

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO

ROSSANA LUCENA DE MEDEIROS

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE
COGUMELOS COMESTÍVEIS *Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn
CULTIVADOS EM RESÍDUOS AGRÍCOLAS DE FOLHAS DE BANANEIRAS E
BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR**

JOÃO PESSOA-PB

2023

ROSSANA LUCENA DE MEDEIROS

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE
COGUMELOS COMESTÍVEIS *Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn
CULTIVADOS EM RESÍDUOS AGRÍCOLAS DE FOLHAS DE BANANEIRAS E
BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR**

JOÃO PESSOA-PB

2023

ROSSANA LUCENA DE MEDEIROS

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE
COGUMELOS COMESTÍVEIS *Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn
CULTIVADOS EM RESÍDUOS AGRÍCOLAS DE FOLHAS DE BANANEIRAS E
BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, como requisito para obtenção de título de Mestre em Ciências da Nutrição, na área de concentração Segurança, qualidade e funcionalidade de alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Fillipe de Oliveira Pereira

JOÃO PESSOA-PB

2023

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

M488c Medeiros, Rossana Lucena de.

Caracterização físico-química e atividade antioxidante de cogumelos comestíveis pleurotus djamor (Rumph. ex Fr.) Boedijn cultivados em resíduos agrícolas de folhas de bananeiras e bagaço de cana-de-açúcar / Rossana Lucena de Medeiros. - João Pessoa, 2023.

68 f. : il.

Orientador: Fillipe de Oliveira Pereira.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Cogumelos comestíveis. 2. Alimento funcional. 3. Antioxidantes. 4. Micoquímicos. I. Pereira, Fillipe de Oliveira. II. Título.

UFPB/BC

CDU 612.392.7(043)

ROSSANA LUCENA DE MEDEIROS

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE
COGUMELOS COMESTÍVEIS *Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn
CULTIVADOS EM RESÍDUOS AGRÍCOLAS DE FOLHAS DE BANANEIRAS E
BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Dissertação de mestrado apresentado em 22/ 09/ 2023

BANCA EXAMINADORA



Documento assinado digitalmente

FILLIPE DE OLIVEIRA PEREIRA

Data: 06/10/2023 11:37:30-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. FILLIPE DE OLIVEIRA PEREIRA
ORIENTADOR UAS/ CES/ UFCG
Presidente da Banca examinadora



Documento assinado digitalmente

MARIA ELIEIDY GOMES DE OLIVEIRA

Data: 07/10/2023 19:40:50-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dra. MARIA ELIEIDY GOMES DE OLIVEIRA
Examinador Interno DN/ CCS/ UFPB



Documento assinado digitalmente

NOÁDIA PRISCILA ARAÚJO RODRIGUES

Data: 07/10/2023 07:55:56-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dra. NOÁDIA PRISCILA ARAÚJO RODRIGUES
Examinador Externo DG/ CTDR/ UFPB

Prof. Dra. ESTEFÂNIA FERNANDES GARCIA
Examinador Suplente Interno DG/ CTDR/ UFPB

Prof. Dr. BRUNO DE OLIVEIRA DIAS
Examinador Suplente Externo DSER/ CCA/ UFPB

Dedico este trabalho aos meus que contribuíram em ação e pensamento positivo, mãe Eulália, pai Valdeci (*in memoriam*), irmãos Rossini e Rossandro, meu amado filho Álvaro, esposo Diego, professor dr. Fillipe pela compreensão e sabedoria, e em especial à Deus por ter me presenteado com todas as pessoas que passaram em minha vida e pelas oportunidades ofertadas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus**, nosso criador, por ter me propiciado a oportunidade de realizar mais um sonho, ter coragem de enfrentar e vencer os desafios tornando-me cada vez mais forte e capaz de superar meus limites;

Agradeço a minha amada mãe **Eulália**, que mesmo residindo distante, tem sempre me apoiado nas realizações dos meus sonhos, e dado forças e conselhos para ajudar a superar as dificuldades e a saudade;

Agradeço ao meu amado pai **Valdeci** (*in memoriam*), que mesmo tão longe dos nossos olhos, ajuda sua família e abre os melhores caminhos para nos guiar no caminho do bem, e nos conforta nas dores e na saudade;

Agradeço aos meus queridos irmãos **Rossini** e **Rossandro** pela compreensão e ajuda de sempre;

Agradeço ao meu mais sincero e puro amor, meu filho **Álvaro**, que mesmo tão pequeno dá força e sabedoria;

Agradeço ao meu esposo **Diego** que sempre me apoia e ajuda nas decisões e realizações dos meus desejos;

Agradeço a minha tia-avó **Analice** por ter sempre me acolhido em sua casa e apoiado em todas as minhas decisões;

Agradeço as minhas tias **Luzia** e **Fátima** e meus **avós** (*in memoriam*) pelos ensinamentos na busca do caminho mais correto e firme perante as adversidades da vida;

Agradeço à **Maisa** pela ajuda e apoio;

Agradeço imensamente ao meu orientador, Prof. **Fillipe**, pela generosidade, competência, sabedoria, e por ter se disponibilizado na condução deste trabalho;

Agradeço a **Rafael** por ter me ensinado a produzir cogumelos e pelo cuidado na condução do experimento;

Agradeço ao **Grupo de Pesquisa & Estudos em Cogumelos** por ter me acolhido e apoiado em todas as etapas de produção dos cogumelos;

Agradeço ao grupo **Fungi** pelo apoio nas pesquisas laboratoriais do cogumelo *Pleurotus djamor*;

Agradeço aos participantes da pesquisa, pela disponibilidade e colaboração na realização deste trabalho.

“Todas as pessoas estão presas numa mesma teia inescapável de mutualidades, entrelaçadas num único tecido do destino. O que quer que afete um diretamente, afeta a todos indiretamente. Eu nunca posso ser o que deveria ser até que você seja o que deve ser. E você nunca poderá ser o que deve ser até eu seja o que devo ser.”

Martin Luther King Jr.

RESUMO

Os cogumelos comestíveis são fungos visíveis a olho nu, pluricelulares, eucarióticos e heterotróficos. Rico em proteínas, carboidratos, fibras, vitaminas e minerais, possuem ação prebiótica, anticancerígena e imunomoduladora devido a presença de β -glucanas. Seu consumo está em crescimento e a China é a maior produtora mundial de cogumelos. O Brasil produz cogumelos para fins comerciais, e dentre eles estão champignon de paris, shiitake e shimeji como os mais produzidos. Cogumelos comestíveis podem ser produzidos por meio do uso de resíduos agrícolas. O cogumelo *Pleurotus djamor* possui coloração atrativa, baixo custo de produção e capacidade de se desenvolver bem nos resíduos agroindustriais. Nesse sentido, o trabalho investigou os efeitos dos substratos originados de resíduos agrícolas, folhas de bananeiras e bagaço de cana-de-açúcar, do município de Areia/PB, na caracterização físico-química e atividade antioxidante de cogumelos comestíveis *P. djamor*. Esses cogumelos foram cultivados em 5 (cinco) tratamentos com proporções diferentes de resíduos agrícolas por um período de 120 dias. Os cogumelos foram colhidos em 3 (três) ciclos de colheita, e após cada ciclo, foram secos em estufa de fluxo de circulação de ar forçada durante 3 (três) dias à temperatura de 45 °C. Posteriormente, foram realizadas, nos cogumelos secos, análise físico-química e caracterização micoquímica, análise de fenólicos e flavonoides totais, avaliação da atividade antioxidante dos extratos pelos métodos de DPPH e ABTS, e análise espectral de RMN-¹H. Em geral, os substratos produziram cogumelos com alto teor de proteína ($18,77 \pm 0,24\%$ a $17,80 \pm 0,34\%$) e fibra alimentar ($18,02 \pm 0,05\%$ a $19,32 \pm 0,39\%$), baixo teor lipídico ($0,28 \pm 0,08\%$ a $0,04 \pm 0,06\%$) e conteúdo calórico com valor máximo de $258,42 \pm 8,49$, sem diferenças significativas entre os cinco tratamentos ($p \geq 0,05$). Os cogumelos também exibiram altos níveis fenólicos e de flavonoides totais. A análise dos espectros de RMN-¹H indicou uma presença abundante de heteropolissacarídeos, β -glucanos, α -glucanos e oligossacarídeos, e todos os extratos de cogumelos exibiram alta atividade antioxidante. Nesse sentido, o estudo demonstrou que os cogumelos crescem bem em resíduos agrícolas com permanência de propriedades nutricionais e funcionais.

Palavras-chave: cogumelos comestíveis; alimento funcional; antioxidantes, micoquímicos.

ABSTRACT

Edible mushrooms are fungi visible to the naked eye, multicellular, eukaryotic and heterotrophic. Rich in proteins, carbohydrates, fiber, vitamins and minerals, they have prebiotic, anti-cancer and immunomodulatory action due to the presence of β -glucans. Its consumption is growing and China is the world's largest producer of mushrooms. Brazil produces mushrooms for commercial purposes, and among them are Paris mushrooms, shiitake and shimeji as the most produced. Edible mushrooms can be produced through the use of agricultural waste. The *Pleurotus djamor* mushroom has an attractive color, low production cost and the ability to grow well in agro-industrial waste. In this sense, the work investigated the effects of substrates originating from agricultural residues, banana leaves and sugarcane bagasse, from the municipality of Areia/PB, on the physical-chemical characterization and antioxidant activity of edible mushrooms *P. djamor*. These mushrooms were cultivated in 5 (five) treatments with different proportions of agricultural residues for a period of 120 days. The mushrooms were harvested in 3 (three) harvest cycles, and after each cycle, they were dried in a forced air circulation flow oven for 3 (three) days at a temperature of 45 °C. Subsequently, physical-chemical analysis and mycochemical characterization were carried out on the dried mushrooms, analysis of total phenolics and flavonoids, evaluation of the antioxidant activity of the extracts using DPPH and ABTS methods, and NMR- ^1H spectral analysis. In general, the substrates produced mushrooms with high protein content ($18.77 \pm 0.24\%$ to $17.80 \pm 0.34\%$) and dietary fiber ($18.02 \pm 0.05\%$ to $19.32 \pm 0.39\%$), low lipid content ($0.28 \pm 0.08\%$ to $0.04 \pm 0.06\%$) and caloric content with a maximum value of 258.42 ± 8.49 , without significant differences between the five treatments ($p \geq 0.05$). Mushrooms also exhibited high levels of phenolics and total flavonoids. Analysis of NMR- ^1H spectra indicated an abundant presence of heteropolysaccharides, β -glucans, α -glucans and oligosaccharides, and all mushroom extracts exhibited high antioxidant activity. In this sense, the study demonstrated that mushrooms grow well in agricultural residues with nutritional and functional properties remaining.

Keywords: edible mushrooms; functional food; antioxidants; mycochemical.

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS DA DISSERTAÇÃO

Figura 1 -	Ilustração de corpos de frutificação com poros (esquerda) e lâmina (direita) na porção inferior do píleo.....	19
Figura 2 -	Unidade Produtiva de <i>Pleurotus djamor</i>	22
Figura 3 -	Etapa de proliferação da cepa de <i>Pleurotus djamor</i>	31
Figura 4 -	Etapa de captação dos substratos e preparo das Unidades Produtivas.....	32
Figura 5 -	Desenho experimental e composição das Unidades Produtivas...	33
Figura 6 -	Etapa de proliferação de <i>Pleurotus djamor</i>	34
Figura 7 -	Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H	37

FIGURAS DO ARTIGO

Figura 1 -	Análise espectral de RMN de ^1H de <i>Pleurotus djamor</i>	64
Figura 2 -	Análise PCA de dados de RMN de ^1H de extratos hidroalcoólicos de <i>Pleurotus djamor</i>	65
Figura 3 -	Efeito de diferentes formulações de substratos na capacidade antioxidante de cogumelos <i>Pleurotus djamor</i> utilizando DPPH.....	66
Figura 4 -	Efeito de diferentes formulações de substratos na capacidade antioxidante de cogumelos <i>Pleurotus djamor</i> utilizando ABTS.....	66

LISTA DE TABELAS

TABELAS DA DISSERTAÇÃO

Tabela 1 - Parâmetros de aquisição para os espectros de RMN de ^1H de <i>Pleurotus djamor</i>	37
---	----

TABELAS DO ARTIGO

Tabela 1 - Várias formulações de substrato usadas para cultivar <i>Pleurotus djamor</i>	67
Tabela 2 - Parâmetros de aquisição para os espectros de RMN de ^1H de <i>Pleurotus djamor</i>	67
Tabela 3 - Efeitos de diferentes substratos de folhas de bananeira e bagaço de cana-de-açúcar na caracterização físico-química de cogumelos <i>Pleurotus djamor</i>	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AlCl ₃	Cloreto de alumínio
AOX	Antioxidantes
C	Carbono
CaCO ₃	Carbonato de cálcio
CaSO ₄	Sulfato de cálcio
cm	Centímetro
dC	Depois de Cristo
DCNT	Doenças Crônicas Não-Transmissíveis
DIC	Delineamento Inteiramente Casualizado
DP	Desvio Padrão
g	Grama
GPEC	Grupo de Pesquisa & Estudos em Cogumelos
HC	Análise Hierárquica de Cluster
H ₂ SO ₄	Ácido Sulfúrico
kcal	Quilocalorias
Kg	Quilograma
kPa	Quilopascal
L	Litro
MHz	Mega-Hertz
min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro
nm	Nanômetro
NaOH	Hidróxido de sódio
ODS	Objetivos de Desenvolvimento Sustentável
ONU	Organização das Nações Unidas
PB	Paraíba
PCA	Análise de Componentes Principais
ppm	Partes por milhão
RMN de ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de um Hidrogênio
SMS	<i>Spent Mushroom Substrate</i>

UFCG	Universidade Federal de Campina Grande
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
UP	Unidades Produtivas
UR	Umidade Relativa

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Graus Celsius
µg	Micrograma
µL	Microlitros
µg GAE/mL	Micrograma de equivalentes de ácido gálico por mililitro
µg QE/mL	Micrograma de equivalentes de quercetina por mililitro
µM AAE/mL	Micrometro de equivalentes de ácido ascórbico por mililitro
µM TE/mL	Micrometro de equivalentes de trolox por mililitro
µm	Micrometro
%SA	Atividade Scavenging

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
2.1	Cogumelos comestíveis.....	18
2.2	Cogumelos <i>Pleurotus djamor</i>.....	21
2.3	Produção sustentável de cogumelos.....	23
2.4	Resíduos agrícolas de folhas de bananeira e bagaço de cana-de-açúcar como substratos sustentáveis de cultivos de cogumelos comestíveis.....	28
2.4.1	Cultura de folhas de bananeira como substrato para desenvolvimento de <i>Pleurotus djamor</i>	28
2.4.2	Cultura de cana-de-açúcar como substrato para desenvolvimento de <i>Pleurotus djamor</i>	29
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	30
3.1	Delineamento experimental.....	30
3.1.1	Proliferação de cepa de <i>Pleurotus djamor</i>	30
3.1.2	Preparo dos substratos e das Unidades Produtivas para cultivo de <i>Pleurotus djamor</i>	31
3.1.3	Proliferação dos cogumelos <i>Pleurotus djamor</i>	33
3.2	Análise físico-química de cogumelos.....	35
3.3	Preparação de extratos de cogumelos.....	36
3.4	Caracterização micoquímica dos extratos de <i>Pleurotus djamor</i>.....	36
3.4.1	Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H (RMN- ^1H).....	36
3.4.2	Conteúdo de compostos fenólicos totais.....	37
3.4.3	Conteúdo de flavonoides totais.....	38
3.5	Determinação da atividade antioxidante dos extratos de <i>Pleurotus djamor</i>.....	38
3.5.1	Método ABTS.....	38
3.5.2	Método DPPH.....	39
3.6	Análise estatística.....	39
4	RESULTADOS.....	41

REFERÊNCIAS.....	42
APÊNDICE A - NUTRITIONAL AND ANTIOXIDANT POTENTIAL OF <i>Pleurotus djamor</i> (Rumph. ex Fr.) BOEDIJN PRODUCED ON AGRONOMIC WASTES BANANA LEAVES AND SUGARCANE BAGASSE SUBSTRATES.....	48

1 INTRODUÇÃO

Cogumelos são fungos que possuem corpo de frutificação visível a olho nu e que podem ser manipulados com as mãos (Redin, 2021). Chamado de macrofungo, eles podem se desenvolver acima do solo, recebendo o nome de epígeos, assim como podem crescer abaixo do solo, hipógeos (Niazi; Ghafoor, 2021).

São formados por micélio, corpo do fungo, hifas que penetram no substrato e, de maneira sexuada, formam os esporos. Os esporos maiores desenvolvem os cogumelos. A nutrição dos cogumelos ocorre por meio de outros organismos, seja de origem vegetal ou animal, de onde retiram os nutrientes necessários para se desenvolver (Gupta *et al.*, 2018).

Os cogumelos são fonte de proteínas, minerais, vitaminas, aminoácidos essenciais, polissacarídeos, terpenos, esteroides e fibras β -glucanas, e possuem um baixo teor de lipídios (Bellettini *et al.*, 2019). Contêm compostos fenólicos, p-cumárico, p-hidroxibenzóico e ácido protocatecuico capazes de eliminar os radicais livres presentes no organismo (Finimundy *et al.*, 2018).

Atualmente são conhecidas 16 mil espécies de cogumelos. Dentre elas, 7 mil fazem parte da alimentação do ser humano, sendo 200 espécies utilizadas como super alimento e 700 para uso terapêutico. Apenas 35 espécies são cultivadas comercialmente, com 10 em escala industrial (Niazi; Ghafoor, 2021).

A produção dos cogumelos ocorre de maneira satisfatória quando o meio de desenvolvimento é rico em lignina e celulose. Estes compostos são encontrados principalmente nos resíduos agrícolas e animais mortos. Característica, esta, que promove aos cogumelos o título de excelentes recicladores do meio ambiente (Bellettini *et al.*, 2019).

Folhas de bananeiras, casca de coco e milho, e palhas de arroz, trigo e cevada, são alguns dos resíduos agrícolas que propiciam um excelente desenvolvimento aos cogumelos e uma boa capacidade enzimática, transformando-os em proteína (Zárate-Salazar *et al.*, 2020).

No Brasil, o cultivo comercial de cogumelos ocorre com as espécies *Agaricus bisporus* (champignon de Paris), *Lentinula edodes* (shiitake) e *Pleurotus* spp. (shimeji) (Bellettini *et al.*, 2019).

A espécie *Pleurotus djamor*, objeto deste estudo, se desenvolve bem por meio da degradação dos compostos lignocelulósicos. O excesso de resíduos no solo favorece a decomposição, produz gases que evaporam e poluem o meio ambiente. O

cultivo dos cogumelos reduz a emissão destes gases, imobiliza o Nitrogênio (N) formado pelos resíduos e diminui a proliferação de pragas (Zárate-Salazar *et al.*, 2020).

Estima-se que no ano de 2030 a população seja de aproximadamente 8 bilhões de pessoas no mundo, e mais de 9 bilhões em 2050 (Grosso *et al.*, 2020). Junto a este crescimento está a necessidade de produzir o dobro de proteína de origem animal para atender de maneira satisfatória esse crescimento populacional, de acordo com a recomendação da Organização das Nações Unidas (ONU) para Agricultura e Alimentação (Albertia *et al.*, 2021).

Ainda segundo Albertia *et al.* (2021), a pecuária degrada o solo, polui a água, impacta na biodiversidade e altera os ciclos de Nitrogênio e carbono (C). O aumento da pecuária para poder atingir uma produção suficiente à população crescente impactará ainda mais o meio ambiente.

Assim, a agenda 2030 das Nações Unidas para o Desenvolvimento Sustentável e seus 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) é considerado o melhor caminho a seguir para solucionar os problemas gerados com esse crescimento populacional (Grosso *et al.*, 2020).

A reciclagem de resíduos agrícolas é considerada uma estratégia na produção agrícola atual. E os cogumelos, que são recicladores naturais, podem ser cultivados nestes resíduos e servir de alimento, visto a riqueza nutricional desse fungo (Grimm; Kuenz; Rahmann, 2021).

O cogumelo *P. djamor* é adaptado ao clima mais ameno do município de Areia (18°C a 31°C), região do brejo paraibano, fato que facilita a produção. Além disso, pode ser cultivado em resíduos agrícolas e ter variações nas quantidades de antioxidantes (AOX) e nutrientes, de acordo com o meio de cultivo.

Dessa forma, este trabalho teve como objetivo geral investigar os efeitos dos substratos de cultivo originados de resíduos agrícolas do município de Areia/PB na caracterização físico-química e atividade antioxidante de cogumelos comestíveis *Pleurotus djamour*.

Como objetivos específicos teve-se: i) avaliar a viabilidade dos resíduos folhas de bananeira e bagaço de cana-de-açúcar como substratos para o crescimento de cogumelos *P. djamor*; ii) analisar a influência dos substratos com diferentes composições de folhas de bananeiras e bagaço de cana-de-açúcar no potencial nutricional, micoquímico e propriedades antioxidantes de *P. djamor*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cogumelos comestíveis

Os cogumelos fazem parte do reino *Fungi*. São classificados como seres uni e pluricelulares, eucarióticos e heterotróficos (Pazza *et al.*, 2019).

Considerados macrofungos, os cogumelos comestíveis podem ser vistos a olho nu, sem necessidade de lentes de aumento. Fazem parte dos filos basidiomicetos e ascomicetos, com esporos fúngicos localizados nos *basidium* ou *ascus*, respectivamente. A porção visível é denominada corpo de frutificação. Pode se desenvolver acima do solo, sendo chamado de epígeo, ou abaixo, hipógeo (Gupta *et al.*, 2018).

Quanto à forma de obter nutrientes, são classificados em alguns grupos. Os que se alimentam de matéria orgânica morta, denominados saprófitos; quando fazem relação de simbiose entre micélios de cogumelos e raízes de quase todas as plantas verdes, os micorrízicos; os que vivem de lignina, como madeira de árvores, são classificados como lignícolas; parasitários são os encontrados nas plantas vivas; os entomógenos vivem em associação com insetos; e, por fim, os coprófilos, que se desenvolvem em esterco de animais (Chang; Wasser, 2017).

O corpo de frutificação possui subdivisões. As mais comuns são denominadas de píleo (chapéu), lamela, lâminas, anel, estipe (pé) e volva (**Figura 1**) (Baptista-Ferreira; Silva; Vicente, 2013).

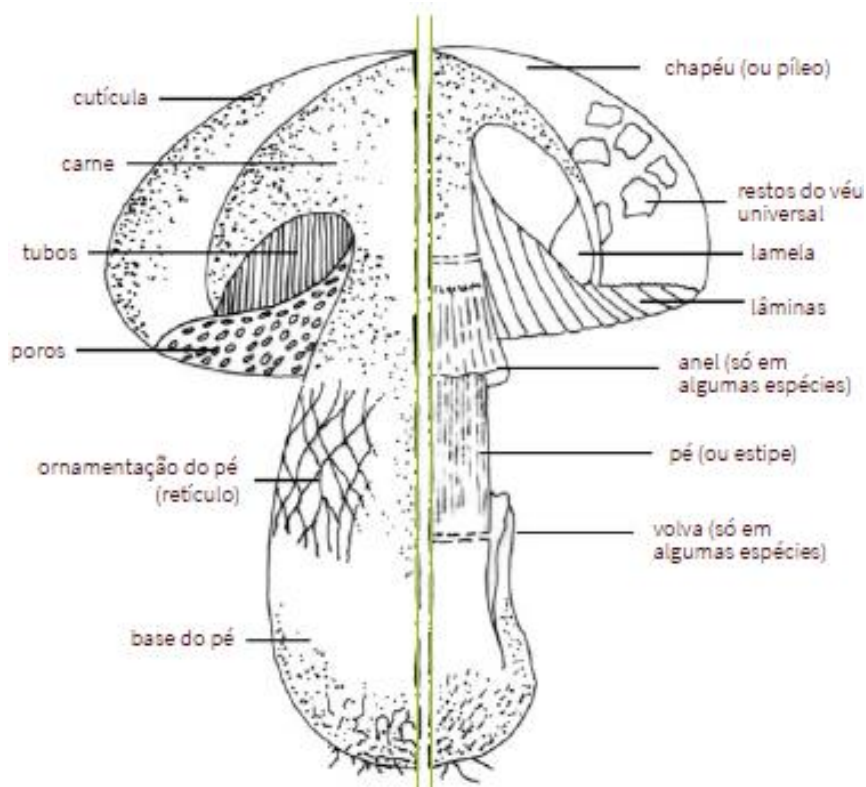
Em contexto geral, o corpo de frutificação é denominado de cogumelo. O micélio corresponde a parte vegetativa e inclui as hifas, que são um sistema de fios ramificados e cordões que se conectam por dentro do solo, substrato, toras de madeira ou qualquer outro meio rico em lignina e celulose que são os responsáveis pelo crescimento do fungo (Chang; Wasser, 2017).

A nutrição dos cogumelos ocorre pela decomposição da matéria orgânica viva ou morta encontrada no meio. Essa decomposição favorece a transformação da matéria orgânica em inorgânica, e facilita a metabolização por plantas e demais organismos. Eles não possuem clorofila, e dependem do meio ambiente para se alimentar e obter energia (Timm, 2018).

Os cogumelos são classificados em quatro categorias maiores. Comestíveis, são aqueles que podem ser consumidos pelo ser humano; os medicinais, possuem ação terapêutica; venenosos, que não devem ser consumidos pelos indivíduos; e, os

de categoria variada, são aqueles que não possuem uma característica definida (Chang; Wasser, 2017).

Figura 1 - Ilustração de corpos de frutificação com poros (esquerda) e lâmina (direita) na porção inferior do píleo



Fonte: Baptista-Ferreira; Silva; Vicente (2013).

Pouco mais de 14000 espécies de cogumelos foram identificados. Dessas, apenas 10% são comestíveis. E, somente 700 espécies são seguras para o consumo humano e consideradas benéficas (El-Ramady *et al.*, 2022).

Os cogumelos comestíveis são considerados um alimento ideal para ser introduzido na alimentação do ser humano. Possuem como maior constituinte a água (90%), seguido de proteínas (12 a 40%), carboidratos (40 a 60%), fibras brutas (3 a 32%), cinzas (8 a 10%) e gordura (2 a 8%). Mesmo em baixa quantidade, a gordura é considerada de boa qualidade, o ácido linoleico. Contém ainda o ergosterol, que é o precursor da vitamina D. Por isso, os cogumelos são considerados um alimento ideal para ser introduzido na alimentação do ser humano (Thakur, 2020).

Possuem entre 20 e 35% de proteínas em matéria seca, 9 aminoácidos essenciais, vitaminas, minerais e um baixo teor de lipídios (Bellettini *et al.*, 2019).

Ricos em fibras que beneficia a saúde do ser humano. A presença de β -glucanas em sua composição favorece ação prebiótica, anticancerígena e imunomoduladora (Carrasco-González; Serna-Saldívar; Gutiérrez-Urbe, 2017).

As β -glucanas são polissacarídeos que formam a parede celular dos fungos. Sua função é a de modificar a microbiota intestinal, e modular o sistema imunológico, efeitos metabólicos e gastrointestinais. Atuam como coadjuvante no tratamento dos cânceres de pâncreas, cabeça e pescoço, células não pequenas de carcinoma de pulmão, linfoma não Hodgkin, câncer colorretal, neuroblastoma e triplo câncer de mama negativo (Cerletti; Esposito; Iacoviello, 2021).

Além de serem ricos em vários nutrientes necessários ao ser humano, os cogumelos possuem alto teor de polissacarídeos, fibras dietéticas, proteoglicanas e vitaminas, riboflavina e tiamina. Têm compostos bioativos à saúde, antioxidantes, terpenóides, lecitinas, fenólicos/ polifenólicos e ergosteróis (El-Ramady *et al.*, 2022).

As fibras solúveis e as β -glucanas atribuem aos cogumelos poder medicinal, ao promover aumento de macrófagos, monócitos e da função imunológica. Promove a proliferação e/ou produção de anticorpos e ocitocinas, evita a regeneração e retarda o desenvolvimento do câncer, assim como da metástase (Orsine; Brito; Novaes, 2012).

Os cogumelos atuam nas três classificações de saúde do ser humano, saúde, subsaúde e doença. Age como alimento, remédio e suplemento dietético. É usado como coadjuvante para minimizar os efeitos nocivos da radioterapia e da quimioterapia nos pacientes com câncer (Thakur, 2020).

Reis Júnior *et al.* (2021) corrobora quando refere que os cogumelos são utilizados como alimento funcional, nutracêutico e no tratamento e prevenção de doenças.

Alimento funcional é aquele que promove redução no risco de doenças, e alimento nutracêutico, possui substância, extrato ou componente do alimento que proporciona bem-estar, previne e/ou trata alguma patologia ou distúrbio (Reis *et al.*, 2017).

Devido ao aumento por alimentos mais saudáveis, centrado em produtos sustentáveis e menos alimentos de origem animal, a produção global de cogumelos aumentou em até cinco vezes desde 1990 (You *et al.*, 2022).

Tendo em vista que, a nível mundial, o consumo corresponde a 12,74 milhões de toneladas. A previsão é que a produção global até o ano de 2026 aumente para 20,84 milhões de toneladas (El-Ramady, *et al.*, 2022).

Os cogumelos mais conhecidos e cultivados mundialmente são *Agaricus bisporus*, conhecido pelos nomes cogumelo botão, cogumelo de Paris, champignon ou Portobello; *Lentinula edodes*, chamado de shiitake, e *Pleurotus* spp., popularmente chamado de cogumelo ostra ou shimeji (Mahari *et al.*, 2020).

A China, particularmente o norte do país, possui a maior produção de cogumelos devido ao clima variar de temperado à quente. Nos países de clima tropical, como por exemplo o Brasil, a espécie de cogumelo ostra é mais adequada para o cultivo (Grimm; Kuenz; Rahmann, 2021).

Champignon, shiitake e shimeji são os tipos de cogumelos produzidos no Brasil em escala comercial (Bellettini *et al.*, 2019).

Um grande número de *Pleurotus* foram identificados, comercializados e cultivados em diversos tipos de resíduos agrícolas lignocelulósicos. Corroborando com sua versatilidade de produção, esses cogumelos estão distribuídos em regiões de clima tropical e temperado. Compostos por aproximadamente 40 espécies, os mais comuns são: *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus citri nopileatus*, *Pleurotus djamor* var. *roseus* e *Pleurotus florida* (Raman *et al.*, 2021).

2.2 Cogumelos *Pleurotus djamor*

Os índios Yanomamis, desde os tempos mais remotos consomem cogumelos. O cogumelo *P. djamor* (**Figura 2**) era encontrado em troncos de embaúba e, em menor frequência, nas florestas. Após a colheita, o *P. djamor* era cozinhado em folhas de árvores e assado na brasa, temperado com pimenta em pó e servido com beiju e banana (*Musa* spp.) verde assada (Instituto Socioambiental, 2016).

Os cogumelos do gênero *Pleurotus* spp são considerados saudáveis e funcionais, e de sabor e aroma atrativos ao paladar. Comestíveis, comercialmente importantes e cultivados a nível mundial. Seus basidiocarpos possuem o formato de ostra ou concha, com cores variadas como, branco, creme, cinza, rosa, amarelo ou marrom claro (Raman *et al.*, 2021).

Os cogumelos *P. djamor* são ricos em minerais. Promove a redução na incidência de doenças cardiovasculares e possui atividade anti-hipercolesterolêmica, pois tem baixa quantidade de lipídios (Barh *et al.*, 2021).

Figura 2 - Unidade Produtiva de *Pleurotus djamor*



Fonte: Autor (2022).

Contém β -glucanos isolados como um dos seus constituintes, que propicia ação citotóxica contra carcinoma de ovário. Em associação com o zinco, promove ação antioxidante no fígado e nos rins (Zieba *et al.*, 2021).

Este tipo de *Pleurotus* também apresenta na sua composição mevinolina e ácido nicotínico. Compostos que promovem redução no nível de colesterol sanguíneo, ação benéfica ao ser humano, especialmente aos cardiopatas (Raman *et al.*, 2021).

Os constituintes fitoquímicos do *P. djamor* são idênticos aos demais cogumelos dos *Pleurotus* spp. Os extratos fabricados produzem ação analgésica intensa, anti-inflamatória e antipirética, e os extratos brutos apresentam propriedades de eliminar os radicais livres, ação antimicrobiana e antiplaquetária (Acharya; Khatua; Ray, 2017).

O consumo de *Pleurotus* vem crescendo, devido a excelente quantidade de proteínas existente em sua composição. Bem como, um teor alto de fibras dietéticas e aminoácidos essenciais e não essenciais (Raman *et al.*, 2021).

Atraído pela cor rosa e textura que se compara a carne fria, o *P. djamor* tem ganhado o gosto do público. Resistente a pragas, possui baixo custo de produção, facilidade de crescer em temperaturas mais altas (35°C) e de se desenvolver em diversos tipos de resíduos agrícolas (Zieba *et al.*, 2021).

Serragem, papel, palhas de cereais, milho, bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp. L.), resíduo de café, folhas de bananeira, resíduo de agave e polpa de soja são alguns resíduos agrícolas utilizados na produção de *P. djamor* (Rampinelli, 2009).

2.3 Produção sustentável de cogumelos

Considerada uma cultura muito antiga, o cultivo de cogumelos ocorre há milhares de anos. Os chineses produzem desde 600 dC. É a civilização pioneira, e cultiva uma extensa variedade de cogumelos, como *Auricularia auricula-judae*, *Flammulina velutipes*, *Lentinula edodes*, *Volvariella volvacea* e *Tremella fuciformis* (Chang; Wasser, 2017).

Ainda segundo Chang; Wasser (2017), por volta de 1650 dC a França passou a produzir comercialmente *A. bisporus*, iniciou e difundiu sua mecanização. Tendo culminância após a Segunda Guerra Mundial, em que a produção de cogumelos cresceu de maneira substancial e outros países passaram a cultivar.

O polo de produção mundial de cogumelos permanece a China, com aproximadamente (35%) da produção mundial. O conjunto dos países asiáticos produzem (76%) dos cogumelos comercializados, a Europa (17,2%) e os Estados Unidos (5,9%) (Mahari *et al.*, 2020).

O consumo de cogumelos existe há bastante tempo. Dos mais de 200 espécies usadas como alimento funcional, apenas 35 são cultivadas para fim comercial (Bellettini *et al.*, 2019).

Gomes *et al.* (2023), refere que estudos atuais apontam os cogumelos como possuidor de fontes nutritivas promissoras. O Brasil é um país com grande biodiversidade: cerca de 50 mil espécies nativas de plantas, fungos e algas; e mais de 100 mil espécies de animais. Entretanto, possui um conhecimento limitado para essas outras fontes alimentares.

O excelente valor nutricional e baixo custo de produção contribuem para uso dos cogumelos como fonte alternativa de proteína de origem animal e vegetal (Raman *et al.*, 2021).

A agroindústria gera uma grande quantidade de matéria orgânica, denominada de resíduo agrícola, sem valor comercial e alimentício. Quando queimados ou abandonados no solo, causam poluição ao meio ambiente em decorrência do processo de decomposição e evaporação de gases (Chang; Wasser, 2017).

Essa matéria orgânica é fonte rica em lignina e celulose. Substâncias excelentes na produção de cogumelos (Thakur, 2020).

A quantidade de resíduos agrícolas produzidos mundialmente é grande. Cerca de 70% da biomassa agrícola e florestal produzida são resíduos (Chang; Wasser, 2017).

Ainda para Chang; Wasser (2017), da cana-de-açúcar produzida, somente (17%) é utilizada como biomassa nas usinas, e aproximadamente (83%) é descartada na forma de resíduo agrícola. E, das árvores derrubadas para extração de celulose, entre (20% e 30%) são utilizadas como biomassa na indústria, o que sobra (80% a 70%) é dejetado agrícola. Esses números mostram que ocorre uma perda considerável na agricultura, e por serem ricos em substância lignocelulósica, os resíduos são potenciais na produção de cogumelos comestíveis.

Somente o estado da Paraíba produziu 131.102 toneladas de cachos de banana e 5.630.113 toneladas de cana-de-açúcar no ano de 2021. A produção de banana fica concentrada na mesorregião do brejo paraibano, considerada a principal produtora do estado. Somente o município de Areia em 2021 teve uma produção de banana que somou 11.400 toneladas de cachos/ano e 32.500 toneladas/ano de cana-de-açúcar (IBGE, 2021).

De acordo com esses dados, o município de Areia produz uma quantidade de resíduos agrícola considerável. Portanto, foram utilizados, nesta pesquisa, os resíduos agrícolas folhas secas de bananeira e bagaço de cana-de-açúcar na produção de cogumelos *Pleurotus djamor*.

Volvariella sp, *Lentinula edodes* e *Pleurotus* spp são exemplos de cogumelos que degradam os resíduos agrícolas. Eles captam celulose, hemicelulose e lignina dos resíduos para crescer, transformando-os. Assim, o que sobra da biotransformação não causa problemas toxicológicos ao solo e meio ambiente (Rampinelli, 2009).

As folhas de bananeira e o bagaço de cana-de-açúcar são ricos em lignina. Sendo um dos fatores importante na escolha desses substratos para o cultivo dos cogumelos (Carvalho *et al.*, 2012; Mahari *et al.*, 2020).

O uso de resíduos como substrato para cultivo de cogumelos pode ser uma alternativa efetiva e sustentável. Otimiza custos e reduz os impactos ambientais (Martins *et al.*, 2018).

Também é importante para a saúde humana. Reduz a pobreza, diminui a degradação ambiental e promove o crescimento econômico. Transforma os resíduos lignocelulósicos em produtos como alimentos, suplementos dietéticos, fitoterápicos e cosméticos (Chang; Wasser, 2017).

A reciclagem é tida como tema determinante na atualidade. O sistema agrícola está sofrendo impactos com aumento da população mundial, mudanças no clima e escassez dos recursos não renováveis. Para atender em número e qualidade

nutricional, resíduos vegetais pobres em nutrientes, como por exemplo palha, cascas, folhas e caules, são utilizados na queima, adubo para o solo ou, simplesmente, descartado no campo de maneira não planejada. No entanto, são ricos em nutrientes necessários para o desenvolvimento dos cogumelos como a lignina, celulose e hemicelulose (Grimm; Kuenz; Rahmann, 2021).

Assim, a produção de cogumelos ajuda a reduzir o excesso de matéria morta e contaminação do solo. Para ocorrer o crescimento dos cogumelos faz necessário a presença de Nitrogênio e lignina, compostos encontrados na matéria viva ou morta de animais e plantas (Pazza *et al.*, 2019).

Este tipo de produção corresponde ao sistema de economia circular. Favorece melhorias na sustentabilidade ambiental, promove qualidade às pessoas e meio ambiente. A economia circular possui ação relevante no Pacto Verde Europeu e nos planos de ação das cidades (Dorr *et al.*, 2021).

As Nações Unidas mensuram que a população mundial deva chegar a 9,5 bilhões de pessoas nos próximos 50 anos. Alternativas devem ser analisadas e implantadas a fim de produzir alimentos que não prejudique o meio ambiente e que seja resistente as futuras condições ambientais e climáticas (Albertia *et al.*, 2021).

Estudos mostram que existe uma uniformidade na biodiversidade alimentar da população. Uma pesquisa de meta-análise com 59 países de baixa renda durante 50 anos mostrou que existe semelhança nacional na composição alimentar. Esta uniformidade prejudica a segurança alimentar (Gomes *et al.*, 2023).

A atual forma de produzir alimentos é limitada e prejudica o meio ambiente. O desmatamento praticado e a retirada de pastagem natural para plantio são práticas não sustentáveis, indo na contramão da necessidade do mundo atual. Gera baixa fertilidade ao solo, favorece a escassez de água e contaminação do meio ambiente (Rahmann *et al.*, 2021).

Dessa forma, foi desenvolvida a Agenda 2030 para os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável. Ela representa união internacional que incentiva todos os países, independente da renda, a atingir as 17 metas propostas (Grosso *et al.*, 2020).

A maior parte dessas metas corresponde a segurança alimentar e nutricional. Abrange países de baixa, média e alta renda. Possui como objetivos acabar com a desnutrição em todas as suas formas, melhorar a saúde, as mudanças climáticas e a

degradação ambiental, combater as desigualdades e garantir justiça social (Fanzo, 2019).

As 17 metas são respectivamente: erradicação da pobreza, fome zero e agricultura sustentável, saúde e bem-estar, educação de qualidade, igualdade de gênero, água potável e saneamento, energia limpa e acessível, trabalho decente e crescimento econômico, indústria, inovação e infraestrutura; redução das desigualdades; cidades e comunidades sustentáveis, consumo e produção responsáveis; ação contra a mudança global do clima; vida na água; vida terrestre; paz, justiça e instituições eficazes, e parcerias e meios de implementação (Grosso *et al.*, 2020).

A meta 2 se refere à “Fome zero”, ou seja, acabar com a fome. Esta meta influencia diretamente o desenvolvimento das crianças. Mundialmente, existe cerca de 150 milhões de crianças menores de 5 anos de idade com atrofia e 20 milhões de recém-nascidos com baixo peso ao nascer. Somente o sudeste da Europa possui 10% de crianças abaixo de 5 anos com nanismo (Grosso *et al.*, 2020).

O consumo de cogumelos comestíveis busca aumentar a qualidade do cardápio de alimentos consumidos pelos seres humanos. Uma vez que são ricos em proteínas, vitaminas, minerais e fibras alimentares, possuem baixo teor de lipídios, e possuem agentes prebióticos e antioxidantes na sua composição (Jacob *et al.*, 2023).

A alimentação abaixo da recomendada para cada faixa etária é característica de múltiplos fatores. O sistema alimentar é um fator importante para entender como ele está mudando a capacidade de fornecer os alimentos nutritivos e minimizar os impactos ambientais negativos (Fanzo, 2019).

A meta 3 fala da “Boa saúde e bem-estar”, isso demonstra que a desnutrição está relacionada a deficiências nutricionais e a sobrepeso/obesidade. Estes fatores contribuem com o risco de problemas na saúde mental do indivíduo, como baixa auto-estima, baixa nas habilidades cognitivas, e baixo rendimento escolar e profissional (Grosso *et al.*, 2020).

A meta 12 se refere ao modelo econômico circular. Em que a maneira de pensar o sistema alimentar deve ser voltada para uma forma sustentável local, independente de importação. Os desafios são, a economia do país, que deve ser satisfatória pela necessidade de realizar compra constante; e, a segurança alimentar, em que o importador não consegue acompanhar a política praticada na produção, colheita e distribuição dos alimentos (Rahmann *et al.*, 2021).

O sistema alimentar corresponde ao fornecimento de uma variedade de insumos para compor a alimentação do indivíduo. Perpassa pela produção, processamento, distribuição, preparo e consumo. E as dietas sustentáveis, corresponde àquelas que prejudicam o mínimo possível o meio ambiente e favorece à saúde da população por meio de uma nutrição adequada (Fanzo, 2019).

Portanto, a produção de cogumelos ao realizar simbioses nos resíduos agrícolas promove a economia circular. Alguns cogumelos comestíveis crescem naturalmente na matéria orgânica decomposta dos resíduos, que são ricos em nutrientes e carbono orgânico. O que fica após colheita é o *Spent Mushroom Substrate* (SMS), ou seja, substrato gasto de cogumelo, que é usado na correção do solo, na ração animal, biocombustível, tratamento de águas residuais e como material para embalagem (Dorr *et al.*, 2021).

O SMS é rico em material nitrogenado e componentes lignocelulósicos parcialmente degradados. Quando misturados ao esterco animal ou excremento humano se transforma em biodigestor, com produção de biogás e fertilizante orgânico nitrogenado de boa qualidade (Chang; Wasser, 2017).

Dessa forma, a economia circular tem por objetivo fechar uma cadeia de produção. Reutilizar, reciclar, recuperar e reduzir são os princípios norteadores da economia circular (Dorr *et al.*, 2021).

O atual sistema de produção de alimento favorece o aparecimento de Doenças Crônicas Não-Transmissíveis (DCNT) no homem com aumento de mortalidade, e degrada o meio ambiente. Quanto ao meio ambiente, este tipo de produção favorece o uso irracional da terra, degradação, erosão e perda da biodiversidade silvestre, emissão de gases de efeito estufa, contaminação e mau uso da água e impacto da biodiversidade genética (Jacob, 2021).

Os alimentos para serem ideais possuem algumas características, como: qualidade e quantidade satisfatórias, devem ser saudáveis, acessíveis, seguros e fazerem parte da cultura alimentar do local da população alvo (Fanzo, 2019).

No entanto, a produção de alimentos não garante acesso a todas as pessoas. A biodiversidade pode fornecer uma quantidade maior de alimentos e preferências que pode melhorar o acesso, a segurança e a quantidade adequada de nutrientes na dieta (Jacob, 2021).

2.4 Resíduos agrícolas de folhas de bananeira e bagaço de cana-de-açúcar como substratos sustentáveis de cultivos de cogumelos comestíveis

O município de Areia está localizado no topo da Serra da Borborema, brejo de altitude paraibano. Possui solo, clima e hidrografia favoráveis a cultura da cana-de-açúcar e demais para subsistência (Moraes, 2008).

Entre os anos de 1970 e 1990 os solos da microrregião do brejo paraibano passaram por uso intenso, especialmente com a monocultura da cana-de-açúcar. Ainda neste período houve o fechamento das duas usinas de refinamento de açúcar da região, Usina Santa Maria e Usina Tanques, e a crise do Proálcool. Com isso, houve a redução do plantio de cana-de-açúcar para culturas voltadas para agricultura familiar, como a banana (Lima *et al.*, 2014).

O Censo Agro 2017 mostra os estabelecimentos rurais e agricultores, e quantifica a produção de agroindústria, lavoura e pecuária. A produção nacional de cana-de-açúcar foi (638.689.875 toneladas), e de banana foi (4.025.937 toneladas). A Paraíba teve uma produção de cana-de-açúcar na ordem de (5.109.030 toneladas) em (2,6 mil) estabelecimentos, e de banana (39.015 toneladas) de frutos colhidos em (5,2 mil) estabelecimentos produtores (IBGE, 2017).

2.4.1 Cultura de folhas de bananeira como substrato para desenvolvimento de *Pleurotus djamor*

A nível mundial, o Brasil é destaque na atividade agrícola. No entanto, o desenvolvimento da tecnologia voltada ao campo, produção e qualidade crescente favorece um aumento dos resíduos agrícolas (Silva *et al.*, 2021).

As bananeiras chegaram ao continente americano pelo Frei Tomas de Berlenga em 1516. Em meados do século XIX, atingiu o segundo lugar de produção de banana a nível mundial, com queda nos anos 30 e períodos da primeira e segunda guerras mundiais (Florentino, 2020).

Ainda para Florentino (2020), a produção de banana ocorre em todo território brasileiro. A maior concentração está na Bahia (88 mil hectares), seguido de São Paulo (59.158 mil hectares), Pará (35.916 mil hectares) e Minas Gerais (47.865 mil hectares).

As bananeiras rebrotam em muitas quantidades, sendo necessário remover algumas plantas para uma produção satisfatória do cacho de banana. Assim, as folhas e o pseudocaule formam uma camada no solo que evita erosão, compactação e

devolve nutrientes pela decomposição. Boa parte desse resíduo não sofre decomposição e favorece a proliferação de microrganismos, com elevação do Nitrogênio e prejuízo no desenvolvimento das plantas (Rampinelli, 2009).

2.4.2 Cultura de cana-de-açúcar como substrato para desenvolvimento de *Pleurotus djamor*

A cana-de-açúcar é considerada a principal fonte para a produção de açúcar, etanol e aguardente. Tem sua origem na Oceania, Nova Guiné e Ásia, bem como Índia e China. As plantas cultivadas no Brasil são híbridas multiespecíficas. Preferem climas tropicais e subtropicais, e se adaptam bem ao Brasil (Adabe, 2020).

A produção brasileira de cana-de-açúcar é maior no Centro-Sul e Norte-Nordeste. O estado de São Paulo é o maior produtor. Cerca de 40% do açúcar produzido é exportado (Souza *et al.*, 2022).

Entre os anos de 2020 e 2021 houve aumento na produtividade de cana-de-açúcar na região nordeste (2,5%), com área de 857,6 mil hectares de produção. A Paraíba possui área de produção estimada em 133,9 mil hectares. O Pernambuco com maior área (251,1 mil hectares) e o Rio Grande do Norte com a menor (67,6 mil hectares) (CONAB, 2020).

As culturas de cana-de-açúcar e de banana predominam no município de Areia. Os resíduos dessas culturas, deixados no solo, são ricos em lignina e celulose, substâncias importantes para o desenvolvimento de cogumelos comestíveis. O cultivo de cogumelos através de resíduos abrange as ODS nas metas 2, 3 e 12, bem como a economia circular e dieta sustentável.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Delineamento Experimental

3.1.1 Proliferação de cepa de *Pleurotus djamor*

A etapa de proliferação da cepa PDJR2/UFPB (**Figura 3**) de *P. djamor* ocorreu no Laboratório de produção de cogumelos comestíveis e no Laboratório de matéria orgânica dos solos do Departamento de Solos da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), *Campus II*, Areia-PB. O experimento aconteceu em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC).

A cepa de *P. djamor*, PDJR2/UFPB, utilizada no experimento, foi cedida pelo Grupo de Pesquisa & Estudos em Cogumelos (GPEC) da UFPB, Areia/PB.

A preparação dos inóculos seguiu a metodologia de Moreaux (2017) e Zárate-Salazar *et al.* (2020) com algumas modificações. Inicialmente, foram produzidos inóculos primários pela transferência, em câmara de fluxo laminar vertical (Biodone), da cepa recém cultivada em meio ágar batata dextrose para um preparado de grãos rico em amido, do tipo alpiste (*Phalaris canariensis* L.).

Esse preparado de grãos ricos em amido foi feito com base no aquecimento (75°C) em fogão à gás dos grãos de alpiste (1,5Kg - Marca Kodilar - São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil) por, aproximadamente, 20 min. para ativar o amido, os quais foram colocados em mesa forrada com papel para secar à temperatura ambiente ($28 \pm 2^\circ\text{C}$). Na sequência, foi misturado 3g de Carbonato de cálcio (CaCO_3) e 13g de Sulfato de cálcio (CaSO_4) por quilograma de grão de alpiste aquecido até homogeneização completa. Após realizar a homogeneização, 16 sacos transparentes e resistentes de polipropileno (25cm x 30cm x 2mm) receberam 120g da mistura, cada. Os sacos contendo a mistura foram esterilizados em autoclave vertical (Phoenix - Modelo CA75), à temperatura de 121°C e 103,4kPa por um período de 30min.

Os sacos com a mistura de alpiste, CaCO_3 e CaSO_4 , após esfriar, receberam 5 discos de 1,0cm² de ágar batata dextrose com o micélio de *P. djamor* em câmara de fluxo laminar vertical (Biodone), sendo utilizadas 2 placas petri. O preparo inoculado permaneceu por um tempo aproximado de 15 dias em armário fechado sob abrigo da luz, e em temperatura ambiente ($28 \pm 2^\circ\text{C}$) para que houvesse a proliferação completa do fungo, posteriormente, conservados em geladeira à 10°C para seu uso na etapa de inoculação.

Figura 3 - Etapa de proliferação da cepa de *Pleurotus djamor*



Fonte: Autor (2023).

3.1.2 Preparo dos substratos e das Unidades Produtivas para cultivo de *Pleurotus djamor*

Os substratos utilizados na pesquisa foram resíduos agrícolas de folhas de bananeira (28Kg) e bagaço de cana-de-açúcar (25Kg) adquiridos, respectivamente, no Engenho Várzea do Coaty e de um produtor de cachaça e rapadura, ambos localizados no município de Areia/PB, Brasil.

As folhas de bananeiras secas foram retiradas direto das plantas, para assegurar que não havia iniciado o processo de decomposição, e o bagaço de cana-de-açúcar foi recolhido após moagem para retirada do caldo. Os resíduos foram secos ao sol e à temperatura ambiente ($28 \pm 2^\circ\text{C}$) até alcançarem o ponto quebradiço.

Logo após, os resíduos foram triturados em máquina agrícola tipo triturador de milho forrageiro (Trapp – Modelo TRF 400 — Jaguará do Sul, Santa Catarina, Brasil) no Laboratório de Análise de Alimentos e Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia, *Campus II*, UFPB, em pedaços pequenos (0,5-1,0cm) e peneirados em tela metálica de 2mm (**Figura 4**).

Após a etapa de processamento (secagem, moagem e peneiração), os resíduos agrícolas alcançaram peso de 13Kg para folhas de bananeira e 8Kg para bagaço de cana-de-açúcar.

Os resíduos foram misturados em proporções distintas e suplementados com farinha de trigo (10%) e serragem de madeira (10%), e umidificados com água destilada (200mL) até atingirem uma umidade média de $(66,70 \pm 5,21\%)$. A suplementação foi utilizada para fornecer Nitrogênio e lignina, compostos que favorecem o crescimento dos cogumelos.

Cada saco com substrato e suplemento foi chamado Unidade Produtiva (UP).

Figura 4 - Etapa de captação dos substratos e preparo das Unidades Produtivas

1. Colheita dos substratos



2. Trituração em forrageira dos substratos secos



3. Secagem dos substratos



4. Peneiração em tela de 2mm



5. Preparo das UP para ser autclavado



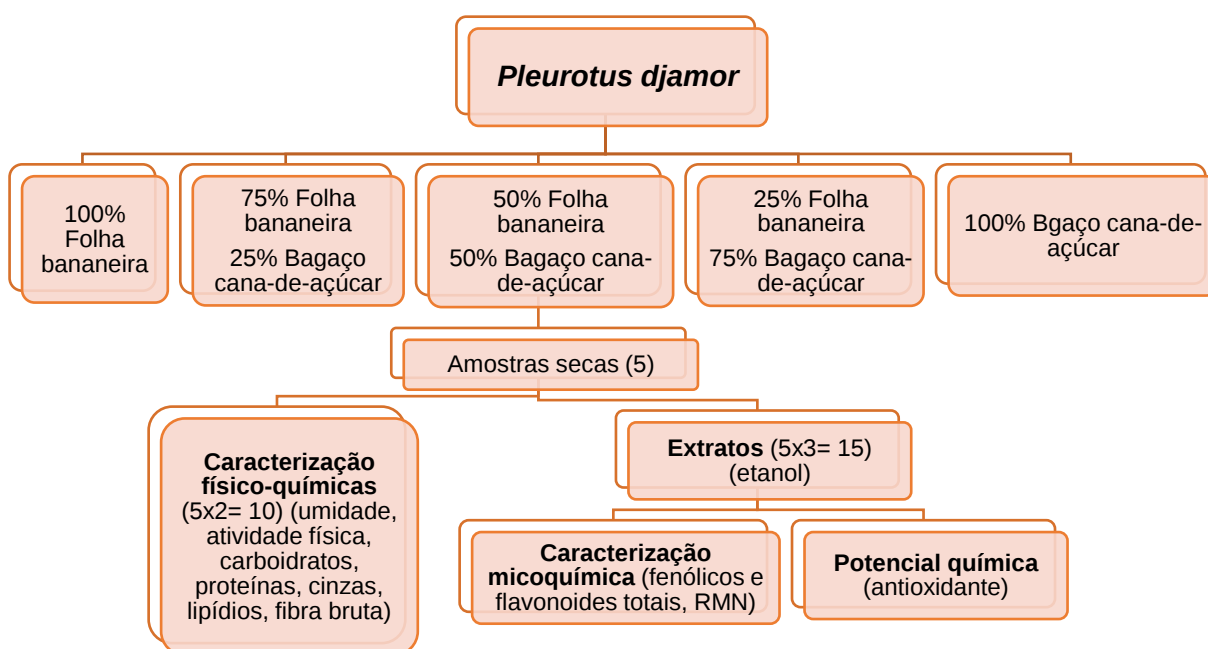
Fonte: Autor (2023).

Embalados individualmente em sacos transparentes e resistentes de polipropileno (25cm x 30cm x 2mm), as Unidades Produtivas foram combinadas em 5 formulações (**Figura 5**).

Posteriormente, foram esterilizadas em autoclave (Phoenix – Modelo CA75) à temperatura de 121°C e 103,4kPa por um tempo de 60min (Sardar *et al.*, 2017).

Após esfriar e atingir temperatura ambiente ($28 \pm 2^\circ\text{C}$), cada UP recebeu aproximadamente 4g de inóculo de *P. djamor* por quilograma de substrato esterilizado em câmara de fluxo laminar vertical (Biodone).

Figura 5 - Desenho experimental e composição das Unidades Produtivas



Fonte: Autor (2023).

3.1.3 Proliferação dos cogumelos *Pleurotus djamor*

As Unidades Produtivas somaram um total de 40 unidades, com 5 composições e 8 repetições (**Figura 5**). Cada UP recebeu micélio de *P. djamor* previamente proliferado (5%) em câmara de fluxo laminar vertical (Biodome).

Todo material permaneceu sob abrigo da luz a uma temperatura ambiente de ($24 \pm 2^\circ\text{C}$) e umidade relativa (UR) de ($85 \pm 1\%$) por um período de 15 dias até a completa colonização do micélio (Zárate-Salazar *et al.*, 2020).

Após colonização, cada UP foi para área de indução/frutificação com temperatura ($28 \pm 2^\circ\text{C}$), UR ($92 \pm 1\%$) e 200 luxes de luminosidade (8,5 volts) controladas. O controle das condições climáticas se dava pela irrigação de 2L de água ao dia por sistema semiautomático (Zárate-Salazar *et al.*, 2020).

Sempre que a umidade relativa ficava abaixo de 90% o sistema era acionado automaticamente e a área de frutificação dos cogumelos era irrigada para atingir as condições pretendidas. Toda manhã, entre 6h e 8h, eram realizados os registros de umidade, temperatura e condições das Unidades Produtivas.

Ao entrar na área de indução/frutificação cada UP recebia dois cortes verticais de 5cm nas duas faces dos sacos para ativar o crescimento do fungo. Este processo de indução ocorreu em três repetições. A primeira foi após a colonização total do fungo, e as demais após as colheitas dos cogumelos.

O tempo médio que as UPs ficaram na área de indução/proliferação foi de 120 dias (**Figura 6**).

Figura 6 - Etapa de proliferação de *Pleurotus djamor*



Fonte: Autor (2022).

Após cada colheita os cogumelos eram pesados *in natura*, embalados em saco de papel identificados, secos em estufa de fluxo de circulação de ar forçada (Medclave - Modelo 4) à temperatura de 45°C por aproximadamente 3 dias.

Logo ao saírem da estufa, eram colocados em dessecador para atingir a temperatura ambiente ($28 \pm 2^\circ\text{C}$), e pesados. Os cogumelos secos foram triturados em moinho de facas com 10 malhas, armazenado em frascos secos sob refrigeração ($8 \pm 2^\circ\text{C}$) para as análises posteriores (Zárate-Salazar *et al.*, 2020).

3.2 Análise físico-química de cogumelos

As análises físico-química dos cogumelos secos foram realizadas de acordo com as normas da Association of Official Analytical Chemists – AOAC (2016) (Latimer-Jr., 2016).

O teor de umidade foi determinado por secagem em estufa (Medclave - Modelo 4) regulada a 105°C por 24 horas. A atividade de água foi determinada pela leitura direta da amostra em um medidor de atividade de água (Acqualab - Modelo Dew point 4 – Jundiaí, São Paulo, Brasil). As cinzas foram analisadas gravimetricamente após incineração das amostras em mufla (Jung - Modelo 0612 – Blumeau, Santa Catarina, Brasil) a 550°C por 8 horas. O teor de proteína foi quantificado pelo método Kjeldahl, adotando um fator de conversão de Nitrogênio total em proteína bruta de 4,38 em vez de 6,25, devido à alta proporção de Nitrogênio não proteico presente nos cogumelos (Kalač, 2013).

A gordura total foi determinada por extração prévia a frio com clorofórmio e metanol na proporção de 2:1 e posterior quantificação gravimétrica, conforme método de Folch, Lees, Stanley (1957).

O teor de fibra bruta foi analisado gravimetricamente após digestão sequencial com 1,25% de H₂SO₄ e 1,25% de NaOH. O teor total de carboidratos foi estimado por diferença, conforme a (**equação 1**).

Equação 1 – Valor de carboidratos total

$\% \text{Carboidratos} = 100 - (\% \text{Umidade} + \% \text{Cinzas} + \% \text{Proteína} + \% \text{Gordura} + \% \text{Fibra Bruta})$

O valor energético foi determinado de acordo com a (**equação 2**):

Equação 2 – Valor energético total

$$\text{Energia (Kcal/100g)} = (4 \times \text{gCarboidratos}) + (4 \times \text{gProteína}) + (9 \times \text{gGordura})$$

3.3 Preparação de extratos de cogumelos

Para a preparação dos extratos, 2g de cogumelos *P. djamor* secos provenientes dos diferentes substratos de cultivo foram extraídos por maceração com 50mL de solução etanol/água (70:30, v/v) em temperatura ambiente ($28 \pm 2^\circ\text{C}$) e protegidos da luz por cinco dias. Os extratos foram então filtrados com filtro de seringa de náilon 0,45 μm e armazenados sob refrigeração ($8 \pm 2^\circ\text{C}$) e ao abrigo da luz para serem utilizados na caracterização micoquímica (Sharif *et al.*, 2017).

3.4 Caracterização micoquímica dos extratos de *Pleurotus djamor*

3.4.1 Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H (RMN de ^1H)

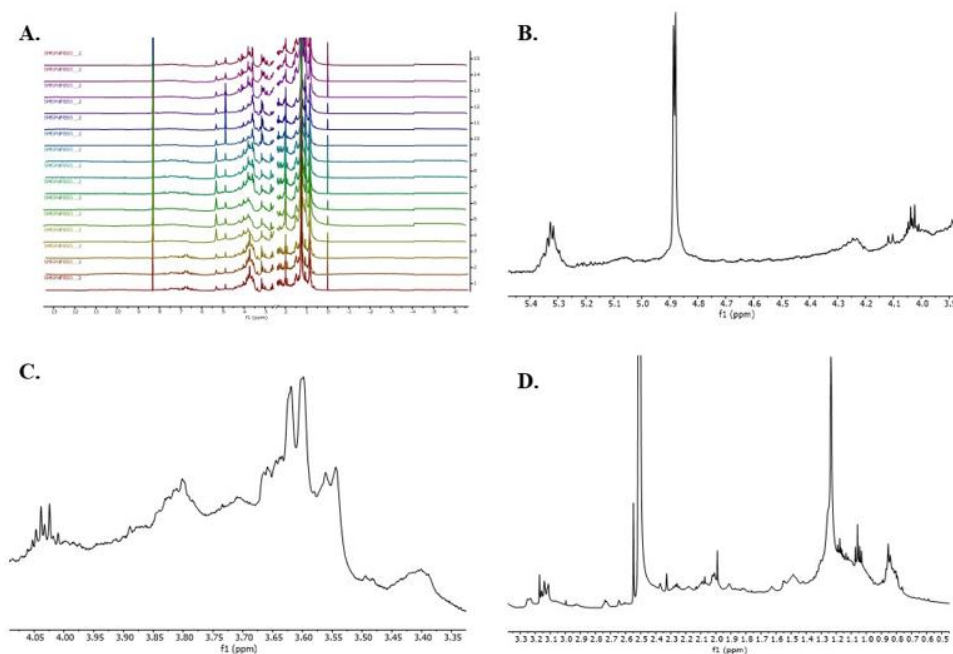
Para obter os espectros de RMN de ^1H , utilizou-se o solvente dimetilsulfóxido (DMSO- d_6 , 99,96 átomos% D, contém 0,03% (v/v) TMS) adquirido da Sigma (Sigma Co., St Louis, MO). Para análise dos extratos hidroalcoólicos de *P. djamor*, utilizou-se o método proposto por Refaie *et al.* (2009), com algumas modificações.

Três alíquotas de 30mg de cada extrato foram pesadas e solubilizadas com 550 μL de DMSO. A solução resultante foi transferida para um tubo de RMN (diâmetro interno: 5mm, comprimento: 7 polegadas) para análise espectral de RMN de ^1H (**Figura 7**).

Os espectros de RMN de ^1H foram obtidos num espectrômetro Bruker ASCEND 500MHz (Bruker, Coventry, UK) seguindo os parâmetros mostrados na (**Tabela 1**). Os desvios químicos para todas as amostras foram referenciados pelo sinal do solvente DMSO- d_6 , 2,50ppm. Os espectros foram processados utilizando o software MestReNova® (MNova) versão 14.2.0.

Os espectros de RMN de ^1H foram submetidos ao pré-processamento baseado nos procedimentos de referenciamento pelo sinal do solvente, correção da linha de base, correção de fase, alinhamento, normalização pela área total do espectro, remoção do sinal do solvente e, por fim, foi obtido o espectro binning com faixa de 0 a 11ppm e faixa de 0,040ppm.

Figura 7 - Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H



Legenda: A: Espectros de RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) de *Pleurotus djamor*. B: A região entre 4,1-5,4 corresponde a sinais anoméricos de prótons. C: A região entre 3,4-4,0 corresponde a outros prótons pertencentes a unidades osídicas. D: A região entre 0,55-3,3 indica hidrogénios alifáticos, ou grupos metilo ligados a hidrogénios de cadeia glicosilada.

Fonte: Autor (2023).

Tabela 1 - Parâmetros de aquisição para os espectros de RMN de ^1H de *Pleurotus djamor*

Parâmetros	Dados
Número de varreduras	8
Ganho	101.0
Atraso de relaxamento	4.6100
Taxa de pulso	8.0000
Frequência de pré-saturação	3.36150
Tempo de aquisição	3.2768

Fonte: Autor (2023).

3.4.2 Conteúdo de compostos fenólicos totais

O conteúdo fenólico total dos extratos foi determinado utilizando o reagente Folin-Ciocalteu, utilizando ácido gálico como composto fenólico padrão (Slinkard; Singleton, 1977).

Para o ensaio, foram misturados 200µL (extratos de cogumelos ou ácido gálico), 40µL de reagente Folin-Ciocalteu e 1640µL de água destilada por homogeneização com agitação por 1min. Em seguida, foram adicionados 120µL de uma solução de carbonato de sódio a 15%. A mistura foi agitada e deixada em repouso por 2 horas, protegida da luz. Após o período de reação, a absorbância foi detectada em espectrofotômetro a 760nm.

O conteúdo fenólico total foi expresso em µg equivalentes de ácido gálico por mL do extrato (µg GAE/mL), utilizando equação obtida a partir da curva de calibração do padrão de ácido gálico (20 a 100µg/mL).

3.4.3 Conteúdo de flavonoides totais

O conteúdo total de flavonoides foi determinado pelo método de Tambe e Bhambar (2014), utilizando a quercetina como flavonoide padrão.

Para o ensaio, foram misturados 200µL de extrato de cogumelo ou quercetina e 1.000µL de solução de cloreto de alumínio ($AlCl_3$) a 5% em metanol, e o volume foi completado com água destilada até atingir 2000µL. Após 10 minutos, a absorbância foi medida em espectrofotômetro a 425nm. O teor de flavonoides totais foi expresso em µg de equivalentes de quercetina por mL de extrato (µg QE/mL), utilizando equação obtida a partir da curva de calibração do padrão de ácido gálico (10 a 50µg/mL).

3.5 Determinação da atividade antioxidante dos extratos de *Pleurotus djamor*

3.5.1 Método ABTS

O ensaio da atividade de eliminação de cátions do radical 2,2"-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) ($ABTS^{\bullet+}$) foi realizado de acordo com a metodologia de Re *et al.* (1999).

O cátion radical $ABTS^{\bullet+}$ foi preparado pela reação, de uma solução aquosa de 7mM de ABTS (2,5mL) com persulfato de potássio 140mM (44µL). A mistura foi mantida no escuro por um período de 16 horas. Antes do ensaio, o reagente ABTS foi diluído com etanol para obter uma absorbância de $0,70 \pm 0,05$ a 734nm. Em seguida, foram misturadas alíquotas apropriadas dos extratos com 1800µL da solução de

radical ABTS•+ sendo obtidas concentrações finais de 12,5µL/mL a 100µL/mL. Em seguida, as soluções foram mantidas na ausência de luz por 6 minutos para leitura em espectrofotômetro com absorvância calibrada para 734nm, utilizando etanol como branco.

Utilizou-se como controle positivo Trolox (2µM a 16µM), um análogo hidrossolúvel da vitamina E. A porcentagem de atividade scavenging (%SA) foi calculada conforme (**equação 3**), descrita a seguir:

Equação 3 – Porcentagem da atividade scavenging

$$\%SA = \frac{100 \times (A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}})}{A_{\text{controle}}}$$

Onde: Acontrole é a absorvância do controle, contendo apenas a solução etanólica ABTS, e Aamostra é a absorvância do radical na presença do extrato ou trolox.

Os resultados também foram expressos em µM equivalentes de trolox por mL do extrato (µM TE/mL).

3.5.2 Método DPPH

A atividade antirradicalar foi determinada pelo método de doação de hidrogênio ao radical DPPH (coloração roxa), que se reduz formando DPPH-H de cor amarela (hidrazina), conforme metodologia de Rufino *et al.* (2010).

Inicialmente, foi preparada solução de DPPH (1,18mg em 50mL de etanol). Alíquotas apropriadas das amostras foram misturadas com etanol para obter concentrações finais variando de 12,5µL/mL a 100µL/mL. Após 30 minutos de incubação no escuro, foi feita a leitura da absorvância a 515nm em espectrofotômetro. Foi utilizado o etanol como branco. O ácido ascórbico (3µM a 23µM) foi o controle positivo.

A porcentagem de atividade sequestrante (%SA) foi calculada pela equação 3. Acontrole é a absorvância do controle, contendo apenas a solução etanólica de DPPH e Aamostra é a absorvância do radical na presença do extrato ou do ácido ascórbico padrão.

Os resultados também foram expressos em µM equivalentes de ácido ascórbico por mL do extrato (µM AAE/mL).

3.6 Análise estatística

Os experimentos de análise físico-química, conteúdo de fenólicos e flavonoides totais e atividade antioxidante foram realizados em triplicata e os resultados foram expressos como média $\pm$ DP (desvio padrão). A distribuição normal dos dados foi avaliada pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk e a homogeneidade da variância foi avaliada pelo teste de Bartlett.

Foi realizada análise de variância ANOVA unidirecional para determinar diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos e, quando significativas, foram submetidas ao teste de Tukey. Todas as análises estatísticas foram realizadas no software R versão 4.1.0 na interface RStudio (R Core Team, 2021).

Para analisar os espectros de RMN de ^1H , aplicamos dois métodos de análise exploratória de dados para identificar padrões, semelhanças ou diferenças nos perfis metabólicos dos extratos de *P. djamor*: (1) Análise de Componentes Principais (PCA) e (2) análise Hierárquica de Cluster (HC). Os dados obtidos da matriz gerada a partir do espectro binning foram previamente normalizados, e o método de validação cruzada realizou a PCA. Realizou-se as análises no software PAST (versão 4.03).

4 RESULTADOS

Os resultados desta dissertação estão apresentados na forma de um artigo original apresentado no apêndice A.

O artigo apresentado no apêndice A (NUTRITIONAL AND ANTIOXIDANT POTENTIAL OF *Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) BOEDIJN PRODUCED ON AGRONOMIC WASTES BANANA LEAVES AND SUGARCANE BAGASSE SUBSTRATES) que foi submetido ao periódico Brazilian Journal of Microbiology aborda a análise da influência dos substratos de cultivo com diferentes composições de folhas de bananeiras e bagaço de cana-de-açúcar no potencial nutricional, micoquímico e propriedades antioxidantes de *P. djamor*.

A análise físico-química dos cogumelos nas cinco composições de substratos apresentou variações não significativas nos valores em função da natureza dos substratos de cultivo. Os cogumelos apresentaram alto valor para proteína e fibra, e baixa quantidade de lipídios e calorias. O valor mais alto de proteína foi no cultivo 100% folhas de bananeiras e a fibra bruta variou de $(18.02 \pm 0.05\%)$ a $(19.32 \pm 0.39\%)$. Foram determinadas quantidades elevadas de fenólicos $(123.65 \pm 13.58$ a $480.17 \pm 98.78)$ e flavonoides totais $(72.24 \pm 19.41$ a $117.24 \pm 13.37)$.

Os polifenóis foi maior nas UPs com maior quantidade de bagaço de cana-de-açúcar, o que influenciou no aumento dos flavonoides de forma significativa nos cogumelos cultivados. As análises dos espectros de ressonância magnética indicaram uma rica presença de polissacarídeos. Todos os extratos a 100µL/mL apresentaram alta atividade antioxidante.

Poucos estudos são realizados com *P. djamor* para avaliar sua atividade prebiótica e ação benéfica à saúde humana. De posse dos resultados obtidos, uma investigação futura sobre o potencial prebiótico *in vitro/in vivo* se faz necessária devido ao interessante teor de fibras. De forma semelhante, o emprego deste cogumelo desidratado (seja na forma de farinha ou em pó) na elaboração de outros produtos alimentícios parece ser promissor, a fim de melhorar seu valor nutricional.

REFERÊNCIAS

- ACHARYA, K.; KHATUA, S.; RAY, S. Quality assessment and antioxidante study of *Pleurotus djamor* (Rumph ex. Fr.) Boedijn. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 7, n. 6, p. 105-110, 2017.
- ADABE, C. L. P. **Caracterização morfolométrica e molecular de *Pratylenchus zeae* em cana-de-açúcar na região nordeste e controle biológico de nematoides em milho**. 2020. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, 2020.
- ALBERTIA, M. M. *et al.* Tecnologic development on *Pleurotus* cultivation: Specific practices used in Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 64, 2021.
- BAPTISTA-FERREIRA, J.; SILVA, A. P. da; VICENTE, H. P. **Guia do Colector de Cogumelos** – para os cogumelos silvestres comestíveis com interesse comercial em Portugal. Direção Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural, 2013. 150 p.
- BARH, A. *et al.* Effects of nitrogen supplementation with wheat straw on productivity of *Pleurotus djamor* (Rumph. ex fr.) Boedijn. **Bangladesh Journal of Botany**, v. 2, n. 50, p. 227-233, 2021.
- BELLETTINI, M. B. *et al.* Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. **Saudi Journal of Biological Sciences**, n. 26, p. 633–646, 2019.
- CARRASCO-GONZÁLEZ, J. A.; SERNA-SALDÍVAR, S. O.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A. Nutritional composition and nutraceutical properties of the *Pleurotus* fruiting bodies: Potential use as food ingredient. **Journal of Food Composition and Analysis**, n. 58, p. 69–81, 2017.
- 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**, p. 819-826, 2012.
- CERLETTI, C.; ESPOSITO, S.; IACOVIELLO, L. Edible Mushrooms and Beta-Glucans: Impact on Human Health. **Nutrients**, v. 13, n. 2195, p. 1-13, 2021.
- CHANG, S. T.; WASSER, S. P. The cultivation and environmental impact of mushrooms. **Environmental Science**, 2017.
- CONAB-**Companhia Nacional de Abastecimento**. Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar. Segundo levantamento-Safra 2020/2021. Brasília-DF, v. 7, p. 1-64, 2020.
- DORR, E. *et al.* Life cycle assessment of a circular, urban mushroom farm. **Journal of Cleaner Production**, n. 288, 2021.

EL-RAMADY, H. *et al.* Edible mushrooms for sustainable and healthy human food: nutritional and medicinal attributes. **Sustainability**, v. 14, 2022.

FANZO, J. Healthy and Sustainable Diets and Food Systems: the Key to Achieving Sustainable Development Goal 2?. **Food Ethics**, v. 4, p. 159–174, 2019.

FINIMUNDY, T. C. *et al.* Multifunctions of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer: A highly nutritious food and a source for bioactive compounds. **Food Chemistry**, n. 245, p. 150–158, 2018.

FLORENTINO, J. T. **Pragas e doenças associadas à cultura da bananeira no estado da Paraíba**. 2020. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia, Paraíba, 2020.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G. H. S. Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipids from Animal Tissues. **Journal of Biological Chemistry**, n. 1, v. 226, p. 497–509, 1957.

GOMES, S. M. *et al.* Biodiversity is overlooked in the diets of different social groups in Brazil. **Nature Scientific Reports**, v. 3, 2023.

GRIMM, D.; KUENZ, A.; RAHMANN, G. Integration of mushroom production into circular food chains. **Springer Nature**, Org. Agr., v. 11, p. 309–317, 2021.

GROSSO, G. *et al.* Nutrition in the context of the Sustainable Development Goals. **European Journal of Public Health**, n. 1, v. 30, p. 19–23, 2020.

GUPTA, S. *et al.* Edible mushrooms: Cultivation, bioactive molecules, and health benefits. **Springer Nature**, Reference Series in Phytochemistry, 2018.

IBGE. **Banco de tabelas estatísticas**. Sistema IBGE de Recuperação Automática-SIDRA. Brasil: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2021. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/1613#resultado>. Acesso em: 21 de out. 2021.

_____. **Censo Agro 2017**. Sistema IBGE de Recuperação Automática-SIDRA. Brasil: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2017. Disponível em: https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo_agro/resultadosagro/index.html. Acesso em: 28 de ago. 2023.

INSTITUTO SOCIOAMBIENTAL. **Sanöma samakönö sama tökö nii pewö oa wi tökö waheta**: ana amopö (Enciclopédia dos alimentos Yanomami (sanöma): cogumelos). Série saberes da floresta, v. 4. São Paulo: Instituto Socioambiental, 2016, 108 p.

JACOB, M. **Sistemas alimentares para nutrição**. 1 ed. Recife: Nupeea, 2021, 212p.

JACOB, M. C. M. *et al.* Food biodiversity as an opportunity to address the challenge of improving human diets and food security. **Ethnobiology and Conservation**, n. 12, 2023.

KALAC, P. A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms. **Journal Society of Chemical Industry Food Agriculture**, n. 93, p. 209–218, 2013.

LATIMER JR., G. W. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. Washington: AOAC International, ed. 20, 2016.

LIMA, J. R. S. *et al.* Atributos físico-hídricos de um Latossolo Amarelo cultivado e sob mata nativa no Brejo Paraibano. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. v. 9, n. 4, p. 599-605, 2014.

MAHARI, W. A. W. *et al.* A review on valorization of oyster mushroom and waste generated in the mushroom cultivation industry. **Journal of Hazardous Materials**, v. 400, 2020.

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

MORAES, C. G. M. S. M. **Areia- Paraíba**: morfologia e desenvolvimento urbano (séculos XVIII, XIX, XX). 2008. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Urbano) – Departamento de Arquitetura e Urbanismo, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2008.

MOREAUX, K. Spawn Production. *In*: ZIED, D. C., PARDO-GIMÉNEZ, A. **Edible and Medicinal Mushrooms**: Technology and Applications. Índia: Wiley Blackwell, 2017, p. 89–128.

NIAZI, A. R.; GHAFOR, A. Different ways to exploit mushrooms: A review. **All Life**, v. 1, n. 14, p. 450-460, 2021.

ORSINE, J. V. C.; BRITO, L. M.; NOVAES, M. R. C. G. Cogumelos comestíveis: uso, conservação, características nutricionais e farmacológicas. **Revista Hospital das Clínicas de Porto Alegre**, v. 4, n. 32, p. 452-460, 2012.

PAZZA, A. C. V. *et al.* Nutritional composition and functional physiological properties of edible mushrooms: *Agaricus brasiliensis* and *Pleurotus ostreatus*. **FAG Journal of Health**, v. 1, n. 3, p. 240-265, 2019.

R Core Team. **R**: A language and environment for statistical computing. 2021.

RAHMANN, G. *et al.* Innovative, sustainable, and circular agricultural systems for the future. **Springer Nature Organic Agriculture**, v. 11, p. 179–185, 2021.

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

RAMPINELLI, J. R. **Produção de *Pleurotus djamor* e avaliação do seu potencial nutricional**. 2009. Dissertação (Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

RE, R. *et al.* Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, p. 1231–1237, 1999.

REDIN, E. **Ciências rurais em foco**. 1 ed. v. 5. Belo horizonte: Poisson, 2021, 176p.

REFAIE, F. M. *et al.* Characterization of polysaccharopeptides from *Pleurotus ostreatus* mycelium: assessment of toxicity and immunomodulation *in vivo*. **Micología Aplicada International**, v. 21, p. 67–75, 2009.

REIS, F. S. *et al.* Functional foods based on extracts or compounds derived from Mushrooms. **Trends in Food Science & Technology**, v. 66, p. 48-62, 2017.

REIS JÚNIOR, E. S. dos *et al.* Composição química, efeito antioxidante e antiproliferativo do cogumelo brasileiro *Pleurotus ostreatoroseus* singer. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.7, n.4, p. 34642-34656, 2021.

RUFINO, M. S. M. *et al.* Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996–1002, 2010.

SARDAR, H. *et al.* Agro-industrial residues influence mineral elements accumulation and nutritional composition of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*). **Scientia Horticulturae**, n. 225, p. 327–334, 2017.

SHARIF, S. *et al.* Wild Mushrooms: A Potential Source of Nutritional and Antioxidant Attributes with Acceptable Toxicity. **Preventive Nutrition and Food Science**, v. 2, n. 22, p.124–130, 2017.

SILVA, A. P. S. da *et al.* Uso de resíduos agrícolas para produção de cogumelos comestíveis no Norte do Estado de Mato Grosso. **Brazilian Journal of Development**, v.7, n.8, 2021.

SLINKARD, K.; SINGLETON, V. L. Total Phenol Analyses: Automation and comparison with manual methods. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 28, p. 49-55, 1977.

SOUZA, C. C. *et al.* Aplicação de inteligência artificial na previsão de produções de açúcar e etanol, no período de 2020 até 2025, nas macrorregiões Centro-Sul e Norte-Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v.15, n.05, 2022.

TAMBE, V. D.; BHAMBAR, R. S. Estimation of Total Phenol, Tannin, Alkaloid and Flavonoid in Hibiscus Tiliaceus Linn. Wood Extracts. Research & Reviews: **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 2, n. 4, p. 41–47, 2014.

THAKUR, M. P. Advances in mushroom production: key to food, nutritional and employment security: A review. **Indian Phytopathological Society**, v. 2, n. 73, 2020.

TIMM, J. M. **Primavera fungi**: guia de fungos para o sul do Brasil. Porto Alegre: Via sapiens, 2018. 333p.

YOU S. W. *et al.* Mushrooms as Functional and Nutritious Food Ingredients for Multiple Applications. **ACS Food Science & Technology**, v. 2, p. 1184–1195, 2022.

ZÁRATE-SALAZAR, J. R *et al.* Use of lignocellulosic corn and rice wastes as substrates for oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus* Jacq.) cultivation. **Springer Nature Applied Sciences**, v. 2, n. 1904, 2020.

ZIEBA, P. *et al.* Supplementation with magnesium salts- a strategy to increase nutraceutical value of *Pleurotus djamor* fruiting bodies. **Molecules**, v. 26, n. 3273, p. 1-19, 2021.

APÊNDICE

APÊNDICE A - ARTIGO

NUTRITIONAL AND ANTIOXIDANT POTENTIAL OF *Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) BOEDIJN PRODUCED ON AGRONOMIC WASTES BANANA LEAVES AND SUGARCANE BAGASSE SUBSTRATES

Artigo submetido ao periódico Brazilian Journal of Microbiology.

Nutritional and antioxidant potential of *Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn produced on agronomic wastes banana leaves and sugarcane bagasse substrates.

Abstract

Global food production faces challenges concerning access to nutritious and sustainably produced food. *Pleurotus djamor*, however, is an edible mushroom that can be cultivated on agricultural waste. Knowing that the nutritional and functional potential of mushrooms can change based on cultivation conditions, we examined the influence of substrates with different compositions of banana leaf and sugarcane bagasse on the nutritional, mycochemical, and antioxidant properties of *P. djamor*. The mushrooms were grown for 120 days and dried in a circulating air oven at 45°C for three days. We conducted bromatological analyses and mycochemical characterization (¹H-NMR, total phenolics, and flavonoids) of the mushrooms and assayed the antioxidant activity of extracts from the dried mushrooms using an ethanol/water solution (70:30 v/v). In general, the substrates produced mushrooms with high protein ($18.77 \pm 0.24\%$ to $17.80 \pm 0.34\%$) and dietary fiber content ($18.02 \pm 0.05\%$ to $19.32 \pm 0.39\%$), and with low lipid ($0.28 \pm 0.08\%$ to $0.4 \pm 0.6\%$), and caloric content (maximum value: 258.42 ± 8.49), with no significant differences between the groups ($p \geq 0.05$). The mushrooms also exhibited high levels of total phenolics and flavonoids. The mushrooms cultivated on sugarcane bagasse substrates presented the highest values ($p < 0.05$). Analysis of the ¹H-NMR spectra indicates an abundant presence of heteropolysaccharides, β -glucans, α -glucans, and oligosaccharides, and all the mushroom extracts exhibited high antioxidant activity. In conclusion, our study demonstrates that agricultural residues permit sustainable production of edible mushrooms while maintaining nutritional and functional properties.

Keywords: Edible mushrooms, fungi, NMR, antioxidants, mycochemical.

1. Introduction

Mushrooms have been consumed as food and for their nutritional and medicinal properties for thousands of years. These fungi are considered a significant source of bioactive ingredients and present high contents of polysaccharides, proteins, dietary fibers, proteoglycans, vitamins like riboflavin and thiamine, and minerals such as potassium, phosphorus, magnesium, iron, and copper, as well as antioxidants, terpenoids, lectins, phenolics/polyphenolics, polysaccharides, and ergosterols [1]. Consumption of mushrooms is associated not only with nutritional benefits and health but also with sensory attributes [2].

Currently, there are around 2,000 edible mushroom species worldwide. The button mushroom (*Agaricus bisporus*), the shiitake (*Lentinula edodes*), and the oyster mushroom (*Pleurotus* spp.) are among the most cultivated and consumed species in Brazil and the world (Mahari et al., 2020). Global mushroom consumption is about 12.74 million tons and is projected to increase to 20.84 million tons by 2026 [4]. Due to the ease of cultivation of *Pleurotus* spp., rapid colonization on diverse agricultural byproducts, and high biological efficiency, mushrooms account for about 25% of the global total [5].

Species of the *Pleurotus* genus are classified as saprophytic. Some of the most common species in this genus are *Pleurotus ostreatus* ("oyster mushroom"), *P. djamor* ("pink oyster"), *P. citrinopileatus* ("golden oyster"), and *P. eryngii* ("king oyster"), among others. Thanks to an extensive enzymatic system capable of degrading and utilizing organic compounds [6], these species can utilize lignocellulosic substrates to develop, including byproducts from the food industry such as tea residues and spent beer grains [2].

The edible mushroom *Pleurotus djamor* Rumph. ex Fr. Boedijn (Basidiomycota) is naturally found in Brazil, in the north, the south, the northeast, and Paraíba state. *P. djamor* can be cultivated on various substrates and presents a shorter fruiting period than other commercial species of the genus. *P. djamor* is rich in proteins, dietary fibers, essential amino acids, carbohydrates, water-soluble vitamins and minerals, and abundant in bioactive molecules that can influence health [5]. The indigenous Yanomami people of Brazil have historically consumed *P. djamor*, especially when hunting was scarce. They mention that *P. djamor* is found on *embauba* tree trunks and, to a lesser extent, in the forests [7].

Cultivating edible mushrooms may help address the challenge of producing and consuming foods with fewer negative impacts on the environment yet offer beneficial biochemical components to human nutrition and health. Such cultivation follows the 17 Sustainable Development Goals (SDGs) of the United Nations' 2030 Agenda for social, economic, and environmentally sustainable development [8]. Mushroom cultivation represents a crucial biotechnological alternative for obtaining high-value nutritional and medicinal foods. It also enhances agricultural sustainability by recycling agro-industrial byproducts. Moreover, when well managed within efficient systems (e.g., circular chain), mushroom production byproducts can increase crop profitability since the waste generated during production can also serve as both animal feed and soil improvement agents [9,10].

Banana production and sugarcane cultivation hold significant social and economic importance for Northeastern Brazil. The "Brejo" microregion of Paraíba (Brazil) is a major banana producer at around 100,000 tons yearly. Sugarcane production in Brazil has witnessed a growth of 56.7% (231 million tons) between 2006 and 2017 [11]. Inadequate management of wastes generated from these activities could lead to serious environmental problems,

including greenhouse gas emissions, pest proliferation, and nitrogen immobilization in the soil (Zárate-Salazar et al., 2020).

In *Pleurotus* spp. cultivation, substrate plays a crucial role due to its direct influence on productivity, chemical composition, functional attributes, nutritional content, and sensory characteristics [13]. Studies indicate that substrate composition variations affect mushroom yield and bromatological quality. Selecting an appropriate residual material as a substrate is essential for *P. djamor* cultivation since it will serve as a source of nutrition and lignocellulosic material to support growth, development, and fruiting [6]. In this context, the present study aims to analyze the influence of substrates using banana leaves and sugarcane bagasse (in differing percentages) on the nutritional potential, mycochemical attributes, and antioxidant properties of *P. djamor*.

2. Materials and methods

2.1 Production of edible mushrooms

2.1.1 Inoculation

The biological material for inoculum preparation was the strain *P. djamor* PDJR2/UFPB, provided by the Edible Mushroom Research & Production Group at the Federal University of Paraíba. Preparation of the inoculum followed the methodology outlined by Moreaux (2017) and Zárate-Salazar et al. (2020) with few modifications. Initially, canary grass seeds (*Phalaris canariensis* L.) were cooked for 20 minutes. After air-drying, 3g of calcium carbonate (CaCO_3) and 13g of calcium sulfate (CaSO_4) per kilogram of the cooked grain were added. The material was sterilized in an autoclave at 121°C and 103.4 kPa for 30 minutes. Then, 5 disks of 1 cm², containing potato dextrose agar with *P. djamor* mycelium were aseptically transferred to the grains. The mixed material was incubated in darkness for 15 days at $28 \pm 2^\circ\text{C}$ until complete mycelial proliferation and subsequently stored in a refrigerator at 10°C for use in the inoculation stage.

2.1.2 Substrate preparation

Two types of substrates were used to cultivate the *P. djamor* mushrooms: banana leaves (*Musa* spp.) and sugarcane bagasse (*Saccharum* spp.), combined in 5 formulations as presented in Table 1. The substrates were obtained from local producers (Areia, Brazil) of bananas, rapadura (unrefined sugar), and cachaça (sugarcane spirit). The materials were individually air-dried in a greenhouse, then crushed to 0.5 - 1cm particle sizes and sifted through a 2mm metal screen. The homogeneous mixture was transferred to polypropylene bags (25cm × 30cm), and distilled water was added until achieving an average moisture content of $66.70 \pm 5.21\%$. The substrates were then sterilized in an autoclave at 120°C and 103.4 kPa for 60 minutes [6].

2.1.3 Mushroom cultivation

The bags containing the substrates were inoculated at a ratio of 4g of *P. djamor* per kilogram of sterilized substrate. The material was kept in the absence of light at $24 \pm 2^\circ\text{C}$ and $85 \pm 1\%$ relative humidity for 15 days until complete mycelial colonization. Two vertical cuts of 5cm each were made on either side of each bag to stimulate fungal growth. The bags were then transferred to a fruiting area and maintained at $28 \pm 2^\circ\text{C}$, relative humidity of $92 \pm 1\%$, and a light intensity of 200 lux (8.5 volts). Automated daily spraying of 2 liters of water was conducted throughout the production process to maintain the optimal humidity range in the cultivation room. The total time from the inoculation to harvesting was 120 days. The harvested mushrooms were dried in a circulating air oven at 45°C for three days. The dried mushrooms were then ground into a powder using a knife mill with a 10-mesh sieve. The resulting powder was stored in dry containers for subsequent analyses [12].

2.2 Bromatological analysis of mushrooms

Bromatological analysis of the dried mushrooms was performed in accordance with the Association of Official Analytical Chemists – AOAC (2016) standards [15]. Moisture content was determined by drying in an oven (Med clave - Model 4) set at 105°C for 24 h. Water activity was determined by directly reading the sample using a water activity measuring device (Aqua lab - Model Dew point 4). Ash was analyzed gravimetrically after sample incineration in a muffle furnace (Jung - Model 0612) at 550°C for eight h. Protein content was quantified using the Kjeldahl method, adopting a conversion factor of 4.38 (in place of 6.25) for total nitrogen - crude protein, due to the high proportions of non-proteic N in mushrooms [16]. Total fat was determined using prior cold extraction with chloroform and methanol in a 2:1 ratio and subsequent gravimetric quantification, according to the method of Folch et al. (1957). Crude fiber content was analyzed gravimetrically after sequential digestion with 1.25% H_2SO_4 and 1.25% NaOH. The total carbohydrate content was estimated by difference, according to Equation 1:

Equation 1: $\% \text{Carbohydrate} = 100 - (\% \text{Moisture} + \% \text{Ashes} + \% \text{Protein} + \% \text{Fat} + \% \text{Crude fiber})$

The energy value was determined according to Equation 2:

Equation 2: $\text{Energy (kcal/100 g)} = (4 \times \text{g}_{\text{Carbohydrate}}) + (4 \times \text{g}_{\text{Protein}}) + (9 \times \text{g}_{\text{Fat}})$

2.3 Preparation of mushroom extracts

To prepare the extracts, 2g of dried *P. djamor* mushrooms were extracted by maceration with 50 mL of ethanol/water solution (70:30 v/v) at room temperature and protected from light for five days. The extracts were then filtered with a $0.45\mu\text{m}$ nylon syringe filter, stored under refrigeration, and protected from light [18].

2.4 Mycochemical characterization of the extracts

2.4.1 ^1H nuclear magnetic resonance spectrometry (^1H NMR)

To obtain the ^1H NMR spectra, we used dimethyl sulfoxide (DMSO- d_6 , 99.96 atom % D, containing 0.03% (v/v) TMS) solvent purchased from Sigma (Sigma Co., St Louis, MO). For analysis of the *P. djamor* hydroalcoholic extracts, we used the method proposed by Refaie et al. (2009), with some modifications. Three 30 mg aliquots of each extract were weighed and solubilized in 550 μL of DMSO. The resulting solution was transferred to an NMR tube (inner diameter: 5 mm, length: 7 inches) for ^1H NMR spectral analysis (Figure 1). The ^1H NMR spectra were obtained on a Bruker ASCEND 500 MHz spectrometer (Bruker, Coventry, UK), and followed the parameters shown in Table 2. Chemical shifts for all samples were referenced using the DMSO- d_6 solvent signal at 2.50 ppm. The spectra were processed using MestReNova® (MNova) software - version 14.2.0. The ^1H NMR spectra were subjected to preprocessing based on referencing procedures for the solvent signal, baseline correction, phase correction, alignment, normalization of the total spectrum area, removal of the solvent signal, and finally, a binning spectrum was obtained with a range of 0 to 11 ppm and a range of 0.040 ppm.

2.4.2 Total phenolic content

The total phenolic content of the extracts was determined using Folin-Ciocalteu reagent with gallic acid as the standard phenolic compound [20]. For the assay, we mixed 200 μL of mushroom extract or gallic acid, 40 μL of Folin-Ciocalteu reagent, and 1640 μL of distilled water and then homogenized by stirring for 1 min. We then added 120 μL of a 15% sodium carbonate solution. The mixture was stirred and stood for 2 hours, protected from light. After the reaction period, absorbance was detected at 760 nm. The total phenolic content was expressed as μg gallic acid equivalents per mL of extract ($\mu\text{gGAE/mL}$), using an equation obtained from the calibration curve of the gallic acid standard (20 to 100 $\mu\text{g/mL}$).

2.4.3 Total flavonoid content

Total flavonoid content was determined using the method of Tambe & Bhambar (2014), with quercetin as the flavonoid standard. We mixed 200 μL of mushroom extract or quercetin and 1000 μL of a 5% aluminum chloride (AlCl_3) solution in methanol for the assay. The volume was completed with distilled water to 2000 μL . After 10 minutes, the absorbance was measured in a spectrophotometer at 425 nm. The total flavonoid content was expressed as μg of quercetin equivalents per mL of extract ($\mu\text{gQE/mL}$), using the equation obtained from the calibration curve of the gallic acid standard (10 to 50 $\mu\text{g/mL}$).

2.5 Antioxidant activity

2.5.1 ABTS assay

The 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical cation scavenging activity assay was performed according to the methodology of Re et al. (1999). The ABTS radical cation was prepared by reacting a

7 mM aqueous solution of ABTS (2.5 mL) with 140 mM of potassium persulfate (44 μ L). The mixture was kept in the dark for 16 hours. Before the assay, the ABTS reagent was diluted with ethanol to obtain an absorbance of 0.70 ± 0.05 at 734 nm. We then mixed appropriate aliquots of the extracts with 1800 μ L of the ABTS radical solution to obtain final concentrations of 12.5 μ L/mL to 100 μ L/mL. The solutions were kept without light for 6 minutes before reading absorbance at 734nm in a spectrophotometer using an ethanol blank. We used Trolox (2 μ M to 16 μ M), a water-soluble vitamin E analog for a positive control. The percentage of scavenging activity (% SA) was calculated according to Equation 3, described below:

Equation 3: $\%SA = (100 \times (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})) / (A_{\text{control}})$

Where A_{control} is the absorbance of the control, containing only the ethanolic ABTS solution, and A_{sample} is the absorbance of the radical in the presence of the extract or Trolox. The results were expressed as μ M trolox equivalents per mL of the extract (μ M TE/mL).

2.5.2 DPPH assay

The antiradical activity was determined by DPPH radical (purple coloration) methodology - hydrogen donation, which reduces to form a yellow-colored DPPH-H (hydrazine), according to Rufino et al. (2010). Initially, we prepared a DPPH solution (1.18mg in 50 mL of ethanol). Appropriate aliquots of the samples were then mixed with ethanol to obtain final concentrations ranging from 12.5 μ L/mL to 100 μ L/mL. After 30 minutes of incubation in the dark, we read the absorbance at 515nm in a spectrophotometer. We used ethanol as a blank and ascorbic acid (3 μ M to 23 μ M) as the positive control. The percentage of sequestering activity (%SA) was calculated using Equation 3. A_{control} is the absorbance of the control, containing only the ethanolic solution of DPPH, and A_{sample} is the absorbance of the radical in the presence of the extract or the standard ascorbic acid. The results were expressed as μ M ascorbic acid equivalents per mL of the extract (μ M AAE/mL).

2.6 Statistical analysis

All experiments involving physicochemical analysis, total phenolic and flavonoid content, and antioxidant activity were performed in triplicate, and the results were expressed as mean $\pm$ SD (standard deviation). Normal distribution of the data was assessed with the Shapiro-Wilk normality test, and homogeneity of variance was assessed using Bartlett's test. We performed a one-way ANOVA analysis of variance to determine significant differences ($p < 0.05$) between treatments, and when significant, we applied Tukey's test. All analyses were performed using R software Version 4.1.0 in the RStudio interface [24]. To analyze the ^1H NMR spectra, we applied two exploratory data analysis methods to identify patterns, similarities, and differences in the *P. djamor* extract metabolite profiles: (1) principal component analysis (PCA), and (2) hierarchical cluster analysis (HCA).

Data obtained from the binning spectrum matrix were previously normalized, and cross-validation was performed in PCA. Analysis was performed using PAST software (Version 4.03).

3. Results

The data for the physicochemical analysis of *P. djamor* mushrooms cultivated in different substrate compositions are presented in Table 3. Overall, due to the nature of the cultivation substrates, the data reveal non-significant variations in values ($p \geq 0.05$). The dried mushrooms maintained an average moisture content ranging from $16.09 \pm 1.25\%$ to $12.06 \pm 2.88\%$, while water activity varied from 0.50 ± 0.21 to 0.67 ± 0.05 . Ash content ranged from $4.51 \pm 0.23\%$ to $5.05 \pm 0.04\%$. The protein content was uniform among the mushrooms, ranging from $17.80 \pm 0.34\%$ to $18.77 \pm 0.24\%$. The lipid content was low, around $0.24\% \pm 0.06$ to 0.43 ± 0.17 . The lipid content in the 25%BL+75%SB and 100%SB composition was higher than in mushrooms cultivated in the other substrates ($p < 0.05$). The crude fiber content of the mushrooms varied from $18.02 \pm 0.05\%$ to $19.32 \pm 0.39\%$, and carbohydrate content was around $42.13 \pm 1.85\%$ to $46.30 \pm 3.39\%$. The highest average energy value was found for the 75%BL+25%SB treatment at 258.42 kcal/100 g. However, the results were similar to the other groups ($p \geq 0.05$). The ^1H -NMR spectroscopic data revealed a set of signals from the various compounds present in the mixture. Visually comparing the spectra before and after data grouping revealed no changes. No alterations were detected in the behavior of the scores when compared to the preliminary PCA, indicating that the principal information was not modified by data reduction. Unused regions of the spectra were removed to avoid analysis interference. No distortion of spectral signals was observed after aligning the spectra in the new dataset, demonstrating that the peak shifts were satisfactorily corrected. The analysis of ^1H -NMR spectra indicated an abundant presence of polysaccharides. The spectra exhibited characteristic signals of anomeric protons in 4.1-5.4 (Figure 1A) and other signals related to protons from osidic units between 3.4-4.0 (Figure 1B). There were also intense signals at 0.55-3.3, indicating the presence of aliphatic hydrogens or methyl groups linked to hydrogen in glycosylated chains (Figure 1C).

Fourteen principal components (PC) were necessary to construct the PCA model, and 69.166% of the explained variance was accumulated in the first two components (PC1 and PC2) (Figure 2). Figure 2A displays the scores plot of the first two PCs and reveals that the mushrooms from the 25%BL+75%SB, 50%BL+50%SB, 75%BL+25%SB, and 100%BL treatments tend to cluster with low dispersion in the PCA model. The treatments were grouped according to the presence of hydrogen signals, with relative shifts to anomeric protons and protons belonging to osidic units, as observed in the loadings plot (Figure 2B), suggesting little difference in their metabolic profiles. However, the 100% SB treatment and its corresponding replicas clustered on the opposing side. These

signals also presented shifts in the sugar protein region, with lower shifts between 0.8-2.9 related to methyl groups or sugars. Two distinct groups emerged in the analysis, with no sample lying outside the Hotelling Ellipse (95%). Similar results were also observed in the cluster analysis using the UPGMA method, adopting the Euclidean distance with a cophenetic correlation coefficient of 0.9 and significant *bootstrapping*.

The total polyphenol and flavonoid contents in *P. djamor* mushrooms are presented in Table 3. Polyphenol content was higher in mushrooms cultivated on substrates with higher proportions of sugarcane bagasse (25%BL+75%SB, and 100%SB), with a significant difference compared to the other groups ($p<0.05$). The mushrooms exhibited total polyphenol values ranging from 123.65 ± 13.58 to 480.17 ± 98.78 $\mu\text{g GAE/mL}$. Increased sugarcane bagasse content in the substrates also led to a significant rise in flavonoids. The groups 50%BL+50%SB, 25%BL+75%SB, and 100%SB presented higher total flavonoid values ($\mu\text{g QE/mL}$) compared to the other groups ($p<0.05$).

Considering the polyphenol and flavonoid contents, we analyzed their antioxidant capacity using the DPPH (Figure 3A) and the ABTS (Figure 4A) methods. At 100 $\mu\text{L/mL}$, all extracts exhibited high antioxidant activity in both tests, with radical scavenging activity variations between 83.01% and 91.6%. No significant differences were detected between mushrooms cultivated on either substrate ($p\geq0.05$). We calculated the trolox equivalents ($\mu\text{M TE/mL}$) (Figure 3B) and ascorbic acid equivalents ($\mu\text{M AAE/mL}$) (Figure 4B) per mL for all extracts. The mushrooms cultivated on 25%BL+75%SB presented lower $\mu\text{M TE/mL}$ than the others ($p<0.05$). No differences were observed between mushrooms regarding $\mu\text{M AAE/mL}$ ($p\geq0.05$).

4. Discussion

Culturing *P. djamor* mushrooms on the substrates formulated in this study were suitable for producing mushrooms with high protein, dietary fiber, phenolic, and low lipid content. Lignocellulosic materials from local agronomic wastes support sustainable food production, being readily available and primarily underutilized.

Fresh mushrooms are composed mainly of water, making them highly perishable. To extend their shelf life, they are often sold in dried form [25,26]. In the present study, the mushrooms also underwent a drying process, and their moisture values after drying (Table 3), were much lower than the moisture content of fresh *P. eryngii* mushrooms (85.10%) cultivated on sugarcane bagasse [6]. Yet the values were similar to those reported for *P. sajor caju* (13.14%) and *P. djamor* (11.54%) subjected to cabinet drying oven at 60°C [27].

Water activity is an important quality parameter, especially in dehydrated foods, since it refers to the water available for microbial growth, affecting product stability during storage [28,29]. Our results (Table 3) align with those observed in dried *P. ostreatus* at temperatures of 45 to 65°C, with values ranging from 0.556 to 0.597 [30]. However, they were above the range of 0.236 to 0.436 observed for *P. djamor* powders obtained through drying

combined with blanching and sulfiting [29]. The variations may well be attributed to the different drying techniques and equipment used in the experiments. Although no significant differences were found between treatments (Table 3), lower water activity values were generally observed in the samples with lower moisture content. This was expected, as water activity is influenced by water removal [28].

Ash content is essential for understanding the mineral content in food [31]. Compared with previous *P. djamor* studies where ash contents ranged from 5.24% to 6.98% and 5.91% [27,32] our ash concentrations (Table 3) were slightly lower. Under the conditions of the present study, no statistical difference was observed in the ash content due to different substrates. Similar behavior was reported by Valenzuela-Cobos et al. (2019) for *P. djamor* cultivated from wheat straw and peat moss in various proportions; they found no significant influence of substrate on ash content. Yet when cultivated from wheat bran supplemented with sugarcane bagasse (20%), *P. djamor* presented the effects of supplementation, and ash concentrations reached up to 9.51% [34].

The literature contains several studies with similar results regarding *P. djamor* mushroom nutritional composition. Nayak et al. (2021) and Das et al. (2014) investigated the physicochemical properties of dried *P. djamor* mushroom powder and also found high amounts of protein and fiber, with low energy values. In a study conducted by [9], *P. djamor* was cultivated in three different substrates composed of rice straw, corncobs, and coffee pulp. Unlike our study, they detected a significant effect of the different substrates on the protein content of the samples, with a range of 21.61–27.09%. These examples highlight the influence of substrate type on the nutritional composition of *P. djamor* mushrooms.

To achieve more sustainable and healthy dietary patterns in the future, consumption of animal products should be limited, and alternative sources should be sought. The consumption of red meat has been associated with a range of cardiometabolic issues [37] and its production significantly contributes to greenhouse gas emissions [38]. Fungi-based proteins are thus gaining popularity as alternatives to animal proteins. Edible mushrooms have been recognized as good sources of high-quality protein, and they can be used by individuals who do not consume animal protein [39]. In the context of a diverse diet, *P. djamor* cultivated under the conditions adopted in this study may serve as a sustainable alternative source of proteins.

The results suggest that mushrooms are a good source of carbohydrates as a major constituent (Table 3). The averages are similar to those reported by [9] and slightly lower than those reported by [27], respectively, with values of 41.45–51.06% and 48.36–52.37%. Lipid content was as low as expected (Table 3); mushrooms generally present low-fat contents, making them low-calorie foods [32]. Fat was the only parameter that showed significant differences among the macronutrients, with mushrooms cultivated in the substrate composed of 25%BL+75%SB

and 100%SB presenting the highest fat percentages (Table 3). Hasan et al. (2015) found that the lipid content of *P. djamor* decreased as the substrate base was supplemented with sugarcane bagasse, with values ranging from 3.58% to 6.34%. Another study has reported lipid percentages in *P. djamor* ranging from 1.63% to 2.09% [40]. These variations in data may be attributed to the species, the growth medium, or the analytical methods used [41]. Energy values ranged from 245.71 to 258.42 kcal/100 g (Table 3), with no significant differences between treatments. The results fall within the 240.55 to 295.36 kcal/100 g range previously reported for *P. djamor* var. *roseus* by [40]. The World Health Organization (2020) recommends reducing consumption of energy-dense, high-fat, and high-sugar foods to prevent noncommunicable diseases such as diabetes and heart disease. In alignment with WHO recommendations, the Dietary Guidelines for the Brazilian Population (2014) advises consuming minimally processed or unprocessed foods for a healthy diet. *P. djamor* (in line with both dietary guidelines) cultivated under the conditions of the present study proves to be strategic when consumed in minimally processed forms, offering a balanced nutritional value.

Mycochemical components provide edible mushrooms with functional biological properties for human nutrition and health. Bromatological analysis and ¹H-NMR spectra of *P. djamor* mushrooms indicated a rich presence of polysaccharides, which are common in extracts of edible mushrooms of the *Pleurotus* genus and are the most studied metabolites in this species [42]. When using substrates with varying agricultural residue compositions, certain variations in the resulting mix of compounds present in the fungal extracts are expected due to the differences. The signals obtained may correspond to a mixture of polysaccharides commonly found in the species, such as heteropolysaccharides, β -glucans, α -glucans, and oligosaccharides, as is reported in the literature for extracts of the species [42–46]. These fiber-like components, phenolic compounds, and flavonoids are relevant since they directly relate to antioxidant and prebiotic activity.

Fiber-like polysaccharide compounds influence lipid metabolism by reducing fats and sugars' absorption and increasing fecal matter volume (Nie & Luo, 2021). Further, they interact with the human intestinal microbiome, producing a prebiotic effect [48,49]. These polysaccharides confer antioxidant activity to extracts without cytotoxic effects, enhancing protection against H₂O₂-induced oxidative stress in cellular models [43]. Studies with other *Pleurotus* species, such as *P. ostreatus* and *P. eryngii* have confirmed this immunomodulatory potential [50], antitumor [51], and improved cardiometabolic parameters [52].

Previous studies have demonstrated the presence of mycochemical components in *P. djamor* mushrooms, which confer antioxidant activity [53–56]. Total phenolic compounds and flavonoid content are generally related to antioxidant activity. Phenolic acids are very commonly found in edible mushrooms. Tannic acid, gallic acid,

protocatechuic acid, p-coumaric acid, ferulic acid, 5-O-Caffeoylquinic acid, syringic acid, gentisic acid, cinnamic acid, and vanillic acid are examples of phenolic compounds commonly found in *P. djamor* mushrooms [54,57–60].

Just as the nutritional profile can be modified according to the substrate in which mushrooms are cultivated, the content of mycochemical components and antioxidant activity can also vary. We used five different compositions of sugarcane bagasse and banana leaves and detected significant changes in mycochemical characterization without affecting the antioxidant activity of the mushrooms. We used two controls to cross-validate the results to increase the reliability of the antioxidant activity analyses. In this sense, we used trolox and ascorbic acid, which are antioxidant compounds with different chemical structures and activity profiles. Agro-industrial residues such as agave bagasse and barley straw have also been used to cultivate *P. djamor* mushrooms [55]. The researchers found that the cultivation substrate influences the concentration of bioactive molecules in *P. djamor* fruiting bodies. Similarly, rice straw, corncobs, and coffee pulp have also been shown to modify the mycochemical profile and antioxidant activity of *P. djamor* [9].

Conclusion

This study showed that using agronomic waste such as banana leaves and sugarcane bagasse allowed the production of *P. djamor* mushrooms with a high content of nutrients and antioxidant mycochemicals. We highlight the presence of proteins, dietary fibers, polysaccharides, and antioxidant compounds related to the bioactivity attributed to *P. djamor* mushrooms. Few studies have been conducted with *P. djamor* to assess its prebiotic activity and resulting beneficial effects on human health. However, due to its interesting fiber content and based on our results, future investigations into its *in vitro/in vivo* prebiotic potential are warranted. Similarly, using this mushroom to produce other food products (either in flour or dehydrated powder form) promises enhanced nutritional value.

References

- [1] El-Ramady H, Abdalla N, Badgar K, Llanaj X, Törös G, Hajdú P, et al. (2022) Edible Mushrooms for Sustainable and Healthy Human Food: Nutritional and Medicinal Attributes. *Sustainability* 14:4941. <https://doi.org/10.3390/su14094941>.
- [2] Carrasco-González JA, Serna-Saldívar SO, Gutiérrez-Urbe JÁ (2017) Nutritional composition and nutraceutical properties of the *Pleurotus* fruiting bodies: Potencial use as food ingredient. *J Food Compost Anal* 58:69–81. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.01.016>.
- [3] Wan Mahari WA, Peng W, Nam WL, Yang H, Lee XY, Lee YK, et al. (2020) A review on valorization of oyster mushroom and waste generated in the mushroom cultivation industry. *J Hazard Mater* 400:123156. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2020.123156>.

- [4] Shirur M, Barh A, Annepu SK. (2021) Sustainable Production of Edible and Medicinal Mushrooms: Implications on Mushroom Consumption. In: Hebsale Mallappa VK, Shirur M (eds). Climate Change and Resilient Food Systems, Singapore: Springer, pp. 315–46.
- [5] Niego AG, Rapior S, Thongklang N, Raspé O, Jaidee W, Lumyong S, et al (2021) Macrofungi as a nutraceutical source: promising bioactive compounds and market value. J Fungi 7. <https://doi.org/10.3390/jof7050397>.
- [6] Sardar H, Ali MA, Anjum MA, Nawaz F, Hussain S, Naz S, et al. (2017) Agro-industrial residues influence mineral elements accumulation and nutritional composition of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) Sci Hortic 225:327–34. <https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2017.07.010>.
- [7] Sanuma OI, Tokimoto K, Sanuma C, Autuori J, Sanuma LR, Sanuma M, et al (2016) Enciclopédia dos alimentos Yanomami (Sanöma): cogumelos. Instituto Socioambiental, São Paulo, pp. 55.
- [8] Renard D, Tilman D. National food production stabilized by crop diversity (2019) Nature 571:7764 2019;571:257–60. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1316-y>.
- [9] Vega A, De León JA, Miranda S, Reyes SM (2022) Agro-industrial waste improves the nutritional and antioxidant profile of *Pleurotus djamor*. Cleaner Waste Systems 2022;2:100018. <https://doi.org/10.1016/J.CLWAS.2022.100018>.
- [10] Grimm D, Wösten HAB. Mushroom cultivation in the circular economy (2018) Appl Microbiol Biotechnol 102:7795–803. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9226-8>.
- [11] IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Agropecuário 2017. https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo_agro/resultadosagro/index.html (accessed July 23, 2023).
- [12] Zárate-Salazar JR, Santos MN, Caballero ENM, Martins OG, Herrera ÁAP (2020) Use of lignocellulosic corn and rice wastes as substrates for oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus* Jacq.) cultivation. SN Appl Sci 2:1–10. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-03720-z>.
- [13] Bellettini MB, Fiorda FA, Maievas HA, Teixeira GL, Ávila S, Hornung PS, et al. (2019) Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. Saudi J Biol Sci 26:633–46. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.005>.
- [14] Moreaux K (2017) Spawn Production. In: Diego CZ, Pardo-Giménez A, editors. Edible and Medicinal Mushrooms: Technology and Applications, John Wiley & Sons, Ltd; p. 89–128. <https://doi.org/10.1002/9781119149446.CH5>.
- [15] Latimer-Jr. GW (2016) Official Methods of Analysis of AOAC International. 20th ed. Washington: AOAC International.
- [16] Kalač P (2013) A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms. J Sci Food Agric 93:209–18. <https://doi.org/10.1002/JSFA.5960>.
- [17] Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. J Biol Chem 226:497–509. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)64849-5).
- [18] Sharif S, Shahid M, Mushtaq M, Akram S, Rashid A (2017) Wild mushrooms: A potential source of nutritional and antioxidant attributes with acceptable toxicity. Prev Nutr Food Sci 22:124–30. <https://doi.org/10.3746/pnf.2017.22.2.124>.
- [19] Refaie F, Esmat A, Daba A, Aplicada ST-M (2009). Characterization of polysaccharopeptides from *Pleurotus ostreatus* mycelium: assessment of toxicity and immunomodulation *in vivo*. RedalycOrg 21:67–75.
- [20] Slinkard K, Singleton VL (1977) Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. Am J Enol Vitic 28:49–55. <https://doi.org/10.5344/AJEV.1977.28.1.49>.

- [21] Tambe VD, Bhambar RS (2014) Estimation of Total Phenol, Tannin, Alkaloid and Flavonoid in Hibiscus Tiliaceus Linn. Wood Extracts. Research & Reviews: Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2:41–7.
- [22] Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol Med 26:1231–7. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3).
- [23] Rufino M do SM, Alves RE, de Brito ES, Pérez-Jiménez J, Saura-Calixto F, Mancini-Filho J (2010) Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. Food Chem 121:996–1002. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2010.01.037>.
- [24] R Core Team. R: A language and environment for statistical computing 2021.
- [25] Marçal S, Sousa AS, Taofiq O, Antunes F, Morais AMMB, Freitas AC, et al. (2021) Impact of postharvest preservation methods on nutritional value and bioactive properties of mushrooms. Trends Food Sci Technol 110:418–31. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2021.02.007>.
- [26] Azeem U, Hakeem KR, Ali M (2020) Commercialization and Conservation. Fungi for Human Health, Springer Cham, p. 97–106. https://doi.org/10.1007/978-3-030-58756-7_8.
- [27] Siti-Nuramira J, Farhana R, Nabil S, Jafari SM, Raseetha S (2022) Impact of drying methods on the quality of grey (*Pleurotus sajor caju*) and pink (*Pleurotus djamor*) oyster mushrooms. Food Measure 16:3331–43. <https://doi.org/10.1007/S11694-022-01435-W/FIGURES/8>.
- [28] Mandliya S, Vishwakarma S, Mishra HN (2022) Modeling of vacuum drying of pressed mycelium (*Pleurotus eryngii*) and its microstructure and physicochemical properties. J Food Process Eng 45:e14124. <https://doi.org/10.1111/JFPE.14124>.
- [29] Nayak H, Kushwaha A, Chand K, Kushwaha K, Kulshrestha K, Shahi NC, et al. (2018) Effect of drying parameters on water activity of pink oyster mushroom (*Pleurotus djamor*) powder. J Pharmacogn Phytochem 7:2288–92.
- [30] Engin D (2020) Effect of drying temperature on color and desorption characteristics of oyster mushroom. Food Sci Technol 40:187–93. <https://doi.org/10.1590/FST.37118>.
- [31] Ao T, Deb CR (2019) Nutritional and antioxidant potential of some wild edible mushrooms of Nagaland, India. J Food Sci Technol 56:1084–9. <https://doi.org/10.1007/S13197-018-03557-W/METRICS>.
- [32] Naknaen P, Itthisoponkul T, Charoenthaikij P (2015) Proximate compositions, nonvolatile taste components and antioxidant capacities of some dried edible mushrooms collected from Thailand. J Food Meas Character 9:259–68. <https://doi.org/10.1007/S11694-015-9231-X/METRICS>.
- [33] Valenzuela-Cobos JD, Rodríguez-Grimón RO, Zied DC, Grijalva-Endara A, Garcés-Moncayo MF, Garín-Aguilar ME, et al. (2019) Chemical composition and biological properties of *Pleurotus* spp. cultivated on peat moss and wheat straw. Emir J Food Agric 31:830–6. <https://doi.org/10.9755/EJFA.2019.V31.I11.2034>.
- [34] Hasan MT, Khatun MHA, Sajib MAM, Rahman MM, Rahman MS, Roy M, et al. (2015) Effect of Wheat Bran Supplement with Sugarcane Bagasse on Growth, Yield and Proximate Composition of Pink Oyster Mushroom (*Pleurotus djamor*). Am J Food Sci Technol 3:150–7. <https://doi.org/10.12691/AJFST-3-6-2>.
- [35] Nayak H, Kushwaha A, Behera PC, Shahi NC, Kushwaha KPS, Kumar A, et al. (2021) The Pink Oyster Mushroom, *Pleurotus djamor* (Agaricomycetes): A Potent Antioxidant and Hypoglycemic Agent. Int J Med Mushrooms 23:29–36. <https://doi.org/10.1615/INTJMEDMUSHROOMS.2021041411>.
- [36] Das AR, Bhattacharjee S, Saha AK (2014) Chemical analysis of a wild edible mushroom: *Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn. Mushroom Res 23:161–6.

- [37] Chung MG, Li Y, Liu J (2021) Global red and processed meat trade and non-communicable diseases. *BMJ Glob Health* 6:e006394. <https://doi.org/10.1136/BMJGH-2021-006394>.
- [38] Leroy F, Beal T, Gregorini P, McAuliffe GA, Vliet S van, Leroy F, et al. (2022) Nutritionism in a food policy context: the case of 'animal protein. *Anim Prod Sci* 62:712–20. <https://doi.org/10.1071/AN21237>.
- [39] Niazi AR, Ghafoor A (2021) Different ways to exploit mushrooms: A review. *All Life* 14:450-460. <https://doi.org/10.1080/26895293.2021.1919570>
- [40] Selvakumar P, Rajasekar S, Babu AG, Periasamy K, Raaman N, Reddy MS (2015) Improving biological efficiency of *Pleurotus* strain through protoplast fusion between *P. ostreatus* var. *florida* and *P. djamor* var. *roseus*. *Food Sci Biotechnol* 24:1741–8. <https://doi.org/10.1007/S10068-015-0226-5/METRICS>.
- [41] İnci Ş, Kırbağ S, Akyüz M (2022) Growth period, yield, and nutrient contents of *Pleurotus citrinopileatus* Singer grown on some local agricultural wastes in Turkey. *Biomass Convers Biorefin* 2022:1–10. <https://doi.org/10.1007/S13399-022-03374-4/METRICS>.
- [42] Barbosa JR, S. Freitas MM, Oliveira LC, S. Martins LH, Almada-Vilhena AO, Oliveira RM, et al. (2020) Obtaining extracts rich in antioxidant polysaccharides from the edible mushroom *Pleurotus ostreatus* using binary system with hot water and supercritical CO₂. *Food Chem* 330:127173. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127173>.
- [43] Rodrigues Barbosa J, dos Santos Freitas MM, da Silva Martins LH, de Carvalho RN (2020) Polysaccharides of mushroom *Pleurotus* spp.: New extraction techniques, biological activities and development of new technologies. *Carbohydr Polym* 229:115550. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2019.115550>.
- [44] Greve B, Haumaier L, Zech W (1993) Spectroscopic (IR, NMR) characterization of water-soluble organic substances extracted from straw, straw incubated with *Pleurotus ostreatus*, and straw compost. *Zeitschrift Für Pflanzenernährung Und Bodenkunde* 156:103–8. <https://doi.org/10.1002/jpln.19931560202>.
- [45] Ruthes AC, Smiderle FR, Iacomini M (2015) d-Glucans from edible mushrooms: A review on the extraction, purification and chemical characterization approaches. *Carbohydr Polym* 117:753–61. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.10.051>.
- [46] Ruthes AC, Smiderle FR, Iacomini M (2016) Mushroom heteropolysaccharides: A review on their sources, structure and biological effects. *Carbohydr Polym* 136:358–75. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.08.061>.
- [47] Nie Y, Luo F (2021) Dietary Fiber: An Opportunity for a Global Control of Hyperlipidemia. *Oxid Med Cell Longev* 2021;2021:5542342. <https://doi.org/10.1155/2021/5542342>.
- [48] Singdevsachan SK, Auroshree P, Mishra J, Baliyarsingh B, Tayung K, Thatoi H (2016) Mushroom polysaccharides as potential prebiotics with their antitumor and immunomodulating properties: A review. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* 7:1–14. <https://doi.org/10.1016/J.BCDF.2015.11.001>.
- [49] Aida FMNA, Shuhaimi M, Yazid M, Maaruf AG (2009) Mushroom as a potential source of prebiotics: a review. *Trends Food Sci Technol* 20:567–75. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2009.07.007>.
- [50] Panda SK, Luyten W (2022) Medicinal mushrooms: Clinical perspective and challenges. *Drug Discov Today* 27:636–51. <https://doi.org/10.1016/J.DRUDIS.2021.11.017>.
- [51] Elhusseiny SM, El-Mahdy TS, Awad MF, Elleboudy NS, Farag MMS, Yassein MA, et al. (2021) Proteome Analysis and In Vitro Antiviral, Anticancer and Antioxidant Capacities of the Aqueous Extracts of *Lentinula edodes* and *Pleurotus ostreatus* Edible Mushrooms. *Molecules* 26:4623. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26154623>.

- [52] Dicks L, Ellinger S (2020) Effect of the Intake of Oyster Mushrooms (*Pleurotus ostreatus*) on Cardiometabolic Parameters—A Systematic Review of Clinical Trials. *Nutrients* 12:1134. <https://doi.org/10.3390/NU12041134>.
- [53] Nayak H, Kushwaha A, Behera PC, Shahi NC, Kushwaha KPS, Kumar A, et al (2021) The Pink Oyster Mushroom, *Pleurotus djamor* (Agaricomycetes): A Potent Antioxidant and Hypoglycemic Agent. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 23:29–36. <https://doi.org/10.1615/INTJMEDMUSHROOMS.2021041411>.
- [54] Puttaraju NG, Venkateshaiah SU, Dharmesh SM, Urs SMN, Somasundaram R (2006) Antioxidant Activity of Indigenous Edible Mushrooms. *J Agric Food Chem* 54:9764–72. <https://doi.org/10.1021/JF0615707>.
- [55] Cruz-Moreno BA, Pérez AAF, García-Trejo JF, Pérez-García SA, Gutiérrez-Antonio C (2023) Identification of Secondary Metabolites of Interest in *Pleurotus djamor* Using Agave tequilana Bagasse. *Molecules* 28:557. <https://doi.org/10.3390/molecules28020557>.
- [56] Sudha G, Janardhanan A, Moorthy A, Chinnasamy M, Gunasekaran S, Thimmaraju A, et al. (2016) Comparative study on the antioxidant activity of methanolic and aqueous extracts from the fruiting bodies of an edible mushroom *Pleurotus djamor*. *Food Sci Biotechnol* 25:371–7. <https://doi.org/10.1007/S10068-016-0052-4/METRICS>.
- [57] Palacios I, Lozano M, Moro C, D'Arrigo M, Rostagno MA, Martínez JA, et al. (2011) Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in edible mushrooms. *Food Chem* 128:674–8. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2011.03.085>.
- [58] Gąsecka M, Mleczek M, Siwulski M, Niedzielski P (2016) Phenolic composition and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* enriched with selenium and zinc. *Eur Food Res Technol* 242:723–32. <https://doi.org/10.1007/S00217-015-2580-1/TABLES/6>.
- [59] Kim MY, Seguin P, Ahn JK, Kim JJ, Chun SC, Kim EH, et al. (2008) Phenolic Compound Concentration and Antioxidant Activities of Edible and Medicinal Mushrooms from Korea. *J Agric Food Chem* 56:7265–70. <https://doi.org/10.1021/JF8008553>.
- [60] Fogarasi M, Socaci SA, Dulf FV, Diaconeasa ZM, Fărcas AC, Tofană M, et al. (2018) Bioactive Compounds and Volatile Profiles of Five Transylvanian Wild Edible Mushrooms. *Molecules* 23:3272. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES23123272>.

Figure legends:

Figure 1- ^1H NMR spectral analysis of *Pleurotus djamor*

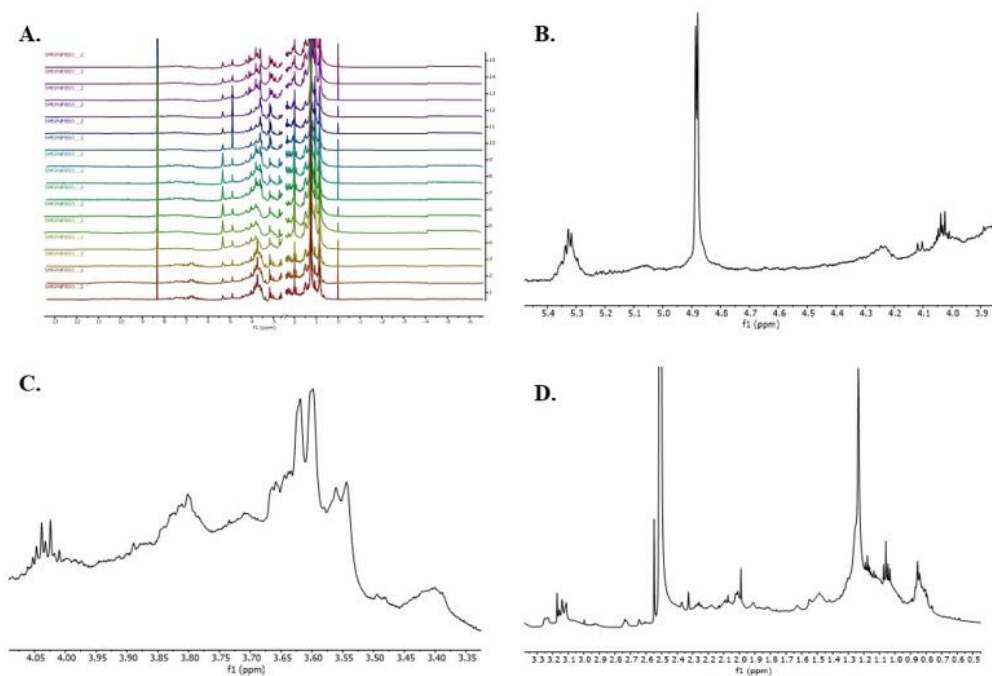


Fig 1: ^1H -NMR spectra (500 MHz, DMSO- d_6) of *Pleurotus djamor* . B. Region between 4.1-5.4 corresponds to anomeric proton signals. C. Region between 3.4-4.0 corresponds to other protons belonging to osidic units. D. Region between 0.55-3.3 indicates aliphatic hydrogens, or methyl groups linked to glycosylated chain hydrogens.

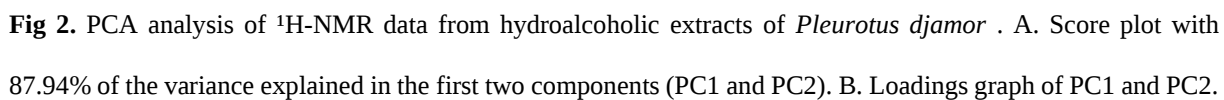


Figure 3- Effect of different substrate formulations on the antioxidant capacity of *Pleurotus djamor* mushrooms using DPPH

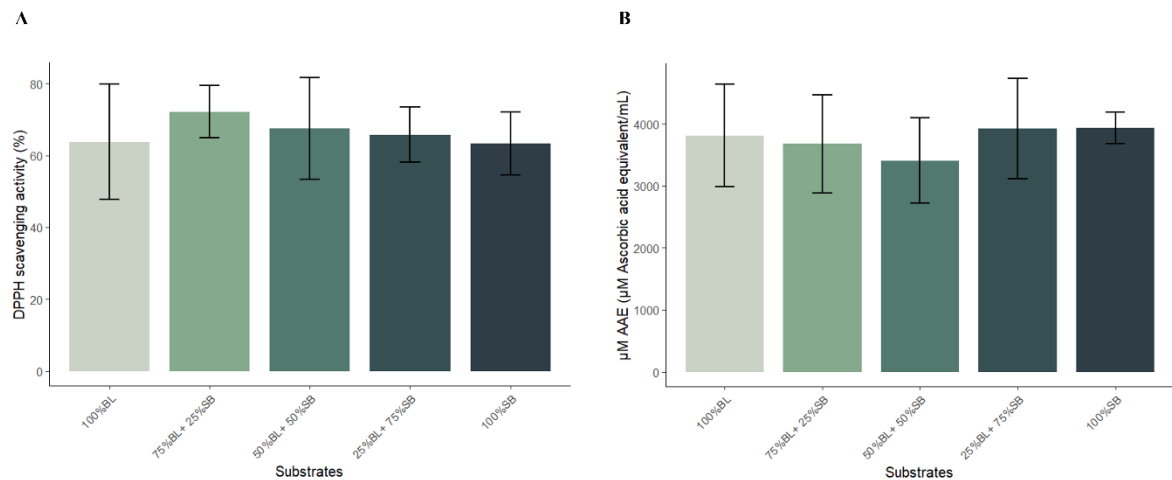


Fig 3. Effect of different substrate formulations on the antioxidant capacity of *Pleurotus djamor* mushrooms.

Values are expressed as means $\pm$ SD. a: significant difference compared to 25%BL+ 75%SB. b: significant difference compared to 100%BL. FB: banana leaves; BC: sugarcane bagasse.

Figure 4- Effect of different substrate formulations on the antioxidant capacity of *Pleurotus djamor* mushrooms using ABTS

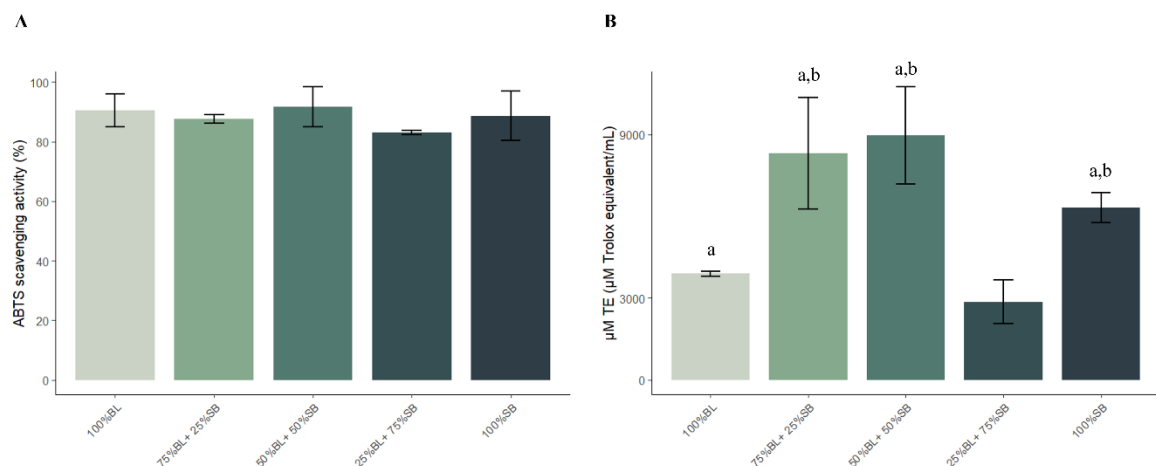


Fig 4. Effect of different substrate formulations on the antioxidant capacity of *Pleurotus djamor* mushrooms.

Values are expressed as means $\pm$ SD. a: significant difference compared to 25%BL+ 75%SB. b: significant difference compared to 100%BL. FB: banana leaves; BC: sugarcane bagasse

Table legends:

Table 1- Various substrate formulations used to cultivate *Pleurotus djamor*

Table 1. Various substrate formulations used to grow *Pleurotus djamor*.

Substrates	Banana leaves	Sugarcane bagasse
100%BL	100%	0%
75%BL+25%SB	75%	25%
50%BL+50%SB	50%	50%
25%BL+75%SB	25%	75%
100%SB	0%	100%

BL: banana leaves; SB: sugarcane bagasse.

Table 2- Acquisition parameters for ^1H NMR spectra of *Pleurotus djamor*

Table 2. Acquisition parameters for the ^1H -NMR spectra of *Pleurotus djamor*.

Parameters	Dada
Number of Scans	8
Gain	101.0
Relaxation Delay	4.6100
Pulse Rate	8.0000
Pre-saturation frequency	3.36150
Acquisition time	3.2768

Table 3- Effects of different substrates of banana leaves and sugarcane bagasse on the physicochemical characterization of *Pleurotus djamor* mushrooms

Table 3: Effects of different banana leaves and sugarcane bagasse substrates on the physicochemical characterization of *Pleurotus djamor* mushrooms.

Substrates	Moisture (%)	Water activity	Ash (%)	Protein (%)	Carbohydrates (%)	Lipids (%)	Crude fiber (%)	Energy (Kcal/100g)	Total polyphenols (µgGA E/mL)	Total flavonoids (µgQE /mL)
100%BL	16.09 ±1.25 ^a	0.67 ±0.05 ^a	4.71 ±0.8 ^a	18.77 ±0.24 ^a	42.13 ±1.85 ^a	0.28 ±0.08 ^a	18.02 ±0.05 ^a	246.14 ±8.49 ^a	272.27 ±54.45 ^a	82.14 ±12.97 ^a
75%BL ±25%SB	15.43 ±3.20 ^a	0.65 ±0.10 ^a	4.82 ±0.34 ^a	17.80 ±0.34 ^a	43.09 ±4.28 ^a	0.24 ±0.06 ^a	18.62 ±0.66 ^a	245.71 ±16.03 ^a	204.52 ±61.13 ^a	72.24 ±19.41 ^a
50%BL ±50%SB	14.79 ±3.41 ^a	0.60 ±0.13 ^a	4.77 ±0.62 ^a	18.37 ±0.18 ^a	43.73 ±3.19 ^a	0.26 ±0.03 ^a	18.08 ±2.55 ^a	250.77 ±13.20 ^a	123.65 ±13.58 ^a	117.24 ±13.37 ^b
25%BL ±75%SB	13.22 ±3.44 ^a	0.50 ±0.21 ^a	4.51 ±0.23 ^a	18.36 ±0.81 ^a	44.16 ±3.89 ^a	0.43 ±0.17 ^b	19.32 ±0.39 ^a	253.95 ±15.30 ^a	346.36 ±80.52 ^b	113.86 ±9.60 ^b
100%SB	12.06 ±2.88 ^a	0.55 ±0.15 ^a	5.05 ±0.04 ^a	18.23 ±1.36 ^a	46.30 ±3.39 ^a	0.40 ±0.06 ^b	18.32 ±0.65 ^a	258.42 ±8.49 ^a	480.17 ±98.78 ^b	113.21 ±21.08 ^b

Values are expressed as means ± SD. Different letters within a column indicate significant differences between substrates (p<0.05).

BL: banana leaves; SB: sugarcane bagasse; GAE: gallic acid equivalent ; QE: quercetin equivalent.