



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CAMPUS II – AREIA-PB  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE AGRONOMIA**

**ROBSON EDUARDO PEREIRA MONTEIRO**

**FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO DA BORRA DE CAFÉ PARA O CULTIVO  
DE SHIMEJI-PRETO (*Pleurotus ostreatus* Jacq.)**

**AREIA**

**2022**

**ROBSON EDUARDO PEREIRA MONTEIRO**

**FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO DA BORRA DE CAFÉ PARA O CULTIVO  
DE SHIMEJI-PRETO (*Pleurotus ostreatus* Jacq.)**

Trabalho de graduação apresentado à  
Coordenação do Curso de Agronomia, do Centro de  
Ciências Agrárias, da Universidade Federal da  
Paraíba, em cumprimento às exigências para  
obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

**Orientador:** Prof. Dr. Bruno de Oliveira Dias

**Coorientador:** MSc. Jhonatan Rafael Zárate Salazar

**AREIA**

**2022**

**Catálogo na publicação**  
**Seção de Catalogação e Classificação**

M775f Monteiro, Robson Eduardo Pereira.

Fermentação em estado sólido da borra de café para o cultivo de shimeji-preto (*Pleurotus ostreatus* Jacq.) / Robson Eduardo Pereira Monteiro. - Areia:UFPB/CCA, 2022.

49 f. : il.

Orientação: Bruno de Oliveira Dias.

Coorientação: Jhonatan Rafael Zárate-Salazar.

TCC (Graduação) - UFPB/CCA.

1. Agronomia. 2. Bioconversão ecológica. 3. Fungicultura. 4. Resíduo agrônomo. I. Dias, Bruno de Oliveira. II. Zárate-Salazar, Jhonatan Rafael. III. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 631/635(02)

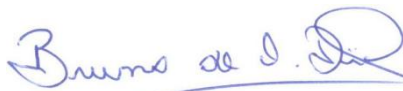
**ROBSON EDUARDO PEREIRA MONTEIRO**

**FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO DA BORRA DE CAFÉ PARA O CULTIVO  
DE SHIMEJI-PRETO (*Pleurotus ostreatus* Jacq.)**

Trabalho de graduação apresentado à  
Coordenação do Curso de Agronomia, do Centro de  
Ciências Agrárias, da Universidade Federal da  
Paraíba, em cumprimento às exigências para  
obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Aprovado em: 04/03/2022.

**BANCA EXAMINADORA**



---

Prof. Dr. Bruno de Oliveira Dias (Orientador)

Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



---

MSc. Hilderlande Florêncio da Silva (Examinadora)

Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



---

Prof. Dra. Meire Cristina Nogueira de Andrade (Examinadora)

Universidade Estadual Paulista (UNESP)

*Ao Autor e consumidor da minha fé, o meu Deus,*

*A minha querida esposa Gabriela Monteiro, a qual tem me apoiado e sido meu braço forte,*

*A minha amada mãe, Maria Martins e todos meus seis irmãos por todo amor, carinho e apoio  
nos momentos difíceis de minha vida,*

**DEDICO!**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente ao Autor de minha vida, sem o qual eu não vivo, o meu Deus e meu Salvador. Toda honra e glória sejam dadas ao Senhor Jesus, o qual sempre esteve presente em minha vida, nos momentos mais difíceis, me concedendo graça, amor e compreensão. Graças ao Senhor que me chamou das trevas para a Sua maravilhosa luz, por Seu amor e misericórdia.

Sou privilegiado por ter minha família, meus parentes e amigos, os quais estiveram comigo nessa caminhada e que sem eles, nada disso seria possível.

A minha amada mãe, Maria Martins, pela educação que me deu, onde mesmo com várias dificuldades, sempre me apoiou e nunca deixou de acreditar em mim. Aos meus queridos irmãos: Romário Martins, Rosely Martins, Rosivânia Martins, Randerson Queiroz, Rafael Silva e Iasmin Silva, bem como aos meus sobrinhos Davi Martins, Alícia Martins e Isabela Martins, sou muito grato pela existência de vocês e pelo privilégio de fazer parte desta família que amo incondicionalmente.

A minha querida esposa, Gabriela Monteiro, por todo carinho, amor, cuidado e compreensão, por cuidar tão bem de mim e acreditar em meu potencial, gracias mi amor por existir. Também sou grato a minha querida my Rose por todo amor, carinho e por estar comigo nos momentos mais difíceis que já passei. Ao meu sogro irmão Zeca, minhas cunhadas Monique Barbosa e Sabrina Barbosa, e a minha sobrinha Marjorye Barbosa, pelos momentos de alegria e descontração.

Ao meu tio Sebastião Barbosa e primo Osvaldo Silva, pessoas que admiro e tenho como exemplo, que me orientaram e apoiaram desde o início desta jornada, a participação de vocês foi primordial para chegar onde cheguei, bem como meus colegas: Wandson Guedes, Wagner Silva, Gilmária Marinho, Daniele Moura, Eulina Dias e Lorrana Silva por todo o incentivo de me dedicar aos estudos.

Aos amigos que a universidade me proporcionou, por todo apoio, companheirismo e momentos de alegria ao longo desta trajetória. Tenho plena convicção que foi o Senhor que preparou esta turma 2016.2 “a mais unida do CCA”. Tenho grande carinho por vocês, as minhas irmãs, Anne Alícia, Amanda Candido, Aysla Silva, Jaqueline Gomes, Laura Toledo, Jéssica Nóbrega, Kagianny Meirele, Kayonara Maurício e Maria Eduarda, e aos meus irmãos Antônio Fernando, Aurélio Marinho, Edmilson Neves, Erasmo Neto, Guilherme Holanda, João Paulo, Jordy Souza, José Ilário, Raiff Almeida, Vaneilson Araújo e Vinicius Sena, sempre foram animados, inteligentes e prestativos.

A todos os colegas e amigos que fiz durante meu percurso pelo CCA, em especial a Mateus Henrique, Williams Xavier, Elisandra Sousa, Bruno Martins, Victor Silva, Hilderlande Silva, Edicarlos Silva, Mirelly Porcino, Petrus Santana, Vinicius, Otalício, os quais estiveram comigo compartilhando sonhos, sorrisos, abraços, carinho e amor. Sou grato pela vida de vocês.

A todos os membros da Aliança Bíblica Universitária (ABU), a família que Deus preparou para me acolher desde o início de minha jornada.

A Universidade Federal da Paraíba (UFPB), pelo acolhimento e oportunidade oferecida, bem como à CAPES e ao CNPq, pelo apoio financeiro e auxílios estudantis concedidos que me ajudaram de grande forma na conclusão deste curso de graduação.

Ao querido Rafael Zárate, meu grande amigo que Deus me presenteou, respostas de oração, o qual tem me apoiado e sempre acredita em mim, sou grato a Deus por sua vida. Como sempre digo, você é um exemplo, lhe admiro por sua ética, boa vontade, disponibilidade, conhecimentos transmitidos e grande orientação.

Ao Grupo de Pesquisa & Produção de Cogumelos Comestíveis (GPEC) e, novamente, ao Rafael Zárate pelo convite e a confiança em fazer parte deste grandioso grupo. Sou grato por todo acolhimento, ajuda, desenvolvimento de trabalhos, momentos de descontração e alegrias. Agradeço a todos que fazem o GPEC, em especial, ao prof. Bruno Dias, profa. Vânia Fraga, Háimyk Souza e Sabrina Silva. Vocês foram essenciais na minha trajetória.

A todos os professores que tive a honra de conhecer e participar de suas disciplinas, em especial ao professor Leonaldo Andrade, que me apoiou, orientou e acreditou em mim desde meu primeiro período de curso. Aos professores, Leonardo Félix, Bruno Dias, Luciana Cordeiro e Loise Costa, pelo acolhimento e apoio durante minhas atividades desenvolvidas na graduação, com certeza foram fundamentais para meu crescimento acadêmico e profissional. Muito obrigado por todo ensinamento, paciência, apoio e orientação.

Aos meus coorientadores de iniciação científica que contribuíram no meu desenvolvimento, Edjane Lucena, Angeline Santos e Lourivaldo Silva, sou imensamente grato por tudo que fizeram por mim.

As convidadas da banca Msc. Hilderlande Silva e Profa. Dra. Meire Andrade, grandes profissionais que tem meu respeito, grato por todo auxílio, disposição e conhecimento.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para realização deste sonho, sempre me apoiando e acreditando em meu potencial. Deus abençoe e retribua a cada um de vocês.

Muito obrigado!

## RESUMO

A fermentação em estado sólido é um tipo de fermentação natural onde os microrganismos se desenvolvem com pouca quantidade de água livre em substratos lignocelulósicos, como o bagaço de cana e a borra de café, proporcionando diversos produtos de alto valor nutritivo e medicinal, se tornando em uma técnica promissora para o cultivo de cogumelos comestíveis no aproveitamento de resíduos vegetais e/ou urbanos. Assim, objetivou-se avaliar os parâmetros produtivos do cultivo de cogumelos (*Pleurotus ostreatus* Jacq.) via fermentação em estado sólido da borra de café com bagaço de cana em diferentes proporções. O experimento foi conduzido sob um DIC de 5 tratamentos que consistiram em diferentes formulações de borra de café com bagaço de cana nas porcentagens de 0%, 25%, 50%, 75% e 100% de borra de café (% v/v) com 5 repetições, totalizando 25 unidades experimentais (pacotes de cultivo). As formulações de cada tratamento foram suplementadas com 5% de farelo de trigo e 10% de serragem em base seca (% m/m), misturadas com água até atingir 68% de umidade, ensacadas em sacolas de polipropileno 20 cm × 30 cm × 0,08 mm e esterilizados em autoclave a 121°C a 101,32 kPa por uma hora, sendo em seguida inoculados a uma taxa de 5% de inóculo de *P. ostreatus* (cepa PO/A02) por substrato úmido. As sacolas com os substratos inoculados foram incubadas em escuridão total a  $22,64 \pm 2,02$  °C e  $88,22 \pm 5,99$  % UR durante 26 dias. A seguir, foram induzidas com cortes superficiais de 3 cm em ambiente protegido para indução-frutificação onde permaneceram durante aproximadamente 100 dias a  $23,37 \pm 3,07$  °C e  $89,25 \pm 4,23$  % UR. O experimento finalizou quando se completaram 3 fluxos produtivos (colheitas). As variáveis analisadas foram crescimento micelial (mm dia<sup>-1</sup>), eficiência biológica (%), taxa de produção (% dia<sup>-1</sup>), período produtivo (dias) precocidade (dias) e perda de matéria orgânica (%). Complementarmente, foram analisados os substratos pós-cultivo (SMS) em pH, condutividade elétrica (dS m<sup>-1</sup>), densidade (g cm<sup>-3</sup>), carbono orgânico total (mg g<sup>-1</sup>), matéria seca (%) e cinzas (%). Os resultados foram submetidos a ANOVA e teste de Tukey a 5% de significância ( $P < 0,05$ ). Observamos que quanto maiores as proporções de borra de café, menor foi o crescimento micelial e que ao acrescentar a borra de café nos tratamentos, houve um aumento em quase 40% da eficiência biológica, em comparação ao tratamento controle (0% borra de café ou 100% bagaço de cana). O período produtivo foi afetado pela adição da borra de café, no entanto, junto com a eficiência biológica proporcionou um equilíbrio na taxa de produção, não apresentando diferença entre os tratamentos, de igual modo para a precocidade e perda de matéria orgânica. O SMS de borra de café apresentou-se como um substrato ácido (pH  $\geq 4$ ), de baixa densidade ( $< 1$  g cm<sup>-3</sup>) e baixa condutividade elétrica ( $< 1$  dS m<sup>-1</sup>) o qual lhe proporciona uma relativa aptidão para uso agrônomo no solo. Concluímos que a fermentação em estado sólido da borra de café viabiliza o cultivo de cogumelos aumenta a eficiência biológica, e gera um substrato pós-cultivo com potencial agrícola tornando útil à sua reciclagem.

**Palavras-chave:** bioconversão ecológica; fungicultura; resíduo agrônomo.



## ABSTRACT

Solid-state fermentation is the type of natural fermentation where microorganisms develop with a small amount of cellulosic water in substrate, providing several products from sugarcane bagasse and coffee grounds, providing several products of high value in a food and medicinal, transform into a promising technical substrate for the cultivation of edible mushrooms in the use of vegetable and/or urban waste. Thus, we aimed at the production parameters of mushroom cultivation of coffee grounds and sugarcane bagasse in the percentages of 0%, 25%, 50%, 75% and 100% of coffee grounds (% v/v) with 5 replications, totaling 25 experimental units (bags). The treatments were supplemented with 5% wheat bran and 10% sawdust on a dry basis (% m/m), mixed with distilled water until reaching 68% moisture, bagged in a polypropylene bag 20 cm × 30 cm × 0.08 mm and sterilized in an autoclave at 121°C at 101.32 kPa for an hour, then inoculated at a rate of 5% *P. ostreatus* spawn (strain PO/A02) of moisture substrate mass. The bags with the inoculated substrates were incubated in total darkness at  $22.64 \pm 2.02$  °C and  $88.22 \pm 5.99$  % RH for 26 days. Then, they were induced with cuts. The experiment ended when 3 productive flows (harvests) were completed. The variables were mycelial growth (mm day<sup>-1</sup>), biological efficiency (%), production rate (% day<sup>-1</sup>), productive period (days), earliness (days) and organic matter loss (%). In addition, spent mushroom substrates (SMS) were analyzed in terms of pH, electrical conductivity (dS m<sup>-1</sup>), density (g cm<sup>-3</sup>), total organic carbon (mg g<sup>-1</sup>), dry matter (%) and ash (%). Results were provided by ANOVA and Tukey's test at 5% significance ( $P < 0.05$ ). We observed that the higher the proportions of coffee grounds, the lower mycelial growth and that adding a coffee ground to the treatments, there was an increase of almost 40% in biological efficiency, with respect to the coffee treatment or 100% sugarcane bagasse). The productive period was affected by the addition of coffee grounds, however, together with the biological efficiency, it provided a balance in the production rate, showing no difference between treatments, as well as for earliness and loss of organic matter. The coffee grounds SMS presented itself as an acidic substrate (pH ≥ 4), of low density (<1 g cm<sup>-3</sup>) and low electrical conductivity (<1 dS m<sup>-1</sup>) which gives it a relative agronomic aptitude. We conclude that the solid-state fermentation of coffee grounds allows the cultivation of mushrooms, increases the biological efficiency, and generates a spent mushroom substrate with agricultural potential use, making it useful for its recycling.

**Keywords:** ecological biotransformation; fungiculture; agronomic wastes.

## LISTA DE FIGURA

|                                                                                                                                                                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.</b> Ciclo produtivo de cogumelos da espécie <i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.).....                                                                                                                                | 16 |
| <b>Figura 2.</b> Morfologia do basidiocarpo de <i>P. ostreatus</i> . ....                                                                                                                                                       | 17 |
| <b>Figura 3.</b> Borra de café após extração aquosa do café.. ....                                                                                                                                                              | 18 |
| <b>Figura 4.</b> Inóculo secundário da cepa PO/A02 de <i>P. ostreatus</i> após duas semanas de incubação. ....                                                                                                                  | 22 |
| <b>Figura 5.</b> Preparação dos substratos nos pacotes de cultivo. ....                                                                                                                                                         | 23 |
| <b>Figura 6.</b> Inoculação do substrato no pacote de cultivo. ....                                                                                                                                                             | 24 |
| <b>Figura 7.</b> Colonização do substrato pela cepa PO/A02 de <i>P. ostreatus</i> . ....                                                                                                                                        | 25 |
| <b>Figura 8.</b> Pacote de cultivo da cepa PO/A02 de <i>P. ostreatus</i> induzido após 20 dias de inoculação. ....                                                                                                              | 25 |
| <b>Figura 9.</b> Colheita de cogumelos após 50 dias de indução para o tratamento com 25% de borra de café (% v/v). ....                                                                                                         | 26 |
| <b>Figura 10.</b> Crescimento micelial em substrato da cepa PO/A02 de <i>P. ostreatus</i> , cultivado em diferentes proporções de borra de café com bagaço de cana (% v/v) em um período de 130 dias. ....                      | 31 |
| <b>Figura 11.</b> Crescimento micelial em substrato da cepa PO/A02 de <i>P. ostreatus</i> em cada tratamento após 10 dias de incubação. ....                                                                                    | 32 |
| <b>Figura 12.</b> Eficiência biológica da cepa PO/A02 de <i>P. ostreatus</i> cultivado em diferentes proporções de borra de café com bagaço de cana (% v/v) em um período de 130 dias. ....                                     | 33 |
| <b>Figura 13.</b> Taxa de produção da cepa PO/A02 de <i>P. ostreatus</i> cultivado em diferentes proporções de borra de café com bagaço de cana (% v/v) em um período de 130 dias. ....                                         | 35 |
| <b>Figura 14.</b> Período produtivo da cepa PO/A02 de <i>P. ostreatus</i> cultivado em diferentes proporções de borra de café com bagaço de cana (% v/v) em um período de 130 dias. ....                                        | 36 |
| <b>Figura 15.</b> Eficiência biológica comparada com o período produtivo da cepa PO/A02 de <i>P. ostreatus</i> , cultivado em diferentes proporções de borra de café com bagaço de cana (% v/v) em um período de 130 dias. .... | 37 |
| <b>Figura 16.</b> Precocidade da cepa PO/A02 de <i>P. ostreatus</i> , cultivado em diferentes proporções de borra de café com bagaço de cana (% v/v) em um período de 130 dias. ....                                            | 38 |
| <b>Figura 17.</b> Perda de matéria orgânica da cepa PO/A02 de <i>P. ostreatus</i> , cultivado em diferentes proporções de borra de café .....                                                                                   | 39 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1.</b> Composição química da borra de café.....                                                                                                                                                                        | 18 |
| <b>Tabela 2.</b> Características produtivas da cepa PO/A02 de <i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.) cultivado em restolho de milho e palha de arroz sem suplementos. ....                                                           | 21 |
| <b>Tabela 3.</b> Características químicas dos substratos <i>in natura</i> utilizados nas formulações para o cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i> . ....                                                                         | 23 |
| <b>Tabela 4.</b> Massa seca das formulações utilizadas em cada unidade experimental (pacote de cultivo) por tratamento no cultivo de <i>P. ostreatus</i> em diferentes proporções de borra de café e bagaço de cana (% v/v)..... | 27 |
| <b>Tabela 5.</b> Características químicas das formulações para o cultivo de <i>P. ostreatus</i> utilizadas nos tratamentos com diferentes proporções de borra de café com bagaço de cana (% v/v). ..                             | 27 |
| <b>Tabela 6.</b> Protocolo para análise da composição química dos substratos lignocelulósicos <i>in natura</i> e SMS de <i>P. ostreatus</i> .....                                                                                | 29 |
| <b>Tabela 7.</b> Características químicas dos substratos pós-cultivo da cepa PO/A02 de <i>P. ostreatus</i> em diferentes proporções de borra de café com bagaço de cana (% v/v) após 130 dias de cultivo. ....                   | 40 |

## SUMÁRIO

|                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. INTRODUÇÃO.....                                                              | 11 |
| 2. OBJETIVOS.....                                                               | 13 |
| 2.1. Objetivo geral .....                                                       | 13 |
| 2.2. Objetivos específicos.....                                                 | 13 |
| 3. REVISÃO DE LITERATURA .....                                                  | 14 |
| 3.1. Fermentação em estado sólido (FES) e as suas aplicações .....              | 14 |
| 3.2. Cultivo de cogumelos comestíveis .....                                     | 15 |
| 3.3. <i>Pleurotus ostreatus</i> Jacq.....                                       | 16 |
| 3.4. Aproveitamento da borra de café.....                                       | 17 |
| 3.5. Cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i> em borra de café .....               | 19 |
| 4. METODOLOGIA .....                                                            | 21 |
| 4.1. Área de estudo .....                                                       | 21 |
| 4.2. Material biológico .....                                                   | 21 |
| 4.3. Preparação de inóculos .....                                               | 21 |
| 4.4. Cultivo de cogumelos .....                                                 | 22 |
| 4.5. Delineamento experimental.....                                             | 26 |
| 4.6. Variáveis analisadas .....                                                 | 28 |
| 4.7. Análises dos substratos pós-cultivo de cogumelos (SMS) .....               | 29 |
| 4.8. Análise estatística .....                                                  | 30 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....                                                 | 31 |
| 5.1. Crescimento micelial .....                                                 | 31 |
| 5.2. Eficiência biológica .....                                                 | 33 |
| 5.3. Taxa de produção.....                                                      | 34 |
| 5.4. Período produtivo .....                                                    | 36 |
| 5.5. Precocidade .....                                                          | 37 |
| 5.6. Perda de matéria orgânica.....                                             | 38 |
| 5.7. Avaliação do substrato pós-cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i> Jacq..... | 40 |
| 6. CONCLUSÕES.....                                                              | 43 |
| REFERÊNCIAS .....                                                               | 44 |

## 1. INTRODUÇÃO

A fermentação em estado sólido (FES) é um tipo de fermentação natural onde os microrganismos desenvolvem-se em materiais sólidos com pouca quantidade de água livre (NUNES et al., 2013; FONSECA, 2013). A FES como uma biotecnologia promissora tem despertado interesse nas agroindústrias que promove a destinação adequada de resíduos lignocelulósicos e proporciona valor agregado, como enzimas, exemplo da Tanase (EC 3.1.1.20), bastante útil na produção de antioxidantes, e as celulasas (EC 3.2.1.4.) como uma alternativa para a produção de biocombustível (TEIXEIRA et al., 2019).

Além de ser uma alternativa na produção de fitohormônio (SILVA, 2019), ácidos orgânicos (WOICIECHOWSKI et al., 2013), enriquecedor proteico de resíduos agrícolas para alimentação animal, detoxificador de resíduos sólidos, a FES também pode ser empregada no cultivo de cogumelos comestíveis, o qual tem a capacidade de biotransformar tais resíduos em um alimento de alto valor nutritivo com diversas propriedades nutracêuticas (BOSSA et al., 2019; PIMENTA et al., 2021).

O cultivo de cogumelos comestíveis se trata de um sistema de bioconversão ecológica, uma vez que determinados fungos transformam resíduos agrícolas e vegetais em um alimento altamente nutritivo, sendo rico em proteínas, fibras, vitaminas, minerais, além de possuírem baixos teores de lipídios (ALBERTÓ, 2008). No Brasil, o cultivo tem sido fortalecido por influência asiática, principalmente na região sul do país, com predominância das espécies do gênero *Lentinula*, *Pleurotus*, *Auricularia* e *Agaricus* (DIAS, 2010; MARTOS; HECK, 2021).

Por ser um fungo saprófito de decomposição primária, *P. ostreatus* encontra-se presente na natureza crescendo em restos vegetais, como troncos ou dejetos agrícolas, constituídos principalmente por celulose, hemicelulose e lignina, com destaque por sua capacidade de degradar seletivamente a lignina, sacarificar e hidrolisar a celulose e produzir corpos frutíferos, os cogumelos (SÁNCHEZ; ROYSE, 2017).

Segundo Estrada e Pechia (2017), o sistema de produção de cogumelos comestíveis da espécie *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) é dividida em duas etapas: a *in vitro* e a produtiva, onde a etapa *in vitro* está relacionada a propagação do micélio do fungo em placa Petri e preparação dos inóculos. Já na etapa produtiva, refere-se às fases de inoculação, incubação, indução-frutificação e colheita.

Dentre os resíduos agroindustriais, *P. ostreatus* é cultivado em uma gama de substratos lignocelulósicos, como folhas de bananeira (CARVALHO, 2014), palha de trigo, palha de feijão e palha de sorgo (FIGUEIRÓ, 2011), bagaço de cana (SOUZA, 2016), casca de coco (MARINO, 2008), restolho de milho e palha de arroz (ZÁRATE-SALAZAR, 2020), bem como em resíduos de café, como folhas, cascas e borra (SOCCOL, 2002).

A borra de café, é um resíduo orgânico final da cadeia produtiva do café, a qual é um resíduo sólido urbano, obtida após a extração aquosa do café (MATA et al., 2018) e possui inúmeras propriedades, que pode ser utilizada em diferentes bioprocessos, como na aplicação em ração animal, produção de fármacos, cosméticos, além de substrato fermentativo na produção de enzimas utilizadas na indústria alimentícia (WOICIECHOWSKI et al., 2013), ácidos orgânicos, cultivo de cogumelos e leveduras (SOCCOL, 2002; CALGAROTO, 2019).

No cultivo de cogumelos, Murthy e Naidu (2012), utilizando casca de café, café moído e uma mistura de substratos de café, verificaram eficiência biológica de 85,5, 86,6 e 78,4%, respectivamente. Já Carrasco-Cabrera et al. (2019), ao utilizar a borra de café no cultivo de *P. ostreatus*, descreveram a degradação da cafeína pelo fungo em diversos metabolitos secundário que podem ser menos prejudiciais ao meio ambiente.

Desta forma, a borra de café pode ser utilizada, via fermentação em estado sólido, no cultivo de cogumelos comestíveis disponibilizando um alimento nutritivo assim como um substrato pós-cultivo com aptidão agronômica (MATA; MARTINS; CAETANO, 2018).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

- Avaliar os parâmetros produtivos do cultivo de cogumelos *Pleurotus ostreatus* Jacq. via fermentação em estado sólido (FES) da borra de café com bagaço de cana em diferentes proporções (% v/v).

### **2.2. Objetivos específicos**

- Determinar se as diferentes proporções de borra de café influenciam na eficiência biológica, taxa de produção e precocidade no cultivo de cogumelos;
- Quantificar a perda de matéria orgânica da borra de café provocada por *Pleurotus ostreatus* ao final do período produtivo;
- Caracterizar os substratos pós-cultivo de cogumelos para verificar a sua aptidão agrônoma.

### **3. REVISÃO DE LITERATURA**

#### **3.1. Fermentação em estado sólido (FES) e as suas aplicações**

A fermentação em estado sólido (FES), também conhecida como fermentação semissólida ou sólida, se refere a um tipo de fermentação natural, onde os microrganismos desenvolvem-se sobre ou dentro de materiais sólidos, com ausência ou quase ausência de água livre, diferente da fermentação submersa, a qual ocorre com a presença de água livre (FONSECA, 2013).

Este tipo de fermentação tem por finalidade a simulação do meio de ocorrência natural dos fungos, possibilitando maior sucesso na produção de extratos enzimáticos de interesse industrial, bem como menor vulnerabilidade a inibições, além de serem produzidos menores volumes de efluentes, sendo um dos mais adequados para a utilização de resíduos agroindustriais, os quais servem como fontes de carbono e energia (RODRIGUEZ-ZÚÑIGA, 2010; ARRUDA, 2019).

Frente ao aumento no índice de crescimento populacional e, conseqüentemente, o aumento na demanda por alimento, se tem a geração de enormes quantidades de resíduos, sendo estes advindos do setor agropecuário, em maior parte das colheitas, agroindústrias, bem como da pecuária, onde por sua vez, ao serem mal gerenciados podem causar sérios danos ao meio ambiente, como a poluição do solo e das águas (COSTA FILHO et al., 2017).

Neste sentido, a FES se destaca como uma biotecnologia promissora que tem despertado interesse das agroindústrias, por estar relacionada ao reaproveitamento dos resíduos lignocelulósicos que, além de promover uma destinação adequada, proporciona valor agregado (BOSSA et al., 2019; ALVES et al., 2019), além de proporcionar diversos produtos, como: enzimas, álcoois, óleos essenciais, enriquecimento proteico de resíduos agrícolas para a alimentação animal e podendo ainda ser empregado em uma cadeia de produção de cogumelos comestíveis, sendo uma alternativa de trabalho e renda (TAVARES, 2015).

A FES permite a simulação do meio de ocorrência natural dos microrganismos como os fungos, apresenta diversas aplicações, na obtenção de enzimas de interesse industrial, no caso da tanase (EC 3.1.1.20), que possui sua aplicação na produção de antioxidantes, (TEIXEIRA et al., 2019), lacases (EC 1. 10. 3. 2.), utilizada na indústria papeleira e até em nanotecnologia (PAREDES-JUÁREZ et al., 2017) e as celulasas (EC 3.2.1.4.), as quais tem a



capacidade de hidrolisar a molécula da celulose, sendo uma alternativa para a produção de biocombustível (CARVALHO et al., 2018; PINHEIRO; AMBROZIM; OLIVEIRA, 2019)

A FES também é utilizada para a produção de fitohormônios, como o caso do ácido giberélico (GA3), bastante utilizado no meio agrícola, podendo alterar a dormência de sementes e até mesmo induzir a floração (SILVA, 2019). Com uso para diversos fins, a FES tem grande importância econômica na produção de ácidos orgânicos (ácido acético, cítrico, láctico, entre outros), aromas, pigmentos e diversas outras substâncias com as mais variadas funções, como espessantes, conservantes, antimicrobianos, etc. (WOICIECHOWSKI et al., 2013).

Diversos trabalhos que relatam a utilização da FES em processos biotecnológicos, ademais dos já mencionados, vale ressaltar sua aplicação no processamento de alimentos como na panificação, sucos e queijos, com grande representatividade no comércio de enzimas, além de ser um processo essencial para o cultivo de cogumelos comestíveis, os quais possuem grande representatividade no mercado mundial (BARBOSA et al., 2020; PIMENTA et al., 2021).

### **3.2. Cultivo de cogumelos comestíveis**

O cultivo de cogumelos comestíveis trata-se de um sistema de bioconversão ecológica, o que o homem considera como resíduo vegetal agrícola, os fungos o transformam em um alimento altamente nutritivo, rico em proteínas, fibras, vitaminas, minerais e baixos teores de lipídios (ALBERTÓ, 2008).

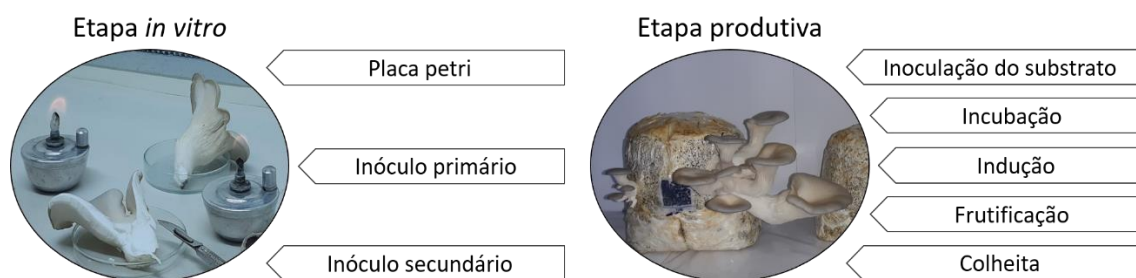
De acordo com a ASD Reports (2022), o mercado mundial de cogumelos atingiu um valor de US\$ 58,8 bilhões em 2021, com projeções para um aumento de 6,5% até 2027. No Brasil, o cultivo tem sido fortalecido por influência asiática, principalmente na região sul do país, com predominância das espécies do gênero *Lentinula*, *Pleurotus*, *Auricularia* e *Agaricus* (DIAS, 2010; MARTOS; HECK, 2021).

O sistema de produção de cogumelos comestíveis, em geral, contempla duas etapas (Figura 1), a etapa *in vitro* e a etapa produtiva (ESTRADA; PECCHIA, 2017):

- Etapa *in vitro*, está relacionada a propagação do micélio do fungo em placa Petri com um meio nutritivo, até a sua máxima colonização, para posteriormente

propagação em sementes (*Spawn*), que é denominado inóculo (micélio crescido em grãos);

- Etapa produtiva, consiste na transferência do inóculo para o substrato lignocelulósico previamente escolhido e esterilizado (fase de inoculação). Posteriormente, o substrato inoculado é armazenado em sacolas de polipropileno e incubadas (fase de incubação) com temperatura entre 25-29°C e umidade relativa de 78-86%, em média por duas semanas. A fase de indução-frutificação (19-25°C e 83-92% UR) é marcada pela indução do cogumelo, ou seja, saída dos primórdios e finalizando com a colheita.



**Figura 1.** Ciclo produtivo de cogumelos da espécie *Pleurotus ostreatus* (Jacq.). Adaptado de Zárate-Salazar et al. (2020), por Monteiro, R.E.P.

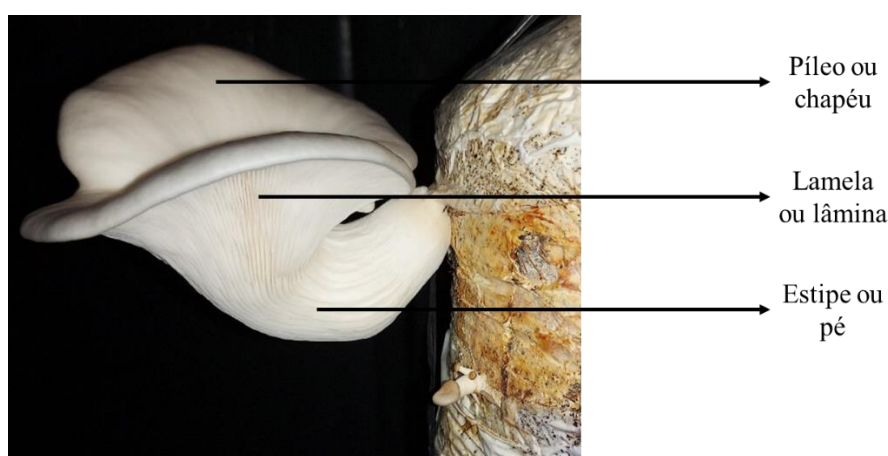
### 3.3. *Pleurotus ostreatus* Jacq.

Dentre quase 50 espécies válidas taxonomicamente para o gênero *Pleurotus*, pelo menos 12 têm sido comercializadas, com destaque para as de maior importância comercial, como: *P. pulmonarius*, *P. eryngii*, *P. djamor* e, o mais conhecido, *P. ostreatus*, o qual é denominado popularmente como cogumelo ostra (SÁNCHEZ; ROYSE, 2017). A biodiversidade dessas espécies em cores como, cinza, marrom, amarelo e rosa responde à temperatura, quantidade de luz fornecida durante o seu desenvolvimento, bem como na linhagem dos seus cogumelos (AGUIAR, 2016).

Por ser um fungo saprófito de decomposição primária, ou seja, obtêm os seus nutrientes a partir da decomposição de material vegetal nativo, *P. ostreatus* (Figura 2) encontra-se presente na natureza crescendo em restos vegetais, como troncos ou dejetos agrícolas, constituídos principalmente por celulose, hemicelulose e lignina, com destaque por sua capacidade de degradar seletivamente a lignina (SÁNCHEZ; ROYSE, 2017). Está

incluído na divisão Basidiomycota, subdivisão Basidiomycotina, classe Basidiomycete, Subclasse Agaricomycetidae, ordem Agaricales, Família Pleurotaceae, Gênero *Pleurotus* (GARCÍA et al., 2012).

*P. ostreatus* é caracterizado por apresentar píleo em forma de ostra, de coloração muito variável, o qual varia desde cinza claro até café acinzentado escuro. O tamanho do chapéu é determinado pelo tempo de crescimento do cogumelo, entre 3 a 5 dias após a aparição dos primórdios, a variação de coloração se dá pela soma de fatores genéticos e métodos de cultivo (VIEIRA, 2016).



**Figura 2.** Morfologia do basidiocarpo de *P. ostreatus*. Fonte: Monteiro, R.E.P./GPEC (2021).

### 3.4. Aproveitamento da borra de café

O café tem grande representatividade em nosso país, possuindo centenas de milhões de consumidores, se enquadrando como um dos principais mercados mundiais de produtos agrícolas, junto com a cana-de-açúcar, trigo, carne bovina e algodão (SOCCOL, 2002). Segundo dados publicados pela CONAB (2021), o Brasil é o maior produtor mundial, com uma produção total com mais de 63 milhões de sacas de 60 kg na safra de 2020, apresentando um aumento de 27,9% em relação à safra de 2019.

Junto a esta enorme produção, se tem grandes quantidades de resíduos, onde a quantidade gerada em cada safra, é igual à produção de café em grãos, alguns exemplos são: palhas, cascas, polpa (BRISSAC et al., 2018), com grande destaque para a borra de café (Figura 3), que é um resíduo sólido orgânico urbano, o qual seria o subproduto final da cadeia produtiva do café, obtida após a extração aquosa do café.



**Figura 3.** Borra de café após extração aquosa do café. Fonte: Monteiro, R.E.P./GPEC (2021).

A composição química da borra de café pode variar com relação ao determinado tipo de café utilizado, bem como das condições de torrefação e tipo de preparo, também com a influência da localização onde as plantas estão inseridas, clima e condições do solo (VAZ, 2019). A Tabela 1 resume a composição química da borra de café.

**Tabela 1.** Composição química da borra de café.

| Parâmetros       |                     | Valor         |
|------------------|---------------------|---------------|
| Umidade          | %                   | 1,18 - 65,7   |
| Nitrogênio total | %                   | 1,90 - 2,30   |
| Carbono total    | %                   | 47,80 - 69,50 |
| Polifenóis       | %                   | 0,50 - 2,50   |
| Taninos          | %                   | 0,02 - 0,12   |
| Cafeína          | %                   | 0,02 - 0,45   |
| Lignina          | %                   | 32,50 - 33,60 |
| Celulose         | mg kg <sup>-1</sup> | 8,50 - 15,30  |
| Hemicelulose     | mg kg <sup>-1</sup> | 31,70 - 41,70 |
| Proteína         | mg kg <sup>-1</sup> | 6,70 - 23,70  |
| Lipídios         | mg kg <sup>-1</sup> | 5,00 - 20,00  |

Adaptado de MATA et al. (2018), por Monteiro, R.E.P. (2021).

A borra de café possui diferentes propriedades e potenciais aplicações, algumas delas com alto valor de mercado e com uma infinidade de compostos de elevadas concentrações de carboidratos, lipídios, nitrogênio não proteico, carbono, além de açúcares e ácidos graxos, como o ácido linoleico e o palmítico (KARMEE, 2018; MATA; MARTINS; CAETANO, 2018).

A borra de café é considerada um importante resíduo, devido ao seu alto volume gerado que, quando mal gerenciada, constitui-se uma fonte de contaminação severa, representando um sério problema ambiental, uma vez que os subprodutos gerados possuem altas concentrações de componentes ecotóxicos, como a cafeína, polifenóis e taninos (TAGLIARI, 2003; CARDOSO, 2013).

Embora com a presença de tais componentes ecotóxicos, este resíduo, possui diferentes biomoléculas e compostos específicos, como carboidratos, proteínas, açúcares, gorduras e pectinas, que podem ser utilizados em diferentes bioprocessos, como na aplicação em ração animal, produção de fármacos, cosméticos, além de substrato fermentativo na produção de enzimas comumente utilizadas na indústria alimentícia (WOICIECHOWSKI et al., 2013), ácidos orgânicos, aromas, cultivo de fungos e leveduras (SOCCOL, 2002; CALGAROTO, 2019).

### **3.5. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* em borra de café**

As mais variadas propriedades nutricionais, organolépticas e terapêuticas dos cogumelos, bem como seu potencial na bioconversão de substratos lignocelulósicos, tem aberto caminho para o aprimoramento de seu cultivo no mundo. Como a exemplo através da reutilização de resíduos de café, que tem já tem sido pesquisada no cultivo de cogumelos, com a utilização da casca de café, café moído e uma mistura de substratos de café sob diferentes condições de umidade e taxa de inoculação, atingiram eficiências biológicas de 85,8; 86,6 e 78,4%, respectivamente, mostrando-se um substrato promissor (MURTHY; NAIDU, 2012).

Segundo Fan e Soccol (2001), estudando a produção de cogumelos comestíveis do tipo *Pleurotus*, *Lentinula* e *Flammulina* em casca e borra de café, observaram que relacionado a cepa de *Pleurotus* utilizada, a borra de café demonstrou ser excelente substrato, chegando a produzir três fluxos de colheitas durante 60 dias de cultivo, alcançando mais de 90% de eficiência biológica, onde também foi visível sua influência nas espécies de *Lentinula* e *Flammulina*, com eficiência biológica de 88,7 e 78%, respectivamente.

Nos estudos desenvolvidos por Carrasco-Cabrera et al. (2019), relacionados ao metabolismo da cafeína durante o cultivo do cogumelo ostra com borra de café, verificaram que os maiores níveis de borra de café, atrasaram o crescimento micelial, atrasaram ou impediram a frutificação durante o cultivo comercial. No entanto, apesar de tal inibição, foi

observado que *P. ostreatus* foi capaz de degradar a cafeína, desintoxicando os resíduos da produção de café.

Desta forma, como alternativa viável, a borra de café pode ser utilizada como um substrato promissor para a fermentação em estado sólido, com viés no cultivo de cogumelos comestíveis, de alto valor comercial e nutricional, pois pode aumentar a disponibilidade de nutrientes importantes como o carbono além de micronutrientes (MATA; MARTINS; CAETANO, 2018).

## 4. METODOLOGIA

### 4.1. Área de estudo

O experimento foi desenvolvido no Módulo de Produção de Cogumelos Comestíveis do GPEC (Grupo de Pesquisa & Produção de Cogumelos Comestíveis) no Departamento de Solos e Engenharia Rural, no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, na cidade de Areia-PB, sob coordenadas geográficas 6°58'22.80" de latitude sul e 35°42'52.26" de longitude oeste e altitude de 618 m.

### 4.2. Material biológico

A cepa utilizada foi a linhagem PO/A02 (Tabela 2) da espécie *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) da *Universidad Nacional Agraria La Molina* – Peru, caracterizada por ZÁRATE-SALAZAR et al. (2020), a qual foi propagada e conservada pelo Grupo de Pesquisa & Produção de Cogumelos Comestíveis (GPEC) da UFPB, Campus II..

**Tabela 2.** Características produtivas da cepa PO/A02 de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) cultivado em restolho de milho e palha de arroz sem suplementos.

| Variáveis                                                 | Média ± SE (n = 8) |
|-----------------------------------------------------------|--------------------|
| Crescimento micelial em substrato (cm dia <sup>-1</sup> ) | 1,22 ± 0,03        |
| Eficiência biológica (%)                                  | 75,66 ± 4,04       |
| Taxa de produção (%)                                      | 1,68 ± 0,15        |
| Precocidade (dias)                                        | 10,79 ± 0,53       |
| Perda de matéria orgânica (%)                             | 36,47 ± 0,99       |

Adaptado de Zárate-Salazar et al. (2020), por Monteiro, R.E.P. (2021).

### 4.3. Preparação de inóculos

A preparação do inóculo primário (“Spawn” ou “semente”), consistiu no cozimento de grãos de alpinista (*Phalaris canariensis* L.), durante 15 minutos, onde se obteve o ponto ideal desejado (maciez do grão antes de exposição do amido) que, após esfriarem em condições ambientais sobre papel, os grãos foram misturados com 3 g kg<sup>-1</sup> de calcário e 13 g kg<sup>-1</sup> de gesso agrícola por grão cozido, respectivamente. A mistura foi esterilizada em autoclave a 121° C e 101,32 kPa por 30 minutos, finalizando com a inoculação placa-grão com cortes de 1 cm<sup>2</sup> no meio de cultura da placa Petri contendo o micélio de *P. ostreatus* em câmara de fluxo laminar do laboratório de Fitopatologia. Posteriormente, foram identificadas e incubadas no

escuro por duas semanas na área de incubação no módulo do GPEC em temperatura ambiente,  $22,65 \pm 2,12$  °C.

Após as duas semanas de incubação do inóculo primário (Figura 4), procedeu-se com a preparação do inóculo secundário, seguindo os mesmos procedimentos já descritos para o inóculo primário. Esta etapa consistiu da multiplicação em relação 10:1 ao inóculo primário, a fim de se obter uma maior quantidade de inóculo para a inoculação do substrato.



**Figura 4.** Inóculo secundário da cepa PO/A02 de *Pleurotus ostreatus* após duas semanas de incubação. Fonte: Monteiro, R.E.P./GPEC (2021).

#### 4.4. Cultivo de cogumelos

O sistema de produção consistiu na preparação do substrato, inoculação, incubação, indução-frutificação e colheita.

##### A. Preparação dos substratos

Os substratos utilizados foram a borra de café, provenientes do restaurante universitário do Centro de Ciências Agrárias – UFPB e de residências assim como dos restaurantes da cidade de Areia-PB; o bagaço da cana de açúcar, adquirido em um engenho da cidade de Areia-PB. A serragem e farelo de trigo, utilizadas como suplementos, foram conseguidos em uma marcenaria local e em uma casa de rações para animais, respectivamente. Todos os substratos foram secos, triturados, peneirados em malha com abertura de 2,79 mm e analisados quimicamente (Tabela 3).



**Tabela 3.** Características químicas dos substratos *in natura* utilizados nas formulações para o cultivo de *Pleurotus ostreatus*.

| Variáveis/Substrato             | Bagaço de cana | Borra de café  | Serragem      | Farelo de trigo |
|---------------------------------|----------------|----------------|---------------|-----------------|
| pH (20:1)                       | 5,11 ± 0,02    | 4,92 ± 0,05    | 5,13 ± 0,01   | 5,80 ± 0,01     |
| CE (dS m <sup>-1</sup> ) (20:1) | 0,68 ± 0,01    | 0,61 ± 0,01    | 0,33 ± 0,02   | 1,50 ± 0,02     |
| $\rho$ (g cm <sup>-3</sup> )    | 0,12 ± 0,00    | 0,42 ± 0,00    | 0,35 ± 0,00   | 0,47 ± 0,00     |
| COT (mg kg <sup>-1</sup> )      | 449,48 ± 33,30 | 462,95 ± 30,47 | 466,56 ± 4,99 | 434,88 ± 2,88   |
| MS (%)                          | 79,40 ± 15,84  | 95,46 ± 0,20   | 85,37 ± 0,04  | 93,34 ± 0,11    |
| Cinzas (%)                      | 1,48 ± 0,06    | 1,40 ± 0,10    | 5,77 ± 0,05   | 1,36 ± 0,08     |

<sup>1</sup> Valores calculados de acordo com a porcentagem da borra de café (% v/v) complementado com bagaço de cana para um volume de 1400 cm<sup>3</sup> para garantir as mesmas condições ambientais de desenvolvimento do fungo. pH: Potencial hidrogeniônico; CE: Condutividade elétrica;  $\rho$ : Densidade; COT: Carbono orgânico total; MO: Matéria orgânica. Análises realizadas no Laboratório de Matéria Orgânica da UFPB no período de 2021.2 e 2022.1 por Robson E. P. Monteiro e J. Rafael Zárate-Salazar.

Os substratos em diferentes porcentagens de borra de café e bagaço de cana (ver item 4.5 Delineamento experimental) foram misturados, umedecidos (Figura 5 A) a 68% com água destilada e deixados em descanso por 24 horas. Posteriormente, foram ensacados (Figura 5 B) em sacos de polipropileno com dimensões de 20 cm × 30 cm × 0,08 mm a um volume de 1400 cm<sup>3</sup>, realizada a pesagem de cada sacola (entende-se como “pacote”) e colocado no interior copos de vidro com dimensões 7 cm × 4,5 cm × 3,5 cm. Logo, no Laboratório de Biotecnologia de Solo e Água do Departamento de Solos e Engenharia Rural foi realizada a esterilização em autoclave (Figura 5 C) a uma temperatura de 121°C a 101,32 kPa por uma hora. Os pacotes foram identificados e vedados com algodão a fim de facilitar as trocas gasosas.



**Figura 5.** Preparação dos substratos nos pacotes de cultivo. A) Umedecimento; B) Ensacamento; C) Esterilização. Fonte: Monteiro, R.E.P./GPEC (2021).

#### B. Inoculação

Os pacotes de cultivo com os substratos esterilizados foram inoculados em câmara de fluxo laminar no laboratório de Microbiologia do Solo do Departamento de Solos e Engenharia Rural (DSER/CCA/UFPB) (Figura 6). O procedimento consistiu na retirada do

copo do substrato, ficando uma cavidade a qual foi colocado o inóculo previamente calculado a uma taxa de inoculação de 5% em relação à massa úmida de cada repetição. Após colocar o inóculo, o pacote foi vedado com algodão e elástico, com as devidas identificações.

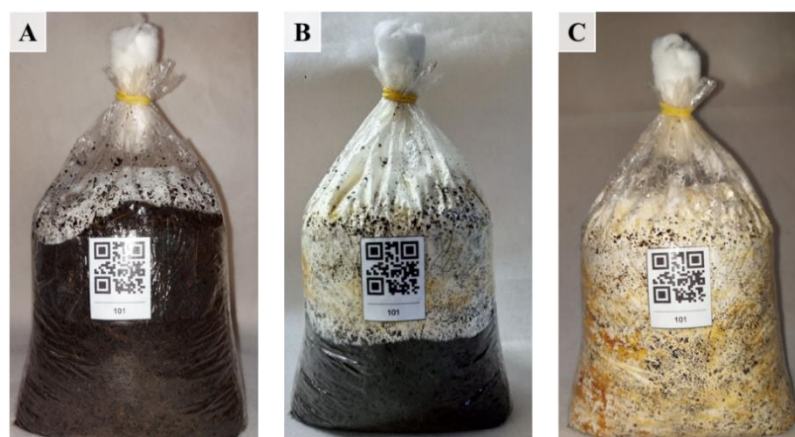


**Figura 6.** Inoculação do substrato no pacote de cultivo. Fonte: Monteiro, R.E.P./GPEC (2021).

### C. Incubação

Após a inoculação, os pacotes de cultivo foram incubados (Figura 7), sendo armazenadas e ordenadas na “Sala de Incubação” do Módulo de Produção de Cogumelos Comestíveis do GPEC, colocadas de forma aleatória, onde permaneceram no escuro até a total colonização, em média, durante 26 dias a  $22,63 \pm 2,02$  °C e  $88,22 \pm 5,99$  % UR (umidade relativa).

Durante a incubação foram realizadas avaliações diárias, como registro de umidade relativa e temperatura ambiente por meio de termo-higrômetro digital com o objetivo de se ter um controle da temperatura durante todo experimento, além de registro fotográfico de todas as unidades a cada dois dias e de um representante de cada tratamento a cada cinco dias.

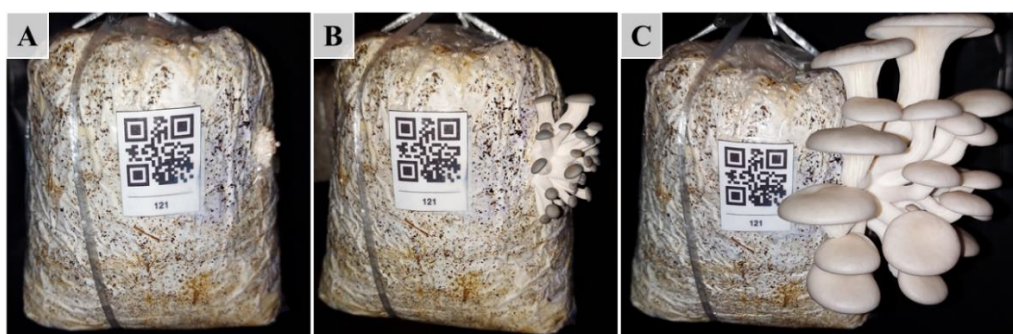


**Figura 7.** Colonização do substrato pela cepa PO/A02 de *P. ostreatus*. Representação dos pacotes de cultivo no A) Início da colonização, na B) Colonização intermediária e na, C) Colonização total. Fonte: Monteiro, R.E.P./GPEC (2021).

#### D. Indução - Frutificação

Ao final do período de incubação, ao atingirem total colonização, os pacotes de cultivo foram levados à “Sala de Indução-Frutificação” e induzidas por meio de dois cortes verticais de 4 cm em cada lado (Figura 8 A), distribuídas respeitando a mesma ordem da fase de incubação, sendo suspensas com um barbante nas estruturas de madeira no espaço de frutificação, com temperatura, umidade e luminosidade controladas por meio de timer digital.

Nesta etapa, foram realizadas umidificações com uso de um irrigador de aspersão nos pacotes de cultivo, no chão e nas laterais do espaço de frutificação. Complementarmente, utilizou-se um umidificador ultrassônico de ar com vazão de 250 ml h<sup>-1</sup> para manter a temperatura e umidade controladas. Neste período, a temperatura foi de  $23,37 \pm 3,02$  °C e umidade relativa de  $89,25 \pm 4,23$  %. A frutificação deu-se com a saída dos primórdios após  $4 \pm 1$  dias (Figura 8 B), finalizando com a colheita (Figura 8 C).



**Figura 8.** Pacote de cultivo da cepa PO/A02 de *P. ostreatus* induzido após 20 dias de inoculação. A) Aparecimento do primórdio após 22 dias de indução, B) Desenvolvimento do primórdio após 23 dias de indução, C) Cogumelo em ponto de colheita após 24 dias de indução. Fonte: Monteiro, R.E.P./GPEC (2021).

### E. Colheita

Após o desenvolvimento dos primórdios, o “chapéu” ou basidiocarpo, começou a passar de uma forma côncava para convexa, alcançando o ponto de colheita, onde ela foi realizada envolvendo os basidiocarpos entre os dedos da mão e girando levemente até retirá-los da sacola (Figura 9 A).

Os basidiocarpos colhidos, foram classificados (Figura 9 B) e pesados em balança digital sobre uma bandeja (Figura 9 C) e registrados a massa fresca, além de ser feito o registro fotográfico dos basidiocarpos separadamente.



**Figura 9.** Colheita de cogumelos após 50 dias de indução para o tratamento com 25% de borra de café (% v/v). A) Cogumelo em ponto de colheita. B) Classificação por tamanho. C) Pesagem dos cogumelos. Fonte: Monteiro, R.E.P./GPEC (2021).

### 4.5. Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), cujos tratamentos foram constituídos pelas combinações de cinco proporções (% v/v) da mistura de borra de café com bagaço de cana, totalizando 5 tratamentos.

Cada tratamento foi composto por 5 repetições, sendo cada repetição um pacote de cultivo correspondente a um saco de polipropileno com dimensões 25 cm × 30 cm × 0,08 mm (ver item 4.4 Preparação do substrato). Neste sentido, para os fins experimentais cada repetição foi considerada como uma unidade experimental (UE), totalizando assim 25 unidades experimentais.

As proporções de borra de café com complemento do bagaço de cana (devido as suas densidades, ver Tabela 3) foram calculados e padronizadas em função do volume de 1.400 cm<sup>3</sup> para cada tratamento, com o fim de proporcionar o mesmo raio de colonização para o

fungo assim como fornecer um maior controle de temperatura, umidade e luminosidade do ambiente sobre elas. Os suplementos de serragem e farelo de trigo, foram calculadas em 10% e 5%, respectivamente, em base seca da massa total por cada tratamento. As formulações estão descritas na Tabela 4.

**Tabela 4.** Massa seca das formulações utilizadas em cada unidade experimental (pacote de cultivo) por tratamento no cultivo de *P. ostreatus* em diferentes proporções de borra de café e bagaço de cana (% v/v).

| Tratamentos        | Massa dos substratos <sup>1</sup><br>(g / sacola) |                   | Subtotal<br>(g/sacola) | Massa dos suplementos <sup>2</sup><br>(g/ sacola) |                       | Total <sup>3</sup><br>(g/ sacola) |
|--------------------|---------------------------------------------------|-------------------|------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------------------|
|                    | Borra<br>de café                                  | Bagaço<br>de cana |                        | 10%<br>Serragem                                   | 5%<br>Farelo de trigo |                                   |
| Controle           | ---                                               | 167,02            | 167,02                 | 16,70                                             | 8,35                  | 359,09                            |
| 25% borra de café  | 145,74                                            | 125,27            | 271,01                 | 27,10                                             | 13,55                 | 582,67                            |
| 50% borra de café  | 291,48                                            | 83,51             | 374,99                 | 37,50                                             | 18,75                 | 806,23                            |
| 75% borra de café  | 437,22                                            | 41,76             | 478,98                 | 47,90                                             | 23,95                 | 1029,81                           |
| 100% borra de café | 582,96                                            | ---               | 582,96                 | 58,30                                             | 29,15                 | 1253,36                           |

<sup>1</sup>Valores calculados de acordo com a porcentagem da borra de café (% v/v) complementado com bagaço de cana para um volume de 1400 cm<sup>3</sup> para garantir as mesmas condições ambientais de desenvolvimento do fungo. <sup>2</sup> Calculados de acordo à massa da borra de café e bagaço de cana (subtotal) em cada unidade experimental por tratamento. <sup>3</sup> Valor total por unidade experimental (sacola) de cada tratamento.

No momento do ensacamento dos substratos, foram retiradas três amostras de cada tratamento, para análises químicas, conforme Tabela 5.

**Tabela 5.** Características químicas das formulações para o cultivo de *P. ostreatus* utilizadas nos tratamentos com diferentes proporções de borra de café com bagaço de cana (% v/v).

| Variáveis/substrato             | Proporção de borra de café (% v/v) <sup>1</sup> |               |               |                |               | Médias <sup>2</sup> |
|---------------------------------|-------------------------------------------------|---------------|---------------|----------------|---------------|---------------------|
|                                 | Controle                                        | 25%           | 50%           | 75%            | 100%          |                     |
| pH (20:1)                       | 5,10 ± 0,01                                     | 5,16 ± 0,04   | 5,10 ± 0,01   | 4,79 ± 0,00    | 4,64 ± 0,02   | 4,96 ± 0,02         |
| CE (dS m <sup>-1</sup> ) (20:1) | 0,62 ± 0,02                                     | 0,58 ± 0,00   | 0,60 ± 0,00   | 0,65 ± 0,00    | 0,67 ± 0,01   | 0,62 ± 0,01         |
| $\rho$ (g cm <sup>-3</sup> )    | 0,30 ± 0,01                                     | 0,34 ± 0,01   | 0,37 ± 0,00   | 0,35 ± 0,05    | 0,45 ± 0,01   | 0,36 ± 0,02         |
| COT (mg kg <sup>-1</sup> )      | 466,56 ± 21,74                                  | 509,76 ± 9,98 | 506,88 ± 7,62 | 550,08 ± 40,63 | 521,28 ± 2,88 | 510,91 ± 16,57      |
| MS (%)                          | 93,57 ± 0,06                                    | 92,74 ± 0,14  | 92,63 ± 0,10  | 92,5 ± 0,17    | 92,5 ± 0,05   | 92,79 ± 0,10        |
| Cinzas (%)                      | 1,84 ± 0,06                                     | 1,95 ± 0,03   | 1,85 ± 0,11   | 1,93 ± 0,02    | 1,57 ± 0,36   | 1,83 ± 0,11         |

<sup>1</sup>Para um volume de 1400 cm<sup>3</sup> para garantir as mesmas condições ambientais de desenvolvimento do fungo. <sup>2</sup>Médias de três repetições por cada tratamento. pH: Potencial hidrogeniônico; CE: Condutividade elétrica;  $\rho$ : Densidade; COT: Carbono orgânico total; MO: Matéria orgânica. Análises realizadas no Laboratório de Matéria Orgânica do Solo (Lab. MOS) UFPB no período de 2021.2 e 2022.1 por Robson E. P. Monteiro e J. Rafael Zárate-Salazar.

#### 4.6. Variáveis analisadas

Durante o ciclo produtivo do experimento, as variáveis analisadas foram: crescimento micelial em substrato (CM), eficiência biológica (EB), taxa de produção (Tp), período produtivo (PP), precocidade (Pcd) e perda de matéria orgânica (PMO), descritas no Quadro 1.

**Quadro 1.** Variáveis produtivas analisadas no cultivo de *P. ostreatus* nos tratamentos com diferentes proporções de borra de café com bagaço de cana (% v/v).

| Variável                                                  | Definição                                                                                        | Fórmula                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Referência                           |
|-----------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| Crescimento micelial em substrato (mm dia <sup>-1</sup> ) | É a relação do crescimento micelial do fungo no período de incubação do substrato.               | $VCM = \frac{R}{t}$ <p>Onde:<br/> <math>t</math> = tempo de colonização em dias.<br/> <math>R</math> = raio do pacote de cultivo expressado em milímetros (mm), calculado como:<br/> <math display="block">R = \sqrt[3]{\frac{3}{4} \times a \times b \times h}</math> <p>Sendo:<br/> <math>a</math> = raio maior da base (mm);<br/> <math>b</math> = raio menor da base (mm);<br/> <math>h</math> = altura do pacote de cultivo (mm);</p> </p> | ZÁRATE-SALAZAR et al. (2020)         |
| Eficiência biológica (%)                                  | É a relação da massa fresca total dos cogumelos sobre a massa seca do substrato.                 | $EB = \frac{MFC}{MSS} \times 100$ <p>Onde:<br/> MFC = massa fresca dos cogumelos (g)<br/> MSS = massa seca do substrato (g)</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | ESTRADA & PECCHIA (2017).            |
| Taxa de produção (%)                                      | É a porcentagem que se produz de cogumelo por dia no substrato utilizados                        | $TP = \frac{EB}{PP} \times 100$ <p>Onde:<br/> EB= Eficiência biológica (%);<br/> PP= Período de produção (dias).</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | AVENDAÑO-HERNANDEZ & SÁNCHEZ (2013). |
| Período produtivo (dias)                                  | É o período desde a inoculação e a última colheita.                                              | $PP = DUC - DIN$ <p>Onde:<br/> DC= Data da última colheita;<br/> PP= Data de inoculação.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | ZÁRATE-SALAZAR et al. (2020).        |
| Precocidade (dias)                                        | É o intervalo de tempo médio que demora o fungo para produzir os basidiocarpos após ser induzido | $Pcd = \frac{(t1 + t2 + t3)}{NC}$ <p>Onde:<br/> <math>t</math>= Período entre a indução e a colheita (dias);<br/> NC= Número de colheitas.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | ZÁRATE-SALAZAR et al. (2020).        |
| Perda de Matéria Orgânica (%)                             | Representa a decomposição do substrato pelo fungo.                                               | $PMO = \frac{MSI - SMS}{MSI} \times 100$ <p>Onde:<br/> MSI= Massa seca inicial (g);<br/> SMS= Substrato pós-cultivo de cogumelos (g).</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | CARVALHO et al. (2012).              |

Fonte: Monteiro, R.E.P./GPEC (2021).

#### 4.7. Análises dos substratos pós-cultivo de cogumelos (SMS)

Após a terceira colheita, foi retirado o saco da unidade experimental identificada e seca em casa de vegetação por três dias, posteriormente seca em estufa por três dias a uma temperatura de 65°C. O SMS de cada unidade experimental foi fracionado com o intuito de facilitar o armazenamento e retirada de resquícios do inóculo no centro da unidade experimental, para não interferir nas análises químicas.

Após este procedimento, os SMS's devidamente identificados, foram triturados em moinho (1 mm) e guardados em sacos herméticos de plástico para posterior análises. Para todas as análises, foram selecionadas três repetições de cada tratamento, contemplando os SMS's e os substratos *in natura*.

Foram analisadas pH, condutividade elétrica (CE), densidade ( $\rho$ ), carbono orgânico total (COT), matéria seca (MS) e cinzas (CZ) de acordo com metodologia proposta pela Embrapa (1997; 2011), conforme descritos na Tabela 6.

**Tabela 6.** Protocolo para análise<sup>1</sup> da composição química dos substratos lignocelulósicos *in natura* e SMS<sup>2</sup> de *P. ostreatus*

| Variável analisada               | Amostra         | Reagentes                                                               | Procedimento                                                                                                                                                                                                                             | Equipamento                     | Medida   |
|----------------------------------|-----------------|-------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|----------|
| pH e condutividade elétrica (CE) | 2 g amostra     | Água destilada                                                          | Em um copo de 50 mL, foi adicionada a amostra, 40 mL de água destilada, misturada e deixada em repouso por 30 minutos.                                                                                                                   | Potenciômetro e condutivímetro. | Direta   |
| Densidade ( $\rho$ )             | ---             | ---                                                                     | Em um tubete de 8 cm <sup>3</sup> foi preenchido com a amostra até completar todo seu volume e em seguida foi pesado.                                                                                                                    | Balança analítica               | Indireta |
| Carbono orgânico total (COT)     | 0,015 g amostra | K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> , FeSO <sub>4</sub> 0,4 M | Foi adicionado 5 mL de dicromato e 10 mL de ácido sulfúrico, digeridos em bloco digestor. Logo, adicionado 10 mL de ácido fosfórico, completado a 50 mL com água destilada e 3 gotas de difenilamina para titulação com sulfato ferroso. | Bureta                          | Indireta |
| Matéria seca (MS) e cinzas (CZ)  | 1 g amostra     | ----                                                                    | O cadinho foi seco em estufa a 105°C e pesado. 1 g da amostra seca foi incinerada em mufla a 500 °C por 4 horas e realizada a pesagem.                                                                                                   | Mufla                           | Direta   |

<sup>1</sup>As análises foram realizadas no período 2021.2 e 2022.1 por Robson E. P. Monteiro e J. Rafael Zárate-Salazar no Lab. MOS do Departamento de Solos e Engenharia Rural e Lab. Fibras do Departamento de Zootecnia. <sup>2</sup>Substrato pós-cultivo de cogumelos obtido ao final de 130 dias do cultivo de *P. ostreatus*.



#### 4.8. Análise estatística

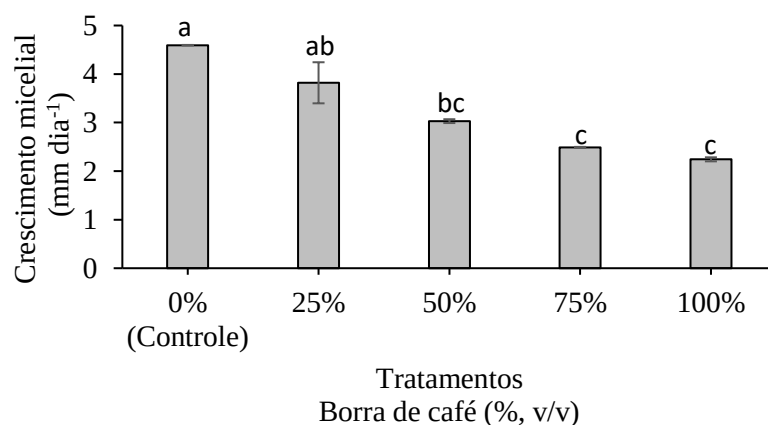
As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do Software R versão 4.1.2 (R CORE TEAM, 2021) e pacotes *ExpDes* (CAVALCANTI & BATISTA, 2021) os resultados foram analisados com o teste de Tukey para verificar os critérios de normalidade e homoscedasticidade até 5% de significância ( $P>0,05$ ), respectivamente. Sendo assim, os resultados foram submetidos a ANOVA e, quando significativa, as médias foram analisadas de acordo ao teste de Tukey até 5% significância ( $P<0,05$ ).



## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Crescimento micelial

Nos resultados obtidos, no crescimento micelial em substrato, observou-se diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos. Verificou-se que houve uma redução no crescimento micelial na medida que a proporção da borra de café foi adicionada nas formulações de cada tratamento (Figura 10), em que o tratamento controle diferiu dos tratamentos nas proporções de 50%, 75% e 100% de borra de café, houve uma queda de aproximadamente 50%, passando de 4,59 mm dia<sup>-1</sup> para 3,03, 2,49 e 2,24 mm dia<sup>-1</sup>, respectivamente. Sendo o tratamento com 25% de borra de café estatisticamente similar ao controle com 3,82 mm dia<sup>-1</sup>.



**Figura 10.** Crescimento micelial em substrato da cepa PO/A02 de *P. ostreatus*, cultivado em diferentes proporções de borra de café com bagaço de cana (% v/v) em um período de 130 dias. Letras minúsculas diferentes, indicam diferenças significativas de acordo ao teste Tukey a 5% ( $P < 0,05$ ). Média  $\pm$  SE,  $n = 5$ .

Antes de discutir os efeitos observados dos tratamentos, é importante destacar que o método de determinação do crescimento micelial em substrato, segundo Zárate-Salazar et al. (2020), trata-se de uma metodologia que reduz o número de avaliações e o manuseio excessivo dos pacotes de cultivo, a qual garante maior controle da corrida micelial na fase incubação em comparação de outros trabalhos reportados por Thongklang (2016) e Mkhize et al. (2017) que usam métodos manuais, de tal modo que consideramos que o comportamento micelial responde apenas ao estímulo proporcionado pelas formulações de cada tratamento e às características intrínsecas físicas e químicas delas.

Nessa ordem de ideias, a diminuição do crescimento micelial pelo aumento das proporções de borra de café observada nos resultados pode estar associado às características físicas do substrato, como granulometria, densidade e porosidade, uma vez que, nas maiores concentrações de borra de café, o substrato se torna mais denso ( $0,45 \text{ g cm}^{-3}$ , Tabela 5), o qual ao ser mais compacto e menos poroso dificulta a troca gasosa dentro do substrato, afetando a respiração celular, prejudicando a produção de energia do fungo, assim dificultando o avanço micelial (BELLETTINI et al., 2016), conforme observado na Figura 11.



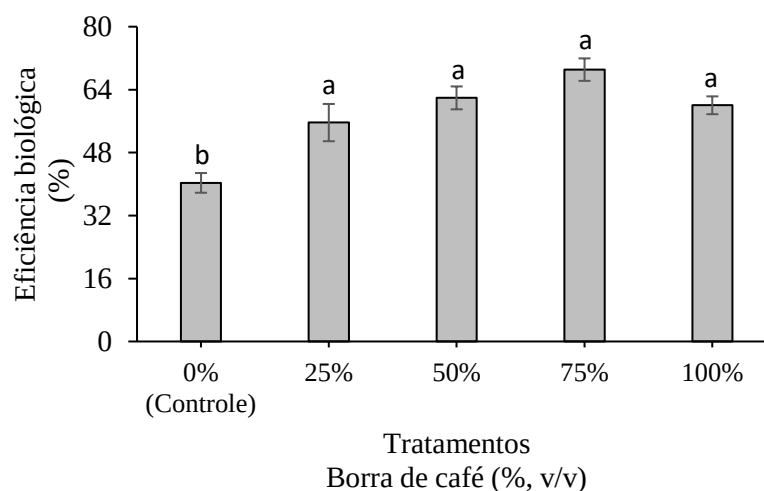
**Figura 11.** Crescimento micelial em substrato da cepa PO/A02 de *P. ostreatus* em cada tratamento após 10 dias de incubação. Pacotes de cultivo da esquerda para a direita: 0% (controle), 25%, 50%, 75% e 100% de borra de café (% v/v). Fonte: Monteiro, R.E.P./GPEC (2021).

Quanto aos aspectos químicos do substrato, o crescimento micelial pode ser reduzido pela presença de cafeína e compostos fenólicos como o tanino, pois o fungo demandará uma maior carga energética para decompor estes compostos. Comportamento semelhante ao encontrado neste trabalho, foi observado por Carrasco-Cabrera et al. (2019), onde o crescimento micelial *in vitro* de *P. ostreatus* foi inibido por meio das altas concentrações da cafeína, em que o fungo investe seu metabolismo para degradar a cafeína em paraxantina, teofilina, teobromina, 7-metilxantina, 1-metilxantina e 3-metilxantina em vez de degradar a lignina por meio das lacases que é importante para a etapa de crescimento micelial.

De acordo com Rampinelli (2016), ao estudar a utilização de casca de banana para a produção de lacase por *Pleurotus djamor*, observou que a maior produção desta enzima foi verificada na etapa de colonização do substrato, e que confirma o suposto da composição do substrato afetar o crescimento micelial.

## 5.2. Eficiência biológica

De acordo com os valores obtidos para a eficiência biológica (Figura 12), verificou-se que os tratamentos com adição da borra de café foram semelhantes entre si ( $P>0,05$ ), sendo superiores e diferindo estatisticamente do tratamento controle ( $P<0,05$ ). Todos os tratamentos com proporções de borra de café, 25% (EB=55,63%), 50% (EB=61,9%), 75% (EB=69,09%) e 100% (EB=60,02%) de borra de café, foram superiores ao tratamento controle (EB=40,3%) em aproximadamente 40%.



**Figura 12.** Eficiência biológica da cepa PO/A02 de *P. ostreatus* cultivado em diferentes proporções de borra de café com bagaço de cana (% v/v) em um período de 130 dias. Letras minúsculas diferentes, indicam diferenças significativas de acordo ao teste Tukey a 5% ( $P<0,05$ ). Média  $\pm$  SE,  $n=5$ .

De acordo com os dados observados, só pelo fato de adicionar borra de café à formulação dos tratamentos, a eficiência biológica aumentou em quase 40%. Este acontecimento provavelmente pode estar relacionado ao aspecto físico, relacionado a massa do substrato com maiores proporções de borra de café, na medida em que a massa aumenta, isto em virtude da densidade e granulometria da borra de café (0,1 mm à 0,5 mm), a qual proporciona maior área de superfície das partículas, possibilitando a transferência de massa (nutriente e umidade) e desenvolvimento do fungo.

Segundo Owaid et al. (2015), ao estudarem a produção de ‘cogumelo ostra’ a partir de resíduos oriundos de papelão de reciclagem, observaram que o pequeno tamanho das partículas do suplemento palha de trigo aumentou a área de superfície do substrato para o crescimento micelial, apresentando influências positivas no rendimento e eficiência biológica.

Para Holgado-Rojas et al. (2019), o tipo de substrato utilizado em seu trabalho, influenciou na eficiência biológica de *P. ostreatus*, que apresentou uma eficiência de 43% para cascas de milho e, ao acrescentar sabugo de milho e cascas de feijão observou um aumento na eficiência da produção de cogumelos, atingindo 52,2% de eficiência. Semelhante ocorrência, também foi observada por Reis et al. (2010), onde ao suplementar o substrato resíduo de algodão com farelo de arroz no cultivo de *Pleurotus ostretusroseus*, observaram uma eficiência de 104%, sendo superior estatisticamente do tratamento sem suplemento (EB= 92,5%).

Para os aspectos químicos do substrato na eficiência biológica, o substrato mais denso tem mais massa, apresentando maiores concentrações de carbono (ver Tabela 5) deste modo, quanto maior o teor de carbono o fungo tem mais estímulo para a secreção de enzimas. Mesmo que o crescimento micelial seja retardado pela composição do substrato, ao final da colonização, outras enzimas como celulasas e hemicelulasas atuam na decomposição do substrato para a frutificação (SÁNCHEZ; ROYSE 2017).

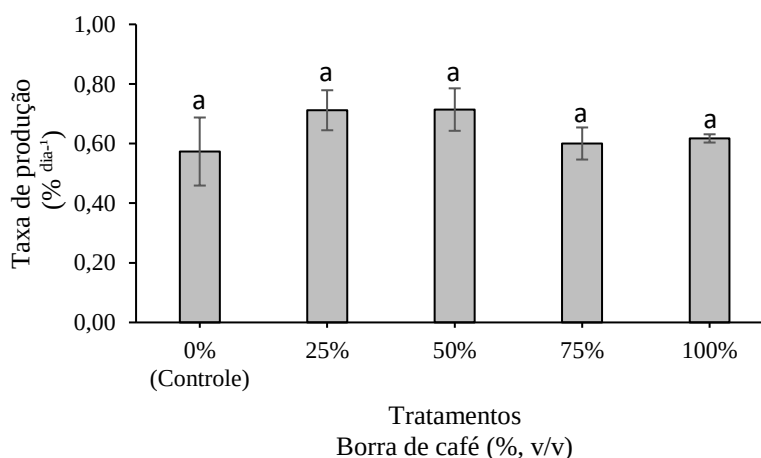
Segundo Zárate-Salazar et al. (2020), a composição química do substrato pode ter influência no desempenho do cultivo, pois ao estudar o cultivo de quatro isolamentos de *P. ostreatus* em dois substratos, o substrato restolho de milho com menor relação carbono-nitrogênio (C/N= 67,12 mg g<sup>-1</sup>) comparado ao substrato palha de arroz (C/N= 71,85 mg g<sup>-1</sup>), foi o que demonstrou maior eficiência na produção de cogumelos (EB= 84,63 à 102,94%), com um aumento de quase 30%.

O aumento na eficiência da conversão do substrato em cogumelos, pode estar associado aos níveis de nutrientes disponíveis nas frações lignocelulósicas de cada substrato para a bioconversão pelo fungo, as quais tornam-se disponíveis pela decomposição através das enzimas lignocelulolíticas, que possibilitam a degradação de macromoléculas em compostos de baixa massa molecular, isto é, de fácil absorção, possibilitando o crescimento e frutificação (BRISSAC et al., 2018).

### 5.3. Taxa de produção

De acordo com os dados obtidos para a taxa de produção, foi constatado que as diferentes proporções de borra de café em cada tratamento não apresentaram diferenças significativas entre si ( $P>0,05$ ). Deste modo, todos os tratamentos apresentaram taxa de produção em média de 0,64% dia<sup>-1</sup>, obtida dos tratamentos com 0% (Tp= 0,57% dia<sup>-1</sup>), 25%

( $T_p = 0,71\% \text{ dia}^{-1}$ ), 50% ( $T_p = 0,71\% \text{ dia}^{-1}$ ), 75% ( $T_p = 0,60\% \text{ dia}^{-1}$ ) e 100% ( $T_p = 0,62\% \text{ dia}^{-1}$ ) de borra de café, respectivamente.



**Figura 13.** Taxa de produção da cepa PO/A02 de *P. ostreatus* cultivado em diferentes proporções de borra de café com bagaço de cana (% v/v) em um período de 130 dias. Letras minúsculas diferentes, indicam diferenças significativas de acordo ao teste Tukey a 5% ( $P > 0,05$ ). Média  $\pm$  SE,  $n = 5$ .

A taxa de produção por ser uma variável que está associada a eficiência biológica, desta maneira também sendo influenciada pela composição física e química do substrato, como se observa no trabalho de Fonseca (2013), que verificou um aumento da eficiência ao utilizar cascas de cupuaçu suplementado com 20% de farelo de arroz.

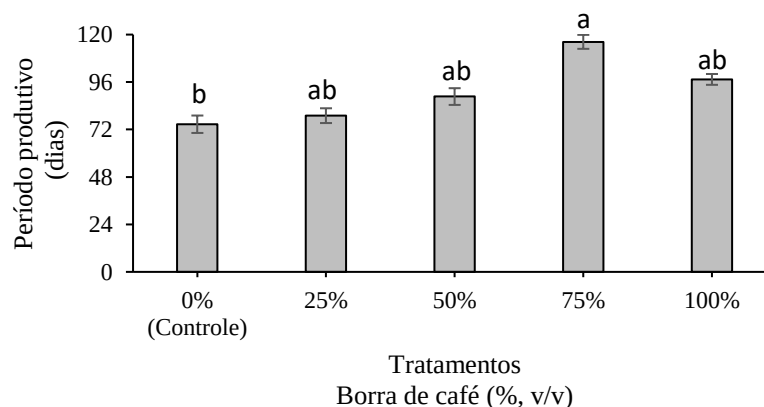
Dados diferentes foram observados no trabalho de Avendaño-Hernandez e Sánchez (2012), ao testarem o uso de autopasteurização de substrato para o cultivo de cogumelos de diferentes espécies de *Pleurotus*, a espécie *P. ostreatus* foi a que apresentou uma maior eficiência biológica e uma maior taxa de produção, podendo este acontecimento estar relacionado ao tipo de espécie utilizada, onde cada um se comporta de forma singular. Diferente do observado neste trabalho, que apresentou resultados semelhantes entre si, o que pode estar relacionado a linhagem utilizada, uma vez que de acordo ao observado por Zárate-Salazar et al. (2020) para a linhagem PO/A02, esta apresenta baixa eficiência biológica, mas menor período produtivo o qual aumenta significativamente a sua taxa de produção.

Neste trabalho, todos os tratamentos foram padronizados quanto aos suplementos, com a mesma proporção em massa da formulação (% m/m) de serragem e farelo de trigo, 10% e 5%, respectivamente para cada tratamento. Deste modo, a serragem que apresentou ser um

substrato menos denso (Tabela 4), possibilitou aeração nas proporções de borra de café e, o farelo de trigo ingressou como fonte de nutrientes de fácil utilização, de tal forma que possibilitou uma taxa de produção semelhante entre todos os tratamentos testados, em virtude do equilíbrio entre a eficiência biológica e o período produtivo.

#### 5.4. Período produtivo

Os dados obtidos para o período produtivo apresentam diferenças estatísticas ( $P<0,05$ ) entre as diferentes proporções de borra de café nos tratamentos. Todos os tratamentos com borra de café foram estatisticamente semelhantes ao controle, exceto o tratamento com 75% (PP=116 dias) de borra de café que apresentou diferenças estatísticas quando comparado com o tratamento controle (PP=74 dias).

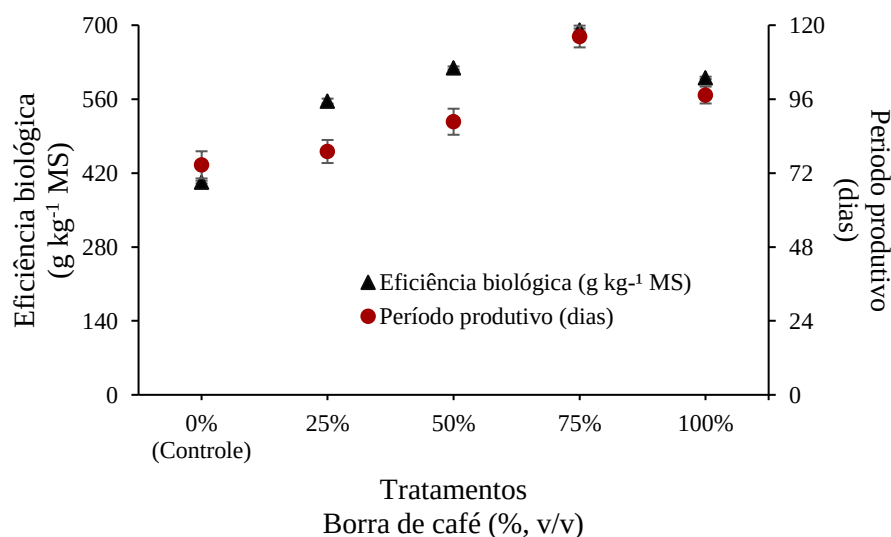


**Figura 14.** Período produtivo da cepa PO/A02 de *P. ostreatus* cultivado em diferentes proporções de borra de café com bagaço de cana (% v/v) em um período de 130 dias. Letras minúsculas diferentes, indicam diferenças significativas de acordo ao teste Tukey a 5% ( $P<0,05$ ). Média  $\pm$  SE,  $n=5$ .

Este fenômeno possivelmente pode ter sido influenciado pelo uso dos suplementos, onde em estudos prévios conduzidos durante o ano de 2020 pelo GPEC (dados ainda não publicados), no cultivo de *P. ostreatus* em borra de café sem o uso de suplementos, observou-se que o período produtivo quando utilizado 25% (PP= 51 dias; EB= 44,63%) de borra de café foi igual ao controle (PP= 51 dias; EB= 28,24%) e apresentou uma maior eficiência biológica, e nas proporções a partir de 50% (PP= 75 dias; EB= 40,98%) de borra de café o período produtivo aumentou e a eficiência biológica diminuiu. Neste trabalho não se observou

esta tendência, podendo estar relacionado com o uso de serragem e farelo de trigo fornecendo nutrientes.

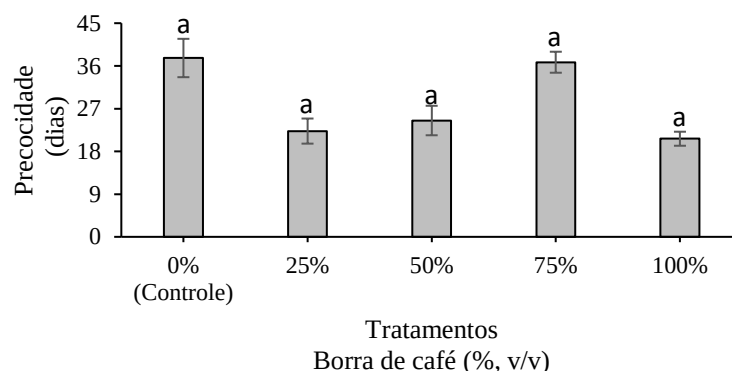
Relacionando a eficiência biológica com o período produtivo (Figura 14), observou-se que *P. ostreatus* em um período de 116 dias atingiu sua máxima eficiência, bioconvertendo para cada quilograma de substrato quase 700 gramas de cogumelos frescos. Dados semelhantes foram constatados por Vega et al. (2006), em que verificaram ao utilizar a palha de arroz e polpa de café no cultivo de *Pleurotus djamor*, as maiores produções foram nos níveis mais elevados de polpa de café.



**Figura 15.** Eficiência biológica comparada com o período produtivo da cepa PO/A02 de *P. ostreatus*, cultivado em diferentes proporções de borra de café com bagaço de cana (% v/v) em um período de 130 dias. Média  $\pm$  SE,  $n = 5$ .

### 5.5. Precocidade

Para a variável precocidade, constatou-se que as diferentes proporções de borra de café em cada tratamento não apresentaram diferenças significativas entre si ( $P > 0,05$ ). Deste modo, todos os tratamentos apresentaram precocidade com média de 28,38 dias, obtida dos tratamentos com 0% (Pcd = 37,67 dias), 25% (Pcd = 22,28 dias), 50% (Pcd = 24,50 dias), 75% (Pcd = 36,78 dias) e 100% (Pcd = 20,67 dias) borra de café.



**Figura 16.** Precocidade da cepa PO/A02 de *P. ostreatus*, cultivado em diferentes proporções de borra de café com bagaço de cana (% v/v) em um período de 130 dias. Letras minúsculas diferentes, indicam diferenças significativas de acordo ao teste Tukey a 5% ( $P < 0,05$ ). Média  $\pm$  SE,  $n = 5$ .

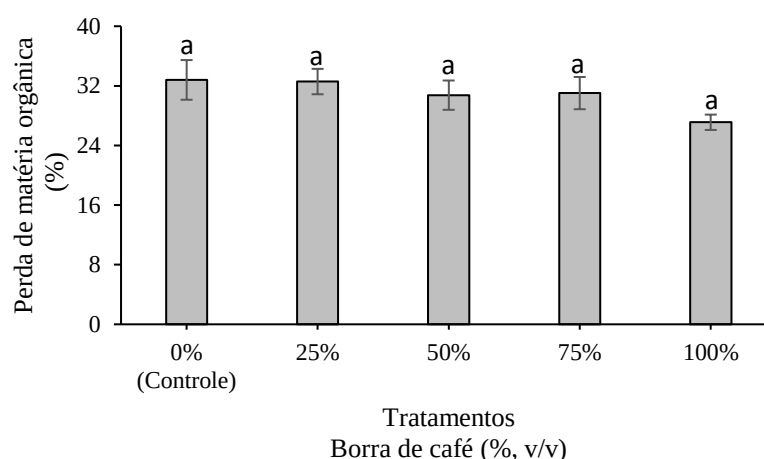
Analisando os valores demonstrados pela precocidade, observa-se que está associada ao intervalo de tempo médio de produção dos cogumelos após a indução, verificou-se que não houve diferenças ao utilizar a borra de café nas proporções testadas. Isso pode estar relacionado a qualidade genética do fungo utilizado, uma vez que foi utilizado o mesmo fungo, suplementos, condições ambientais controladas, deste modo constatou-se que *P. ostreatus* possui um comportamento padrão por se tratar de uma mesma linhagem.

Comportamento diferente na precocidade foi observado por Reis et al. (2010), que ao analisar substratos alternativos para o cultivo de *Pleurotus ostreatus*roseus e *Pleurotus florida*, verificaram que a suplementação não foi um fator que interferiu na precocidade de *Pleurotus ostreatus*roseus, no entanto apresentou diferenças, sendo menor para a espécie *Pleurotus florida*, evidenciando o comportamento diferente para cada espécie.

## 5.6. Perda de matéria orgânica

Em relação a perda de matéria orgânica (PMO), os resultados demonstraram que não houve diferença significativa entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ). A qual apresentou uma perda de matéria orgânica, em média, de 30,80 %, que foi obtida dos tratamentos com as proporções testadas 0% (PMO = 32,80 %), 25% (PMO = 32,57 %), 50% (PMO = 30,75 %), 75% (PMO = 31,03 %) e 100% (PMO = 27,11 %) de borra de café.





**Figura 17.** Perda de matéria orgânica da cepa PO/A02 de *P. ostreatus*, cultivado em diferentes proporções de borra de café em um período de 130 dias. Letras minúsculas diferentes, indicam diferenças significativas de acordo ao teste Tukey a 5% ( $P < 0,05$ ). Média  $\pm$  SE,  $n = 5$ .

Ao apresentar esta similaridade nos valores, o que demonstra o potencial da espécie em biodegradar o substrato na mesma relação, independente do substrato lignocelulósico utilizado, neste sentido a PMO ocorre devido a remoção pelo fungo de materiais, como carboidratos com uso para o crescimento e formação dos basidiocarpos, além da perda de  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$  durante o seu metabolismo (SALES-CAMPOS; ANDRADE, 2011), não havendo relação direta da eficiência biológica com a perda de matéria orgânica como evidenciado por Sales-Campos et al. (2010) e Aguiar (2016).

Os dados demonstram que houve uma degradação semelhante entre todos os tratamentos com as proporções de borra de café, que também pode ser justificado pela genética do fungo utilizado, deste modo, como neste trabalho só foi utilizada uma linhagem de *P. ostreatus* não houve diferença na decomposição do substrato. Esta perda de matéria orgânica também foi reportada no trabalho de Zárate-Salazar et al. (2020), que ao utilizar a mesma linhagem (PO/A02) observou valores médios próximos ao encontrado neste trabalho, evidenciando a capacidade biodegradativa deste fungo sem seleção de substrato.

Neste sentido, *P. ostreatus* possui capacidade de degradar substratos lignocelulósicos, transformando em alimento e gerando um substrato de fácil decomposição, tornando este substrato com aptidão agrícolas para incorporação no solo com diversas propriedades como fornecendo macronutrientes e possibilitando uma melhor porosidade e complexidade do solo conforme Abreu et al. (2020).

### 5.7. Avaliação do substrato pós-cultivo de *Pleurotus ostreatus* Jacq.

Para os resultados das análises da característica química dos substratos: pH, condutividade elétrica ( $\text{dS m}^{-1}$ ), densidade ( $\text{g cm}^{-3}$ ), carbono orgânico total ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), matéria seca (%) e cinzas (%), receberam uma análise descritiva agrupado na Tabela 7, apresentando as características químicas com potencial uso agrônomo dos SMS's.

**Tabela 7.** Características químicas dos substratos pós-cultivo da cepa PO/A02 de *P. ostreatus* em diferentes proporções de borra de café com bagaço de cana (% v/v) após 130 dias de cultivo.

| Variáveis/substrato              | Proporção de borra de café (% v/v) <sup>1</sup> |               |                |               |                | Médias <sup>2</sup> |
|----------------------------------|-------------------------------------------------|---------------|----------------|---------------|----------------|---------------------|
|                                  | 0% (Controle)                                   | 25%           | 50%            | 75%           | 100%           |                     |
| pH (20:1)                        | 4,52 ± 0,09                                     | 4,31 ± 0,20   | 4,13 ± 0,01    | 4,13 ± 0,03   | 4,14 ± 0,01    | 4,25 ± 0,07         |
| CE ( $\text{dS m}^{-1}$ ) (20:1) | 1,12 ± 0,27                                     | 0,91 ± 0,03   | 0,75 ± 0,06    | 0,80 ± 0,02   | 0,72 ± 0,03    | 0,86 ± 0,08         |
| $\rho$ ( $\text{g cm}^{-3}$ )    | 0,24 ± 0,02                                     | 0,30 ± 0,02   | 0,31 ± 0,02    | 0,30 ± 0,00   | 0,37 ± 0,02    | 0,31 ± 0,02         |
| COT ( $\text{mg kg}^{-1}$ )      | 471,42 ± 24,06                                  | 462,81 ± 9,24 | 457,37 ± 20,91 | 554,61 ± 3,08 | 496,07 ± 18,49 | 488,46 ± 15,16      |
| MS (%)                           | 96,43 ± 0,32                                    | 97,28 ± 0,19  | 97,71 ± 0,17   | 97,95 ± 0,09  | 95,46 ± 2,40   | 96,96 ± 0,63        |
| Cinzas (%)                       | 2,68 ± 0,17                                     | 2,53 ± 0,08   | 2,33 ± 0,14    | 2,28 ± 0,02   | 2,18 ± 0,03    | 2,40 ± 0,09         |

<sup>1</sup> Valores calculados de acordo com a porcentagem da borra de café (% v/v) complementado com bagaço de cana para um volume de 1,400  $\text{cm}^3$ . <sup>2</sup>Média ± SE,  $n = 5$ . pH: Potencial hidrogeniônico; CE: Condutividade elétrica;  $\rho$ : Densidade; COT: Carbono orgânico total; MO: Matéria orgânica. Análises realizadas no período de 2021.2 e 2022.1 por Robson E. P. Monteiro e J. Rafael Zárate-Salazar.

Para os valores médios obtidos para o pH como podemos observar, foi de 4,25, embora sendo em condições ácidas isso não significa que torne um solo ácido, pois este substrato pode ser compostado previamente antes de ser incorporado ao solo. O pH é um atributo importante e possui grande influência na absorção de nutrientes pelas plantas, quando o pH está muito elevado ou muito baixo, a planta tem dificuldade em absorver os nutrientes da solução do solo, que pode afetar seu crescimento e desenvolvimento (DORIGO; SARON, 2019).

De acordo com Taiz e Zeiger (2013), o crescimento e desenvolvimento das raízes, bem como os microrganismos do solo são normalmente favorecidos em solos com valores de pH entre 5,5 e 6,5, deste modo, com a incorporação do SMS ao solo, que é um substrato rico em matéria orgânica, pode aumentar ou reduzir o pH do solo, por meio da liberação de cátions ou mineralização de formas orgânicas de N.

A condutividade elétrica é um parâmetro que nos permite entender a salinidade do solo, logo, nos dá uma ideia da quantidade de sais presentes no substrato, onde podemos verificar que a salinidade nos substratos é adequada, possuindo valores médios entre 0,86  $\text{dS m}^{-1}$ , não sendo prejudicial a uma planta ao ser incorporado ao solo.

Ao compararmos os valores antes (Tabela 5) e após o cultivo de *P. ostreatus* (Tabela 7), houve apenas um pequeno aumento da CE em todos os tratamentos, nunca se tornando mais salino, o que consideramos bom, uma vez que a CE pode exercer um efeito prejudicial a planta respeito à absorção de água e nutrientes, a faixa ideal de CE está entre 0,7 a 2,0 dS m<sup>-1</sup> (ABREU et al., 2020), de modo que os SMS não causariam nenhum efeito negativo devido ao se encontrar nessa faixa.

De acordo com os valores quantificados da densidade dos SMS's, os resultados demonstram valores médios próximos a 0,31 g cm<sup>-3</sup>. Assim, verificamos que houve uma redução em comparação aos tratamentos antes do cultivo (Tabela 5) e após 130 dias de cultivo de *P. ostreatus* (Tabela 7), aumentando o volume por grama de massa, podendo ser útil para retenção de umidade, maior agregação do solo que posteriormente seria interessante verificar em trabalhos posteriores.

Conforme podemos observar na Tabela 7, houve uma redução nos valores médios do carbono orgânico total, passando de 510,91 mg kg<sup>-1</sup> para 488,46 mg kg<sup>-1</sup>, podendo estar associado a redução de lignina e compostos de alta massa molecular. Podemos interpretar como uma maior facilidade da microbiota do solo a decompor este substrato. Seria interessante ter os valores dos teores de nitrogênio para poder verificar se isso é observado na relação C/N.

Analisando a matéria seca, um importante indicador de energia, proteína, minerais e vitaminas no substrato, observou-se um aumento nos valores médios ao comparar os substratos antes (Tabela 5) e após 130 dias do cultivo de *P. ostreatus* (Tabela 7), passando de 92,79 % para 96,96 % estando relacionado os teores de cinzas que aumentaram à medida que a matéria seca diminuiu.

O aumento na porcentagem de cinzas indicaria um aporte mineral, após biodegradação microbiana, de nutrientes como cálcio, que participa do desenvolvimento celular da planta e dos frutos, magnésio, que é um elemento central da clorofila, manganês, que atua como ativador de muitas enzimas e o zinco, que possui sua maior atuação no crescimento e expansão foliar (MENDES, 2007).

Como já evidenciado, o cultivo de cogumelos além de gerar um alimento de alto valor proteico e comercial, origina o SMS, que além de minimizar os impactos ambientais pelo reaproveitamento dos resíduos agrícolas, pode beneficiar os solos e culturas agrícolas, sendo

necessários estudos posteriores com a utilização do potencial uso do SMS com a borra de café na incorporação ao solo.

Diversos trabalhos evidenciam a utilização do SMS como condicionador e fertilizante do solo, obtendo resultados satisfatórios e promissores, como nos estudos desenvolvidos por Zhang, Duan e Le (2012), que ao incorporar o SMS ao solo obtiveram maior rendimento no cultivo de tomate e pepino, bem como exercendo diversos benefícios ao solo, como no aumento de C e N orgânico do solo (GÜMÜŞ; ŞEKER, 2017), aumento de pH perto da faixa da disponibilidade de nutrientes 5,5 e 6,5 (SOUZA, 2020) e apresentando-se como uma alternativa de fertilizante orgânico no cultivo de alface (ABREU et al., 2020).

## 6. CONCLUSÕES

O uso da borra de café reduz o crescimento micelial no substrato a medida que aumenta as proporções;

A aplicação da borra de café aumenta a eficiência biológica no cultivo de *Pleurotus ostreatus* em todas as proporções utilizadas;

*Pleurotus ostreatus* tem a capacidade de degradar as diferentes proporções de borra de café;

O substrato pós-cultivo de *Pleurotus ostreatus* com o uso da borra de café possui grande potencial agrônômico para estudos posteriores, de acordo com os dados obtidos para pH, condutividade elétrica, carbono orgânico total, matéria seca e cinzas.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, C. G. DE et al. Spent mushroom substrate *Agaricus bisporus* in the production of pepper seedlings. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 19, n. 2, p. 161–167, 2020.
- AGUIAR, L. V. B. Cultivo e avaliação nutricional de *Pleurotus ostreatus* de ocorrência na Amazônia, em condições ambientais não controladas. p. 110, 2016.
- ALBERTÓ, E. **Cultivo intensivo de los hongos comestibles: cómo cultivar champiñones, girgolas, shiitake y otras especies**. 1ª ed. Buenos Aires. 2008.
- ALVES, Y. L. et al. Produção de enzimas por *Aspergillus spp.* através de fermentação em estado sólido utilizando resíduos agroindustriais como substrato. **I Congresso Internacional de Meio Ambiente e Sociedade**, 2019.
- ARRUDA, A. G. Produção de celulasas em fermentação em estado sólido a partir de resíduos agroindustriais. **Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos.**, v. 11, n. 1, p. 1–14, 2019.
- ASD REPORTS, M. AND M. T. **Mushroom cultivation market - Global Forecast 2025**. 2022.
- AVENDAÑO-HERNANDEZ, R. J.; SÁNCHEZ, J. E. Self-pasteurised substrate for growing oyster mushrooms ( *Pleurotus spp.* ) Self-pasteurised substrate for growing oyster mushrooms ( *Pleurotus spp.* ). **African Journal of Microbiology Research**, v. 7 (3), n. May, p. 220–226, 2013.
- BARBOSA, E. E. P. et al. Cultivo de cogumelo comestível em resíduos lignocelulósicos de floresta tropical para produção de proteases. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 1, p. 4303–4308, 2020.
- BELLETTINI, M. B. et al. Factors affecting mushroom *Pleurotus spp.* **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 4, p. 633–646, 2016.
- BOSSA, L. F. et al. Resíduos agroindustriais para produção de produtos biotecnológicos. **Agroecologia: caminho de preservação do meio ambiente / Organizador Cleberton Correia Santos**, 2019.
- BRISSAC, D. C. DE O. et al. Delignification of banana pseudostem by the enzymatic culture

broth of *Pleurotus sajor-caju*. **Revista Matéria**, v. 23, n. 4, 2018.

CALGAROTO, B. Substratos para a produção de cogumelos *Lentinula edodes* (Shiitake). **Trabalho de conclusão de curso - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Bacharelado em Engenharia Ambiental**, v. 8, n. 5, p. 55, 2019.

CARDOSO, B. T. Caracterização química e estudo da secagem da borra de café expresso. **Dissertação de mestrado em Engenharia de Processos - Universidade Tiradentes**, 2013.

CARRASCO-CABRERA, C. P.; BELL, T. L.; KERTESZ, M. A. Caffeine metabolism during cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) with spent coffee grounds. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 14, p. 5831–5841, 2019.

CARVALHO, C. S. M. DE et al. Applicability of the use of waste from different banana cultivars for the cultivation of the oyster mushroom. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 43, n. 2, p. 819–826, 2012.

CARVALHO, I. Z. DE et al. Avaliação da casca de café como substrato produção de celulases por fermentação em estado sólido. **Congresso Técnico Científico da Engenharia e de Agronomia**, 2018.

CAVALCANTI, P. P. FERREIRA, E. B. NOGUEIRA, D. A. Experimental Designs Package. R package version 1.2.2. <https://CRAN.R-project.org/package=ExpDes>. 2021.

CONAB. Acompanhamento da safra Brasileira de café. **Companhia Nacional de Abastecimento: Acompanhamento da Safra Brasileira**, v. 8, n. 1, p. 1–89, 2021.

COSTA FILHO, D. V. et al. Aproveitamento de resíduos agroindustriais na elaboração de subprodutos. **II congresso de internacional das ciências agrárias**, 2017.

DIAS, E. S. Mushroom cultivation in Brazil: Challenges and potential for growth | Cultivo de cogumelos no Brasil: Desafios e potencialidades. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 34, n. 4, p. 795–803, 2010.

DORIGO, L. S.; SARON, A. Use of the residue of coffee grounds to replace the nutrient solution for growing hydroponic lettuce. **InterfacEHS - Revista de Saúde, Meio ambiente e Sustentabilidade**, v. 14, n. 2, 2019.

Embrapa. Análises de tecido vegetal: manual de laboratório. (M. R. F. Moller, I. de JM Viegas, A. de O. MATOS, & M. M. Parry, Eds.). Belém: Embrapa Amazônia. 1997.

Embrapa. Manual de métodos de análise de solo. (G. K. Donagema, D. V. B. de Campos, S. B. Calderano, W. G. Teixeira, & J. H. M. Viana, Eds.) Embrapa Solos (2a ed.). Rio de Janeiro: Embrapa Solos. 2011.

ESTRADA, A. E. R.; PECCHIA, J. Cultivation of *Pleurotus ostreatus*. **Edible and Medicinal Mushrooms**, p. 339–360, 2017.

FAN, L.; SOCCOL, C. R. Produção de cogumelo comestível do tipo *Pleurotus*, *Lentinus* e *Flammulina* em casca e borra de café. **II Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, p. 400–407, 2001.

FIGUEIRÓ, G. G.; GRACIOLLI, L.A. Influence of chemical composition of the substrate in the cultivation of *Pleurotus florida*. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v.35, n.5, p. 924-930. 2011.

FONSECA, T. R. B. *Pleurotus ostreatus* DPUA 1720: Avaliação do crescimento, produção de basidioma e determinação da atividade proteolítica em resíduos agroindustriais. **Dissertação de Mestrado em Biotecnologia pela Universidade Federal do Amazonas, Manaus**. 2013.

GARCÍA, M. C. C. DE et al. **Biologia de Hongos**. 2012.

GÜMÜŞ, İ.; ŞEKER, C. Effects of spent mushroom compost application on the physicochemical properties of a degraded soil. **Solid Earth**, 8(6), 1153-1160. 2017.

HOLGADO-ROJAS, M. E. et al. Cultivo de *Pleurotus sp.* y *Lentinula edodes* bajo condiciones artesanales en comunidades campesianas de la región Cusco/Perú. **Ecología Aplicada**, v. 18, n. 2, p. 125, 2019.

KARMEE, S. K. A spent coffee grounds based biorefinery for the production of biofuels, biopolymers, antioxidants and biocomposites. **Waste Management**, v. 72, n. November 2017, p. 240–254, 2018.

MARTOS, E. T.; HECK, K. Inoculação De Substrato Colonizado Como Alternativa Aos Pequenos Produtores De Cogumelos Comestíveis No Brasil. **Scientific Journal BIOFIX Scientific Journal**, v. 6, n. 1, p. 62–68, 2021.

MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Bio-refinery approach for spent coffee grounds valorization. **Bioresource Technology**, v. 247, n. July 2017, p. 1077–1084, 2018.



MENDES, A. M. S. Introdução a fertilidade do solo. **Embrapa Semiárido**, 2007.

MKHIZE, S. S. ZHARARE, G. E. BASSON, A. K, MTHEMBU, M. S. CLOETE, J. Performance of *Pleurotus pulmonarius* mushroom grown on maize stalk residues supplemented with various levels of maize flour and wheat bran. *Food Sci Technol* 37:570–577. 2017.

MURTHY, P. S.; NAIDU, M. M. Sustainable management of coffee industry by-products and value addition - A review. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 66, p. 45–58, 2012.

NUNES, R. DE M. et al. Resíduos agroindustriais: potencial de produção do etanol de segunda geração no Brasil. **Revista Liberato**, v. 14, n. 22, p. 135–150, 2013.

OWAID, M. N.; ABED, A. M.; NASSAR, B. M. Recycling cardboard wastes to produce blue oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* in Iraq. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 27, n. 7, p. 537–541, 2015.

PAREDES-JUÁREZ, A. K. et al. Applications of laccase enzymes of *Pleurotus ostreatus*. **Mexican Journal of Biotechnology**, v. 2, n. 1, p. 134–144, 2017.

PIMENTA, L. et al. Processo Eco-Amigável Para Selecionar Substrato Lignocelulósico Para Produção De Peptidases Ácidas / Eco-Friendly Process To Select Lignocellulosic Substrate for the Production of Acid Peptidases. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 3469–3479, 2021.

PINHEIRO, I. R.; AMBROZIM, F. M.; OLIVEIRA, V. M. Produção de celulasas por fermentação em estado sólido a partir de resíduos agroindustriais. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 10, p. 19056–19060, 2019.

R CORE TEAM. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria. Retrieved from <https://www.r-project.org/>. 2021.

RAMPINELLI, J. R. Utilização de casca de banana para a produção de Lacase por *Pleurotus sajor-caju* CCB 019. **Tese de doutorado em Engenharia Química pela Universidade Federal de Santa Catarina**, 2016.

R CORE TEAM. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria. Retrieved from <https://www.r-project.org/>. 2021

REIS, M. F. et al. Analysis of alternative substrates for the culture of *Pleurotus ostreatoroseus* and *pleurotus florida*. **Revista em Agronegocio e Meio Ambiente**, v. 3, n. 2, p. 79–91, 2010.

RODRIGUEZ-ZÚÑIGA, U. F. Desenvolvimento De Um Bioprocesso Para Produção De Celulases Específicas Na Cadeia Produtiva Do Etanol De Segunda Geração. **Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.**, p. 197, 2010.

SALES-CAMPOS, C. et al. Análise físico-Química e composição nutricional da matéria prima e de substratos pré e pós cultivo de *Pleurotus ostreatus*. **Interciencia**, v. 35, n. 1, 2010.

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

SÁNCHEZ, J. E.; ROYSE, D. J. **La Biología, el cultivo y las propiedades nutricionales y medicinales de las setas *Pleurotus spp.*** San Cristóbal de las Casas, Chiapas- México. 2017.

SILVA, L. R. I. DA. Produção De Ácido Giberélico Por Fermentação Em Estado Sólido a Partir De Resíduo Agroindustrial. **Dissertação de Mestrado; Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química**, p. 73, 2019.

SOCCOL, C. ARLOS R. Resíduo de café um substrato promissor para a produção industrial de bioprodutos com alto valor agregado. **I Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Palace Cassino, Poços de Caldas, MG, Brazil.**, n. 41, p. 83–98, 2002.

SOUZA, L. G. Cultivo de *Lentinula edodes* e *Pleurotus ostreatus* em bagaço de cana-de-açúcar. **Dissertação de mestrado em Microbiologia Aplicada pela Universidade Estadual Paulista**. Rio Claro, SP. 2016.

SOUZA, R. R. B. Incorporação do Substrato Gasto de Cogumelos de *Pleurotus ostreatus* nos atributos químicos de Luvisolo Crômico do Cariri Paraibano. **Trabalho de conclusão de curso para obter o título de Engenheira Agrônoma, Universidade Federal da Paraíba**, 2020

TAGLIARI, C. V. Desenvolvimento de bioprocessos para produção de cafeína e teofilina demetilases por *Rhizopus delemar* em fermentação no estado sólido utilizando casca de café

como substrato. **Tese de doutorado em Engenharia Química - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química**, 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5ª ed. Porto Alegre: [s.n.].

TAVARES, A. C. D. CULTIVO DO COGUMELO COMESTÍVEL *Pleurotus ostreatus* INPA 1467: Produção, composição centesimal e mineral. **Dissertação de mestrado em biotecnologia - Universidade Federal Do Amazonas - Ufam Programa Multi-Institucional De Pós-Graduação Em Biotecnologia**, 2015.

TEIXEIRA, M. C. V et al. Automation of solid state fermentation reactor for enzymes. **Revista Univap**, v. 25, n. 49, p. 1–12, 2019.

THONGKLANG, N. Testing agricultural wastes for the production of *Pleurotus ostreatus*. *Mycosphere* 7:766–772. 2016.

VAZ, P. M. Proposta de desenvolvimento de bioprocesso integrado para a Valorização da Borra de Café. **Monografia - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química**, 2019.

VEGA, A. et al. Cultivo de cepas nativas de *Pleurotus djamor* en Panamá, en papa de arroz y pulpa de café. **Revista Mexicana de Micología**, n. 23, p. 93–97, 2006.

VIEIRA, F. R. Substrato de cultivo para os cogumelos *Pleurotus ostratus* e *Acaricus bisorpus*: composição físico-química e metagenômica microbiana. 2016.

WOICIECHOWSKI, A. L. et al. Emprego de Resíduos Agroindustriais em Bioprocessos Alimentares. **Biotecnologia de alimentos**, n. May 2015, 2013.

ZÁRATE-SALAZAR, J. R. et al. Use of lignocellulosic corn and rice wastes as substrates for oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus* Jacq.) cultivation. **SN Applied Sciences**, v. 2, n. 11, 2020.

ZHANG, R. H.; DUAN, Z. Q.; LI, Z. G. Use of Spent Mushroom Substrate as Growing Media for Tomato and Cucumber Seedlings. **Pedosphere**, v. 22, n. 3, p. 333–342, 2012.