUCTION OF EDIBLE MUSHROOMS AND INDUSTRIAL ENZYMES

Ingrid Emanuely Bueno Silva¹
Jaqueline da Silva Coelho Moreira²

RESUMO

Os resíduos agroindustriais são fontes importantes de matérias primas com potencial biotecnológico, no cultivo de cogumelos comestíveis e produção de enzimas industriais. A gestão eficiente dos resíduos gerados pela agroindústria reduz impactos ambientais e potencializa desenvolvimento de tecnologias sustentáveis. Os resíduos gerados na produção agroindustrial, que se acumulam no ambiente, tornam-se uma preocupação crescente, a destinação sustentável é uma alternativa crucial para reduzir impactos ambientais e agregar valor econômico. O objetivo deste trabalho foi a) eleger resíduos agroindustriais gerados no Vale do Ivaí para o cultivo de cogumelos comestíveis do gênero *Pleurotus* e b) avaliar o potencial biotecnológico para produção de enzimas extracelulares. Foram feitos testes de crescimento com três cepas de *Pleurotus sp.*, popularmente conhecidas como shimeji preto, shimeji branco e shimeji salmão, empregando-se quatro resíduos agroindustriais. A análise da produção de enzimas celulases, fenoloxidasas e amilases para cada um das cepas de basidiomicetos foi realizada pela técnica *cup plate*, com substratos enzimáticos específicos. A enzima fenoloxidase foi produzida em todos os meios de cultivos e cepas de shimeji. A atividade enzimática de celulase foi identificada apenas nos cultivos com cepas de *shimeji salmão*. Embora não tenha ocorrido a formação de primórdios de frutificação durante a etapa de produção de cogumelos, observou-se o desenvolvimento completo da micelização nos meios de cultivo. Conclui-se que a gestão adequada dos resíduos, aliada ao cultivo de cogumelos comestíveis e a produção de enzimas, apresenta uma alternativa inovadora e sustentável. Contribuindo significativamente para a redução do impacto ambiental e o desenvolvimento de soluções economicamente viáveis.

Palavras-chave: *Pleurotus sp.*; impacto ambiental; sustentável.

ABSTRACT

Agro-industrial residues are important sources of raw materials with biotechnological potential, in the cultivation of edible mushrooms and production of industrial enzymes. The efficient management of waste generated by agroindustry reduces environmental impacts and enhances the

¹ O nome do autor deve ser inserido de forma direta Prenome e Sobrenome. Deve constar o currículo sucinto de cada autor, com vinculação corporativa e endereço de contato em Notas de rodapé

² Idem ao anterior.

development of sustainable technologies. Waste generated in agro-industrial production, which accumulates in the environment, becomes a growing concern; sustainable disposal is a crucial alternative to reduce environmental impacts and add economic value. The objective of this work was a) to select agro-industrial waste generated in the Ivaí Valley for the cultivation of edible mushrooms of the genus *Pleurotus* and b) to evaluate the biotechnological potential for the production of extracellular enzymes. Growth tests were carried out with three strains of *Pleurotus* sp., popularly known as black shimeji, white shimeji and salmon shimeji, using four agro-industrial residues. The analysis of the production of cellulase, phenoloxidase and amylase enzymes for each basidiomycete strain was carried out using the cup plate technique, with specific enzyme substrates. The phenoloxidase enzyme was produced in all culture media and shimeji strains. Cellulase enzymatic activity was identified only in cultures with shimeji salmon strains. Although the formation of fruiting beginnings did not occur during the mushroom production stage, complete development of micellization was observed in the cultivation media. It is concluded that adequate waste management, combined with the cultivation of edible mushrooms and the production of enzymes, presents an innovative and sustainable alternative. Contributing significantly to reducing environmental impact and developing economically viable solutions.

Keywords: *Pleurotus* sp.; environmental impact; sustainable.

1 INTRODUÇÃO

Segundo Bett (2016), os cogumelos que fazem parte do reino Fungi, reproduzindo-se por meio da produção de esporos, os quais germinam e produzem hifas, originando novos organismos. No entanto, a parte “vegetativa” são formada pelo conjunto de hifas, que posteriormente formarão os cogumelos. Desse modo, compreende o reino Fungi, fungos verdadeiros heterotróficos, que não sintetizam seu próprio alimento sendo necessário da absorção de matéria orgânica viva ou morta. Quanto à organização celular, são organismos eucarióticos podendo ser unicelulares (única célula) ou multicelulares (várias células) (FERRIOL, 2023).

Conforme Ferriol (2023), os cogumelos comestíveis são organismos aeróbicos e fazem uso de oxigênio em seu metabolismo, desenvolvendo-se em uma ampla faixa ecológica. Os fatores para o seu desenvolvimento se dá pela presença de luz, água, matéria orgânica, e pH.

A propagação na natureza dos fungos se dá pela produção de esporos e quando se deparam com um ambiente apropriado ramificam-se e colonizam no substrato, a partir de pequenas e finas teias de filamentos, iniciando o corpo vivo do fungo nomeado de micélio (OLIVEIRA, 2022).

Segundo Dos Santos (2016), no Brasil a produção de cogumelos comestíveis é considerada pequena quando comparada com outros setores do agronegócio, no entanto há uma forte propensão do mercado contínuo e no crescimento de consumidores que procuram produtos sustentáveis, com apelo nutricional e inseridos em uma economia circular.

Além do papel de apresentar alta importância nutricional, por serem fontes de proteínas de alta qualidade e eficiência, possuem baixo teor de gordura, muitas vitaminas e poucas calorias (Almeida *et al.*, 2018). Os cogumelos comestíveis apresentam também importância ecológica, devido a sua ação de agente na biodegradação de resíduos (SILVA *et al.*, 2017).

De acordo com Martins *et al.* (2018), a ampla gama de substratos em que os cogumelos comestíveis podem ser cultivados é viável na ampliação da fonte de renda de pequenos e grandes produtores de maneira sustentável, isso se torna importante do ponto de vista de crise ambiental e econômica.

O cultivo cogumelo comestível é uma estratégia sustentável que possui vantagens como o uso de resíduos agrícolas, aquisição de níveis altos de produção por área cultivada, e como alternativa de se utilizar substrato residual como condicionador de solo após a colheita dos cogumelos comestíveis (NIEUWENHUIJZEN, 2006).

Já na esfera do setor agroindustrial, a atividade econômica é responsável por impulsionar o país, entretanto é encarregado pela grande geração de resíduos, provocando diversos problemas ambientais pela ação contaminante desses resíduos para o solo e os corpos hídricos (CORDEIRO *et al.*, 2020).

De acordo com a CONAMA resolução 001 (Brasil, 1986) é considerado impacto ambiental toda alteração ao meio ambiente sendo ela de forma direta ou indiretamente que afetam a saúde, o bem-estar social dos cidadãos, a segurança, a biota do solo, condições estética, atividades sociais e econômicas, e a qualidade dos recursos ambientais.

A geração excessiva de resíduos da produção agroindustrial tem sido uma preocupação crescente nas últimas décadas por se acumularem no ambiente, fazendo da destinação sustentável uma alternativa crucial. O custo elevado de produção dos cogumelos do tipo shimeji pode envolver questões como a necessidade de buscar alternativas mais eficientes e sustentáveis, visando a redução dos custos e maior acessibilidade aos consumidores.

Uma forma alternativa de dar atenção aos resíduos agroindustriais é o seu reaproveitamento em diferentes processos industriais, como na produção de enzimas, o qual representa uma alternativa interessante alinhada aos princípios de sustentabilidade e inovação industrial, ao transformar resíduos em insumos para a produção de enzimas (ABUD *et al.*, 2015).

Por essa razão a intensificação da produção de cogumelos comestíveis e a destinação a produção de enzimas a partir da reutilização de resíduos agroindustriais, promove a redução do impacto ambiental, agregando valor aos resíduos gerados, e colaborando para a sustentabilidade e a viabilidade econômica.

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo eleger resíduos agroindustriais gerados no Vale do Ivaí para o cultivo de cogumelos comestíveis do gênero *Pleurotus* e avaliar o potencial biotecnológico para produção de enzimas extracelulares.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido nas medições do Instituto Federal do Paraná, Campus Ivaiporã, no laboratório de Microbiologia e Fitopatologia, localizada no município de Ivaiporã, estado do Paraná, com latitude de 24°14'52"S, longitude de 51°41'06"W e altitude de 692 m.

As culturas puras de shimeji preto, shimeji branco e shimeji salmão foram adquiridas do estoque de culturas do Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia do IFPR - Campus Ivaiporã.

A escolha dos resíduos foi baseado conforme a disponibilidade e produção da região, sendo adquiridos resíduos de cana-de-açúcar da indústria de cachaça do Lajeado, bagaço de malte da cervejaria Hawp Bier do município de Ivaiporã - PR, casca de maracujá e bagaço de acerola da indústria de polpa Belo Pomar do município de Ivaiporã - PR. Após a coleta dos resíduos, estes foram secos em estufa com temperatura de 70°C até atingirem peso constante. A casca de maracujá houve a necessidade de trituração do resíduo. Após o processo de secagem e de trituração da casca de maracujá, os resíduos foram armazenados em sacos plásticos.

Os substratos para o crescimento das cepas de shimeji foram elaborados a partir de quatro resíduos agroindustriais: cana-de-açúcar, bagaço de malte, casca de maracujá e bagaço de acerola. Os cultivos foram realizados em Erlenmeyers de 250 mL contendo 5 g do resíduo, suplementado com 5% de farelo de trigo (0,25g), 1% de carbonato de cálcio (0,05 g), e 100mL de água destilada. Todos os meios de cultura foram autoclavados a 121°C por 15 minutos. O experimento foi realizado em duplicata.

A inoculação para análise de crescimento fúngico foi realizada em Erlenmeyer, foi inoculado com 2 discos miceliais de, aproximadamente, 17 mm de diâmetro. Os frascos foram incubados em estufa bacteriológica à 28°C±1, no escuro. Após 4 dias, as culturas foram interrompidas pela separação da biomassa micelial do resíduo. Foi realizada a análise da biomassa seca pela secagem dos micélios em estufa à 70°C. Após 24h, as biomassas foram pesadas para a obtenção da biomassa seca, com o objetivo de analisar qual resíduo proporcionou maior desenvolvimento de biomassa. A parte líquida dos cultivos (filtrado bruto) foi filtrada e congelada para posterior análise das enzimas extracelulares produzidas pelos fungos em cada resíduo agroindustrial. No processo de inoculação dos fungos nos respectivos meios foi realizada a higienização de bancadas com álcool 70% e realizado o processo de inoculação atrás do bico de

Bunsen, com auxílio de espátulas autoclavadas. Após a inoculação foram colocados na abertura do Erlenmeyer buchas de algodão para tampar e colocados em estufa bacteriológica à $28 \pm 1^\circ\text{C}$ no escuro por 4 dias.

A técnica para produção de enzimas celulase, fenoloxidase e amilase foi analisada para cada um dos isolados de basidiomicetos pela técnica *cup plate*, que permite a análise simultânea de vários extratos enzimáticos. Para a enzima celulase foi utilizado ágar-CMC (20g/L de ágar; 10 g/L de carboximetil-celulose, tampão acetato pH 5 0,1 M). Para fenoloxidase ágar-ácido gálico (20 g/L de ágar, 10 g/L de ácido gálico autoclavado em tampão separadamente, tampão acetato pH 5 0,1 M). Para amilase ágar-amido (20g/l de ágar; 10 g/l de amido, tampão acetato pH 5 0,1 M). Após a produção dos meios das enzimas foram feitas aberturas de 7 mm de diâmetro, os quais foram perfurados na superfície dos meios de cultura solidificados nas placas de Petri. Volumes de 100 μL de cada extrato enzimático foram colocados nas aberturas. Após a incubação por 24 horas a 30°C , realizou-se a revelação e a medição dos halos de reação das enzimas. Para a revelação da enzima celulase ágar-CMC utilizou solução vermelho congo 0,1% (20 minutos no escuro), depois solução de NaCl 0,5 M (20 minutos). Para identificação da enzima fenoloxidase ágar-ácido gálico não necessitou de revelação, pois a atividade enzimática formou-se um halo amarronzado ao redor do extrato enzimático. Para a descoberta da enzima amilase ágar-amido, foi empregado lugol 0,1% durante 10 minutos. A atividade enzimática foi determinada a partir da média dos diâmetros (mm) dos halos de degradação que se formaram ao redor dos poços.

O preparo do substrato para a produção de cogumelos foi selecionado de acordo com a análise de biomassa seca, para os estudos de produção dos corpos de frutificação. O bagaço de malte seco foi deixado de molho em água destilada, de modo que cobrisse o resíduo, no período de 24h. Após 24h o resíduo foi colocado para escorrer por cerca de mais 24h. O resíduo úmido foi adicionado de 5% de farelo de trigo e 1% de carbonato de cálcio. A mistura (318 g) foi colocada em sacos de polipropileno, os quais foram autoclavados 60 minutos a 121°C .

Para a produção do Spawn foi utilizado uma proporção de 1/2:1 de grão de trigo e água destilada (CARVALHO *et al.*, 2021). Trezentos gramas de grãos de trigo foram cozidos em 600mL de água destilada por 30 minutos, após cozido os grãos foram passado em uma peneira de modo que retirasse o excesso de água. Em seguida, foi pesado 300g de grãos cozidos e acondicionado em frasco de vidro com, buchas de algodão e gaze, e colocados na autoclave a 121°C por 15 minutos. Quatro discos miceliais de cultura crescida em meio BDA foram inoculados nos grãos de trigo cozidos e autoclavados. A incubação foi feita em estufa bacteriológica à $28 \pm 1^\circ\text{C}$ no escuro até a completa colonização.

No processo de inoculação, incubação e frutificação os sacos com os substratos foram inoculados com 10% de "spawn" e incubados em estufa bacteriológica controlada para temperatura de 24°C, e mantido o teor de umidade em 65-75 % com mensuração feita com um termo higrômetro digital com sensor externo e, sempre que verificada abaixo de 65 %, água era borrifada no interior da estufa, a fim de se alcançar umidade de 75 % (Figura 1).

Figura 1. Processo de incubação shimeji salmão.



Fonte: As autoras (2024)

A incubação foi encerrada quando o micélio alcançou o fundo de cada saco. Neste momento, o saco foi retirado da câmara. Para a frutificação, cada saco recebeu pequenas perfurações para que houvesse a entrada de ar e umidade, o que estimula a formação de corpos de frutificação. Os cultivos de Shimeji preto foram submetidos à luz natural e artificial, temperatura ambiente e umidade relativa do ar em torno de 80% com a utilização de um umidificador de ar portátil próximo aos sacos (Figura 2).

Figura 2. Processo de frutificação shimeji preto



Fonte: As autoras (2024)

Para a frutificação do Shimeji salmão, os cultivos foram realizados em caixas de plástico vedadas com capa de voal para impedir a entrada de insetos e garantir a proteção do cultivo, foram submetidos a luz natural e artificial, temperatura ambiente e umidade relativa em torno de 80% com borrição de água diretamente nos sacos para a formação dos corpos de frutificação (Figura 3)

Figura 3. Processo de frutificação shimeji salmão.



Fonte: As autoras (2024)

Para o teste de umidade foi colocado 4g do resíduo de bagaço de malte em estufa à 105 °C overnight por 24h em placa de Petri. Após 24h pesou o resíduo que corresponde à diferença de

massa verificada antes e depois da secagem (IAL, 2008). No teste de pH 10g do substrato foi misturado a 100 mL de água destilada, a qual foi agitada, filtrada e medido o pH com o uso de pHmetro de bancada.

Na análise estatística, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (One-Way ANOVA) e as médias alcançadas foram comparadas por meio do teste Tukey a nível de significância de 5 %.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise de biomassa seca quatro meios de cultivos foram avaliados para duas cepas de *Pleurotus*, verificando-se crescimento fúngico em todos os meios de cultivo testados (Figura 4).

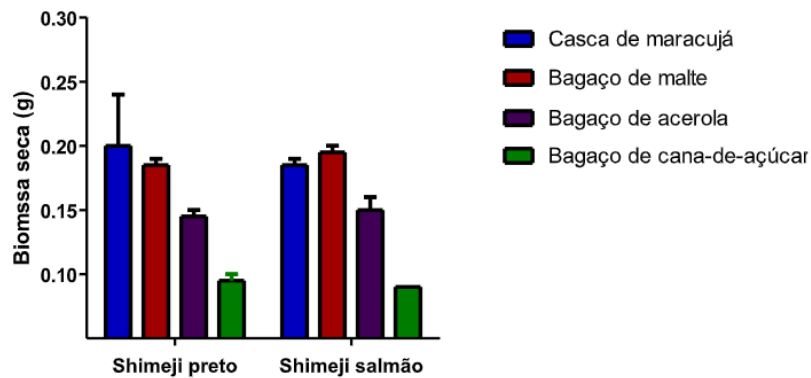
As espécies de shimeji (salmão e preto) apresentaram melhor desenvolvimento micelial em meios à base de bagaço de malte e casca de maracujá, enquanto que os meios compostos por pergaminho de café, bem como por bagaço de cana-de-açúcar, promoveram um menor desenvolvimento micelial dessas duas cepas de cogumelos.

Donini *et al.*, (2005) observou em seu experimento que o meio à base de bagaço de cana-de-açúcar em *Pleurotus spp.* apresentou médias inferiores durante a incubação. No presente trabalho a média da biomassa seca utilizando esse resíduo não ultrapassou de 0,10g, enquanto que o bagaço de malte se destacou como resíduo para o crescimento de shimeji salmão, com biomassa média seca de 0,20g.

No entretanto estudos realizados por Fan *et al.*, (2001) relatou em seu experimento que a suplementação de farelo de trigo melhora o crescimento micelial de *Pleurotus*. O presente trabalho buscou utilizar a suplementação no meio de cultivo para melhores índices de biomassa seca.

Silva *et al.*, (2004) realizaram um experimento no qual identificaram que resíduos de frutas, como a casca de maracujá, pode ser utilizado como substrato para o cultivo do fungo *Pleurotus sajor-caju*, os resultados demonstraram que a casca de maracujá como substrato para meio de cultivo proporcionou bom desenvolvimento de biomassa micelial.

Figura 4. Produção de biomassa seca em diferentes resíduos agroindustriais e cepas de shimeji preto e salmão.



Fonte: As autoras (2024)

Com a técnica *cup plate*, foi possível fazer análise de cada um dos isolados de basidiomicetos (shimeji preto e salmão). Para as enzimas fenoloxidasas, houve atividade enzimática em todos os meios de cultivo e cepas de shimeji testados, atingindo o máximo de 1,8 cm de halo (Figura 2).

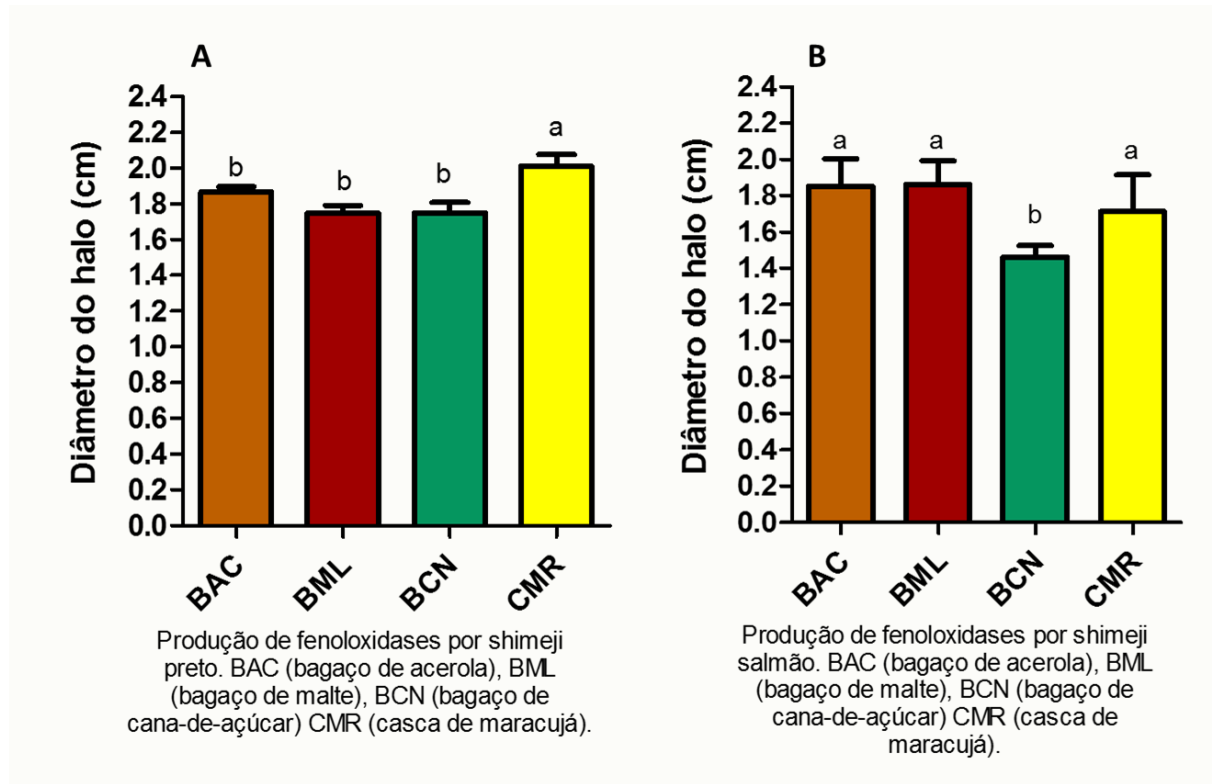
Moreira *et al.*, (2022) obtiveram resultados de atividade de fenoloxidase com isolados de basidiomicetos, dentre eles shimeji salmão, o qual foi o grande produtor dessa enzima.

A casca de maracujá apresentou-se significativamente melhor para a produção de fenoloxidasas por shimeji preto (Figura 5A), enquanto que, para shimeji salmão, os melhores resíduos foram a bagaço de acerola, o bagaço de malte e a casca de maracujá (Figura 5B). O bagaço de cana-de-açúcar foi o resíduo que promoveu a menor produção de enzimas fenoloxidasas por ambas as cepas de shimeji. Segundo experimentos realizados por Silva (2015), a casca de maracujá é considerada um bom substrato para a produção de enzimas fenoloxidase e celulase.

A pesquisa de enzimas lignocelulolíticas em bagaço de cana-de-açúcar realizada por Menezes *et al.*, (2009), relatou a presença da enzima lacase (um tipo de enzima fenoloxidase), produzida pela linhagens de *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju*. No estudo conduzido por Menezes *et al.*, (2009) os fungos foram cultivados em meio de cultivo BDA, o qual foi utilizado de forma semelhante no experimento em análise, no entanto com algumas diferenças metodológicas. Menezes *et al.*, (2009) realizou processo de fermentação semelhante em Erlenmeyer, porém utilizando 30ml de meio basal e 1% do substrato da cana-de-açúcar, diferente do experimento em análise que não se fez o uso do meio basal. Essa abordagem pode ter proporcionado um ambiente

mais propício para o crescimento e atividade dos fungos, resultando em desempenhos mais promissores.

Figura 5. Produção de enzimas fenoloxidasas por shimeji preto e salmão em resíduos agroindustriais.



Fonte: As autoras (2024)

A atividade de celulases foi identificada apenas nos cultivos com cepas de shimeji salmão (Figura 6). A casca de maracujá, bagaço de acerola e bagaço de malte foram os melhores substratos para a produção dessa enzima. A casca de maracujá foi o substrato que atingiu o maior halo (1,6 cm de diâmetro), enquanto o resíduo da cana-de-açúcar promoveu a menor produção de celulase. Conforme Mota et al., (2022) a casca de maracujá é composta por celulose, hemicelulose, lignina e pectina.

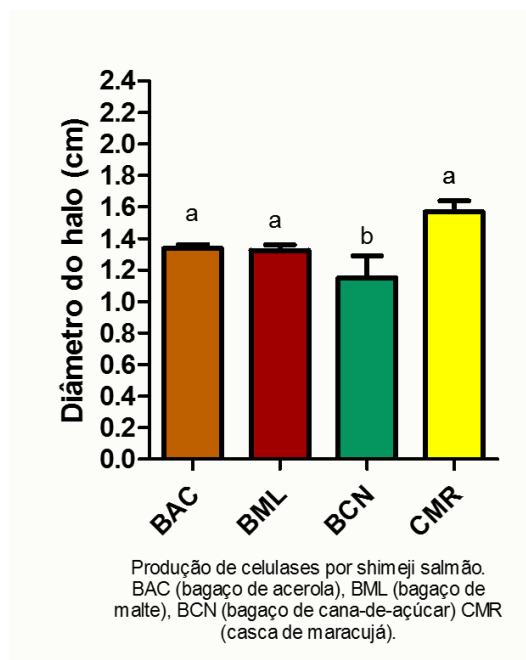
Rajarithanm e Bano (1987), identificaram em seu experimento que *Pleurotus* spp., apresentavam dificuldades em se desenvolver bem em bagaço de cana-de-açúcar e em obter enzimas sobre o meio, justificando esse fato a incapacidade metabólica do fungo para utilizar o açúcar sacarose.

Conforme Premkumar et al. (2018), a atividade enzimática é promovida ou inibida em razão da composição físico-química dos substrato, o mesmo autor observou em seu experimento que a

maior produção de celulase por *Pleurotus* sp. é induzida em substratos com maiores índices de lignina. Esse fato pode ser evidenciado com substratos provenientes da casca de maracujá, bagaço de acerola e bagaço de malte, os quais sustentaram uma maior produção das enzimas, além de um melhor desenvolvimento micelial.

Valadares (2013) observou que a espécie *Pleurotus ostreatus* apresenta capacidade de crescimento em diversos materiais lignocelulósicos e potencial para a produção de enzimas celulase, sendo assim a produção de enzimas é amplamente influenciada pelo tipo de substrato utilizado.

Figura 6. Produção de celulase por shimeji salmão em resíduos agroindustriais.



Fonte: As autoras (2024)

As enzimas fenoxidase são amplamente utilizadas na indústria devido à sua versatilidade, sendo empregadas em processos como a descoloração de corantes sintéticos, decomposição de compostos fenólicos indesejáveis em bebidas e tratamento de efluentes industriais (RIGO *et al.*, 2021). As enzimas celulase produzidas pelas cepas de shimeji salmão são valiosas para a indústria têxtil e de papel, pois possuem a capacidade de hidrolisar materiais celulósicos (SOUZA, 2020).

É importante destacar que nenhuma das cepas testadas produziu amilases nas condições avaliadas.

No processo de produção de cogumelos o tempo necessário para a completa colonização do substrato a base de bagaço de malte variou entre as duas cepas testadas. Enquanto o shimeji preto

foi capaz de colonizar completamente o substrato dentro de 22 dias, shimeji salmão foi mais eficiente nesse processo, colonizando totalmente o substrato dentro de 14 dias de incubação.

O meio de cultivo para o processo de incubação e frutificação apresentou valores iniciais de pH de 6,18. Estudos realizados por Chang e Miles (2004), sugerem que o pH ideal para o crescimento micelial de cogumelos do gênero *Pleurotus*, popularmente conhecidos como cogumelos-ostra, varia entre 5,5 e 6,5.

Além disso, a umidade inicial do substrato correspondeu a 63%, um aspecto crucial no cultivo de cogumelo conforme destacado por (OLIVEIRA, 2018). Os valores iniciais de umidade do resíduo são fatores críticos no cultivo de cogumelos (OLIVEIRA, 2018). Dessa forma, os resultados obtidos evidenciaram a adequação do substrato utilizado para o desenvolvimento do fungo.

Contudo, nenhuma das duas cepas testadas suportou a formação de primórdios e nem a produção de corpo de frutificação em meio a base de bagaço de malte. Na etapa de frutificação, os sacos colonizados foram colocados em sala de frutificação, à temperatura ambiente e umidade relativa do ar em torno de 80-90%.

Para o shimeji salmão, a umidade relativa do ar foi controlada borrifando água nos sacos colonizados com o micélio, bem como na caixa plástica, ficando em torno de 80 - 90%.

A frutificação dos cogumelos é diretamente influenciada pelas condições de temperatura e umidade, os quais se estiverem fora das necessidades específicas da espécie, a produção pode ser seriamente prejudicada (CAMARA, 2014).

Rossi (2020) observou em seu experimento que fatores de umidade adequada são essenciais. A umidade inadequada em seu experimento devido a falhas no sensor de umidade, resultou na evaporação da água dos substratos durante o período de frutificação. Esse cenário desfavorável pela falta de umidade adequada impactou negativamente no crescimento dos cogumelos, resultando em um cenário semelhante ao estudo realizado.

No processo de frutificação os corpos de frutificação são sensíveis e é necessário um controle rígido dos fatores ambientais e químicos para que ocorra a frutificação. Nesse estudo, embora a umidade tenha sido controlada de duas formas, com umidificador e com água borrifada, a temperatura ficou a cargo do ambiente, podendo ter sido alta demais para as duas cepas, uma vez que os experimentos de frutificação foram realizados na época da primavera e do verão. Tendo em vista que, uma frutificação sem controle de temperatura poderia ajudar a minimizar os custos de produção, entende-se que esse tipo de experimento para as cepas de shimeji salmão e shimeji preto deve ser realizado em épocas de temperaturas mais amenas, como no outono e no inverno. Resultados semelhantes foram descritos por Regina *et al.* (2012) o qual, observou que a linhagem

Pleurotus ostreatus não frutificou sem condições controladas, simulando às de muitos produtores de cogumelos.

Segundo Felinto (1999) a cor do chapéu difere a temperatura para cada uma das espécies, assim como no processo de incubação e frutificação. Na Indução de corpos de frutificação de *Pleurotus ostreatus* (coloração cinza, puxado para o preto) a temperatura ideal varia de 15 a 18°C, o que foi impossível chegar a estas temperaturas no decorrer do processo do experimento para o shimeji preto, visto que o experimento foi desenvolvido no verão, cujas temperaturas foram altas, sendo inviável financeiramente o uso do ar condicionado.

Ainda segundo Felinto (1999), para *Pleurotus Djamor* (coloração salmão) frutificam a temperaturas mais elevadas em comparação ao *Pleurotus ostreatus*, sendo entre 22 e 25°C, o qual a temperatura deste trabalho para o shimeji salmão foi mantida em média de 25°C, sendo a temperatura proposta por outros autores.

Outro fator que influencia a frutificação é a relação C/N do substrato, a razão C/N é um fator importante para avaliar a disponibilidade de nutriente para os fungos. Estudos realizados por Gregori *et al.*, (2008) avaliaram a relação de carbono e nitrogênio em substratos com diferentes proporções de bagaço de malte no cultivo de *Pleurotus ostreatus*. O teor de carbono e nitrogênio em bagaço de malte em farelo de trigo e serragem de faia foram determinados após combustão a seco e incineração a 900°C, e para cada tipo de mistura a razão C/N foi calculada. No estudo conduzido por Gregori *et al.*, (2008) a maior eficiência biológica (BE) dos corpos frutíferos foi determinada no substrato contendo 20% de farelo de trigo, 10% bagaço de malte, 2% CaCO₃ fator que pode estar relacionado à maior disponibilidade de nutriente e ao equilíbrio C/N adequado. No estudo não foram obtidos corpos de frutificação em substratos com proporções baixas de bagaço de malte e farelo de trigo.

Em experimentos futuros, a razão C/N deve ser avaliada em diferentes proporções para determinar a mais adequada para o cultivo de *Pleurotus ostreatus* em substratos de bagaço de malte. A razão C/N é um parâmetro fundamental para garantir que o substrato tenha uma composição química adequada para o cultivo de cogumelos comestíveis.

4 CONCLUSÃO

A gestão eficiente dos resíduos agrícolas é fundamental para minimizar o impacto ambiental e garantir a sustentabilidade do setor agrícola, a fim de reduzir os impactos causados por seus descartes inadequados. A gestão adequada desses resíduos pode contribuir significativamente para o tratamento e a disposição final de forma responsável e ambientalmente correta.

Portanto no cultivo de cogumelo shimeji é essencial garantir o funcionamento adequado dos sistemas de controle ambiental, como umidificadores e sistemas de temperatura, para manter as condições ideais durante todo o cultivo de cogumelos. Falhas nesses sistemas podem comprometer seriamente a produtividade e a qualidade dos cogumelos produzidos.

Dessa forma, os resíduos agroindustriais de Ivaiporã - PR apresentam potencial biotecnológico para a produção de enzimas industriais como a fenoloxidase e a celulase ambas com enorme potencial de uso em diversos processos industriais. No entanto, para a produção de cogumelos é necessário um controle rígido dos fatores ambientais, como fatores de temperaturas e umidade para que ocorra a frutificação, desse modo são considerados organismos bastante sensíveis.

REFERÊNCIAS

- ABUD A. K. S et al. Uso do resíduo de laranja lima e da casca de coco verde na produção de enzimas. **Scientia Plena**, [S.L.], v. 11, n. 10, p. 1-8, 9 out. 2015.
- ALMEIDA, A. C. P. S.; SILVA, L. M. De M. M.; NETO, J. S. B.; CELESTINO, E. G.; SILVA, J. M.; SILVA, C. S.; NASCIMENTO, M. S.; CRISTO, C. C. N.; SANTOS, T. M. C.; Cultivo axênico de cogumelos comestíveis em resíduos agroindustriais. **Revista Craibeiras de Agroecologia**, Rio Largo, v. 3, n. 1, p. e 6651, dezembro de 2018.
- BETT, Celso Ferraz. **CULTIVO ARTESANAL DO COGUMELO SHIITAKE: UMA POTENCIAL ATIVIDADE PARA AGROECOSSISTEMAS SUSTENTÁVEIS**. 2016. 75 f. Tese (Mestrado) - Curso de Desenvolvimento Regional Sustentável, Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Pato Branco, Pato Branco, 2016.
- BRASIL, **Conselho Nacional do Meio Ambiente**. 1986. Resolução n. 001, de 23 de jan. de 1986. Dispõe sobre critérios básicos e diretrizes gerais para o Relatório de Impacto Ambiental – RIMA. Brasília, DF. Disponível em: <<http://www2.mma.gov.br/port/conama/res/res86/res0186.h>>. Acesso em: 21 fev. 2024.
- CARVALHO, Pedro Ítalo Alves de; SALES, Maria Rebeca Brandão; ARAGÃO NETO, Jaime Conrado; FERREIRA, Francisco Valdicélio. Resíduos agroindustriais como substrato para cultivo indoor de cogumelos comestíveis da espécie *Pleurotus ostreatus*. **Journal Of Biotechnology And Biodiversity**, [S.L.], v. 9, n. 4, p. 330-339, 15 nov. 2021.
- CAMARA, Marcela Candido. **Cultivo do cogumelo comestível pleurotus djamor em diferentes misturas de caroço de algodão e bagaço de cevada**. 2014.
- CORDEIRO, Noëlle Khristinne et al. Gestão de resíduos agrícolas como forma de redução dos impactos ambientais. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 14, n. 2, p. 23-34, 2020.
- CHANG, S. T.; MILES, G. **Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact**. 2a Ed., Boca Raton: CRC press, 2004, 480 p.
- DONINI, L. P. et al. Desenvolvimento in vitro de *Pleurotus* spp. sob a influência de diferentes substratos e dextrose. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 3, p. 331-338, 2005.
- DOS SANTOS, Jéssica Santana. **CULTIVO DO COGUMELO COMESTÍVEL PLEUROTUS OSTREATUS EM RESÍDUO DE SYAGRUS CORONATA (LICURI)**. **Anais dos Seminários de Iniciação Científica**. Santana-Ba: Universidade Estadual de Feira de Santana, 2016. 20 p.
- FAN, Leifa; SOCCOL, Carlos Ricardo. Detoxificação da casa de café utilizando fungo comestível do gênero *Pleurotus*. **Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**. Brasília: Embrapa Café, 2001.
- FELINTO, Alex Salvany. **Cultivo de cogumelos comestíveis do gênero *Pleurotus* spp em resíduos agroindustriais**. 1999. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- Ferriol Molina, M. (2023). **Aspectos ecológicos de los hongos verdaderos (reino Fungi)**. Universitat Politècnica de València. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10251/193791>>. Acesso em 03 de maio de 2024.

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

IAL. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análises de alimentos. 4 edição, 1020 páginas, 2008.

MARTINS, Olívia Gomes et al. Sobra de alimentos como alternativa para a formulação de novos substratos para o cultivo de *Pleurotus ostreatus* (Basidiomycota, Fungi). **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 11, n. 2, p. 505-518, 2018.

MAZIERO, Rosana. **Substratos alternativos para o cultivo de pleurotus spp.** 1990. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 1990.

MENEZES, Cristiano Ragagnin; SILVA, Isis Serrano; DURRANT, Lucia Regina. Bagaço de cana: fonte para produção de enzimas lignocelulolíticas. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 5, p. 68-78, 2009.

MOREIRA, Jaqueline da Silva Coelho et al. Isolamento e seleção de basidiomicetos comerciais e selvagens produtores de amilases e fenoloxidasas. **Open science research**, v. 3, p. 576-585, 2022.

MOTA, Adnaildo Miranda *et al.* Enriquecimento de Pectina através da técnica squeeze-flow empregando a concha da *Lucina Pectinata* como fonte de carbonato de cálcio. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 8, n. 2, p. 13693-01 e, 2022.

NIEUWENHUIJZEN, Bram van; OEI, Peter. **O cultivo de cogumelos em pequena escala.** [S.l.]: Agro dok, 2006. 90 p.

OLIVEIRA, Aline Pereira de. **AVALIAÇÃO DO ENRIQUECIMENTO DE COGUMELOS COM SELÊNIO E EFEITOS ANTAGÔNICOS COM ELEMENTOS TÓXICOS.** 172 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência e Tecnologia da Sustentabilidade, Universidade Federal de São Paulo Campus Diadema, Diadema, 2022.

OLIVEIRA, Caio Cardoso. **Produção de cogumelos comestíveis utilizando resíduos agroindustriais.** 2018. 38 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul., Porto Alegre, 2018.

PREMKUMAR, G.; MUTHURAMKUMAR, S.; Kannan, M.; VARATHARAJU, G.; RAJARATHINAM, K. Cellulase and Xylanase production by *Pleurotus sp.* on mixed substrate system. **J Biotechnol Biomater**, v. 8, n. 2, p. 1-4, 2018.

RAJARATHNAM, S.; BANO, Zakia; MILES, Philip G. *Pleurotus* mushrooms. Part I A. morphology, life cycle, taxonomy, breeding, and cultivation. **Critical Reviews in Food Science & Nutrition**, v. 26, n. 2, p. 157-223, 1987.

REGINA, M.; PACCOLA-MEIRELLES, L. D.; BARBOSA, A. de M.; AMADOR, I. R.; ANDRADE-NOBREGA, G. M.; MASCHIARE, D. C. Sabugo de milho e carvão ativado na produção de Lacase e Basidiomas de *Pleurotus sp.* **Semina: Ciências Agrárias, [S. l.]**, v. 33, n. 1, p. 39–48, 2012. DOI: 10.5433/1679-0359.2012v33n1p39. Disponível em: <https://ojs.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/5437>. Acesso em: 2 maio. 2024.

RIGO, Diane et al. Produção microbiológica de enzimas: Uma revisão. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 9232-9254, 2021.

ROSSI, D. M.; OLIVEIRA, C. C. Cultivo de Pleurotus Ostreatus Utilizando Bagaço de Malte, Serragem e Casca De Arroz. **Departamento de Engenharia Química–Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 7º Simpósio de Segurança Alimentar**, 2020.

SILVA, V. V.; CAMPANHA, F. G.; PERALTA, R. M. Otimização do crescimento micelial do cogumelo comestível Pleurotus sajor-caju utilizando resíduos de frutas como substrato. In: **CONGRESSO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE CASCAVEL E**. 2004. p. 124.

SILVA, Sarah Raquel Silveira da et al. **Melhoramento da produção de enzimas lignocelulolíticas a partir de resíduos agrícolas da Amazônia**. 2015. Disponível em: <http://177.66.14.82/handle/riuea/2396>. Acesso em: 20 fev. 2024.

SOUZA, Joyce Faria de. **Desenvolvimento de bioprocessos para produção e aplicação de enzimas, extração de amido e produção de leveduras fibrolíticas a partir de resíduos agroindustriais**. 2020. 99 f. Dissertação (Doutorado) - Curso de Microbiologia Aplicada, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Rio Claro, 2020.

VALADARES, Fernanda de Lima. **Produção e uso de enzimas derivadas do fungo Pleurotus ostreatus na hidrólise de bagaço de cana pré-tratado por processo químico termomecânico**. 2013. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.