

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS – UFGD
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
DOUTORADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL**

PHAENA MORAES FARIA

TESE DE DOUTORADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL

**BIOCONVERSÃO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS UTILIZANDO
FUNGOS *PLEUROTUS OSTREATUS* E *PLEUROTUS SAJOR-
CAJU* PARA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES**

**DOURADOS/MS
2021**

PHAENA MORAES FARIA

TESE DE DOUTORADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL

**BIOCONVERSÃO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS UTILIZANDO
FUNGOS *PLEUROTUS OSTREATUS* E *PLEUROTUS SAJOR-
CAJU* PARA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES**

Orientadora:

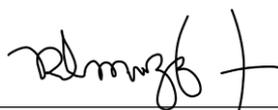
Prof^ª. Dr^ª. Rozanna Marques Muzzi

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, da Universidade Federal da Grande Dourados, como um dos requisitos necessários para a obtenção do título de doutor em Ciência e Tecnologia Ambiental, na área de concentração Tecnologia Ambiental.

**DOURADOS/MS
2021**

Termo de Aprovação

Após apresentação, arguição e apreciação pela banca examinadora, foi emitido o parecer APROVADO, para a tese intitulada: **“Bioconversão de resíduos agroindustriais utilizando fungos *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju* para alimentação de ruminantes”**, de autoria de **PHAENA MORAES FARIA**, apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal da Grande Dourados.



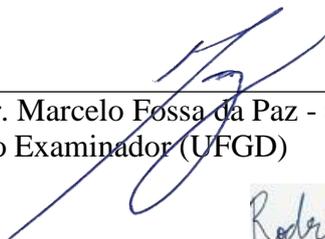
Prof.ª Dr.ª Rozanna Marques Muzzi - (Participação Remota Síncrona)
Presidente da banca examinadora



Prof.ª Dr.ª Isabel Craveiro Moreira (Participação Remota Síncrona)
Membro Examinador (UTFPr)



Prof. Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes - (Participação Remota Síncrona)
Membro Examinador (UFGD)



Prof. Dr. Marcelo Fossa da Paz - (Participação Remota Síncrona)
Membro Examinador (UFGD)



Prof. Dr. Rodrigo Simões Ribeiro Leite/UFGD - (Participação Remota Síncrona)
Membro Examinador (UFGD)

Dourados/MS, 18 de Outubro de 2021.

Dedico a minha mãe Adilis pelo apoio, dedicação, cuidado e amor para que nada me faltasse, especialmente nesta parte da minha vida, essa tese é dela. Amo você mãe!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, porque até aqui o Senhor me ajudou.

A minha orientadora, Rozanna, por acreditar em mim e trilhar comigo todo o caminho pra chegar até esse momento.

Aos membros da Banca Examinadora, pela disposição e correções necessárias neste trabalho.

A minha família, em especial aos meu filhos, Felipe e Laís, pelo apoio, incentivo e paciência nos meus momentos de ausência.

Aos amigos: Maria Gizelma, João e Camila, pelo incentivo e ajuda nos laboratórios, importantes para conclusão deste trabalho.

A UFGD pelo incentivo à qualificação.

A todas as pessoas que de uma forma ou de outra, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

O Brasil é um dos principais produtores de alimentos do mundo, possui crescente industrialização e como consequência gera grandes quantidade de resíduos e coprodutos agroindustriais. O uso desses coprodutos como substrato para alimentação de ruminantes, aliado ao uso de biotecnologias, se apresenta como uma solução para entraves ambientais, sociais e econômicos. Os coprodutos finais bioconvertidos por fungos têm seus valores nutricionais enriquecidos, sem a necessidade de que a alimentação animal compita com a alimentação humana. O objetivo desse estudo foi avaliar o potencial de enriquecimento nutricional de diferentes coprodutos agroindustriais: torta de nabo forrageiro, farelo de soja e bagaço-de-cana, utilizando o processo de bioconversão pelos fungos *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju* na alimentação de ruminantes. Foram feitas análises centesimais e minerais antes e após a bioconversão pelos fungos *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju*, nos seguintes substratos e suas misturas: torta de nabo-forrageiro 100%, farelo de soja 100%, bagaço-de-cana 100%, torta de nabo forrageiro mais farelo de soja na proporção de 50/50%, torta de nabo forrageiro mais bagaço-de-cana 70/30%, torta de nabo forrageiro mais farelo de soja 70/30%, torta de nabo forrageiro mais farelo de soja mais bagaço-de cana 40/40/20%. O processo de bioconversão trouxe melhorias na composição química e mineral de forma geral, proporcionando um enriquecimento nutricional desses substratos para alimentação de ruminantes com incremento nos níveis de proteína bruta, cinzas e digestibilidade *in vitro*. A celulose e a hemicelulose não foram consumidas na maioria das amostras e houve diminuição dos níveis de extrato etéreo e lignina nas mesmas. A composição dos minerais após a bioconversão, resultou em aumento, principalmente, dos macrominerais Ca, K, P e Mg; dentre os microminerais o Mn e o Fe foram os de maior aumento. Os resultados obtidos nesse estudo demonstraram que tratamentos biotecnológicos de coprodutos agroindustriais por fungos podem ser considerados uma solução ambientalmente correta por reaproveitá-los, valorizá-los, além de transformá-los em produtos alimentícios de valor agregado para alimentação de ruminantes.

Palavras-chave: Bioconversão; alimentação de ruminantes; fungos; coprodutos agroindustriais.

ABSTRACT

Brazil is one of the main food producers in the world, has increasing industrialization and as a consequence generates large amounts of waste and agro-industrial co-products. The use of these co-products as a substrate for feeding ruminants, combined with the use of biotechnologies, presents itself as a solution to environmental, social and economic obstacles. The final co-products bioconverted by fungi have their nutritional values enriched, without the need for animal feed to compete with human feed. The objective of this study was to evaluate the nutritional enrichment potential of different agro-industrial co-products: turnip cake, soybean meal and sugarcane bagasse, using the bioconversion process by the fungi *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* in ruminant feed. Proximate and mineral analyzes were carried out before and after bioconversion by the fungi *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju*, on the following substrates and their mixtures: radish cake 100%, soybean meal 100%, sugarcane bagasse 100%, radish cake plus soybean meal in a proportion of 50/50%, radish cake plus sugarcane bagasse 70/30%, radish cake plus soybean meal 70/30%, radish cake plus bran soybean plus sugarcane bagasse 40/40/20%. The bioconversion process brought about improvements in the chemical and mineral composition in general, providing a nutritional enrichment of these substrates for feeding ruminants with an increase in the levels of crude protein, ash and in vitro digestibility. Cellulose and hemicellulose were not consumed in most samples and there was a decrease in the levels of ether extract and lignin in them. The composition of the minerals after bioconversion resulted in an increase, mainly, of the macrominerals Ca, K, P and Mg; among the microminerals, Mn and Fe showed the highest increase. The results obtained in this study demonstrated that biotechnological treatments of agro-industrial co-products by fungi can be considered an environmentally correct solution by reusing them, adding value to them, in addition to transforming them into value-added food products for feeding ruminants.

Keywords: Bioconversion; ruminant feed; fungi; agro-industrial co-products.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura da biomassa ligninocelulósica.....	21
Figura 2 - Estruturas parciais dos elementos ligninocelulósicos.....	23
Figura 3 - Esquema de processos em microescala que ocorrem durante a fermentação em estado sólido (FES).....	26
Figura 4 - Quebra da matriz ligninocelulósica: a (estrutura padrão de resíduos ligninocelulósicos); b (ataque fúngico inicial à matriz lignina-hemicelulose); c (degradação dos três polímeros e crescimento do fungo); d (ligninocelulose parcialmente degradada)	29
Figura 5 - Destino da soja no Brasil no ano de 2020 em milhões de toneladas.....	33
Figura 6 - Nabo-forrageiro (<i>Raphanus sativus</i> L.) em floração.....	377
Figura 7 - Corpo de frutificação de <i>Pleurotus ostreatus</i> em farelo de amêndoa de macaúba (<i>Acrocomia aculeata</i>)	399
Figura 8 - <i>Pleurotus sajor-caju</i> em farelo de soja 100.....	566
Figura 9 - <i>Pleurotus sajor-caju</i> em torta de nabo-forrageiro 100	566
Figura 10 - <i>Pleurotus sajor-caju</i> em bagaço-de-cana 100	566
Figura 11 - <i>Pleurotus sajor-caju</i> em torta de nabo-forrageiro mais farelo de soja 50/50	577
Figura 12 - <i>Pleurotus sajor-caju</i> em torta de nabo-forrageiro mais bagaço-de-cana 70/30... ..	577
Figura 13 - <i>Pleurotus sajor-caju</i> em torta de nabo forrageiro mais farelo de soja 70/30	577
Figura 14 - <i>Pleurotus sajor-caju</i> em torta de nabo forrageiro mais farelo de soja 70/30	577
Figura 15 - <i>Pleurotus sajor-caju</i> em torta de nabo forrageiro mais farelo de soja mais bagaço-de-cana 40/40/20.....	588
Figura 16 - <i>Pleurotus ostreatus</i> em farelo de soja 100.....	588
Figura 17 - <i>Pleurotus ostreatus</i> em torta de nabo-forrageiro 100	588
Figura 18 - <i>Pleurotus ostreatus</i> em bagaço-de-cana 100	59
Figura 19 - <i>Pleurotus sajor-caju</i> em torta de nabo-forrageiro mais farelo de soja 50/50	599
Figura 20 - <i>Pleurotus ostreatus</i> em torta de nabo-forrageiro mais bagaço-de-cana 70/30	599
Figura 21 - <i>Pleurotus ostreatus</i> em torta de nabo forrageiro mais farelo de soja 70/30	60
Figura 22 - <i>Pleurotus ostreatus</i> em torta de nabo forrageiro mais farelo de soja mais bagaço-de-cana 40/40/20.....	60
Figura 23 - Resultado das análises bromatológicas e da digestibilidade <i>in vitro</i> *, em base seca, realizada nos substratos de farelo de soja (FS), torta de nabo forrageiro (NF), bagaço-de-cana (BC) e suas misturas**, miceliados com os fungos <i>Pleurotus sajor-caju</i> (PSC) e <i>Pleurotus ostreatus</i> (PO).....	62

Figura 24 - Resultado das análises bromatológicas e da digestibilidade <i>in vitro</i> *, em base seca, realizada nos substratos de farelo de soja (FS), torta de nabo forrageiro (NF), bagaço-de-cana (BC) e suas misturas**, miceliados com os fungos <i>Pleurotus sajor-caju</i> (PSC) e <i>Pleurotus ostreatus</i> (PO).....	63
Figura 25 - Resultados das análises de macrominerais dos substratos e suas misturas antes e após a miceliação com <i>Pleurotus sajor-caju</i> e <i>Pleurotus ostreatus</i>	699
Figura 26 - Resultados das análises de microminerais dos substratos e suas misturas antes e após a miceliação com <i>Pleurotus sajor-caju</i> (PSC) e <i>Pleurotus ostreatus</i> (PO)	699

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Produção e exportação dos principais produtos agrícolas brasileiros	19
Tabela 2 - Oferta mássica de biomassa por resíduo agrícola, agroindustrial e silvicultura (milhões de toneladas)	20
Tabela 3 - Composição de alguns resíduos agroindustriais.....	244
Tabela 4 - Fungos utilizados para degradar lignina em substratos ligninocelulósicos para uso na alimentação animal	298
Tabela 5 - Comparação de alguns fungos da podridão branca utilizados para melhorar a digestibilidade de resíduos ligninocelulósicos	32
Tabela 6 - Composição nutricional do bagaço de cana-de- açúcar <i>in natura</i>	355
Tabela 7 - Amostra, concentração percentual e tipo de substrato utilizados nos estudos de bioconversão com os fungos <i>Pleurotus ostreatus</i> e <i>Pleurotus sajor-caju</i> (massa de amostra= 30g).....	41
Tabela 8 - Granulometria das amostras em porcentagem, de acordo com a aberturas das peneiras	52
Tabela 9 - Percentual de umidade das amostras de substrato determinado após procedimento de hidratação.....	555

LISTA DE ABREVIATURAS

DIV/MS	-	Digestibilidade <i>in vitro</i> da Matéria Seca
EE	-	Extrato Etéreo
FB	-	Fibra Bruta
FDA	-	Fibra em Detergente Ácido
FDN	-	Fibra em Detergente Neutro
FES	-	Fermentação em Estado Sólido
MM	-	Matéria Mineral
MS	-	Matéria seca
PB	-	Proteína Bruta
PO	-	<i>Pleurotus ostreatus</i>
PS	-	<i>Pleurotus sajor-caju</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GERAL	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1 A AGROINDÚSTRIA BRASILEIRA E A GERAÇÃO DE RESÍDUOS.....	18
3.2 BIOMASSA LIGNINOCELULÓSICA	21
3.3 BIOCONVERSÃO DE RESÍDUOS LIGNINOCELULÓSICOS	24
3.3.1 Cultivo em Estado Sólido (CES)	25
3.4 USO DA BIOCONVERSÃO NA NUTRIÇÃO DE RUMINANTES	27
3.4.1 Degradação dos Resíduos Ligninocelulósicos e Digestibilidade de Ruminantes	30
3.5 COPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS UTILIZADOS NO ESTUDO DE BIOCONVERSÃO POR FUNGOS	32
3.5.1 Farelo de Soja	32
3.5.2 Bagaço-de- Cana-Açúcar	34
3.5.3 Nabo Forrageiro	36
3.6 FUNGO <i>Pleurotus</i> sp.....	38
4 MATERIAL E MÉTODOS	40
4.1 AMOSTRAS: COMPOSIÇÃO DOS SUBSTRATOS	40
4.2 GRANULOMETRIA DAS AMOSTRAS	41
4.3 TESTES DE UMIDADE E PH	42
4.4 BIOCONVERSÃO POR MICROORGANISMOS.....	43
4.5 PREPARO DAS AMOSTRAS PARA A BIOCONVERSÃO.....	43
4.6 INOCULAÇÃO E CRESCIMENTO MICELIAL	43
4.7 ANÁLISE QUÍMICA DAS AMOSTRAS ANTES E APÓS BIOCONVERSÃO	44
4.7.1 Matéria Seca e Matéria Mineral	44
4.7.2 Proteína Bruta	45
4.7.3 Fibra Bruta	45
4.7.4 Fibra em Detergente Neutro	46
4.7.5 Fibra em Detergente Ácido	46
4.7.6 Lignina	46
4.7.7 Celulose e Hemicelulose	47
4.7.8 Extrato Etéreo	47

4.7.9 Digestibilidade <i>in vitro</i> na Matéria Seca	48
4.8 ANÁLISES DAS CONCENTRAÇÕES DE MACRO E MICROMINERAIS	48
4.8.1 Determinação de Cálcio e Magnésio por Espectrofotometria de Absorção Atômica (E.A.A.)	49
4.8.2 Determinação de Potássio por Fotometria de Chama	49
4.8.3 Determinação de Fósforo por Espectrometria com Amarelo de Vanadato de Amônio	50
4.8.4 Determinação de Cobre, Ferro, Manganês e Zinco por Espectrometria de Absorção Atômica	50
4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	51
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
5.1 ANÁLISE GRANULOMÉTRICA	52
5.2 PH E UMIDADE	53
5.3 ETAPA DE CRESCIMENTO MICELIAL	55
5.4 COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS DAS AMOSTRAS ANTES E APÓS BIOCONVERSÃO	61
5.4.1 Composição Química	61
5.4.2 Composição Mineral	69
6 CONCLUSÕES	74
REFERÊNCIAS	75

1 INTRODUÇÃO

Em 2050 a população mundial deverá atingir mais de 9 bilhões de pessoas. A demanda por alimentos continuará a crescer, consequência não apenas do aumento populacional, mas também da renda, segundo as projeções da Organização das Nações Unidas. A entidade estima que para 2050, a demanda por cereais, para alimentação humana e animal, seja de aproximadamente, 3 bilhões de toneladas. A produção anual de cereais deverá crescer quase um bilhão de toneladas, em relação aos 2,1 bilhões de toneladas, atuais. A produção de carne precisará aumentar, das atuais 200 milhões de toneladas, para um total de 470 milhões de toneladas, 72% dos quais serão consumidos nos países em desenvolvimento (FAO, 2020).

Além do aumento da demanda, a produção de alimentos enfrenta outros desafios que tornam o contexto ainda mais complexo, como as mudanças climáticas, que interferem na capacidade produtiva e a restrição de recursos naturais, como a água e o solo. Desta forma, os desafios impostos exigem que a agricultura passe a produzir mais, com menos recursos. Isto implica na necessidade de novas técnicas, tecnologias e soluções aplicados na cadeia de produção e distribuição de alimentos (BRASIL, 2019).

O Brasil é um país que possui uma crescente industrialização, e como consequência ocorre o aumento da produção de resíduos, coprodutos e subprodutos agroindustriais. Dispostos de forma aleatória na natureza, esses resíduos e efluentes agropecuários podem gerar impactos ambientais, como a poluição atmosférica e de águas. A agroindústria brasileira gerou no ano de 2017, 521 milhões de toneladas (em base seca) de resíduos agrícolas e 183 milhões de toneladas (em base úmida) de resíduos da pecuária intensiva. Considerando-se os fatores de coleta e de escala, 394 milhões de toneladas desses resíduos poderiam ter aproveitamento (EPE, 2019). Grande parte deles poderia ser utilizada na alimentação animal. Esses resíduos constituem fonte alternativa de nutrientes, visando a redução de custos de produção, tendo em vista os elevados custos dos alimentos convencionais. Essa alternativa, além de viabilizar o sistema de produção para pequenos e médios produtores também reduz os problemas causados pela deposição dos resíduos no meio ambiente (GIORDANI et al., 2014).

Os resíduos e coprodutos agroindustriais são biomassa abundante e fonte de celulose, lignina e hemicelulose, garantindo fornecimento constante de matéria-prima em diversas aplicações como, por exemplo, sanar problemas de alimentação animal e fornecimento mundial

de proteínas e calorias, caso tecnologias apropriadas possam ser aplicadas para sua valorização e enriquecimento nutricional (AJILA et al., 2012; KUMAR; SHARMA, 2017).

Uma alternativa para a utilização de grande parte desses resíduos seria servir como substrato em processos microbiológicos aplicados, tais como a produção de cogumelos comestíveis, já que os materiais ligninocelulósicos são os mais abundantes resíduos agrícolas no mundo (BENTO; CASARIL, 2012; GUPTA et al., 2013; SOCCOL et al., 2017; VU et al., 2020).

Os fungos formadores de cogumelos comestíveis, como *Pleurotus* sp, formam um grupo altamente degradativo que atuam sobre constituintes maiores de resíduos ligninocelulósicos, como a celulose, a hemicelulose e a lignina (MENEZES; BARRETOS, 2015; HISCOX; O'LEARY; BODDY, 2018). Esses resíduos possuem grande potencial de aplicação em alimentação animal, uma vez que já foram parcialmente digeridos pelo complexo ligninocelulolítico do fungo (ESPOSITO; AZEVEDO, 2004; SADH et al., 2018).

Muitos coprodutos de alimentos produzidos no país têm potencial para a bioconversão.

A soja no Brasil é a principal cultura em extensão de área e volume de produção, representando aproximadamente 48% do total de grãos produzidos no país. A produção para 2020/21 foi de aproximadamente 134,45 milhões de toneladas. O mercado da soja brasileira atende duas situações: a exportação e o esmagamento, de onde se obtém dois subprodutos: o óleo e o farelo de soja. Em 2021, o esmagamento girou em torno de 46 milhões de toneladas de soja em grãos, com uma produção próxima a 9,35 milhões de toneladas de óleo de soja, usado, sobretudo, para consumo humano e para fabricação de biodiesel, além da produção de 32,25 milhões de toneladas de farelo de soja para alimentação animal (aves, suínos e bovinos), alimentação humana e uso industrial (CONAB, 2021).

A produção de cana-de-açúcar, estimada para a safra 2020/21, no país, é de 665,1 milhões de toneladas, com produção de 180 milhões de toneladas de bagaço-de cana (CONAB, 2021). Em Mato Grosso do Sul foram cerca de 653,2 mil hectares destinados à produção de cana-de-açúcar nesta safra. Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), 2020, demonstram que Mato Grosso do Sul, ocupa a o 4º lugar em termos de produção de cana-de-açúcar, com uma colheita de 47 milhões de toneladas de cana-de-açúcar nessa safra, dando origem a 11,5 milhões de toneladas de bagaço.

Outra cultura, ainda incipiente no país, mas com aplicação na agroindústria é o nabo forrageiro. Pertencente à família das Brassicáceas, o nabo forrageiro é uma planta oleaginosa

que, devido à sua característica de ciclagem de nutrientes, é bastante utilizada na rotação de culturas, e também como adubação verde e descompactação do solo (SANTOS et al., 2018). Um coproduto gerado no processo de extração do óleo por prensagem mecânica é a torta de nabo forrageiro, alimento com elevado teor de óleo (30 a 39%) e rico em proteína (32 a 49%) (ABDALLA et al., 2008; SOUZA et al., 2009).

A utilização da torta de nabo forrageiro na alimentação de ruminantes possibilita, além de destinar corretamente o coproduto gerado nesse processo, diminuir custos de produção, uma vez que representa uma fonte alternativa proteica para a alimentação dos animais (BARBERO et al., 2013), substituindo, por exemplo, de forma parcial o farelo de soja. A alimentação é um dos principais gastos na produção animal, podendo chegar em alguns casos, em até 70 a 80% do custo total em categorias de alta exigência (gado de leite, confinamento e reprodução) (GÓES; SILVA; SOUZA, 2013)

Evitar o uso de culturas para fins que não a alimentação humana, é uma estratégia para elevar a oferta de alimentos e reduzir custos na alimentação animal. As tortas e farelos gerados como coprodutos (p.e.: macaúba, gergelim, nabo forrageiro, pinhão manso, caroço de algodão, colza, girassol...) apresentam potencial para substituir o milho e a soja, que são alimentos de alto custo, seja de forma total ou parcial, fornecendo uma alternativa favorável na alimentação de ruminantes (COSTA, 2019).

Considerando o contexto, este trabalho propõe a avaliação de três coprodutos agroindustriais: torta de nabo forrageiro, bagaço-de-cana-de açúcar, farelo de soja e suas misturas em diferentes porcentagens para a bioconversão pelos fungos *Pleurotus sajor-caju* e *Pleurotus ostreatus* e seu enriquecimento nutricional, cujo o propósito é alimentação de ruminantes.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial de enriquecimento nutricional de diferentes coprodutos agroindustriais: torta de nabo forrageiro, farelo de soja e bagaço-de-cana e, utilizando o processo de bioconversão pelos fungos *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju* na alimentação de ruminantes.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Cultivar os fungos *Pleurotus sajor-caju* e *Pleurotus ostreatus* em diferentes amostras e suas misturas (torta de nabo forrageiro, farelo de soja e bagaço-de-cana).

Avaliar os parâmetros químicos, antes e após o processo de bioconversão - matéria seca (MS), cinzas ou matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina, celulose, hemicelulose, extrato etéreo ou gordura bruta (EE), fibra bruta (FB), digestibilidade *in vitro*.

Avaliar qualitativamente macro e microminerais das amostras antes e após o processo de bioconversão.

Avaliar o uso potencial das amostras e suas misturas após a bioconversão na alimentação de ruminantes.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 A AGROINDÚSTRIA BRASILEIRA E A GERAÇÃO DE RESÍDUOS

O Brasil situa-se, no contexto mundial atual, como um dos principais países em termos de agronegócio. O país possui 22% das terras agricultáveis do mundo, conta com clima diversificado, chuvas regulares, energia solar abundante e quase 13% de toda a água doce do planeta, além de elevada tecnologia utilizada no campo, dados estes que fazem do agronegócio brasileiro um setor moderno, eficiente e competitivo no cenário internacional (ARIAS, 2017; IBGE, 2020; MAPA, 2020).

O agronegócio tem sido reconhecido como um vetor crucial do crescimento econômico brasileiro. O Produto Interno Bruto (PIB) do agronegócio brasileiro aumentou em 2020 e acumulou avanço recorde de 24,31% no ano, alcançando a participação de 26,6% no PIB brasileiro, contra 20,5% em 2019. Em valores monetários, o PIB do país totalizou R\$ 7,45 trilhões em 2020, e o PIB do agronegócio chegou a quase R\$ 2 trilhões. Apesar dos desafios contemporâneos nos mercados doméstico e internacional, os destinos e a diversidade de produtos exportados pelo agronegócio brasileiro aumentaram significativamente (MDIC, 2019; CNA, 2020; CONAB, 2020; IBGE, 2021).

O Brasil é hoje o maior exportador de açúcar, café, suco de laranja, soja em grãos e carnes bovina e de frango; e o segundo maior de milho e de óleo e farelo de soja. É também o maior produtor mundial de carne de frango, café e suco de laranja; o segundo na produção de açúcar, soja em grãos e de carnes bovina e de frango e o terceiro na produção mundial de milho, como mostra a tabela 1:

Tabela 1- Produção e exportação dos principais produtos agrícolas brasileiros

Principais produtos	Produção	Exportação	Participação no comércio internacional (Exportações)
Açúcar	2º	1º	34 %
Café	1º	1º	26 %
Suco de laranja	1º	1º	78 %
Soja em grãos	2º	1º	52 %
Carne de frango	1º	1º	32 %
Carne bovina	2º	1º	21 %
Milho	3º	3º	17 %
Óleo de soja	4º	2º	12 %
Farelo de soja	4º	2º	23 %
Algodão	4º	2º	15 %
Carne suína	4º	4º	8 %

Fonte: IBGE/CNA, 2020.

O mercado interno e a demanda internacional são os principais fatores de crescimento para a maior parte desses produtos. Indicam também o maior potencial de crescimento da produção nos próximos dez anos. A produção de grãos irá passar de 236,7 milhões de toneladas em 2018/19 para 300 milhões de toneladas em 2028/29. Isso indica um acréscimo de 63 milhões de toneladas à produção atual do Brasil. Em valores relativos, representa um acréscimo de 27,0%, ou uma taxa anual de crescimento de 2,4%. A área de grãos deve se expandir dos atuais 62,8 milhões de hectares para 72,4 milhões de hectares em 2028/29. A produção de carnes (bovina, suína e aves) entre 2018/19 e 2028/29, deverá aumentar em 7,0 milhões de toneladas, representando um acréscimo de 27,3% (EMBRAPA, 2019; MAPA, 2020).

Um dos maiores problemas relacionados à agroindústria é a abundante quantidade de resíduos gerados durante o processamento da matéria prima (RICARDINO; SOUZA; SILVA NETO, 2020). Na maioria dos casos, esses resíduos não são tratados e reaproveitados, apresentando uma disposição ambientalmente inadequada, com potenciais riscos de contaminação do solo e da água (EMBRAPA, 2020).

Dessa maneira, o crescimento do setor de agronegócios aliado ao incremento de sistemas mais intensivos tem proporcionado crescentes gerações de resíduos oriundos de atividades agroindustriais e agrossilvipastoris, o que gera preocupações ambientais, mas também alimenta boas oportunidades de negócios com materiais que ainda detêm valor econômico ou energético. Alia-se as oportunidades de negócios com os resíduos agroindustriais ou agrossilvipastoris com os consideráveis ganhos sociais em retirá-los de destinações

inadequadas, pois contribuem para o controle da poluição e melhoria das condições de saúde pública (IPEA, 2013; RITOTA e MANZI, 2019).

A Lei nº 12.305/10, que institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), em seu art. 13, item I, subitem i, define resíduos agrossilvopastoris como: os gerados nas atividades agropecuárias e silviculturais, incluídos os relacionados a insumos utilizados nessas atividades (MMA, 2020).

O Brasil se destaca como um grande gerador de biomassa agrícola, entretanto, os resíduos de biomassa gerados nas atividades agrícolas ainda são subutilizados, comumente deixados para a decomposição natural, sem aproveitamento da energia neles contida e gerando passivos ambientais significativos. Nesse contexto, define-se resíduo como a sobra de um processo de produção ou de exploração, de transformação ou de utilização (MORAES et al., 2017).

A tabela 2 mostra que a oferta mássica de biomassa em 2020 foi de 1,058 bilhões de toneladas, com uma projeção de crescimento para 1,402 bilhões de toneladas em 2030 (MME, 2020).

Tabela 2 - Oferta mássica de biomassa por resíduo agrícola, agroindustrial e silvicultura (milhões de toneladas)

	2005	2010	2015	2020	2030
Total	558	731	898	1058	1402
Resíduos Agrícolas	478	633	768	904	1196
Soja	185	251	302	359	482
Milho	176	251	304	361	485
Arroz (palha)	57	59	62	66	69
Cana-de-açúcar	60	73	100	119	160
Resíduos Agroindustriais	80	98	130	154	207
Cana-de-açúcar (bagaço)	58	70	97	115	154
Arroz (casca)	2	2	3	3	3
Lixívia	13	17	21	25	34
Madeira	6	8	10	12	16
Florestas energéticas	13	30	31	43	46
Madeira excedente	13	30	31	43	46

Fonte: MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA, 2020.

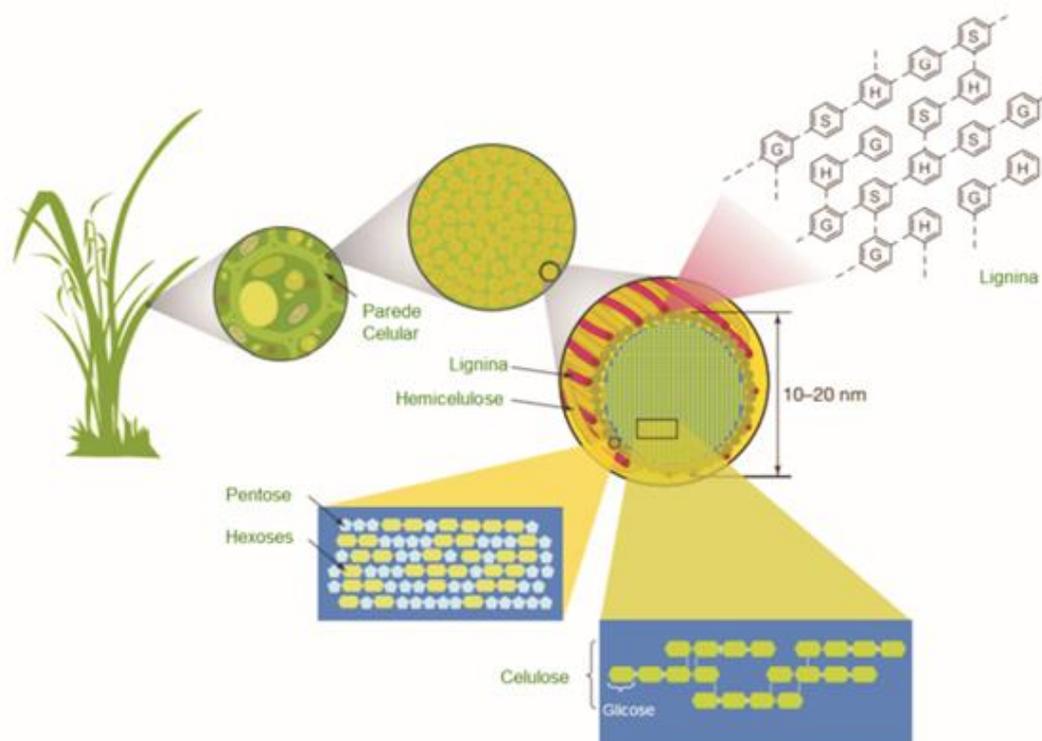
A acumulação dessa biomassa gerada anualmente em grandes quantidades, resulta não só na degradação do ambiente, mas também na perda de material de potencial econômico que pode ser processado para produzir um número elevado de produtos de valor agregado, como alimentos, biocombustíveis, produtos químicos, farmacêuticos e outras moléculas de interesse medicinal. Os resíduos agroindustriais e agropastoris apresentam aplicações alternativas e mercados ainda pouco explorados (WOICIECHOWSKI et al., 2013; BILAL et al., 2017).

3.2 BIOMASSA LIGNINOCELULÓSICA

Segundo a IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) biomassa pode ser definida como: “material produzido pelo crescimento de microrganismos, plantas ou animais”. Outra definição de biomassa seria todo tipo de matéria-prima orgânica que pode ser transformada em energia e sua origem pode ser agrícola (arroz, cana-de-açúcar, soja, etc.), florestal (madeira) ou originária de resíduos industriais ou urbanos, líquidos ou sólidos. O aspecto em comum entre todas as definições de biomassa, é que ela é um recurso renovável (SOUZA et al., 2012). Esses materiais são considerados vantajosos pois são fonte de energia renovável, favorável ao meio ambiente; não competem com a agricultura voltada para alimentação humana, sendo encontrados em abundância e a baixo custo (RUBIN, 2008; ALI et al., 2020).

Os principais constituintes da biomassa ligninocelulósica são: celulose, hemicelulose e lignina. A figura 1 é uma representação de um tipo de biomassa ligninocelulósica (cana-de-açúcar) e como os constituintes macromoleculares da parede celular (celulose, hemicelulose e lignina) estão dispostos e se relacionam (hemicelulose e lignina entrelaçadas envolvendo a celulose), além da apresentação dos monômeros (glicose) que compõe a celulose (RUBIN, 2008; SANCHÉZ, 2009; GUPTA et al., 2016).

Figura 1 - Estrutura da biomassa ligninocelulósica



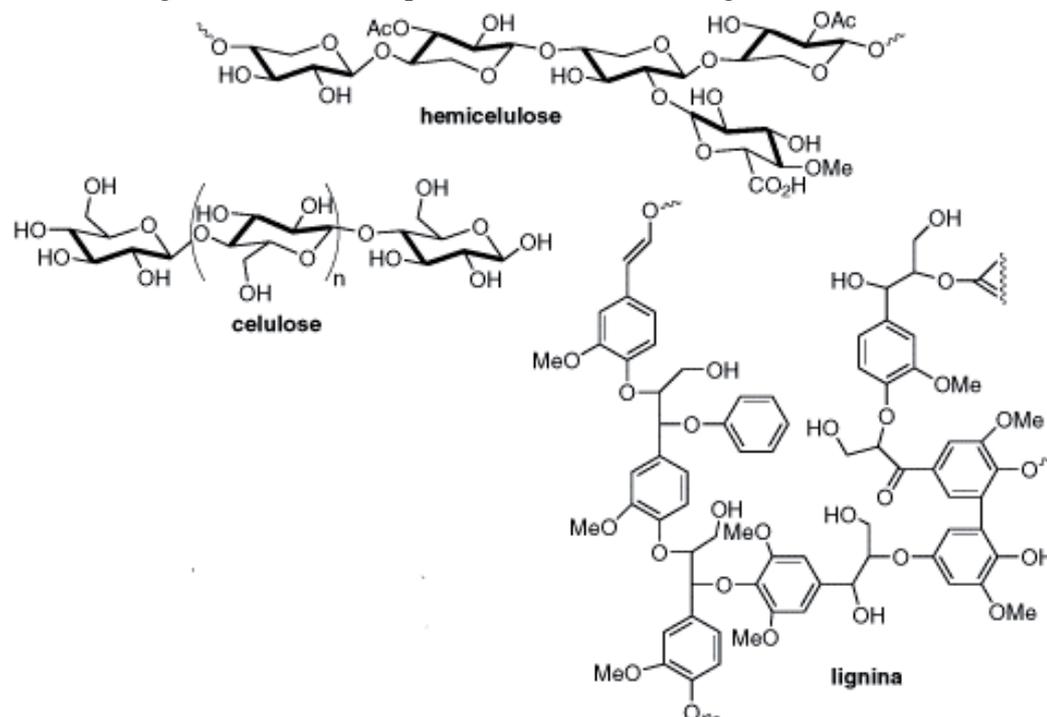
Fonte: RUBIN, 2008.

A celulose (figura 1) é o polímero natural de maior ocorrência no mundo. A sua estrutura pode ser classificada em três níveis organizacionais. O primeiro é definido pela sequência de resíduos β -D-glicopiranosídicos unidos por ligações covalentes, formando o homopolímero de anidroglicose com ligações β -D (1 \rightarrow 4) glicosídicas, de fórmula geral $(C_6H_{10}O_5)_n$. O segundo nível descreve a conformação molecular, isto é, a organização espacial das unidades repetitivas, e é caracterizado pelas distâncias das ligações e respectivos ângulos e pelas ligações de hidrogênio intramoleculares. O terceiro nível define a associação das moléculas formando agregados com uma determinada estrutura cristalina. Estes agregados conferem elevada resistência à tensão, tornando a celulose insolúvel em água e a um grande número de outros solventes (DING; HIMMEL, 2006).

As hemiceluloses são heteropolissacarídeos complexos compostos por D-glucose, D-galactose, D-manose, D-xilose, L-arabinose, ácido D-glucurônico e ácido 4-O-metilglucurônico (Figura 2). São estruturalmente mais semelhantes à celulose do que a lignina. Sua estrutura apresenta ramificações que interagem facilmente com a celulose, dando estabilidade e flexibilidade ao agregado (RAMOS, 2003).

A lignina, depois da celulose, é a macromolécula mais abundante dentre as biomassas ligninocelulósicas (Figura 2). É um heteropolímero amorfo que consiste em três diferentes unidades de fenilpropanos: álcool p-cumarílico, álcool coferílico e álcool sinapílico. A estrutura da lignina não é homogênea, possui regiões amorfas e estruturas globulares. A composição e a organização dos constituintes da lignina variam de uma espécie para outra, dependendo da matriz de celulose-hemicelulose. No processo de hidrólise enzimática dos materiais ligninocelulósicos, a lignina atua como uma barreira física para as enzimas que podem ser irreversivelmente capturadas pela lignina e, conseqüentemente, influenciar na quantidade de enzima requerida para a hidrólise, assim como dificultar a recuperação da enzima após a hidrólise (LU et al., 2012).

Figura 2 - Estruturas parciais dos elementos ligninocelulósicos



Fonte: Adaptado de FERREIRA et al., 2009.

A biomassa ligninocelulósica constitui a maior fonte de carboidratos naturais do mundo, constituídos de fibras de celulose envolvidas em uma matriz amorfa de polioses e lignina. Essa matriz amorfa age como uma barreira natural ao ataque de micro-organismos e/ou enzimas e torna esses materiais estruturalmente rígidos e pouco reativos. A composição química geral da biomassa ligninocelulósica contém 35-50% de celulose, seguido de 20-35% de hemicelulose,

10-25% de lignina e uma pequena quantidade de cinzas e extrativos (SANCHÉZ, 2009; SANTOS et al., 2012; MADADI; ABBAS, 2017). Esta composição química varia de acordo do tipo de biomassa, conforme mostrado na Tabela 3.

Tabela 3 – Composição da fração fibrosa da parede celular de alguns resíduos agroindustriais

Biomassa ligninocelulósica	% Celulose *	% Hemicelulose *	% Lignina *
Palha de milho	8,2	42,6	21,3
Eucalipto	29	45-51	11-18
Farelo de soja	8-9	20-30	1-2
Gramíneas	10-30	25-40	25-50
Resíduos de horta	36	34,5	28,6
Palha de aveia	10-15	31-35	20-26
Palha de arroz	18	32,1	24
Bagaço de cana-de-açúcar	20	42	25
Farelo de trigo	8,3-12,5	10,5-14,8	35,5-39,2
Dejeto de suínos	--	6	28
Resíduos de polpa e papel	16	23,4	8,6
Fibra de coco	36 - 43	0,15 – 0,25	15
Espiga de milho	45	35	15
Talo de milho	35	25	35

* Porcentagem em peso seco

Fonte: SANCHEZ, 2009; SADH et al., 2018.

3.3 BIOCONVERSÃO DE RESÍDUOS LIGNINOCELULÓSICOS

Os fungos filamentosos são os principais decompositores em ecossistemas florestais, entre os quais, os do filo Basidiomycota são os mais importantes na decomposição desses materiais (SHIROUZU et al., 2016). Dependendo do processo e dos componentes da biomassa, distinguem-se três tipos de decomposição causadas por fungos: mole, marrom e branca. Na podridão mole ou branda, ocorre a degradação da celulose e hemicelulose; podem degradar a lignina e polissacarídeos, porém em velocidade reduzida, ocorre degradação seletiva da parede celular, produzindo cavidades. Na podridão branca, há degradação de todos os componentes primários da ligninocelulose, inclusive da lignina. E na podridão marrom acontece tanto a

degradação da celulose quanto da hemicelulose. Dentre os vários grupos enzimáticos produzidos por fungos da podridão branca que atuam na degradação da lignina, os das lacases são encontrados com maior frequência (ALONSO et al., 2007; SANCHEZ, 2009).

A estrutura do material ligninocelulósico que constitui a biomassa foi desenvolvido evolutivamente para evitar a degradação por microrganismos e animais. Portanto, existem vários mecanismos de resistência à quebra de ligações químicas, como, por exemplo, a lignina que atua como barreira física e restringe acesso de enzimas às frações açucaradas; o grupamento acetil da hemicelulose que altera o reconhecimento catalítico das enzimas diminuindo o rendimento de hidrólise; a cristalinidade da celulose que diminui sua área superficial, essencial para a ação das enzimas celulasas, entre outros (ZHAO et al., 2012).

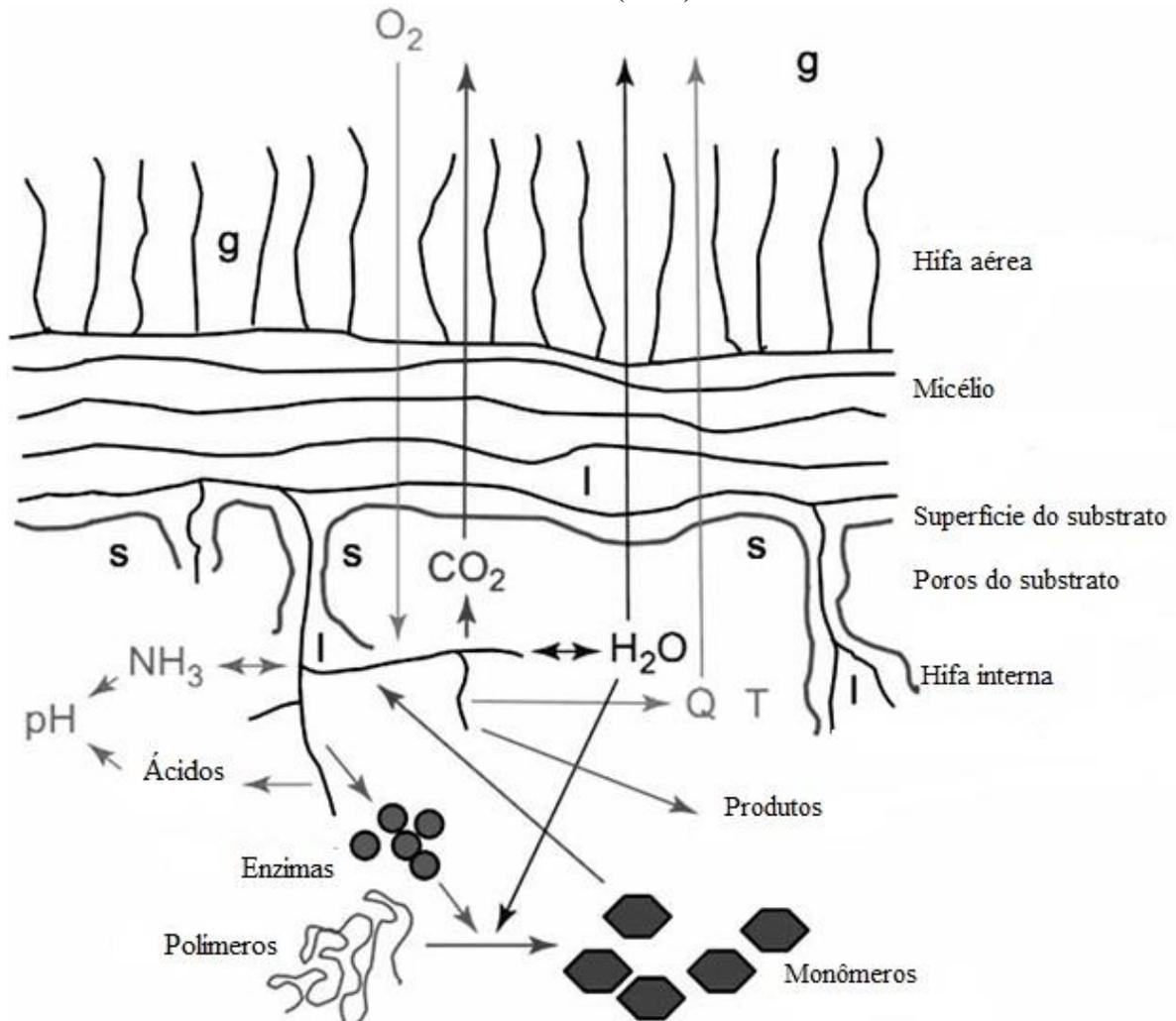
Apenas um pequeno número de microrganismos é responsável pela biodegradação de material ligninocelulósico, dos quais os fungos de podridão branca são o grupo mais importante, devido ao fato de produzirem enzimas ligninolíticas extracelulares, lignina peroxidase (LiP) e manganês peroxidase (MnP), que possuem uma poderosa capacidade oxidante (QUINTERO et al., 2006). Os fungos têm dois tipos de sistemas enzimáticos extracelulares: o sistema hidrolítico, que produz hidrolases responsáveis pela degradação de polissacarídeos; e um sistema ligninolítico oxidativo e extracelular único, que degrada lignina e abre anéis fenil (SANCHEZ, 2009; ERGUN; UREK, 2017).

3.3.1 Cultivo em Estado Sólido (CES)

O cultivo em estado sólido (CES) é definida como o crescimento de microrganismos sobre ou dentro de partículas em matriz sólida (substrato ou material inerte), onde o conteúdo de líquido (substrato ou meio umidificante) ligado a ela, está a um nível de atividade de água que assegure o crescimento e metabolismo das células e não exceda à máxima capacidade de ligação da água com a matriz sólida (RAHARDJO et al., 2006). Os fungos filamentosos crescem seguindo um padrão ramificado. A hifa tubular que emerge do esporo alonga-se na ponta e, ao mesmo tempo, novos ramos são formados ao longo da hifa. A ramificação continua e forma uma rede tridimensional porosa de hifas, conhecida como micélio. Essa característica morfológica única dos fungos filamentosos é adequada para as condições da CES, pois permite colonizar e penetrar no substrato sólido na busca de nutrientes (RAHARDJO, 2006; OSMA et

al., 2011; WANG et al., 2019). A Figura 3 mostra um desenho esquemático de alguns processos que ocorrem durante a CES:

Figura 3 - Esquema de processos em microescala que ocorrem durante o cultivo em estado sólido (CES)



Fonte: Adaptado de HOLKER e LENZ, 2005.

Nos processos de bioconversão, os componentes principais dos resíduos lignocelulósicos (celulose, lignina e a hemicelulose), são utilizados pelos fungos como fonte de carbono e energia. A bioconversão microbiana empregando processos fermentativos, frequentemente, gera produtos cuja composição nutricional é superior à dos substratos iniciais e cuja digestibilidade muitas vezes supera a de fontes clássicas de proteína de elevada qualidade. Desta forma, os resíduos agroindustriais podem ser valorizados pela via microbiana (IYAYI et al., 2004).

3.4 USO DA BIOCONVERSÃO NA NUTRIÇÃO DE RUMINANTES

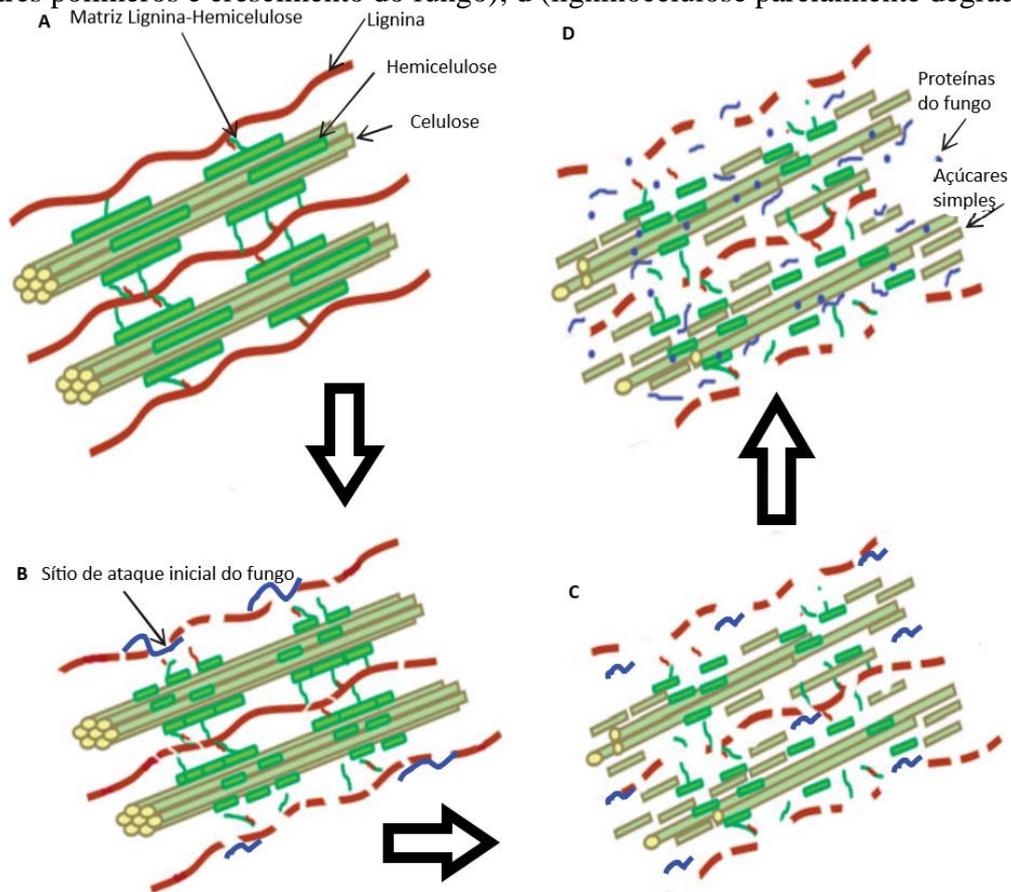
Durante a evolução, os animais ruminantes desenvolveram características anatômicas e simbióticas, que lhes permitiram utilizar eficientemente carboidratos estruturais como fonte de energia e compostos nitrogenados não proteicos como fonte de proteína (VALADARES FILHO; PINA, 2006). Além desse potencial, os ruminantes possuem uma importante função como produtores de bens para a humanidade (CANESIN et al., 2012). Um dos objetivos da nutrição animal é transformar recursos alimentares de menor valor nutricional em alimentos para o consumo humano, de melhor valor biológico, de forma que seja economicamente viável e minimize o impacto ambiental da exploração industrial dos animais domésticos (BERTECHINI, 2006).

Na alimentação de ruminantes, há um interesse crescente por ingredientes que não precisem competir com a alimentação humana, como, por exemplo, o uso de resíduos de biomassa vegetal pré-tratados com fungos, que surgem como uma alternativa interessante para um melhor aproveitamento destes resíduos cujo valor nutritivo é limitado devido aos baixos níveis de proteínas e aminoácidos disponíveis, altos níveis de lignina e também pela presença de fatores antinutricionais (SIQUEIRA et al., 2017; WANG et al., 2021). A composição desse alimento pode ser melhorada, pois os fungos são capazes de desconstruir essa biomassa ligninocelulósica parcialmente, em intervalo de tempo de 20 a 40 dias (quebra da lignina e da matriz celulose-hemicelulose liberando componentes degradáveis simples que podem ser facilmente utilizado pela microbiota ruminal, melhorando a digestibilidade do ruminante), conforme esquematizado na figura 4. No entanto, há obstáculos a serem vencidos para aplicação industrial, como por exemplo, a necessidade de esterilização de grande quantidade de matéria-prima antes da inoculação do fungo empregado no processo de fermentação (SIQUEIRA et al., 2017).

Além das características relacionadas com o aumento da digestibilidade e no aporte de proteínas desses resíduos, a bioconversão por fungos também reduz moléculas antinutricionais e toxinas. Fatores antinutricionais são aqueles gerados nos alimentos *in natura*, pelo metabolismo normal da espécie da qual o material se origina e, por mecanismos diferentes como decomposição ou inativação de alguns nutrientes, ocorre a diminuição digestiva ou metabólica do alimento, exercendo efeito contrário à nutrição adequada (CAMPESTRINI et al., 2005). Por exemplo, fitatos e taninos são moléculas antinutricionais que podem ser degradadas por ação enzimática de fitases e tanases, as quais têm sido reportadas em fungos comerciais tais como

Agaricus bisporus, *Lentinula edodes*, *Pleurotus cornocupiae* e *Grifola frondosa* (COLLOPY; ROYSE, 2004). A degradação de saponinas, gossipol e ésteres de forbol foi demonstrada em fungos do gênero *Pleurotus* (CUNHA, 2017; GOMES, 2015; GUPTA et al., 2013).

Figura 4 - Quebra da matriz ligninocelulósica: a (estrutura padrão de resíduos ligninocelulósicos); b (ataque fúngico inicial à matriz lignina-hemicelulose); c (degradação dos três polímeros e crescimento do fungo); d (ligninocelulose parcialmente degradada)



Fonte: Adaptado de SHARMA; ARORA, 2013.

A biomassa ligninocelulósica pré-tratada com fungos pode ser usada para diversas finalidades, como uma fonte potencial de biotransformação em produtos de valor agregado, incluindo além do enriquecimento de alimentos para nutrição animal, a produção de biocombustível, compósitos, produtos químicos finos, nutracêuticos e enzimas (BILAL et al., 2017). Vários tipos de biomassa vegetal foram estudados como ingredientes potenciais para nutrição de ruminantes, assim como diferentes espécies de fungos foram utilizadas para melhorar o uso desses substratos, conforme mostrado na tabela 4:

Tabela 4 - Fungos utilizados para degradar lignina em substratos ligninocelulósicos para uso na alimentação animal

Fungo	Resíduos de Processamento dos alimentos:
<i>Bjerkandera adusta</i>	Óleo de palma, trigo
<i>Ceriporiopsis subvermispora</i>	Bambu, cedro, milho, óleo de palma, arroz, cana de açúcar, trigo
<i>Ganoderma lucidum</i>	Óleo de palma, trigo
<i>Lentinula edodes</i>	Óleo de palma, trigo, cedro, cana-de-açúcar, milho, arroz
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Bétula, abeto, óleo de palma, arroz, trigo
<i>Phlebia</i> sp	Arroz, trigo, óleo de palma
<i>Pleurotus citrinopileatus</i>	Aguapé
<i>Pleurotus eryngii</i>	Óleo de palma, trigo, cana-de-açúcar, milho, arroz
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Cedro, coco, milho, óleo de palma, arroz, cana-de-açúcar, trigo, mandioca, soja
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	Bétula, abeto, arroz, trigo
<i>Schizophyllum commune</i>	Óleo de palma, trigo
<i>Trametes versicolor</i>	Óleo de palma, trigo, abeto, bétula
<i>Volvariella volvacea</i>	Trigo

Fonte: Adaptado de KUIJK et al., 2015.

Em um estudo de revisão, Santos et al., (2018), selecionaram 39 publicações de diversos países, sobre produção de enzimas microbianas na fermentação em estado sólido utilizando resíduos de agroindústria como substrato e, listaram também os fungos filamentosos mais utilizados; o farelo de trigo estava presente em 46% do total dos estudos. Isso pode ser explicado pelo fato da cultura de trigo ser uma das mais importantes do mundo (FAO, 2019). Além disso, o farelo de trigo quando usado como substrato sólido na fermentação por fungos, é rica fonte de diferentes minerais, vitaminas e fibras, induzindo a uma grande produção de enzimas celulasas (BANSAL et al., 2012; KUMAR et al., 2018). Outros substratos bastante utilizados nesses estudos foram resíduos de arroz, fruticultura, cana-de-açúcar, soja, milho, café, serragem, amendoim, dentre outros. Dentre os fungos filamentosos mais utilizados estão os gêneros *Aspergillus*, *Pleurotus*, *Neurospora* e *Trichoderma*. A degradação natural da biomassa vegetal

é causada principalmente por diferentes espécies de fungos e bactérias. Os fungos são geralmente melhores degradadores de constituintes da parede celular das plantas devido ao sistema enzimático extracelular e a formação de hifas no substrato. Muitas espécies de fungos foram estudadas quanto ao seu potencial para degradar vários resíduos agrícolas (WAN; LI, 2011). Os fungos de podridão branca degradam a lignina de maneira eficiente e seletiva usando seu sistema enzimático ligninolítico, que compreende lacase, lignina-peroxidase e manganês-peroxidase, juntamente com muitas outras enzimas (ARORA; SHARMA, 2013). O gênero *Aspergillus* foi o fungo mais utilizado pois é o mais comum, um dos mais estudados, possuindo um grande potencial na degradação de compostos ligninocelulósicos em ampla faixa de pH e em diversos resíduos agroindustriais (NEIRA-VIELMA et al., 2018; SANTOS et al., 2018).

Os mecanismos sobre como os fungos da podridão branca degradam a lignina não são totalmente compreendidos, mas a cepa fúngica, a origem do substrato ligninocelulósico e as condições de cultivo têm um efeito importante no processo de bioconversão. A otimização do pré-tratamento fúngico é necessária para encurtar o processo de deslignificação e torná-lo mais seletivo para a lignina. A esse respeito, pesquisas futuras devem se concentrar na otimização das condições de cultura e expressão gênica para obter uma melhor compreensão dos mecanismos envolvidos e permitir o desenvolvimento de cepas de fungos superiores para degradar a lignina na biomassa (KUIJK et al., 2015).

3.4.1 Degradação dos Resíduos Ligninocelulósicos e Digestibilidade de Ruminantes

Quando acontece a miceliação dos fungos da podridão branca, ocorre a quebra da matriz celulose-hemicelulose, liberando componentes degradáveis simples que podem ser facilmente utilizados pela microbiota ruminal, melhorando a digestibilidade do ruminante pela melhor acessibilidade da holocelulose (hemicelulose mais celulose). Durante o crescimento dos fungos, o nitrogênio da biomassa ligninocelulósica é incorporado às proteínas fúngicas e, como resultado da degradação de outros nutrientes, ocorre um enriquecimento de nitrogênio e, conseqüentemente, de proteína bruta (KUIJK et al., 2015; WANG et al., 2021). A bioconversão por fungos enriquece o conteúdo de aminoácidos disponível no resíduo dessa biomassa e fornece um recurso adicional ao alimento aumentando seu potencial antioxidante. Os radicais livres são produzidos constantemente durante metabolismo fisiológico normal dos tecidos e podem prejudicar moléculas biologicamente importantes, como DNA, proteínas, lipídios e

carboidratos (BIANCHI; ANTUNES, 1999). Assim, juntamente com a alimentação nutricionalmente equilibrada, os antioxidantes são muito importantes para o sistema imunológico e saúde animal (ARORA; SHARMA, 2013).

Com base na degradação da lignina, os fungos ligninolíticos podem ser classificados em três categorias: simultâneos (a degradação dos três polímeros ocorre praticamente na mesma taxa e em quantidade similar), não seletivos (a taxa de degradação da lignina é menor que a holocelulose) e fungos degradadores de lignina seletivos (a taxa de degradação da lignina é maior que da holocelulose). Sabe-se que os fungos da podridão branca atacam inicialmente a matriz lignina-hemicelulose, usando xilanase, esterase e outras enzimas ligninolíticas; a esterase cliva ligações covalentes entre polissacarídeos e lignina (DONG et al., 2013).

Vários fungos de podridão branca foram avaliados quanto ao seu potencial para degradar resíduos ligninocelulósicos e seu efeito sobre digestibilidade. Vários trabalhos demonstraram que a bioconversão desses resíduos foram positivos no aumento da digestibilidade *in vitro* na matéria seca e seu uso na alimentação animal como mostrado na tabela 5:

Tabela 5 - Comparação de alguns fungos da podridão branca utilizados para melhorar a digestibilidade de resíduos lignocelulósicos

Fungo da podridão branca	Substrato lignocelulósico	Período de degradação (dias)	Aumento na digestibilidade (%)
<i>Ceriporiopsis subvermispora</i>	Hastes de capim bermuda	42	25
<i>Ganoderma sp.</i>	Palha de trigo	10	10
<i>Candida utilis</i>	Bagaço de maçã	6	8
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Bagaço de maçã	30	7
<i>Lentinus subnudus</i>	Casca de milho	42	17
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Palha de trigo	10	9
<i>Trametes versicolor</i>	Palha de trigo	10	6
<i>Pleurotus sajor caju</i>	Palha de milho	40	21
<i>Pleurotus florida</i>	Palha de arroz	60	12
<i>Pleurotus salmoneostramineus</i>	Palha de arroz	50	21
<i>Lentinula edodes</i>	Bagaço de cana	64	44
<i>Phlebia floridensis</i>	Palha de trigo	20	43
<i>Phlebia radiata</i>	Palha de trigo	30	33
<i>Phanerocheate chrysosporium</i>	Palha de arroz	60	37

Fonte: Adaptado de ARORA; SHARMA, 2013.

3.5 COPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS UTILIZADOS NO ESTUDO DE BIOCONVERSÃO POR FUNGOS

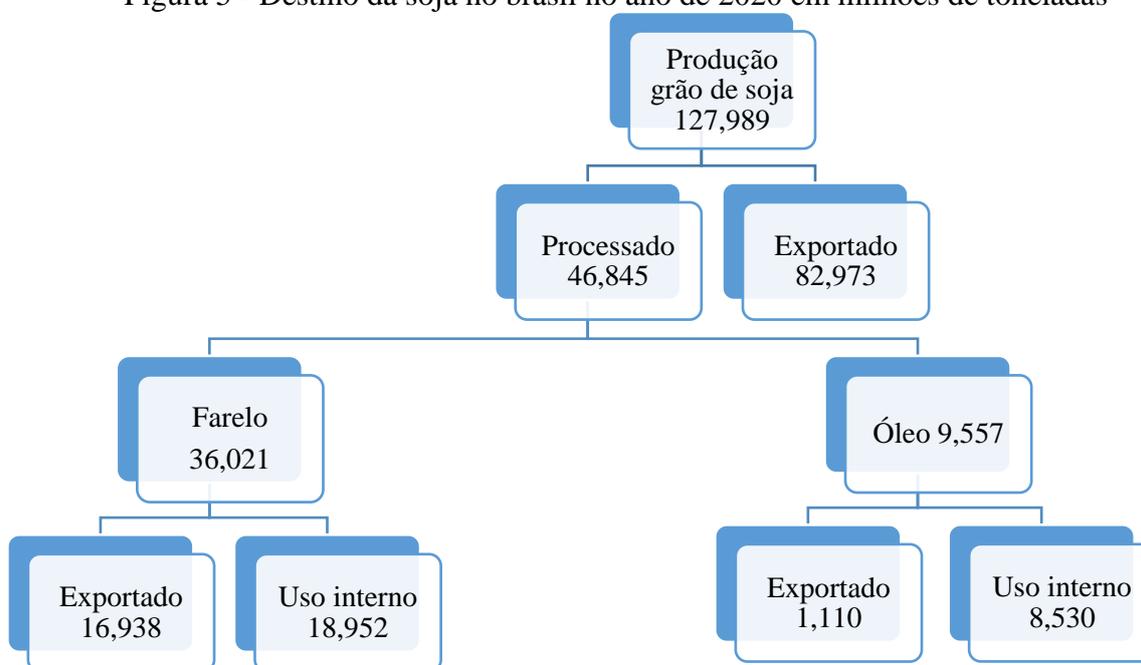
3.5.1 Farelo de Soja

A soja é uma planta que pertence ao reino Plantae, divisão Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, ordem Fabales, família Fabaceae (Leguminosae), Subfamília Faboideae (Papilionoideae), gênero Glycine, espécie Glycine max e forma cultivada Glycine max (L.) Merrill. Algumas dessas espécies são originárias de regiões africanas, australianas e da Ásia

oriental. Considerado um dos grãos mais ricos em proteínas (em torno de 40%) e óleo (20%), a soja é uma das plantas mais importantes do mundo na atualidade. Sendo que a variedade cultivada no Brasil possui um teor médio de 38% de proteína e 19% de óleo (EMBRAPA, 2019).

O Brasil é o segundo maior produtor do grão soja no mundo, ficando atrás somente dos Estados Unidos (MAPA, 2020). A Figura 5 quantifica a produção nacional do grão e mostra seu destino no agronegócio.

Figura 5 - Destino da soja no Brasil no ano de 2020 em milhões de toneladas



Fonte: ABIOVE, 2021.

O farelo de soja é a fonte proteica mais usada em rações para animais, sendo considerado a mais importante matéria-prima para alimentação animal, responsável por 65% do suprimento mundial de proteína, e normalmente utilizada como um padrão para comparar valor alimentar de outros alimentos proteicos (EMBRAPA, 2018). O farelo de soja é um coproduto de indústria de óleo (representa cerca de 79% do grão de soja, base matéria seca). Durante o processo de extração do óleo, ocorre um aquecimento do farelo de soja, que contribui para aumentar suas qualidades nutricionais. O farelo de soja está disponível comercialmente, com valores de proteína bruta variando entre 44% a 48%, dependendo do nível de casca de soja a ele adicionado (THIAGO; SILVA, 2003; MATEUS et al., 2018). A utilização do farelo de soja na dieta de

ruminantes está limitada ao seu preço, pois trata-se de um coproduto também utilizado nas rações de suínos e aves, além de possuir boa cotação no mercado internacional que estimula a exportação, pressionando a elevação da demanda e dos preços no mercado interno (OLIVEIRA et al., 2013).

3.5.2 Bagaço-de- Cana-Açúcar

A produção de cana-de-açúcar (safra 2019/2020) no Brasil foi de aproximadamente 642,7 milhões de toneladas, apontando aumento de 3,6% em relação à safra passada, sendo o Brasil o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo. Em Mato Grosso do Sul, a colheita da cana-de-açúcar em 2021, finalizou em aproximadamente de 661 mil hectares, produzindo 48,8 milhões toneladas processadas no estado, representando um aumento de 2,7% a mais do que a safra passada (CONAB, 2021).

O bagaço *in natura* é obtido após a moagem da cana-de-açúcar e extração dos açúcares (principalmente sacarose) e, a cada tonelada de cana moída na indústria obtêm-se 700 litros de caldo de cana e 300 kg de bagaço (50% de matéria seca); esse é o maior resíduo da agroindústria brasileira. Porém, quase todo esse bagaço é usado como combustível nas caldeiras das próprias indústrias, substituindo a lenha. Muitas usinas e destilarias, investiram na otimização de caldeiras e turbinas e hoje já se estima que o excedente de bagaço atinja 20% do total, com sobra anual estimada em milhares de toneladas causando sérios problemas de estocagem e de poluição ambiental (TEIXEIRA et al., 2007; ZAPAROLLI, 2018). Por outro lado, sua utilização permite a intensificação do sistema de produção de ruminantes, aumentando a produtividade e diminuindo a pressão para aumento de áreas de pastagens apesar de seu baixo valor nutritivo (SOARES et al., 2015).

O bagaço-de-cana é um resíduo rico em parede celular com reduzida digestibilidade, proteína bruta, carboidratos de reserva e energia. A tabela 6 mostra as características nutricionais de acordo com diversos autores, mostrando o potencial nutritivo limitado do bagaço *in natura* quando utilizado em grandes proporções na dieta de ruminantes objetivando o desempenho animal de moderado a alto. Apesar disso, o bagaço *in natura* pode ser amplamente utilizado em dietas com elevada proporção de concentrado para ruminantes, compondo entre 10 e 20% da matéria seca das dietas, sem grandes prejuízos sobre o desempenho animal (RABELO et al., 2008; MISSIO, 2016).

Tabela 6 - Composição nutricional do bagaço de cana-de- açúcar in natura

Autores	Características Nutricionais (% Matéria Seca)							DIV/MS*
	MS*	PB*	EE*	FDN*	FDA*	LIG*	NDT*	
CARVALHO et. al., 2006	40,1	2,3	–	59	38,3	7,3	–	32,9
CARVALHO et. al., 2008	41,7	2,4	–	63,3	54,8	6,5	–	50,3
EZEQUIEL, 2006	91,9	1,2	–	90,5	64,4	–	–	49,2
MANZANO et al., 2000	42	0,8	–	88,3	54,4	12,6	–	32,4
PEIXOTO, 1993	15,6	2,6	–	75,6	52,9	8,5	–	–
PIRES et al., 2004	50	1,8	–	94,3	62,7	16,5	–	31,8
PIRES et al., 2006	58,8	–	–	97,4	81,1	15,5	–	25,7
VALADARES FILHO et al., 2006	48,2	1,8	0,9	89,1	61,2	13,4	43,52	33

*MS (matéria seca); PB (proteína bruta); EE (extrato etéreo); FDN (fibra em detergente neutro); FDA (fibra em detergente ácido); LIG (lignina); NDT (nutrientes digestíveis totais); DIV/MS (digestibilidade *in vitro* na matéria seca)

Fonte: MISSIO, 2016.

O bagaço de cana-de-açúcar pode ser definido como fonte de fibra íntegra, já que, de forma geral, é composto basicamente por componentes da parede celular, apresentando em torno de 32-44% de celulose, 27- 32% de hemicelulose e 19-24% de lignina, (KARP et al., 2013). O grande mérito da utilização do bagaço *in natura* da cana-de-açúcar em dieta de ruminantes é incentivar a atividade de ruminação e, por consequência, manter condições favoráveis do ambiente ruminal para digestão dos alimentos (MENDES et al., 2010; PAZDIORA et al., 2011).

Quando se faz a bioconversão desses alimentos fibrosos utilizando fungos ligninolíticos, seu complexo enzimático quebra a parede celular vegetal, liberando açúcares simples, melhorando a digestibilidade, teor proteico e quantidade de antioxidantes (SHARMA; ARORA 2013; ABDEL-AZIZ et al., 2015), além de reduzir a emissão de gases de efeito estufa

(especialmente metano) como resultado da melhor digestão e assimilação de nutrientes (MAHESH; MOLHINI, 2013).

3.5.3 Nabo Forrageiro

O nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.), mostrado na figura 6, faz parte do grupo de oleaginosas pertencente à família Brassicaceae, sendo muito empregado nas regiões Sul, Centro-Oeste do Brasil e no estado de São Paulo, como composto para adubação de inverno em alguns sistemas de cultivo diferenciados, como o plantio direto e o cultivo mínimo (CRUSCIOL et al., 2005). Essa cultura apresenta alto teor de óleo nas sementes, com relativa facilidade de extração (processo mecânico), sendo fonte potencial para produção de biodiesel e pela facilidade do cultivo em unidade de produção familiar (STEVANATO et al., 2020). Propicia também melhorias nos atributos químicos e físicos do solo sendo muito empregado em sistemas de rotação de culturas (SILVA et al., 2005).

A cultivar apresenta como característica interessante, alta capacidade de reciclagem de nutrientes, como o nitrogênio e o fósforo, desenvolvendo-se de forma normal em solos pobres e com problemas de acidez (SLUSZZ e MACHADO, 2006; BUENO e RODRIGUEZ, 2019).

Figura 6 - Nabo-forrageiro (*Raphanus sativus* L.) em floração



Fonte: EMBRAPA, 2020.

Seu coproduto, a torta de nabo forrageiro ainda é pouco estudada na literatura, mas é um alimento protéico (mais de 37% de proteína bruta), com teor de fibra intermediário (29,74% de fibra em detergente neutro). A presença de alto teor de óleo na torta (mais de 16% de gordura bruta) confere a este material uma concentração de energia próxima ao do farelo de soja. No entanto, deve-se observar os níveis máximos de utilização de óleo para ruminantes (BONFIM et al., 2009). A torta do nabo forrageiro pode substituir o farelo de soja em dietas para terminação de pequenos ruminantes até o nível de 21% de substituição ou 4,1% na dieta total, conforme Ribeiro et al. (2007).

A torta de nabo forrageiro mostrou-se um ingrediente de boa qualidade para uso em suplementos de bovinos de corte em pastagens com nível de inclusão de 7,5% na matéria seca, sendo mais favorável do que 15% em substituição a fontes proteicas convencionais, na formulação de suplemento contendo 35% de proteína bruta. A degradabilidade ruminal da matéria seca e da proteína bruta do resíduo de nabo forrageiro são muito elevadas e de rápida ação pelos microrganismos. A fibra em detergente neutro atinge o potencial máximo de degradação ao redor de 24 horas, demonstrando que o resíduo de nabo forrageiro pode ser

utilizado em dietas para ruminantes como fonte alternativa de proteína (OLIVEIRA et al., 2003; MELO et al., 2008).

3.6 FUNGO *Pleurotus* sp

Os fungos são seres uni ou multicelulares, eucariotos e heterótrofos, ou seja, se alimentam de matéria viva ou morta e crescem no interior do alimento que irão consumir, desempenham um importante papel ecológico de decomposição do meio ambiente. Devido as suas características possuem um reino específico, o *Fungi*. (SANO et al., 2004).

Pleurotus é um gênero de fungos da divisão Basidiomycota (basidiomicetos), pertencentes à ordem Agaricales e à família Pleurotaceae. A importância dos basidiomicetos para o meio ambiente está relacionada com a capacidade em secretar enzimas capazes de degradar e desestabilizar moléculas orgânicas persistente. Por essa razão, são pesquisados e utilizados para degradação de resíduos ligninocelulósicos persistentes no meio ambiente (SILVA; COELHO, 2006).

Apesar do gênero *Pleurotus* englobar cerca de 50-70 espécies, quase todas comestíveis e muito semelhantes entre si, só algumas se encontram atualmente domesticadas e exploradas industrialmente, destacando-se a *P. ostreatus* (figura 7), *P. sajor-caju* e *P. eryngii*. Dependendo do substrato de cultura utilizado, apresentam diferenças no que se diz respeito à forma, tamanho, coloração, capacidade produtiva e composição. A otimização da produção de *Pleurotus* sp, passa pela formulação correta dos substratos de crescimento e efetiva biodegradação dos resíduos ligninocelulósicos (RAMOS et al., 2011).

Pleurotus sajor-caju é um cogumelo rico em vitaminas, aminoácidos e propriedades terapêuticas, provindo da Ásia e conhecido popularmente no Japão como “Houbitake” (DIAS et al., 2003). No Brasil, é comumente chamado de “Hiratake” e é utilizado na culinária (URBEN, 2004).

Pleurotus ostreatus se destaca por ser um dos cogumelos mais cultivados do mundo, conhecido como cogumelo ostra ou shimeji, possui alta eficiência na biodecomposição de celulose e na degradação da lignina em ambientes naturais (CHANG; MILES, 2004).

Figura 7 - Corpo de frutificação de *Pleurotus ostreatus* em farelo de amêndoa de macaúba (*Acrocomia aculeata*)



Fonte: REVELLO, 2018.

Os cogumelos comestíveis possuem várias propriedades nutricionais, funcionais e fisiológicas. Essas propriedades se devem aos compostos bioativos, que são responsáveis pela atividade antioxidante e antibiótica, sendo eles: polissacarídeos e glicoproteínas, ergosterol (precursor da vitamina D2), compostos fenólicos, tocoferóis, ácido ascórbico e carotenoides (DA SILVA; NEUZA, 2011).

4 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal da Grande Dourados, Mato Grosso do Sul. A bioconversão dos fungos foi feita no laboratório de Fitopatologia da FCA; a análise centesimal das amostras antes e após bioconversão foi realizada no laboratório de Nutrição Animal da FCA e a análise de minerais no laboratório de Fertilidade do Solo da mesma faculdade.

4.1 AMOSTRAS: COMPOSIÇÃO DOS SUBSTRATOS

As amostras utilizadas foram: farelo de soja (DSM Tortuga, Campo Grande, MS); bagaço-de-cana (Usina de açúcar e álcool São Fernando, Dourados, MS); e torta de nabo forrageiro (Assentamento Itamarati, Ponta Porã, MS) e suas associações (misturas): Torta de nabo forrageiro mais farelo de soja na proporção de 50/50%; torta de nabo forrageiro mais bagaço-de-cana 70/30%; torta de nabo forrageiro mais farelo de soja 70/30%; torta de nabo forrageiro mais farelo de soja mais bagaço-de cana 40/40/20%. Os fungos utilizados para bioconversão foram *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju*. As percentagens das amostras, suas misturas e os fungos utilizados estão listados na tabela 7, essas percentagens foram determinadas mediante estudos prévios; todas as análises físicas, químicas (centesimal) e minerais foram feitas em triplicata.

Tabela 7 - Amostra, concentração percentual e tipo de substrato utilizados nos estudos de bioconversão com os fungos *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju*, (massa de amostra= 30g)

SUBSTRATO	Concentração percentual de cada substrato na amostra
Farelo de soja	100
Torta de nabo forrageiro	100
Bagaço-de-cana	100
Torta de nabo forrageiro + Farelo de soja	50/50
Torta de nabo forrageiro + Bagaço-de-cana	70/30
Torta de nabo forrageiro + Farelo de soja	70/30
Torta de nabo forrageiro + Farelo de soja + Bagaço-de-cana	40/40/20

Fonte: Elaborada pela autora Phaena Moraes Faria.

4.2 GRANULOMETRIA DAS AMOSTRAS

Para a determinação da granulometria das amostras, foram pesados 50 gramas de cada amostra utilizada (torta de nabo forrageiro, farelo de soja, bagaço-de-cana e suas misturas); adicionados em agitador de peneiras para granulometria (modelo FTI DIG MEC, série 9-7, Bertel Indústria Metalúrgica, Caieiras, SP) composto por 4 peneiras Tyler Mesh (16, 32, 60, 115 e fundo) com abertura de 1mm, 0,5 mm, 250 µm, 125 µm e fundo < 125 µm respectivamente em velocidade 5 durante 10 minutos.

A análise granulométrica refere-se à distribuição (percentagem por peso) de tamanhos diferentes de partículas, dentro de uma amostra sólida (CIMM, 2020). Para avaliação da distribuição granulométrica foi utilizada a média de três determinações (VOIGT, 1982 apud

VASCONCELOS, 2008, p. 75). A percentagem de cada amostra listada na tabela 7, foi obtida pesando o material de cada peneira e então calculada a proporção do total do peso inicial.

4.3 TESTES DE UMIDADE E PH

Para a determinação de umidade das amostras, utilizou-se o método gravimétrico, através da perda de peso da amostra submetida a aquecimento em estufa a 105°C, até a obtenção de peso constante do produto dessecado, de acordo com o método 934.01, da Association of Official Agricultural Chemists (AOAC), 2005.

Foram adicionadas diferentes quantidades de água destilada (variando entre 35 ml até 155 ml) para cada mistura do experimento. Após a adição de água, todas as misturas permaneceram em repouso durante 12 horas. Para análise do teor de água absorvida pelas misturas, retirou-se aproximadamente 0,5 g de cada amostra sendo colocadas em estufa de secagem definitiva (105°C) durante 4 horas. Após esse período foram colocadas em dessecador até atingir temperatura ambiente e em seguida pesadas. Esse procedimento repetiu-se a cada meia hora até observar-se peso constante. O percentual da umidade resulta da proporção do peso final sob o peso inicial corrigindo para base seca, seguindo a equação (1):

$$\% \text{ umidade} = \frac{\text{Massa amostra após estufa}}{\text{Massa inicial da amostra}} \times 100$$

Massa inicial da amostra

A medida de pH (IAL, 2008) foi realizada nas amostras (10 gramas) deixadas de molho em um béquer contendo 100 ml de água destilada, em agitação constante, utilizando agitador magnético (Marca TMA, Modelo 10C) até que as partículas ficassem uniformemente suspensas. Após esse tempo, as amostras foram filtradas, retirado o excesso de água e tiveram seu pH determinado em peagâmetro de bancada (Marca Quimis, Modelo Q400AS) devidamente calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0. As condições ideais para miceliação e produção de fungos comestíveis variam de pH 5,5 até 6,5 (GOMEZ; ANDRADE, 2008).

4.4 BIOCONVERSÃO POR MICRORGANISMOS

Foi realizada nesta etapa, a bioconversão por fungos basidiomicetos das amostras testadas (tabela 1), seguindo a metodologia citada por Paz et al., (2013) e Cardoso, Demenjour e Paz (2013). Os microrganismos que serviram de cultura inicial (inóculo) foram *Pleurotus ostreatus* linhagem/lote 146/16 e *Pleurotus sajor-caju* linhagem/lote 147/16, adquiridos na forma de *Spawn* (inoculantes de fungos produzidos em meios estéreis utilizando grãos de cereais), da Empresa Funghi e Flora, localizada em Valinhos, São Paulo.

4.5 PREPARO DAS AMOSTRAS PARA A BIOCONVERSÃO

Foram pesadas 30 gramas de cada amostra e suas misturas em balança semi-analítica, alocadas em sacos de polipropileno 20x30 cm resistentes a autoclavagem e, em cada um foi adicionado água destilada de forma que a umidade fosse a maior possível, conforme a possibilidades de absorção do substrato da amostra, as quais foram testadas anteriormente em projeto inicial. Os sacos foram fechados com tampão de algodão e gaze, para se permitir a troca gasosa durante o processo de miceliação e levados para esterilização em autoclave a 121 graus Celsius por 25 minutos. Após esse tempo, as amostras foram deixadas na própria autoclave para que pudessem se arrefecerem e serem levadas à câmara de fluxo laminar previamente higienizada com álcool etílico 70% expostas à ação da luz ultravioleta por 20 minutos.

4.6 INOCULAÇÃO E CRESCIMENTO MICELIAL

As amostras foram inoculadas na câmara de fluxo laminar, com aproximadamente 0,3 gramas de *spawn* de cogumelo, com auxílio de pinça de dissecação anatômica esterilizada em chama. Cada saco de polipropileno foi aberto efetuando a remoção do tampão de algodão. A cultura inicial foi introduzida dentro do saco e rapidamente fechado com o mesmo tampão de algodão. Este procedimento foi realizado para cada amostra do experimento.

Para a fase de colonização micelial pelos fungos, as amostras foram incubadas a temperatura de 25 graus, por 30 dias, em câmara BOD (*Biochemical Oxygen Demand*), marca Quimis, modelo Q315M25, com monitoramento diário.

Após o tempo de crescimento micelial, as amostras foram retiradas dos sacos e pesadas em balança semi-analítica. Posteriormente foram para a estufa de circulação de ar forçada à temperatura de 55 graus por 72 horas para a pré-secagem desse material. Após esse período as amostras foram moídas em processador de alimento.

4.7 ANÁLISE QUÍMICA DAS AMOSTRAS ANTES E APÓS BIOCONVERSÃO

Determinou-se a composição química das amostras, antes e após enriquecimento com fungos, da matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra bruta (FB), conforme metodologias descritas pela AOAC (2006); as frações fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), celulose (CEL), hemicelulose (HCEL) e lignina (LIG) foram determinadas pela metodologia de Van Soest et al., (1991) de forma sequencial; a digestibilidade *in vitro* foi determinada pela metodologia descrita por Tilley e Terry (1963).

4.7.1 Matéria Seca e Matéria Mineral

Para a determinação de matéria seca, foram colocados aproximadamente 2 gramas de cada amostra em cadinhos de porcelana e levados a estufa de secagem definitiva com temperatura de 105°C por 16 horas. Em seguida, os cadinhos foram retirados da estufa, colocados no dessecador, pesados, e, por diferença de peso determinou-se os teores de matéria seca de cada amostra; em sequência à matéria seca, determinou-se os níveis de matéria mineral das amostras, onde os cadinhos utilizados na secagem definitiva foram levados ao forno mufla à uma temperatura de 600°C por 4 horas. Após 4 horas os cadinhos foram retirados do forno, levados ao dessecador e ao esfriarem foram pesados e por diferença de peso determinou-se os níveis de matéria mineral das amostras.

4.7.2 Proteína Bruta

A análise de Proteína Bruta foi determinada pelo método de micro *Kjeldahl* e realizada em 3 fases. A primeira fase foi a digestão utilizando ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) e mistura catalítica (uma parte de $CuSO_4$ para 10 partes de Na_2SO_4). A segunda fase foi a destilação com solução de hidróxido de sódio 50% e solução de ácido bórico a 4% (H_3BO_4). A terceira fase foi a titulação utilizando ácido clorídrico a 0,02N.

Procedimento: para a digestão pesou 300 mg de amostra em tubo de digestão (25 x 245 mm); adicionou 2 g de mistura catalítica e 5 ml de ácido sulfúrico concentrado; Procedeu a digestão, aquecendo lentamente no início, em bloco digestor (Modelo MA 4025/SCR, marca Marconi) na capela por aproximadamente três horas e meia a 350°C, juntamente com uma prova em branco. Para destilação adicionou-se 10 ml de água destilada em cada tubo após completo esfriamento; para a preparação do erlenmeyer receptor transferiu-se cerca de 20 ml de ácido bórico a 4%; posicionou-se o erlenmeyer no aparelho destilador (Modelo TE – 0363, marca Tecnal); adicionou 25 ml da solução hidróxido de sódio 50%; procedeu à destilação, coletando 50 ml do destilado. Para a titulação do destilado, usou-se bureta com ácido clorídrico padronizado a 0,02N.

4.7.3 Fibra Bruta

Para determinação de fibra bruta as amostras foram pesadas e colocadas em sacos de TNT, seladas e se iniciou a primeira digestão com solução ácida (ácido sulfúrico a 0,255 N) em autoclave a 100 graus por 30 minutos. Após esse tempo as amostras foram lavadas em água destilada quente. A segunda parte foi realizada a digestão básica (solução de hidróxido de sódio a 0,313 N) em autoclave a 100 graus por mais 30 minutos. Ao final as amostras foram lavadas em água destilada quente para retirar a solução e, em seguida foram lavadas com acetona. Após a evaporação do solvente, as amostras foram secadas em estufa a 105 graus por 24 horas. Essas amostras foram então pesadas, colocadas em cadinhos e queimadas em forno mufla a temperatura de 500°C por 2 horas. Os cadinhos foram colocados no dessecador até atingirem temperatura ambiente e pesados em balança analítica.

4.7.4 Fibra em Detergente Neutro

A análise de fibra em detergente neutro ou FDN foi realizada em autoclave, onde saquinhos contendo 0,5 gramas de cada amostra foram submetidos a lavagens em meio de solução de detergente neutro (sulfato láurico de sódio, ácido etilenodiamino tetra-acético, tetraborato de sódio, fosfato de sódio dibásico, trietilenoglicol e água destilada) por 60 minutos à temperatura de 105°C e posteriormente três lavagens com água a 85°C por 15 minutos cada uma. Ao fim das lavagens os saquinhos foram colocados em béquer e imersos por 10 minutos em acetona e logo depois retirados e deixados em bandeja até evaporar a acetona. Esses saquinhos foram para estufa a 105°C por 24 horas. Posteriormente foram pesados e destinados à análise sequencial de fibras.

4.7.5 Fibra em Detergente Ácido

Os saquinhos contendo as amostras submetidas após a análise de FDN (item 4.7.4.), foram colocados na autoclave em béquer contendo solução de detergente ácido (brometo de cetil trimetilamônio, ácido sulfúrico e água destilada) por 60 minutos a 105 graus. Após esse tempo os saquinhos foram retirados e lavados três vezes em água quente e imersos por 10 minutos em acetona e logo depois retirados e deixados em bandeja até evaporar da mesma. Esses saquinhos foram para estufa a 105 °C por 24 horas para depois serem pesados e seu conteúdo ser usado para a análise de lignina.

4.7.6 Lignina

Para análise de lignina foi utilizado o método “Permanganato” (VAN SOEST et al., 1991). Os resíduos dos saquinhos de FDA foram colocados em cadinhos filtrantes secos e pesados. Esses cadinhos com os resíduos foram colocados em bandeja de vidro e uma camada de água destilada foi adicionada até umedecer as amostras. Em seguida foi adicionada uma solução combinada de permanganato de potássio 2:1 (mistura de solução de KMnO₄ com

solução tampão na razão 2:1 v/v) em cada cadinho. O conteúdo foi mexido com bastonetes de vidro a cada 15 minutos por 2 horas. Após esse tempo as amostras foram filtradas sob vácuo e colocadas em bandeja limpa com água destilada. Uma solução de desmineralização (solução composta por ácido oxálico, etanol, ácido clorídrico concentrado e água destilada) foi adicionada nos cadinhos, agindo por aproximadamente 15 minutos até o resíduo ficar claro (cor amarelada a branca), completando com a solução, se necessário. Em seguida os cadinhos foram filtrados e lavados com solução de etanol 80%. Esse procedimento foi repetido por mais duas vezes. Da mesma maneira, foram feitas mais duas lavagens com acetona e duas filtrações sob vácuo. Os cadinhos filtrantes com o resíduo foram secos em estufa a 105 °C por 12 horas, pesados e então foi realizada análise sequencial de celulose.

4.7.7 Celulose e Hemicelulose

Os cadinhos filtrantes com os resíduos de lignina foram queimados em forno de mufla a 500 °C por 3 horas. Após o resfriamento da mufla, os cadinhos foram colocados em dessecador até atingir temperatura ambiente e pesados em balança analítica. A celulose é calculada fazendo a equação: fibra em detergente ácido menos a lignina, obtendo assim o cálculo da celulose.

A hemicelulose é calculada com a seguinte equação: FDN – FDA.

4.7.8 Extrato Etéreo

A análise de gordura foi realizada pelo método a quente em determinador de óleos e graxas (Marconi, MA 044/8/50) utilizando hexano como solvente. As amostras foram pesadas (1 grama) em papel filtro e fechadas em formato de cartucho, em triplicata.

Os cartuchos foram colocados no extrator soxhlet, de modo a serem mergulhados em seu respectivo copo contendo hexano, também encaixado ao equipamento. As amostras permaneceram em extração contínua em soxhlet por um período de 2 horas. Os cartuchos foram,

então, levados para a estufa a 105°C por 1 h e, posteriormente, transferidos para um dessecador até atingirem temperatura ambiente, antes de proceder a pesagem dos mesmos. O percentual da gordura foi calculado por diferença de peso dos cartuchos antes e após a extração.

4.7.9 Digestibilidade *in vitro* na Matéria Seca

O procedimento da digestibilidade *in vitro* foi feito em duas etapas (HOLDEN, 1999). Para a primeira etapa as amostras foram pesadas e colocadas em sacos de TNT tratados, numerados e selados. Essas amostras foram colocadas em potes próprios para o ensaio da digestibilidade e adicionados a eles saliva artificial (solução tampão de Kamos State) e líquido ruminal, sempre na presença de gás carbônico sobre o conteúdo dos potes para eliminar o oxigênio presente. Imediatamente os tubos foram fechados e incubados por 48 horas a 39°C, em incubadora *in vitro* para teste de digestibilidade e degradabilidade de forragens e concentrados para ruminantes.

Após as 48 horas de digestão microbiana, iniciou-se a segunda etapa da análise, onde os potes foram retirados da estufa e adicionados aos mesmos uma solução de ácido clorídrico 6 N e uma solução de pepsina 1:1000. Os potes foram colocados de volta à estufa, sem tampa, para nova incubação durante 24 horas a 39°C, com agitação constante. Ao final das 24 horas, as amostras foram retiradas dos potes, lavadas em água corrente, levadas à estufa a 105°C por 12 horas, retirados, resfriados em dessecador e pesados.

4.8 ANÁLISES DAS CONCENTRAÇÕES DE MACRO E MICROMINERAIS

As análises das concentrações de macro e microminerais, antes e após a bioconversão, foram feitas em triplicata de cada amostra estudada, seguindo metodologia de Silva, 2009.

Para a digestão nitro-perclórica (via úmida), as amostras foram pesadas (500 mg), transferidas para tubo digestor (25 x 245 mm) e no mesmo foi adicionado 8 ml da mistura ácida (HNO₃+HClO₄) na proporção 3:1, ou seja, 600 ml de HNO₃ 65% P.A. para 200 ml de HClO₄ 72% P.A., ficando em temperatura ambiente por um período de 3 a 4 horas. Após esse período, os tubos foram colocados no bloco digestor e aquecidos lentamente até 120 graus. A temperatura foi mantida até desprender o vapor castanho de NO₂. Depois a temperatura foi

aumentada para 200 graus até o desprendimento do vapor branco de HClO_4 (aproximadamente 4 horas no bloco digestor). Após completo esfriamento, o material foi transferido para um recipiente plástico, sendo adicionado 25 ml de água destilada (extrato da solubilização nítrico-perclórica), ficando as amostras prontas para as análises de macro e microminerais.

4.8.1 Determinação de Cálcio e Magnésio por Espectrofotometria de Absorção Atômica (E.A.A.)

A solução padrão de cálcio (Ca) e magnésio (Mg) foi feita a partir da solução titrisol de Ca e Mg 1000 mg L^{-1} ; foi preparada as soluções com a mistura de Ca e Mg: 0 e 0; 1,0 e 0,2 mg L^{-1} ; 2 e 0,4 mg L^{-1} ; 4,0 e 0,8 mg L^{-1} , respectivamente, em solução ácida.

A solução de lantânio 0,1% foi feita pesando e transferindo 1,14 g de La_2O_3 para frasco de 1000 ml, adicionando a solução de HNO_3 10% (v/v) até total dissolução do óxido e completando o volume com H_2O .

Foi pipetado 1,0 ml do extrato da solubilização nítrico-perclórica em um tubo de vidro de 30 ml, completando 20,0 ml com H_2O (alíquota b). Em seguida foi retirado 1,0 ml da alíquota b em um tubo, adicionado 4,0 ml da solução de lantânio 0,1%, sendo determinado Ca e Mg por EAA.

Cálculos para determinação de Ca: $\text{Ca g kg}^{-1} = \text{leitura mg L}^{-1} \times 5$

Cálculos para determinação de Mg: $\text{Mg g kg}^{-1} = \text{leitura mg L}^{-1} \times 5$

4.8.2 Determinação de Potássio por Fotometria de Chama

Para a solução de potássio (K) 1.000 mg L^{-1} , foi dissolvido 1,9067 g de KCl P.A. em 500 ml de água e completado o volume até 1000 ml com H_2O . A partir da solução padrão de K 1.000 mg L^{-1} preparou-se as soluções de 0,5 mg L^{-1} ; 10,0 mg L^{-1} ; 20 mg L^{-1} e 40 mg L^{-1} em HNO_3 0,1 ml L^{-1} .

Foi pipetado 2 ml do extrato da solubilização nítrico-perclórica em tubo de vidro de 30 ml e completado o volume até 20 ml com H_2O (alíquota b). O fotômetro de chama foi ajustado com a solução padrão de K e efetuada a leitura da alíquota b.

Cálculos para determinação de K: $K \text{ g kg}^{-1} = \text{mgL}^{-1} \times 0,5$

4.8.3 Determinação de Fósforo por Espectrometria com Amarelo de Vanadato de Amônio

As soluções preparadas foram: solução de molibdato 50 g L^{-1} onde se dissolveu 50 g de $(\text{NH}_4)_6\text{MoO}_{24}$ P.A. em 800 ml de água quente destilada, após o esfriamento da solução completou-se o volume para 1.000 ml com água destilada; para a solução de vanadato $2,5 \text{ g L}^{-1}$, dissolveu-se 2,5g de $(\text{NH}_4)_2\text{VO}_3$ P.A. em 500 ml de água quente, adicionou 350 ml de HNO_3 65%, após esfriar a solução, completou-se o volume para 1.000 ml com água ultra pura; misturou em partes iguais as soluções de molibdato e vanadato antes do uso (mistura A). A solução de P foi preparada com 0,0; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0mg L^{-1} em H_2SO_4 $0,2 \text{ mol L}^{-1}$.

Foi pipetado 5,0 ml do extrato da solubilização nítrico-perclórica em tubo de vidro de 30 ml completando o volume para 20 ml com água; foi adicionado 4 ml da mistura dos reagentes e efetuado, após 5 minutos, a leitura no espectrômetro a 420 nm, construindo a curva analítica e estimando a concentração de P no extrato solubilizado.

Cálculo P: $P \text{ g kg}^{-1} = \text{leitura em mg L}^{-1} \times 0,2$

4.8.4 Determinação de Cobre, Ferro, Manganês e Zinco por Espectrometria de Absorção Atômica

Os reagentes utilizados foram: HCl ; H_2SO_4 ; $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{ H}_2\text{O}$; $\text{Fe} (\text{NH}_4)_2(\text{SO})_4$; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; HNO_3 ; HClO_4 .

Para a solução padrão de cobre (contendo 100 mg L^{-1} de Cu) 0,393g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ foi dissolvido em solução de HNO_3 0,2M (9 ml de HNO_3 65% P.A. por litro de água).

Para solução estoque de ferro (contendo 100 mg L^{-1} de Fe) 0,702 g de $\text{Fe} (\text{NH}_4)_2(\text{SO})_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ foi dissolvido em solução aquosa de H_2SO_4 (50 ml de água ultra pura contendo 10,0 ml de H_2SO_4 98,08% P.A.) e o volume foi completado para 1.000 ml com água ultra pura; para a solução estoque de ferro diluída (contendo 10 mg L^{-1} de ferro), foi dissolvida 10,0 ml da solução estoque de ferro e o volume completado para 100 ml com água ultra pura.

Para solução estoque de zinco (contendo 100 mg L⁻¹ de zinco) 0,440g de ZnSO₄.7H₂O foi dissolvido em solução de HNO₃ 0,2 mol L⁻¹ (9 ml de HNO₃ 65% P.A. por litro de água), completando o volume para 1.000 ml, com esta solução.

Para a solução estoque de manganês (contendo 100 mg L⁻¹ de Mn) 0,308g de MnSO₄.H₂O e dissolvido em solução de HNO₃ 0,2 mol L⁻¹ e o volume foi completado para 1.000 ml.

Para análise do cobre foram transferidas alíquotas de 0,0; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,5 e 2,0 ml para balões volumétricos de 100 ml, a partir da solução padrão de Cu (100 mg L⁻¹) e adicionado 10,0 ml de HClO₄ 2,5 mols L⁻¹ (149,5 ml de HClO₄ P.A. por litro de água e o volume completado com água ultra pura). Estas soluções contêm de 0,0 a 2,0 mg L⁻¹ de cobre.

Cálculo: Cu mg Kg = mg L⁻¹ x50

Para análise de ferro foram feitas soluções de 0; 2 mg L⁻¹; 4 mg L⁻¹; 6 mg L⁻¹ 8 mg L⁻¹ em meio ácido a partir da solução padrão de Fe.

Cálculo: Fe mg Kg = mg L⁻¹ x50

Para análise de manganês foram preparadas soluções de 0; 0,5 mg L⁻¹; 1 mg L⁻¹; 3 mg L⁻¹ em meio ácido a partir da solução de 1.000 mg L⁻¹.

Cálculo: Mn mg Kg = mg L⁻¹ x50

Para análise do zinco foram preparadas soluções de 0; 0,5 mg L⁻¹; 1 mg L⁻¹; 2 mg L⁻¹ em meio ácido a partir da solução de 1.000 mg L⁻¹.

Cálculo: Zn mg Kg = mg L⁻¹ x50.

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos às análises de normalidade e homogeneidade e, posteriormente, à análise de variância e teste “F”. As médias dos inóculos avaliados (*Pleurotus sajor-caju*, *Pleurotus ostreatus* e sem inoculação), formulações desenvolvidas e interação entre fatores foram submetidas ao teste Tukey a 5% de significância, com auxílio do programa estatístico SISVAR[®].

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE GRANULOMÉTRICA

O tamanho da partícula como propriedade física é essencial para a atividade enzimática dos fungos, além da sua natureza cristalina, porosidade e área de superfície do substrato (PANDEY, 2003). A tabela 8 mostra a granulometria em porcentagem das amostras de acordo com a abertura das diferentes peneiras utilizadas.

Tabela 8 - Granulometria das amostras em porcentagem, de acordo com a aberturas das peneiras

Amostras*	Peneiras** (Tyler/ Mesh)				
	16	32	60	115	Fundo
100% BC	9%	43%	29%	13%	6%
100% FS	37%	32%	15%	14%	2%
100% NF	30%	30%	21%	15%	4%
NF+FS 50/50	33%	30%	20%	16%	1%
NF+BC 70/30	20%	36%	30%	12%	1%
NF+FS 70/30	34%	29%	22%	14%	1%
NF+FS+BC 40/40/20	27%	34%	28%	8%	2%

*BC = Bagaço-de-cana, FS = Farelo de soja, NF= Torta de nabo forrageiro e suas misturas.

**Tamanho das aberturas das peneiras: 16 (1 mm); 32 (0,5 mm); 60 (250 µm); 115 (0,125 µm) e Fundo (< 125 µm).

Ocorreu o crescimento micelial e degradação dos substratos em todas as amostras. A granulometria das amostras foi avaliada em porcentagem, conforme retenção em diferentes porosidades. Como mostra a tabela 8, a maior parte percentual das amostras ficaram retidas nas peneiras 16 e 32, que são as de maior abertura, sendo essas amostras compostas pela torta de nabo forrageiro, farelo de soja e suas misturas. Já o bagaço de cana puro e sua associação com a torta de nabo forrageiro, ficaram retidos nas peneiras de abertura 32 e 60. Para que ocorra crescimento micelial e degradação do substrato, um dos fatores mais importantes é capacidade de retenção de oxigênio do meio de cultivo; substratos com tamanho de partículas maiores favorecem essa retenção (MEMBRILLO et al., 2008; MANTOVANI et al., 2012). Por outro lado, para que ocorra produção das enzimas ligninolíticas pelos fungos é importante a redução do tamanho de partículas com o aumento da área de contato entre o micélio e o substrato

(REDDY et al., 2003; MEMBRILLO et al., 2008), o que também ocorreu, em proporções menores, com retenção nas aberturas menores de 60 e 115 do presente estudo. O teste de granulometria demonstrou que o tamanho das partículas, como um dos fatores importantes de propriedade física, favoreceu o crescimento micelial. Vários estudos também demonstraram a importância do tamanho das partículas: Mantovani et al., (2012), realizaram um experimento com as matérias-primas: fibra de soja, farelo de trigo, farelo de arroz, grãos de milho e sabugo de milho que foram separadas em função da granulometria e analisadas quanto à relação carbono/nitrogênio (C/N); o fungo utilizado foi *Pleurotus ostreatus*; os resultados encontrados mostraram que, para o crescimento micelial o fator mais importante foi a capacidade de retenção de oxigênio do meio de cultivo com granulometria dos substratos entre 1,7 e 5 mm; para produção de lacases foi a redução do tamanho de partículas com o aumento da área de contato entre o micélio e o substrato. Já o estudo de Membrillo et al., 2008, analisando o crescimento do *Pleurotus ostreatus* em bagaço-de-cana-de-açúcar, utilizando 3 tamanhos de partículas (0,92 mm; 1,68 mm e 2,9 mm), mostraram que o crescimento micelial e a degradação do substrato foram semelhantes para os três tamanhos, porém quando estudada a degradação dos componentes da parede celular vegetal (lignina, celulose e hemicelulose), elas foram afetadas de maneira diferente. Para partículas 1,68 mm, metade da hemicelulose e lignina foram degradadas e menos de 39% de celulose foi quebrada; já nas partículas de 2,9 mm os níveis de hidrólise foram semelhantes, em torno de 40% para cada um dos componentes da parede celular vegetal; para partículas de 0,92 mm, a celulose foi a mais degradada, em torno de 86%. Quando se fala em alimentação animal, o teor de lignina do substrato deve ser reduzido sem comprometer a quantidade de celulose.

5.2 PH E UMIDADE

Os valores iniciais de pH das amostras variaram de 5,8 a 6,2. Todas as amostras estudadas apresentaram pH dentro do recomendado para miceliação, variando de 5,5 a 6,5 (GÓMEZ; ANDRADE, 2008), indicando que as mesmas estavam adequadas para o desenvolvimento do fungo. Fungos basidiomicetos possuem uma característica autorreguladora de pH, com tendência a se estabilizar no valor de pH ótimo para seu crescimento, independentemente do valor de pH inicial (SANTOS et al., 2000).

O crescimento micelial implica na secreção de enzimas extracelulares, polissacarídeos, antibióticos e ácidos orgânicos, os quais reduzem o pH (SANTOS et al., 2000). Sardar et al., (2015) avaliaram os efeitos de várias condições de crescimento e desenvolvimento de diferentes espécies de *Pleurotus* (*Pleurotus sapidus* (FW-133), *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sajour-caju*, *Pleurotus columbinus*, *Pleurotus eryngii*), dentre elas a avaliação do pH, a maioria das espécies tiveram crescimento micelial máximo em pH 6 e crescimento mínimo em pH 4.

Gorai e Sharma (2018), avaliando três espécies de *Pleurotus* (*P. ostreatus*, *P. sajour-caju*, *P. florida*), mostrou que a maioria dos isolados apresentou crescimento ótimo com variação de pH de 6,5 a 7,5. Kumar et al., 2020, em estudo com *P. ostreatus*, demonstraram que o maior crescimento micelial foi em pH neutro.

A umidade é um parâmetro físico importante para a formação de biomassa micelial e produção de enzimas extracelulares. A umidade do meio é necessária para a utilização dos açúcares, transformando o ambiente de crescimento do fungo (WISNIEWSKI et al., 2010). Um alto teor de umidade pode levar a contaminação por microrganismos, diminuir a porosidade, a difusão de oxigênio e a eliminação de dióxido de carbono. Por outro lado, um baixo teor de umidade proporciona um menor crescimento (DALSENTER et al., 2005). A tabela abaixo mostra o percentual de umidade das amostras e a quantidade de água utilizada para a hidratação das mesmas.

Tabela 9 - Percentual de umidade das amostras de acordo com a capacidade de absorção do substrato após procedimento de hidratação

Substrato (30 g)	Quantidade de água (ml)	Umidade (%)
Bagaço-de-cana 100	130	86
	155	88
Nabo forrageiro 100	50	57
	40	56
Farelo de soja 100	50	72
	40	71
Farelo de soja + Nabo forrageiro 50/50	40	66
	35	65
Nabo forrageiro + Bagaço-de-cana 70/30	65	65
	75	67
Nabo forrageiro + Farelo de soja 70/30	45	66
	50	67
Nabo forrageiro + Farelo de soja+ Bagaço-de-cana 40/40/20	70	76
	75	78

Houve crescimento micelial em todas as amostras. Cada substrato teve uma capacidade de retenção de água diferente, e o cuidado com sua adição é na observância da consistência final da amostra que deve ter aspecto grumoso (BREYER et al., 2007). O teor de umidade para o cultivo em estado sólido de fungos é variável, pois o resultado depende da natureza do material, das necessidades do microrganismo e da expressão de metabólitos desejados (PANDEY et al., 2000). Singhanian et al., (2008), ao estudarem sobre fermentação em estado sólido, demonstraram que fungos basidiomicetos precisam de menor umidade e que o crescimento com 40 a 60% de umidade pode ser suficiente. Já estudo de Castro & Pereira, (2010), sobre a produção de enzimas por fungos em resíduos ligninocelulósicos, afirmaram que a umidade pode variar de 30-85%.

5.3 ETAPA DE CRESCIMENTO MICELIAL

Após hidratação das amostras e esterilização em autoclave, foi realizada a inoculação dos *spawns* (matriz primária da cultura) de *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju*. Todas

as amostras permaneceram por 30 dias em incubadora BOD (*Biochemical Oxygen Demand*). As figuras abaixo mostram o crescimento micelial após 30 dias de incubação do *Pleurotus sajor-caju* e *Pleurotus ostreatus*, nas diferentes amostras.

Figura 8 - *Pleurotus sajor-caju* em farelo de soja 100



Figura 9 - *Pleurotus sajor-caju* em torta de nabo-forrageiro 100



Figura 10 - *Pleurotus sajor-caju* em bagaço-de-cana 100



Figura 11 - *Pleurotus sajor-caju* em torta de nabo-forrageiro mais farelo de soja 50/50



Figura 12 - *Pleurotus sajor-caju* em torta de nabo-forrageiro mais bagaço-de-cana 70/30



Figura 13 - *Pleurotus sajor-caju* em torta de nabo forrageiro mais farelo de soja 70/30



Figura 14 - *Pleurotus sajor-caju* em torta de nabo forrageiro mais farelo de soja 70/30



Figura 15 - *Pleurotus sajor-caju* em torta de nabo forrageiro mais farelo de soja mais bagaço-de-cana 40/40/20



Figura 16 - *Pleurotus ostreatus* em farelo de soja 100



Figura 17 - *Pleurotus ostreatus* em torta de nabo-forrageiro 100



Figura 18 - *Pleurotus ostreatus* em bagaço-de-cana 100



Figura 19 - *Pleurotus ostreatus* em torta de nabo-forrageiro mais farelo de soja 50/50



Figura 20 - *Pleurotus ostreatus* em torta de nabo-forrageiro mais bagaço-de-cana 70/30



Figura 21 - *Pleurotus ostreatus* em torta de nabo forrageiro mais farelo de soja 70/30



Figura 22 - *Pleurotus ostreatus* em torta de nabo forrageiro mais farelo de soja mais bagaço-de-cana 40/40/20



Os fungos *P. ostreatus* e *P. sajor-caju* cresceram de maneira uniforme em todas as amostras testadas. Houve contaminação em apenas uma das repetições do farelo de soja com *P. sajor-caju*. Os crescimentos das amostras foram muito similares, com exceção do bagaço-de-cana 100% para ambos os fungos, em que o crescimento ocorreu de forma cotonosa e mais superficial devido ao seu valor nutritivo baixo. Nenhuma se sobressaiu, em termos de velocidade, de crescimento de micélio. Após os 30 dias do início do experimento, os fungos colonizaram por completo, de forma que o micélio cobriu os substratos, sendo então, as embalagens abertas, e o material levado à estufa com circulação de ar a 55°C por 72 horas, para etapa de pré-secagem. Depois de seco, foram triturados e armazenados em embalagens de polietileno, sob condição ambiente para análises subsequentes.

5.4 COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS DAS AMOSTRAS ANTES E APÓS BIOCONVERSÃO

5.4.1 Composição Química

Os resultados gerados pela bioconversão por fungos na composição química das amostras foram positivos para a alimentação de ruminantes, pois houve aumento, na sua maioria, de proteína bruta, cinzas e da digestibilidade *in vitro*; diminuição da gordura bruta (extrato etéreo) e lignina; e preservação da celulose e hemicelulose conforme mostrado nas figuras 23 e 24.

Figura 23 - Resultado das análises químicas e digestibilidade *in vitro**, em base seca, realizadas nos substratos de farelo de soja (FS), torta de nabo forrageiro (NF), bagaço-de-cana (BC) e suas misturas**, miceliados com os fungos *Pleurotus sajor-caju* (PSC) e *Pleurotus ostreatus* (PO)

Componente	Inóculo	FS100	NF100	BC100	FS50+NF50	NF70+BC30	NF70+FS30	NF40+FS40+BC20
Proteína	Controle	43,53±0,98C	60,41±1,47B	4,12±0,17A	53,45±2,34B	41,52±3,26B	51,01±1,39B	41,57±0,34B
	PSC	52,46±0,49A	64,46±0,80A	6,34±0,18A	56,70±0,85A	45,74±1,07A	56,21±1,05A	47,20±1,48A
	PO	47,45±0,70B	57,80±0,70B	5,92±0,41A	55,91±1,52AB	43,69±1,34AB	55,55±0,90A	44,45±0,32AB
Extrato Etéreo	Controle	5,03±0,27A	15,93±0,27A	0,91±0,28A	10,56±0,09A	5,41±0,89A	9,01±0,02A	7,83±0,02A
	PSC	4,21±0,51A	10,00±0,02B	0,79±0,17A	6,77±0,12B	2,34±0,01C	5,07±0,29C	4,57±0,21B
	PO	4,22±0,29A	9,16±0,14B	0,69±0,14A	6,38±0,37B	3,59±0,21B	6,50±0,21B	5,00±0,01B
Cinzas	Controle	5,90±0,15C	5,78±0,15C	3,11±0,30A	5,87±0,16C	5,32±0,46C	5,96±0,04C	5,40±0,06C
	PSC	8,50±0,37A	6,59±0,03B	3,09±0,06A	7,99±0,12A	7,24±0,15A	8,04±0,06A	7,95±0,03A
	PO	7,86±0,06B	7,05±0,08A	2,67±0,12B	7,45±0,13B	6,30±0,10B	7,32±0,11B	6,75±0,09B
DIV	Controle	92,48±1,27B	68,41±0,45A	46,81±0,13B	71,81±0,05B	53,61±0,61B	74,79±0,64B	63,11±0,78B
	PSC	95,98±0,02A	70,17±0,17A	49,10±0,11A	79,18±0,40A	70,16±0,03A	79,03±0,69A	71,19±0,74A
	PO	96,40±0,61A	70,24±0,14A	48,99±0,01A	78,88±0,10A	70,12±0,21A	78,31±1,03A	72,08±0,75A
Matéria seca	Controle	92,80±0,06B	93,72±0,29B	93,24±0,52C	93,60±0,60B	93,82±0,44B	93,68±0,05B	93,66±0,16B
	PSC	94,78±0,15A	94,67±0,30A	94,59±0,30B	93,90±0,15AB	92,59±0,15C	93,48±0,23B	93,15±0,19B
	PO	94,41±0,10A	94,74±0,09A	95,22±0,26A	94,38±0,21A	94,64±0,07A	94,57±0,07A	94,55±0,02A

*Dados apresentados como média dos valores \pm desvio padrão em base seca; médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na coluna indica diferença significativa entre os inóculos para uma mesma formulação. Foi aplicado o Teste de Tukey ($p < 0,05$).

** FS50+NF50(Farelo de soja 50% mais Nabo-forrageiro 50%); NF70+BC30 (Nabo-forrageiro 70% mais Bagaço-de cana 30%); NF70+FS30(Nabo-forrageiro 70% mais Farelo de soja 30%); NF40+FS40+BC20 (Nabo-forrageiro 40% mais Farelo de soja 40% mais Bagaço-de-cana 20%).

Figura 24 - Resultado das análises químicas, em base seca, realizadas nos substratos de farelo de soja (FS), torta de nabo forrageiro (NF), bagaço-de-cana BC) e suas misturas**, miceliados com os fungos *Pleurotus sajor-caju* (PSC) e *Pleurotus ostreatus* (PO)

Componente	Inóculo	FS 100	NF 100	BC 100	FS50+NF50	NF70+BC30	NF70+FS30	NF40+FS40+BC20
Fibra bruta	Controle	10,05±0,29A	2,61±0,92A	42,76±0,46A	6,18±0,43A	16,91±1,34A	4,53±0,89A	14,93±0,39A
	PSC	5,75±0,17B	3,21±0,63A	41,79±0,34A	4,16±0,51B	19,50±0,69A	4,38±1,33A	12,88±0,82A
	PO	5,95±0,9B	3,59±0,77A	41,12±0,58A	4,20±1,99B	17,03±1,28A	4,02±0,07A	12,57±0,38A
FDN	Controle	24,81±1,39A	16,59±1,44B	95,11±1,08A	18,64±0,99A	41,76±4,24B	19,42±1,74A	33,47±2,81A
	PSC	21,70±0,80A	21,15±1,43A	91,85±0,51A	21,19±0,79A	46,46±0,58A	19,30±0,43A	37,12±0,40A
	PO	22,09±2,23A	20,09±1,63AB	92,77±0,23A	21,08±0,39A	43,33±0,69AB	19,61±1,76A	34,25±0,94A
FDA	Controle	10,95±0,62A	9,56±0,82A	61,00±1,02A	9,42±0,40A	26,69±2,40B	9,53±0,50A	19,51±2,15B
	PSC	9,04±0,28A	10,79±0,54A	58,92±0,80AB	9,50±0,09A	29,68±0,71A	9,10±0,41A	22,10±0,48A
	PO	6,47±1,33B	10,18±0,77A	58,50±1,23B	7,26±0,22A	25,35±0,34B	8,87±1,46A	18,47±0,29B
Lignina	Controle	3,83±0,01A	3,81±0,15A	14,79±0,00A	3,75±0,16A	8,76±0,24A	4,75±0,40A	6,92±0,68A
	PSC	2,71±0,14B	3,52±0,05A	13,40±0,00B	3,23±0,02A	8,02±0,00B	3,03±0,16B	6,06±0,05B
	PO	2,21±0,01B	3,91±0,01A	13,89±0,18B	2,42±0,15B	7,63±0,38B	3,52±0,21B	5,74±0,04B
Celulose	Controle	5,09±0,19A	4,26±0,52B	44,66±0,40A	4,85±0,14A	16,47±0,70AB	5,25±0,56A	11,31±1,62B
	PSC	5,34±0,07A	6,23±0,70A	42,96±0,72B	5,12±0,06A	17,07±0,18A	4,37±0,11A	12,9±0,34A
	PO	5,02±0,70A	5,92±0,68A	43,02±0,73B	4,22±0,40A	15,33±0,33B	4,91±0,52A	11,21±0,42B
Hemicelulose	Controle	13,86±1,49AB	7,03±0,88B	34,11±0,15A	9,21±0,61B	15,08±1,86B	9,90±1,33A	13,96±0,83A
	PSC	12,65±0,84A	10,36±0,93A	32,93±0,82A	11,69±0,75A	16,78±1,17AB	10,20±0,04A	15,02±0,81A
	PO	15,62±1,31B	9,91±0,86A	34,27±1,04A	13,82±0,19A	17,98±0,81A	10,74±0,79A	15,78±1,04A

*Dados apresentados como média dos valores ± desvio padrão em base seca; médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na coluna indica diferença significativa entre os inóculos para uma mesma formulação. Foi aplicado o Teste de Tukey (p<0,05).

** FS50+NF50(Farelo de soja 50% mais Nabo-forrageiro 50%); NF70+BC30 (Nabo-forrageiro 70% mais Bagaço-de cana 30%); NF70+FS30(Nabo-forrageiro 70% mais Farelo de soja 30%); NF40+FS40+BC20 (Nabo-forrageiro 40% mais Farelo de soja 40% mais Bagaço-de-cana 20%).

A análise dos resultados de proteína bruta mostra que houve aumento significativo nos substratos de FS100 e NF70+FS30 (ambos os fungos), NF100, FS50+NF50, NF70+BC30, NF40+FS40+BC20 com *Pleurotus sajor-caju*. No BC 100 não houve diferença significativa no aumento de proteína, devido ao fato, do mesmo, ser um volumoso de baixo valor nutritivo, onde os fungos cresceram de forma cotonosa, ou seja, micélio semelhante ao algodão fracamente adensado, já que as proteínas fornecem nitrogênio orgânico para a multiplicação celular (WISNIEWSKI et al., 2010). O aumento de proteína nos outros substratos pode ser atribuído à adição de proteína fúngica durante a miceliação (NASEHI et al., 2016). Esse aumento é decorrente da hidrólise de carboidratos e seu subsequente uso como fonte de carbono para sintetizar biomassa fúngica rica em proteína (AKINFEMI et al., 2010). Além disso, o aumento também pode ser dever à captura do excesso de nitrogênio durante o crescimento micelial (SALLAM et al., 2007). Esses substratos tiveram crescimento micelial abundante e muito adensado, pois são alimentos com bom valor nutritivo e ricos em proteínas

A análise da digestibilidade *in vitro* na matéria seca (DIV/MS), com exceção do NF100, mostrou aumento com diferença estatística em todos os outros substratos, com uso potencial na alimentação de ruminantes.

Vários fatores podem interferir na eficiência do fungo em melhorar a degradabilidade de um substrato ligninocelulósicos, dentre eles presença do íon manganês, presença de compostos fenólicos, nível de fontes de nitrogênio no meio de cultura e a capacidade seletiva em degradar lignina e preservar celulose (VILLAS BOAS, 2001).

A digestibilidade de um substrato ligninocelulósico está inversamente relacionada com a concentração de lignina no mesmo, pois quanto maior for a concentração de lignina menor será a digestibilidade do substrato (OKANO et al., 2006); a bioconversão do BC 100 melhorou a DIV/MS pois apesar de ser um alimento de baixo valor nutritivo, houve redução dos compostos fibrosos, por ação das enzimas fúngicas, e conseqüentemente aumento da sua digestibilidade.

Os ruminantes possuem intenso metabolismo proteico no rúmen. Os microrganismos que degradam carboidratos fibrosos exigem amônia como fonte nitrogenada para seu crescimento, já os microrganismos que degradam carboidratos não fibrosos apresentam exigências adicionais de aminoácidos e peptídeos (RUSSEL, 1992; NRC, 2016). A proteína dietética é fator importante que influencia a fermentação ruminal, o crescimento da população da microbiota ruminal e sua capacidade de degradação da fibra (VAN SOEST, 1994), fatores que aumentaram a digestibilidade do alimento, demonstrado no presente estudo para ambos os fungos, em todas as amostras, com exceção do NF100.

Os ácidos graxos, principalmente os insaturados, podem acarretar alterações na fermentação ruminal, pois eles têm a característica de recobrir as partículas de alimento e possuem efeito tóxico sobre os microrganismos ruminais, impedindo a aderência bacteriana e o acesso das enzimas ao substrato, diminuindo a digestibilidade e conseqüentemente o consumo (KOSLOSKI, 2011), o que pode explicar os resultados da DIV/MS para o NF100.

A análise de extrato etéreo mostra que não houve diferença estatística na amostra inicial e pós-miceliação na quantidade de lipídeos nos seguintes substratos: FS100 e BC100. Já nos substratos NF100, FS50+NF50, NF40+FS40+BC20, NF70+BC30, NF70+FS30 houve redução significativa na quantidade de lipídeos para ambos os fungos, onde a blenda dos dois últimos substratos, o fungo *P. sajor-caju* se destacou dentre os fungos, tendo uma diminuição maior na quantidade de lipídeos quando comparado com *P. ostreatus*. Essa diminuição significativa no

valor de lipídeos era esperada, uma vez que as espécies de *Pleurotus* podem efetivamente remover substâncias lipofílicas a partir de substratos ligninocelulósicos (GUTIÉRREZ et al., 2004).

Os lipídeos constituem importante fonte de energia principalmente em situações de alta demanda, como vacas em lactação, bovinos de corte confinados e reprodutores. Os lipídeos aumentam a densidade energética das rações, para diminuir o balanço negativo de energia, evitando o aparecimento de alterações metabólicas nos animais. Além da possibilidade de reduzir custos quando a fonte utilizada possui baixo preço, também possibilita a manipulação da proporção de ácidos graxos específicos na gordura do leite ou da carne, de acordo com a necessidade da indústria de alimentos (VALADARES FILHO; PINA, 2006). Por outro lado, altos níveis dietéticos de lipídios podem causar alteração da fermentação ruminal, pois os ácidos graxos insaturados podem formar uma cobertura hidrofóbica na partícula da fibra dos alimentos, impedindo o ataque microbiano e seu metabolismo, podendo também causar efeito tóxico aos microrganismos, por incorporar-se à membrana celular das bactérias, alterando sua fluidicidade e permeabilidade (KOZLOSKI, 2009).

Quando se fala em inclusão de lipídeos na dieta de ruminantes, níveis acima de 5% da matéria seca pode implicar em diminuição do consumo. Por ser o nutriente mais energético, menores quantidades suprem as exigências (NRC, 2005; PALMQUIST; MATTOS, 2006). Por esse motivo se torna interessante o uso da bioconversão de fungos em substratos ricos em gordura como é o caso da torta de nabo forrageiro e suas misturas.

A análise de cinzas mostra que em todos os substratos houve o aumento significativo de matéria mineral, com exceção do BC 100. O *P. sajor-caju* teve destaque no aumento de cinzas nos seguintes substratos: FS100, NF50+FS50, NF70+BC30, NF70+FS30, NF40+FS40+BC20. Já *P. ostreatus* obteve destaque com NF100.

As cinzas são representadas pelos minerais que atuam como cofatores enzimáticos no metabolismo celular (WISNIEWSKI et al., 2010), com funções importantes na performance reprodutiva, na manutenção do crescimento, no metabolismo energético, na função imune entre outras tantas funções fisiológicas, não só para a manutenção, como também para o aumento da produtividade animal (LAMB et al., 2008). O resultado da bioconversão gerando aumento na quantidade de matéria mineral foi muito positivo, pois os minerais obtidos pelos ruminantes são em sua totalidade inerentes da ingestão de alimentos, visto que, os mesmos não sintetizam elementos minerais (MENDONÇA JÚNIOR et al., 2011) e que, nem sempre são encontrados em quantidades desejáveis nos alimentos, não sendo suficiente para a máxima resposta animal,

havendo a necessidade de uma suplementação para compensar essa deficiência (PEIXOTO et al., 2005).

Na análise de celulose não houve diferença estatística nos seguintes substratos: FS100, FS50+NF50, NF70+FS30; no BC100 houve diferença estatística com leve consumo de celulose; no NF100, NF70+BC30, NF40+FS40+BC20 houve diferença estatística com leve aumento de celulose em pelo menos um dos fungos; a bioconversão trouxe de forma geral um resultado positivo.

A celulose é uma fonte de carbono para os fungos e sendo convertida em água e gás carbônico por meio de um sistema enzimático hidrolítico que degrada polissacarídeos da parede celular vegetal (SANCHEZ, 2009; WISNIEWSKI, 2010). Quando se fala em alimentação animal, o teor de lignina deve ser reduzido sem comprometer a quantidade de celulose (MEMBRILLO et al., 2010), já que a celulose e hemicelulose representam a maior fonte potencial de energia para os animais herbívoros, após a degradação pelos complexos enzimáticos de microrganismos ruminais (VALADARES FILHO; PINA, 2006).

O aumento de celulose e da hemicelulose pode ser explicado da seguinte forma: os métodos de análise para quantificar os componentes da parede celular vegetal são incapazes de discriminar a celulose presente na quitina e d-glucana (principais componentes da parede celular do *Pleurotus* sp) da celulose presente na parede celular vegetal (VAN SOEST et al., 1991); já o não consumo da celulose e hemicelulose se deve ao fato do ataque limitado à celulose por espécies de *Pleurotus* (COHEN et al., 2002; ALEMAWOR et al., 2009), onde ocorre preferencialmente a degradação da lignina à celulose (LOCCI et al., 2008), demonstrado inclusive nesse presente estudo.

Na análise de hemicelulose mostrou que não houve diferença estatística antes e após a bioconversão para ambos os fungos com FS100, BC100, NF70+FS30, NF40+FS40+BC20; houve aumento para ambos os fungos com NF100, FS50+NF50 e com *P. ostreatus* para NF70+BC30.

A matriz lignina-hemicelulose é o sítio de ataque primário pelas enzimas dos fungos da podridão branca, seguidos secundariamente à quebra da celulose. Há três formas da degradação da lignina por esses fungos: a simultânea (degradação da lignina ocorre na mesma taxa da celulose e hemicelulose); não seletiva (degradação da lignina ocorre em menor taxa que a da celulose e hemicelulose) e seletiva (degradação da lignina ocorre em maior taxa que a da celulose e hemicelulose) (CHANG et al., 2012; SHARMA; ARORA, 2013). Os fungos

utilizados no presente estudo fizeram a degradação seletiva da maioria das amostras, resultado este positivo, pois como dito anteriormente, para alimentação de ruminantes, o teor de lignina deve ser reduzido sem comprometer a quantidade de celulose e hemicelulose.

A análise de lignina mostrou que não houve diferença significativa de sua diminuição no NF100 para ambos os fungos e no FS50+NF50 com o *Pleurotus sajor-caju*. Nos seguintes substratos houve diminuição significativa de lignina para ambos os fungos: FS100, BC100, NF70+ BF30, NF70+FS30, NF40+FS40+ BC20. No substrato FS50+NF50 com o *Pleurotus ostreatus* houve diminuição significativa.

A lignina é um composto recalcitrante, covalentemente ligada a celulose, que forma uma barreira física à hidrólise deste carboidrato (SÁNCHEZ, 2009). O gênero *Pleurotus* é um produtor natural de lacase, que é uma das enzimas produzidas pelo sistema ligninolítico oxidativo desses fungos que faz hidrólise de compostos ligninocelulósicos, aumentando assim a biodisponibilidade de carbono para a alimentação animal (D'AGOSTINI et al., 2011).

A bioconversão na maioria dos substratos, fez a quebra da lignina levando à sua diminuição, aspecto positivo, pois aumenta a biodisponibilidade de carbono para os microrganismos, aumentando também a digestibilidade do alimento. Já no caso do NF100 por ser um alimento concentrado proteico com baixa quantidade de fibra bruta e com elevada concentração de nitrogênio, repressão da degradação da lignina, pode-se dever a altas concentrações de nitrogênio que inibem a síntese de enzimas ligninolíticas (SILVA et al., 2005) e, ainda a degradação da lignina é um processo oxidativo e o oxigênio exerce efeitos significativos sobre a síntese de enzimas que a quebram (AZIMI et al., 2020), o substrato de NF100 é rico em gordura e umidade, o que pode ter diminuído a tensão de oxigênio do meio.

As análises de Fibra bruta (FB), Fibra em Detergente Neutro (FDN) e Fibra em Detergente Ácido (FDA) não tiveram, na maioria dos substratos, diferença estatística no que se diz respeito à sua diminuição, com exceção do FS100 onde houve diminuição da FB (ambos os fungos) e FDA (*P. ostreatus*) e FS50+NF50 com diminuição da FB (ambos os fungos). O BC100 teve diminuição do FDA com *P. ostreatus*. A torta de nabo forrageiro e o farelo de soja são considerados alimentos concentrados proteicos (menos de 18 % de FB e mais de 20% de PB), diferentemente do bagaço-de-cana que é um alimento volumoso (mais de 18% FB e de baixo valor energético) (NRC, 2016), não era então, esperado grandes reduções nessas análises. Já o bagaço-de-cana por ser um alimento de baixo valor nutritivo, teve crescimento micelial pouco adensado por entre o substrato, ficando de forma mais superficial, não tendo a diminuição do complexo fibroso, com exceção da lignina, conforme o esperado. Segundo Gutierrez et al.,

(1995), a formação de micélio fortemente adensado pode ser resultado da liberação de substâncias que estimulem o crescimento micelial. A ocorrência de densidade micelial diferenciada entre os substratos pode-se dever à síntese diferenciada de enzimas oxidativas e, conseqüentemente, influenciar na velocidade de crescimento e na sua densidade (FERRAZ, 2004).

Os resultados obtidos com a bioconversão pelos fungos *P. ostreatus* e *P. sajor-caju* demonstraram melhorias na composição nutricional dos substratos e suas misturas para utilização em alimentação animal, dados esses também encontrados por diversos autores.

Fiorin (2016), que estudou a bioconversão do *Pleurotus ostreatus* em farelo de algodão, mostrou o aumento no teor proteico e a diminuição do teor lipídico; Nasehi et al., (2016), cultivaram o fungo *Pleurotus florida* em diversos subprodutos agrícolas que tiveram aumento no teor proteico, matéria mineral e digestibilidade; Vasconcelos et al., (2019), estudaram o enriquecimento nutricional de resíduos de extração de óleo de soja, nabo forrageiro, gergelim branco e o bagaço de cana-de-açúcar, através da bioconversão com o fungo *Pleurotus ostreatus*, onde os valores de proteína, FDA, celulose e digestibilidade aumentaram, com redução de parâmetros como FDN, lignina e extrato etéreo; Brozzoli et al., 2010, em estudo de bioconversão por *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus pulmonaris* em resíduos da indústria do azeite de oliva, obtiveram como resultado o aumento do teor proteico; Ankifemi et al., (2010), estudaram a bioconversão da palha de sorgo pelos fungos *P. ostreatus* e *P. sajor-caju* aumentando o teor de proteína, digestibilidade e cinzas; Revello, 2018 em estudo sobre bioconversão em resíduos de macaúba pelos fungos *P. ostreatus* e *P. sajor-caju* demonstrou que houve aumento no teor de proteína, cinzas e digestibilidade e diminuição da lignina.

5.4.2 Composição Mineral

Os resultados obtidos pela bioconversão por fungos na composição mineral das amostras foram, de forma geral, positivos, com destaque para o aumento de macrominerais (Ca, P, Mg e K) conforme demonstrado na figura 25. Dentre os microminerais (Mn, Zn, Fe e Cu) os que se sobressairam foram o Mn e Fe, conforme figura 26.

Figura 25 - Resultados das análises de macrominerais dos substratos e suas misturas antes e após a miceliação com *Pleurotus sajor-caju* (PSC) e *Pleurotus ostreatus* (PO)

Mineral	Inóculo	FS100	NF100	BC100	NF50+FS50	NF70+BC30	NF70+FS30	NF40+FS40+BC20
Potássio (K)	Controle	2,20±0,12A	1,08±0,05B	0,12±0,02A	1,31±0,07B	0,81±0,02B	1,33±0,10B	1,16±0,02B
	PSC	2,32±0,00A	1,23±0,05B	0,12±0,02A	1,92±0,00A	1,08±0,05A	1,68±0,10A	1,60±0,07A
	PO	2,17±0,00A	1,56±0,02A	0,19±0,00A	1,87±0,05A	1,03±0,00AB	1,80±0,17A	1,33±0,00B
Fósforo (P)	Controle	5,80±0,16B	10,92±0,00B	0,28±0,03A	8,31±0,23B	7,98±0,39B	9,87±0,14B	7,35±0,29A
	PSC	7,69±0,01A	11,20±0,41AB	0,48±0,01A	10,32±0,49A	9,70±0,51A	10,95±0,04AB	8,51±0,79A
	PO	6,59±0,08AB	12,27±0,09A	0,51±0,03A	10,27±0,15A	8,84±0,12AB	11,29±0,81A	7,86±0,10A
Cálcio (Ca)	Controle	3,11±0,06B	2,91±0,06B	0,50±0,02B	2,94±0,06B	2,35±0,10B	2,95±0,13B	3,03±0,46B
	PSC	6,86±0,39A	6,17±1,63A	1,86±0,03AB	5,13±0,25A	4,13±0,23A	5,14±0,04A	4,82±0,05A
	PO	5,71±0,26A	5,94±0,83A	2,33±0,20A	5,05±0,40A	3,70±0,19AB	5,48±0,59A	4,07±0,03AB
Magnésio (Mg)	Controle	2,17±0,01B	3,62±0,01B	0,24±0,00e	2,91±0,09B	2,75±0,13B	3,31±0,04B	2,58±0,01B
	PSC	3,09±0,04A	3,84±0,01A	0,35±0,01A	3,71±0,20A	3,42±0,00A	3,75±0,09A	3,26±0,04A
	PO	2,50±0,06B	3,86±0,19A	0,36±0,00A	3,80±0,33A	2,99±0,09B	3,93±0,17A	2,79±0,03B

* Dados apresentados como média dos valores ± desvio padrão em base seca; médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na coluna indica diferença significativa entre os inóculos para uma mesma formulação. Foi aplicado o Teste de Tukey (p<0,05).

Figura 26 - Resultados das análises de microminerais dos substratos e suas misturas antes e após a miceliação com *Pleurotus sajor-caju* (PSC) e *Pleurotus ostreatus* (PO)

Mineral	Inóculo	FS100	NF100	BC100	NF50+FS50	NF70+BC30	NF70+FS30	NF40+FS40+BC20
Cobre (Cu)	Controle	10,02±0,77B	5,64±0,61A	4,46±0,02A	7,80±0,06A	5,12±0,92A	6,16±0,66A	6,57±0,34A
	PSC	14,32±1,98A	4,35±0,24A	2,61±1,64AB	7,17±0,00A	4,11±0,05A	6,97±0,00A	7,12±0,10A
	PO	9,21±0,82B	3,69±0,06A	0,72±0,09B	6,40±0,31A	2,84±0,19A	5,70±0,87A	5,21±0,37A
Manganês (Mn)	Controle	26,05±0,51B	24,72±0,47A	19,73±0,77A	25,78±1,10B	21,15±1,12B	23,83±0,22B	27,85±0,97A
	PSC	44,88±1,88A	26,46±1,16A	24,87±2,68A	32,24±2,38AB	29,76±0,21A	34,54±1,49A	34,44±0,51A
	PO	33,1±0,74B	27,77±0,72A	24,07±0,63A	34,80±3,16A	27,42±0,28AB	34,00±7,53A	31,04±1,51A
Ferro (Fe)	Controle	127,05±12,13B	115,81±11,16A	201,14±2,63AB	115,32±5,22A	147,99±19,57B	113,13±2,79B	155,08±3,24 B
	PSC	179,52±0,71A	114,29±9,73A	168,72±33,38B	150,23±12,02A	192,58±9,26A	146,21±4,31A	204,29±3,05 A
	PO	164,81±7,00A	117,86±2,14A	242,22±40,85A	136,14±2,72A	206,61±4,15A	152,44±30,45A	196,54±13,35 A
Zinco (Zn)	Controle	31,17±2,26B	54,99±0,20A	9,59±0,82A	44,05±2,21A	38,39±2,39B	49,17±0,63A	37,02±2,13A
	PSC	43,01±1,89A	53,19±0,43A	8,62±0,24A	50,00±3,42A	48,38±0,90A	56,18±0,94A	42,82±0,34A
	PO	33,97±0,87AB	56,67±2,90A	8,30±0,41A	50,89±0,80A	43,14±0,96AB	58,41±9,97A	39,59±0,41A

* Dados apresentados como média dos valores ± desvio padrão em base seca; médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na coluna indica diferença significativa entre os inóculos para uma mesma formulação. Foi aplicado o Teste de Tukey (p<0,05).

Os minerais estão envolvidos em quase todas as vias metabólicas do organismo animal, com funções importantes na reprodução, na manutenção do crescimento, no metabolismo energético, na função imune entre outras tantas funções fisiológicas, como também para o

aumento da produtividade animal (LAMB et al., 2008). Porém, nem sempre os minerais são encontrados em quantidade suficiente nos alimentos, não tendo o animal sua resposta máxima, havendo a necessidade de uma suplementação para compensar essa deficiência (PEIXOTO et al., 2005). Os minerais presentes nos fungos são retirados do substrato por meio do micélio, durante o crescimento deste, e transferidos para o cogumelo durante o seu processo de formação (MILES; CHANG, 1997). Em trabalho Muszyńska et al., (2016), grandes quantidades de minerais (potássio, fósforo, cálcio, ferro, cobre, zinco, magnésio, selênio) foram encontrados no micélio de *Pleurotus ostreatus*.

Dentre os macrominerais estudados estão Ca, P, K e Mg (são necessários ao animal em quantidades maiores, ou seja, são requeridos em quantidades maiores que 100 ppm (partes por milhão) e freqüentemente são mencionados como percentagem da dieta (ou gramas por quilo) (MCDOWELL, 2003).

A análise de K mostrou que não houve diferença estatística nos seguintes substratos: FS100 e BC100. Já no NF50+FS50 e NF70+FS30 houve aumento de K de para ambos os fungos; no NF100 houve aumento com o *P. ostreatus*; no NF70+BC30 e NF40+FS40+BC20 houve aumento com o fungo *P. sajor-caju*. O K tem como funções a regulação da pressão osmótica, transmissão de impulsos nervosos, regulação do equilíbrio ácido-básico, contração muscular, controle do equilíbrio hídrico (NRC, 2016) e, quando se fala em ruminantes o K é essencial para o crescimento de certas espécies de microrganismos ruminais (MENDONÇA JÚNIOR, 2011).

Geralmente a deficiência deste mineral é rara nas forrageiras (NRC, 2005), mas sintomas inespecíficos no animal podem ocorrer, tais como: redução do consumo, fraqueza muscular, distúrbios nervosos, rigidez, perda de flexibilidade do couro, definhamento, acidose intracelular e degeneração de órgãos vitais (McDOWELL, 1999).

A análise de P mostrou que não houve diferença estatística nos seguintes substratos: BC100 e NF40+FS40+BC20. No NF50+FS50 houve diferença estatística para ambos os fungos com aumento desse mineral. No NF100 houve aumento significativo com o *P. ostreatus*; NF70+BC30 houve aumento com *P. sajor-caju*; com NF70+FS30 houve aumento com o *P. ostreatus*. O P tem como funções a mineralização óssea, componente de DNA e RNA, parte de compostos de alta energia (ATP), regulação de enzimas alostéricas, componentes dos fosfolípídeos e tem função específica na fertilidade de bovinos (NRC, 2016); P é fundamental para os ruminantes (essencial para os processos energéticos e reprodutivos da célula e microrganismos ruminais) e sua deficiência se dá principalmente naqueles animais mantidos

em regime de campo. No mundo podem-se encontrar extensas áreas deficientes neste mineral, sendo a deficiência de fósforo uma das mais frequentes encontradas (MENDONÇA JÚNIOR, 2011).

A análise de Ca mostrou que houve aumento com diferença estatística para ambos os fungos nos seguintes substratos: FS100, NF100, NF50+FS50, NF70+FS30. Nos outros substratos houve aumento em apenas um dos fungos miceliados: BC100 (*P. ostreatus*), NF70+BC30 e NF40+FS40+BC20 (*P. sajor-caju*). O Ca tem como funções metabólicas a mineralização óssea, regulador do metabolismo, coagulação sanguínea, transmissão de impulsos nervosos (NRC, 2016). A deficiência de Ca pode ocorrer em animais ruminantes quando alimentados basicamente por concentrados, assim, animais submetidos a regime de campo dificilmente apresentarão tal problema. Por mais pobres em Ca que sejam as pastagens, os bovinos recebem quantidades suficientes de Ca através delas (MENDONÇA JÚNIOR, 2011). Para vacas em lactação há um aumento na exigência de manutenção, esse incremento ocorre devido ao aumento da ingestão de matéria seca que causa impacto sobre a secreção intestinal de cálcio durante a digestão, logo há uma maior necessidade de ingestão de cálcio na dieta desses animais (VILELA et al., 2016).

A análise de Mg mostrou que não houve diferença estatística nos seguintes substratos: NF100 e BC100. No NF50+FS50 e NF70+FS30 houve aumento com diferença estatística para ambos os fungos; no FS100, NF70+BC30 e NF40+FS40+BC20 houve aumento somente para o fungo *P. sajor-caju*. O Mg é um elemento extremamente importante para o metabolismo de carboidratos e lipídios e dos líquidos intra e extracelular, pode ser mais crítico para bovinos de leite, é cofator de mais de 300 enzimas, componente dos ossos e da atividade neuro-muscular (NRC, 2005). Quando se fala em ruminantes, junto com Fe, Zn e Mo são ativadores de enzimas bacterianas (MENDONÇA JÚNIOR, 2011). São raros os relatos de deficiência de magnésio em animais mantidos em pasto no Brasil, ocorrendo mais quando os animais avançam com a idade (EMBRAPA, 2001).

Dentre os microminerais (necessário aos animais em quantidade mínima, expresso em mg por kg) analisados estão Cu, Mn, Fe e Zn.

A análise de Cu mostrou diferença estatística com aumento na quantidade desse mineral no FS100 com *P. sajor-caju*. O Cu é componente de enzimas (lisil-oxidase, tirosinase, citocromo oxidase, superóxido dismutase), participa da hematopoiese por favorecer a absorção de Fe, mineralização dos ossos, formação e integridade do SNC e manutenção do miocárdio (NRC, 2005). A deficiência de cobre e molibdênio devem ser considerados de forma conjunta,

em função da já conhecida interação entre estes minerais. Tiomolibdatos são formados no rúmen pela reação entre enxofre e molibdênio que, posteriormente, reagem com cobre, formando o tiomolibdato de cobre que, por ser um composto insolúvel, limita a utilização de cobre, mesmo em dietas com adequado nível deste micromineral e leva ao aparecimento dos sintomas de deficiência (MENDONÇA JÚNIOR, 2011).

A análise de Mn mostrou que não houve diferença estatística nos seguintes substratos: NF100, BC100, NF40+FS40+BC20. No NF70+FS30 houve diferença estatística com aumento de Mn para ambos os fungos, também houve aumento no FS100 e NF70+BC30 com *P. sajor-caju* e NF50+FS50 com *P. ostreatus*. O Mn é componente de enzimas (piruvato, carboxilase, arginase, superóxido dismutase mitocondrial) e ativador enzimático (glicosil transferase) no organismo animal. É essencial para a adequada atividade reprodutiva, sua deficiência pode causar infertilidade e problemas reprodutivos já que o mineral participa da síntese de hormônios da reprodução (NRC, 2005). Além disso, Mn compõe a Mn peroxidase, enzima extracelular produzida por fungos basidiomicetos, que catalisa a oxidação da lignina na presença de H₂O₂ (ASGHER et al., 2008).

A análise de Fe mostrou que houve diferença estatística antes e após a miceliação para ambos os fungos com os seguintes substratos: FS 100; NF70+BC30; NF70+FS30; NF40+FS40+ BC20 e com *Pleurotus ostreatus* no BC 100. O Fe tem como funções o transporte e armazenamento de O₂, (hemoglobina e mioglobina), transporte de elétrons, componente de enzimas (catalase, triptofano 5-monoxigenase, fenilalanina 4-monoxigenase, aconitase). A deficiência de ferro é comumente observada em animais manejados em confinamento, ou seja, quando estes não têm acesso ao solo e pastagens (NRC, 2005).

A análise de Zn mostrou que não houve diferença estatística nos seguintes substratos: NF100, BC100, FS50+NF50, NF70+FS30 e NF40+FS40+BC20. No FS100 e NF70+BC30 houve aumento com diferença estatística somente para *P. sajor-caju*. O Zn é constituinte de várias metaloenzimas, está envolvido em reações enzimáticas associadas com a síntese proteica e o metabolismo de carboidratos e ácidos nucléicos, sendo essencial em células, como as gonadais. Conseqüentemente, funções reprodutivas, como espermatogênese e desenvolvimento de órgãos sexuais em machos, e todas as fases do processo reprodutivo na fêmea, do estro à gestação, são seriamente alteradas pela deficiência deste mineral (SMITH; AKINBAMIJO, 2000).

Os resultados obtidos com a bioconversão pelos fungos *P. ostreatus* e *P. sajor-caju* trouxeram melhorias nutricionais na composição mineral das amostras estudadas,

principalmente dos macrominerais; esse enriquecimento mineral se mostra importante tanto do ponto de vista de sanidade e produção animal quanto de custo, já que a suplementação mineral pode constituir até 30% dos custos totais de produção de ruminantes (PEIXOTO et al., 2005). Em trabalho realizado por Agbagwa et al., (2020), foram estudadas a determinação das composições minerais e centesimais de *Pleurotus ostreatus* cultivados em três resíduos agroindustriais (serragem, cinza de madeira e farelo de mandioca); houve diferença significativa com aumento na composição dos seguintes minerais: Ca, Fe, Mg, P, K e Na. Em estudo feito por Adenipekum e Gbolagade (2006), foram avaliados os requisitos químicos e nutricionais para o crescimento micelial de *Pleurotus florida* em meio de cultura de agar batata dextrose, dentre esses requisitos estavam o estudos dos macrominerais Ca, Mg, K, Na e dos microminerais Cu, Mn, Fe e Zn; como resultado o cálcio foi considerado o melhor macromineral necessário pois está envolvido nos processos metabólicos de glicólise e respiração; o zinco foi o melhor micromineral, fazendo parte de uma variedade de enzimas fúngicas responsáveis pelo metabolismo intermediário, além de estar envolvido na síntese de DNA e RNA . As variações das composições minerais nas diferentes espécies de *Pleurotus* e seu enriquecimento após a bioconversão, vão depender do teor de sais minerais do substrato, da adsorção e acúmulo desses elementos pelo fungo no substrato de crescimento, e ainda da disponibilidade desses nutrientes no meio de cultivo (NIKKARINEN; MERTANEN, 2004; SADAR et al., 2017; RITOTA; MANZI, 2019).

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos com a bioconversão dos coprodutos de agroindústria, pelos fungos *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju*, trouxeram melhorias na composição química (bromatológica) e mineral de forma geral, proporcionando um enriquecimento nutricional desses substratos para alimentação de ruminantes.

Os resultados da composição química mostraram incremento nos níveis de proteína bruta, cinzas e digestibilidade *in vitro*. A celulose e a hemicelulose não foram consumidas na maioria das amostras e houve diminuição dos níveis de extrato etéreo e lignina nas mesmas.

A composição dos minerais após a bioconversão, resultou em aumento, principalmente, dos macrominerais Ca, K, P e Mg; dentre os microminerais o Mn e o Fe foram os minerais de maior aumento, sendo o Mn de grande importância para composição das enzimas ligninolíticas produzidas pelos fungos.

Quanto à comparação entre os fungos *P. ostreatus* e *P. sajor-caju* observando as análises químicas e minerais, ambos trouxeram melhorias nutricionais para os substratos e suas misturas. Apesar de alternarem valores dentre as análises realizadas, o *P. sajor-caju* demonstrou maior capacidade de enriquecimento dos substratos.

O bagaço-de-cana puro obteve aumento na digestibilidade *in vitro* e diminuição da FDA e lignina, porém não houve aumento de proteína bruta nem cinzas. Por ser um alimento nutricionalmente pobre, não forneceu aos fungos condições ideais de miceliação; nesse caso seria interessante adicionar fontes de nitrogênio a esse substrato.

Os resultados obtidos nesse estudo demonstraram que tratamentos biotecnológicos de coprodutos agroindustriais por fungos podem ser considerados uma solução ambientalmente correta por reaproveitá-los e valorizá-los, além de reduzir seu impacto ambiental. Desta forma, os resíduos são transformados em novos recursos para produzir produtos alimentícios de valor agregado para alimentação de ruminantes, além de gerarem retorno econômico para aqueles que o produzem e os que tem interesse em explorá-lo.

REFERÊNCIAS

- ABDALLA, A. L.; SILVA F.; SILVA, J. C.; GODOI, A. R.; CARMO, C. A.; EDUARDO, J. L. P. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. spe, p. 260-268, 2008.
- ADENIPEKUN, C. O.; GBOLAGADE, J. S. Nutritional requirements of *Pleurotus florida* (Mont.) Singer, a nigerian mushroom. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 5, n. 6, p. 597-600, 2006.
- AGBAGWA, S. S.; CHUKU, E. C.; WORLU. W. C. Studies on chemical properties of three utilized agrowastes in Nigeria. **Asian Journal of Research in Botany**, v. 4, n. 4, p. 76-80, 2020.
- AJILA, C. M.; BRAR, S. K.; VERMA, M.; TYAGI, R. D.; GODBOUT, S., VALÉRO, J. R. Bio-processing of agro-byproducts to animal feed. **Critic Reviews in Biotechnology**. v. 32, n. 4, p. 382-400, 2012.
- AKINFEMI, A.; ADU, O. A.; DOHERTY, F. Conversion of sorghum stover into animal feed with white-rot fungi: *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus pulmonarius*. **African Journal of Biotechnology**, n. 9, p. 1706–1712, 2010.
- ALEMAWOR, F.; DZOGBEFIA, V. P.; ODDOYE E, O. K.; OLDHAM, J. H. Effect of *Pleurotus ostreatus* fermentation on cocoa pod husk composition: influence of fermentation period and Mn²⁺ supplementation on the fermentation process. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, p. 1950–1958, 2009.
- ALI, N.; ZHANG, Q.; LIU, Z. Y.; LI, F. L.; LU, M.; FANG, X. C. Emerging technologies for the pretreatment of lignocellulosic materials for bio-based products. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 104, p. 455-473, 2020.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 18 thed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists, 2006.
- ASGHER, M.; BHATTI, H. N.; ASHRAF, M.; LEGGE, R. L. Recent Developments in Biodegradation of Industrial Pollutants by White Rot Fungi and their Enzyme System. **Biodegradation**, v. 19, p. 771-783, 2008.
- AZIMI, Y.; BAHMANI, M.; JAFARI, A.; BAKHTYARI, R.; REZA, H. Anatomical, chemical and mechanical characteristics of beech wood degraded by two *Pleurotus* species. **Drvna Industrija**, v. 7, p. 47-53, 2020.

BARBERO, R. P.; FORTALEZA, A. P. S.; SILVA, L. D. F.; BARBOSA, M. A. A. F. Viabilidade econômica da inclusão de torta de nabo forrageiro na ração de novilhas de corte confinadas. **Informações Econômicas**, v. 43, n. 3, 2013.

BARROS, L.; BAPTISTA, P.; CORREIA, D. M.; CASAL, S.; OLIVEIRA, B.; FERREIRA, I. C. F. R. Fatty acid and sugar compositions, and nutritional value of five wild edible mushrooms from Northeast Portugal. **Food Chemistry**, v. 105, p. 140–145, 2007.

BENTO, C. B. P.; CASARIL, K. B. P. B. Bioconversão de resíduos agroindustriais ligninocelulósicos por fungos causadores da podridão branca: uma alternativa à produção de alimentos. **Revista Faz Ciência**. Francisco Beltrão. v. 14, n. 19, 2012.

BILAL, M.; ASGHER, M.; IQBAL, H. M.; HU, H.; ZHANG, X. Biotransformation of lignocellulosic materials into value-added products-A review. **International Journal of Biology Macromolecules**, v. 98, p. 447-458, 2017.

BONATTI, M.; KARNOPP, P.; SOARES, H. M.; FURLAN, S. A. Estudo da composição de cogumelos das espécies *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju* cultivados em palha de bananeira. **Revista Saúde e Ambiente/Health and Environment Journal**, v. 4, n. 1, p. 31-35, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, DF, 2020. Disponível em: <http://https://www.gov.br/agricultura/pt-br>. Acesso em 15 dez. 2020.

BREYER, C. A.; PAZ, M. F.; GIOVANNI, R. N. Cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em bagaço de maçã pela técnica Jun-Cao. In: XVI Simpósio Nacional de Bioprocessos, 2007, Curitiba. **Anais Sinaferm**. Curitiba: Alvo Eventos, 2007.

BROZZOLI, V.; BARTOCCI, S.; TERRAMOCCIA, S.; CONTÒ, G.; FEDERICI, F.; D'ANNIBALE, A.; PETRUCCIOLI, M. (2010). Stoned olive pomace fermentation with *Pleurotus* species and its evaluation as a possible animal feed. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 46, p. 223-228, 2010.

BUENO, J. B.; RODRIGUES, G. A. PALHA SOBRE O SOLO NO CRESCIMENTO DA CULTURA DO NABO FORRAGEIRO EM ÁREA DEGRADADA. **Revista Interface Tecnológica**, [S. l.], v. 16, n. 1, p. 370–377, 2019. Disponível em: <https://revista.fatectq.edu.br/interfacetecnologica/article/view/548>. Acesso em: 8 mar. 2021.

CASTRO, A. M. de; PEREIRA, J. R. N. Produção, propriedades e aplicação de celulasas na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 181-188 2010.

CECCHI, H. M. **Fundamentos Teóricos e Práticos em Análise de Alimentos**. 2. ed. Campinas: Ed. da Unicamp, 2003.

CHANG, A. J.; FAN, J.; WEN, X. Screening of fungi capable of highly selective degradation of lignin in rice straw. **International Biodeterioration Biodegradability**, v. 72, p. 26–30, 2012.

CIMM - CENTRO DE INFORMAÇÃO METAL MECÂNICA. **Definição – O que é Granulometria**. Dicionário, Materiais, 2020. Disponível em: <https://www.cimm.com.br/portal/verbetes/exibir/1395-granulometria>. Acesso em 17 jul. 2020.

COHEN, R.; PERSKY, L.; HADAR, Y. Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 58, p. 582–94, 2002.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Perspectiva para a Agropecuária**. Brasília, v. 7, p. 1-100, out. 2020. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/perspectivas-para-a-agropecuaria>. Acesso em 12 jul. 2021.

COSTA, W. dos S. da. **Potencial nutricional dos coprodutos das sementes oleaginosas do setor de bioenergia na substituição do farelo de soja e do milho para a segurança alimentar e sustentabilidade da produção de pequenos ruminantes**. 2019. Dissertação (Mestrado em Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente). Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2019. DOI: 10.11606/D.64.2019.tde-20052019-104423. Acesso em 08 jul. 2021.

D'AGOSTINI, E. C.; MANTOVANI, T. R. D.; DO VALLE, J. S.; PACCOLA-MEIRELLES, L. D.; COLAUTO, N. B.; LINDE, G. A. Low carbon/nitrogen ratio increases laccase production from basidiomycetes in solid substrate cultivation. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 68, n. 3, p. 295-300, 2011.

DALSENTER, F. D. H. **Efeito da temperatura na cinética de crescimento de *Rhizopus oryzae* em cultivo no estado sólido**. 2005. Tese (Doutorado em Bioquímica). Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, UFPR, Curitiba, 2005.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Soja em números (safra 2017/2018)**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>. Acesso em 21 abr. 2019.

EPE- EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA. (2019). **SI Energia**. Disponível em: <http://www.epe.gov.br/pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/sienergia>. Acesso em 30 nov. 2020.

ERGUN, S. O.; UREK, R. O. Production of ligninolytic enzymes by solid state fermentation using *Pleurotus ostreatus*. **Annals of Agrarian Science**, v. 15, n. 2, p. 273-277, 2017.

ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**, Caxias do Sul: EDUCS, 510p, 2004.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. 2020. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat>. Acesso em 10 jan. 2020.

FERRAZ, A. L. Fungos decompositores de materiais lignocelulolíticos. In: ESPÓSITO, E.; AZEVEDO, J. L. (Eds.). **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: Educs, 2004.

FIORIN, P. F. S. **Bio-conversão do caroço de algodão em farelo visando a melhoria nutricional através do cultivo de *Pleurotus ostreatus* pela metodologia jun-cao modificada para a produção de uma ração bovina com maior porcentagem nutritiva**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biotecnologia) – Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, 2016. Disponível em: <http://repositorio.ufgd.edu.br/jspui/handle/prefix/4119>. Acesso em 20 ago. 2020.

GIORDANI JÚNIOR, R.; CAVALI, J.; PORTO, M. O.; FERREIRA, E.; STACIHW, R. Resíduos agroindustriais e alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Ciências da Amazônia**, v. 3, n. 1, p. 93-104, 2014.

GÓES, R. H. de T. B.; SILVA, L. H.; SOUZA, K. **ALIMENTOS E ALIMENTAÇÃO ANIMAL**. 1. ed. Dourados, MS: Ed. UFGD, 2013.

GÓMEZ, J. P. G.; ANDRADE, J. L. C. Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre resíduos sólidos lignocelulósicos de diferente procedencia. NOVA- Publicación Científica en **CIENCIAS BIOMÉDICAS**, v. 6, n. 10, p. 101-236, 2008.

GORAI, B.; SHARMA, R. Effect of Different Substrates on Yield Potential of *Pleurotus* spp. in West Bengal. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 7, p. 2162-2169, 2018.

GUPTA, A.; SHARMA, S.; SAHA, S.; WALIA, S. Yield and nutritional content of *Pleurotus sajor caju* on wheat straw supplemented with raw and detoxified mahua cake. **Food Chemistry**, v. 141, n. 4, p. 4231–4239, 2013.

GUTIÉRREZ, A.; DEL RÍO, J. C.; MARTÍNEZ, Á. T. Chemical Analysis and Biological Removal of Wood Lipids Forming Pitch Deposits in Paper Pulp Manufacturing. In:

WALKER, J. M.; SPENCER, J. F. T.; SPENCER, A. L. R. de. (eds) **Environmental Microbiology: Methods in Biotechnology**. Ed. Humana Press, 2004, v. 16. p. 189-203.

HISCOX, J.; O'LEARY, J.; BODDY, L. Fungus wars: basidiomycete battles in wood decay. **Studies in Mycology**, v. 89, p. 117–124, 2018.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ – IAL. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. ed. 4, São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p. 1020, 2008.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Agricultura, pecuária e outros**. Brasília, DF, 2020. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/2027-np-indicadores-agropecuarios>. Acesso em 02 dez. 2020.

_____. **PIB acumula em 12 meses (2º trimestre de 2021): 6,4%**. Brasília, DF, 2021. Disponível em <https://www.ibge.gov.br/busca.html?searchword=pib%20agricultura>. Acesso em 15 jul. 2021.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos Ruminantes**. 2. ed. Santa Maria: Ed. UFSM, 2009.

KUMAR, A. K.; SHARMA, A. Recent updates on different methods of pretreatment of lignocellulosic feedstocks: a review. **Bioresources and Bioprocessing**, 4 (1) (2017).

KUMAR, P. A.; BISHT S. S.; UPADHYAY, S.; BAHUGUNA, P. EFFECT OF DIFFERENT MEDIA, PH AND TEMPERATURE ON GROWTH OF PLEUROTUS OSTREATUS. **Journal of Bio Innovation**, v. 9, n. 2, p. 132-140, 2020.

LAMB, G. C.; BROWN, D. R.; LARSON, J. E.; DAHLEN, C. R.; DILORENZO, N.; ARTHINGTON, J.; DICOSTANZO, A. Effect of organic or inorganic trace mineral supplementation on follicular response, ovulation, and embryo production in super ovulated Angus heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 106, n. 3, p. 221-231, 2008.

LOCCI, E.; LACONI, S.; POMPEI, R.; SCANO, P.; LAI, A.; MARINCOLA, F.C. Wheat bran biodegradation by *Pleurotus ostreatus*: a solid-state carbon-13 NMR study. **Bioresearch Technology**, v. 99, p. 4279–4284, 2008.

MAKKAR, H. P. S. State-of-the-art na detoxificação de *Jatropha curcas* products aimed for use as animal and fish feed: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 222, p. 87-99, 2016.

MANTOVANI, T. A.; MEIRELES, L. D. P.; VALLE, J. S.; LINDE, G. A.; COLAUTO, N. B. Formulação de substratos na produção de biomassa micelial e de lacase de *Pleurotus ostreatus*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 5, p. 1681-1691, 2012.

MCDOWELL, L. R. **Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais, enfatizando o Brasil**. 3. ed. Gainesville: University of Florida, 1999.

_____. **Minerals in animal and human nutrition**. 2. ed. Netherlands: Elsevier Science, 2003.

MELLO, D. F.; FRANZOLIN, R.; FERNANDES, L. B.; FRANCO, V. M.; ALVES, T. C. Avaliação do resíduo de nabo forrageiro extraído da produção de biodiesel como suplemento para bovinos de corte em pastagem. **Revista brasileira de saúde e produção animal** v. 9, n. 1, p. 45-56, 2008.

MEMBRILLO, I.; SÁNCHEZ, C.; MARCOS, M.; FAVELA-TORRES, E.; LOERA, O. Effect of substrate particle size and additional nitrogen source on production of lignocellulolytic enzymes by *Pleurotus ostreatus* strains. **Bioresource technology**, v. 99, p. 7842-7847, 2008.

MENDONÇA JÚNIOR, A. F.; BRAGA, A. P.; RODRIGUES, A. P. M. S.; SALES, L. E. M.; MESQUITA, H. C. Minerais: importância de uso na dieta de ruminantes. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v. 07, n. 01, p. 01–13, jan/mar 2011.

MENEZES, C. R.; BARRETOS, A. R. Biodegradação de resíduos lignocelulósicos por fungos basidiomicetos: Caracterização dos resíduos e estudo do complexo enzimático fúngico. **Revista do Centro de Ciências Naturais e Exatas**, Santa Maria, v. 19, n. 2, mai-ago. 2015.

MILES, P. G.; CHANG, S. T. **Mushroom biology: concise basics and current developments**. Singapore: Word Scientific Publishing, 1997.

MUSZYŃSKA, B.; ZAJĄC, M.; KAŁA, K.; OPOKA, W.; ROJOWSKI, J. Thermal processing can affect zinc availability in some edible mushrooms. **Food Science Technology**, v. 69, p. 424–429, 2016.

NASEHI, M.; TORBATINEJAD, N.; ZEREHDARAN, S.; SAFAEI, A. Effect of solid-state fermentation by oyster mushroom (*Pleurotus florida*) on nutritive value of some agro by-products. **Journal of Applied Animal Research**, v. 45, p. 1-6, 2016.

NIKKARINEN, M.; MERTANEN, E. Impact of geological origin on trace element composition of edible mushrooms. **Journal Food Compostion Analysis**, v. 17, p. 301–310, 2004.

NRC- NUTRIENT REQUIREMENTS OF BEEF CATTLE. **Animal Nutrition Series**. 8. ed. Washington, DC: The National Academies Press, 2016.

NRC- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Mineral Tolerance of Animals**. 2. ed. Washington, DC: The National Academies Press, 2005.

OLIVEIRA, R. L.; LEÃO, A. G.; ABREU, L. L.; TEIXEIRA, S.; SILVA, T. M. Alimentos Alternativos na Dieta de Ruminantes. **Revista Científica de Produção Animal**, v. 15, n. 2, p. 141-160, 2013.

OKANO, K.; IIDA, Y.; SAMSURI, M.; PRASETYA, B.; USAGAWA, T.; WATANABE, T. Comparison of in vitro digestibility and chemical composition between sugarcane bagasse treated by four white rot fungi. **Animal Science Journal**, v. 77, p. 308-313, 2006.

PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. Metabolismo de lipídeos. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006.

PANDEY, A. Solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, Amsterdam, v. 13, n. 2-3, p. 81-84, 2003.

PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; NIGAM, P.; SOCCOL, V. T.; MOHAN, R. Biotechnological potential of agro-industrial residues. I: sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v. 74, n. 1, p. 81-87, 2000.

PAZ, M. F.; BREYER, C. A.; LONGHI, R. F.; OVIEDO, M. S. V. P. Determining the basic composition and total phenolic compounds of *Pleurotus sajor-caju* cultivated in three different substrates by solid state bioprocess. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 2, p. 11-14, 2012.

PAZ, M. F.; DEMENJOUR, P. L. M. M.; CARDOSO, J. C. P.; LEITE, R. S. R. Cultivatin of edible mushroom *Hiboukitaki* in caja bagasse by in Jun-Cao technique. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, n. 2, p. 174-183, 2016.

PEIXOTO, P. V.; MALAFAIA, P.; BARBOSA, J. D.; TOKARNIA, C. H. Princípios de suplementação mineral em ruminantes. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, n. 3, p. 195-200, 2005.

REDDY, G.V., RAVINDRA BABU, P., KOMARAIHAH, P., ROY, K. R. R. M.; KOTHARI, I. L. Utilization of banana waste for the production of lignolytic and cellulolytic enzymes by

solid substrate fermentation using two *Pleurotus* species (*P. ostreatus* and *P. sajor-caju*). **Process Biochemistry**, v. 38, p. 1457–1462, 2003.

REVELLO, C. Z. **Bioconversão de resíduos do processamento da macaúba (*Acrocomia aculeata*) pelos fungos *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju* como indicação de uso para insumo em ração animal**. 103 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Ambiental), Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD, Dourados, 2018.

RICARDINO, I. E. F.; SOUZA, M. N. C.; SILVA NETO, I. F. Vantagens e possibilidades do reaproveitamento de resíduos agroindustriais. **Alimentos: Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente**, v. 1, n. 8, p. 55-79, 2020.

RITOTA, M.; MANZI, P. Review *Pleurotus* spp. cultivation on different agri-food by-products: Example of Biotechnological Application. **Sustainability**, v. 11, p. 1-26, 2019.

RUSSELL, J. B. Minimizing ruminant nitrogen losses. In: **SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE RUMINANTES**, Lavras. Anais Lavras: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1992.

SALLAM, S. M. A.; NASSER, M. E. A.; EL-WAZIRY, A. M.; BUENO F. C. S.; ABDALLAH, A. L. Use of yam in vitro rumen gas production technique to evaluate some ruminant feedstuffs. **Journal Applied Science Research**, v. 3, p. 34–41, 2007.

SANCHEZ, C. Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi. **Biotechnololy Advances**, v. 27, p. 185–194, 2009.

SANTOS, F.; BRASIL, L. M. M.; FARIA, D.; SILVA, V. S.; GOMES, L.; VILARES, M.; MACHADO, G.; SOUZA de E. Aproveitamento integral do nabo forrageiro (*Raphanus Sativus* L.) em processos de biorrefinaria. **Engevista**, v. 20, n. 2, p. 374-393, abr., 2018.

SANTOS, V. M. C. S.; FURLAN, S. A.; ARAÚJO, R. P.; GERN, R. M. M. Influência da suplementação da palha de arroz na produção de *Pleurotus sajor-caju*. **Revista Saúde e Ambiente**, v. 1, n. 1, p. 60-63, 2000.

SARDAR, H.; ALI, M. A.; ANJUM, M. A.; NAWAZ, F.; HUSSAIN, S.; NAZ, S.; KARIMI, S. M. Agro-industrial residues influence mineral elements accumulation and nutritional composition of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*). **Scientia Horticulturae**, v. 225, p. 327–334, 2017.

SADH, P. K., DUHAN, S.; DUHAN, J. S. Agro-industrial wastes and their utilization using solid state fermentation: a review. **Bioresources Bioprocesses**, v. 5, n. 1, 2018.

SILVA, E. M.; MACHUCA, A.; MILAGRES, A. M. F. Effect of cereal brans on *Lentinula edodes* growth and enzyme activities during cultivation on forestry waste. **Letters Applied Microbiology**, v. 40, p. 283-288, 2005.

SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2009.

SINGHANIA, R. R.; PATE, A.; SOCCOL, C.; PANDEY, A. Recent advances in solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 44, n. 1, p. 13-18, 2008.

SMITH, O. B.; AKINBAMIJO, O. O. Micronutrients and reproduction in farm animals. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 549-560, 2000.

SOCCOL, C. R.; COSTA, E. S. F. da; LETTI, L. A. J.; KARP, S. G.; WOICIECHOWSKI, A. L.; VANDENBERGHE, L. P. S. Recent developments and innovations in solid state fermentation. **Biotechnology Research and Innovation**, v. 1, n. 1, p. 52-71, 2017.

SOUZA, O.; SCHULZ, M. A.; FISCHER, G. A. A.; WAGNER, T. M.; SELLIN, N. S. O. Energia alternativa de biomassa: bioetanol a partir da casca e da polpa de banana. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, n. 8, 2009.

STEVANATO, N.; DE MELLO, B. T. F.; MASSA, T. B.; SILVA, C. da. Potential radish for biodiesel: oil extraction and production of esters. **Uningá Review**, [S. l.], v. 35, p. eRUR2872, 2020. Disponível em: <https://revista.uninga.br/uningareviews/article/view/2872>. Acesso em: 8 dez. 2021.

VALADARES FILHO, S. C.; PINA, D. S. Fermentação Ruminal. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca: Cornell University Press, 1994.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal Dairy Science**, v. 74, p. 3583-3597, 1991.

VASCONCELOS, E. A. F.; BARBOSA, R. M.; MEDEIROS, M. G. F.; MOURA, T. F. A. L. Influência do processo extrativo, solvente e tamanho da partícula do material vegetal no teor de sólidos da solução extrativa da *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Revista Fitos**, v. 1, n. 1, p. 74-79, 2008.

VASCONCELOS, M. S.; MUZZI, R. M.; VELILHA JUNIOR, C. M.; DA SILVA, M. A.; DE GÓES, R. H. T. B.; PAZ, M. F. Bioconversão dos farelos de soja, nabo forrageiro, gergelim branco e bagaço de cana-de-açúcar, com o fungo *Pleurotus Ostreatus*. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA**, n. 59, 2019, João Pessoa, Paraíba.

VAZ JUNIOR, S. **Aproveitamento de resíduos agroindustriais: uma abordagem sustentável**. EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Brasília, DF: Embrapa Agroenergia, 2020.

VILELA, D. F.; ANDRADE, C. L.; CASTRO, K. S.; PIRES, M. F. Exigências de cálcio e fósforo na nutrição de bovinos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 13, n. 2, p. 4601-4608, mar/abr 2016. Disponível em: https://www.nutritime.com.br/arquivos_internos/artigos/367_-_4601-4608_-_NRE_13-2_mar-abr_2016.pdf. Acesso em 22 abr. 2019.

VILLAS-BÔAS, S. G. **Conversão do bagaço de maçã por *Candida utilis* e *Pleurotus ostreatus* visando a produção de suplemento para ração animal**. 2001. 137f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Biociências), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/112295>. Acesso em 10 ago. 2020.

VU, H. P.; NGUYEN, L. N.; VU, M. T.; JOHIR, M. A. H.; MCLAUGHLAN, R.; NGHIEM, L. D. A comprehensive review on the framework to valorise lignocellulosic biomass as biorefinery feedstocks. **Science of The Total Environment**, v. 743, p. 140630, nov. 2020.

WANG, F.; XU, L.; ZHAO, L.; DING, Z.; MA, H.; TERRY, N. Fungal Laccase Production from Lignocellulosic Agricultural Wastes by Solid-State Fermentation: A Review. **Microorganisms**, v. 7, n. 12, p. 665-678, 2019.

WANG, Y.; LUO, Y.; LUO, L.; ZHANG, H.; LIAO, Y.; GOU, C. *Pleurotus* Spp. Fungi Ferment Corn Stover and Enhance Its Nutritional Value as Ruminant Feed. **Research Square**, v. 1, p. 1-14, feb. 2021.

WISNIEWSKI, A. C.; ALMEIDA, M. A. L. de; PALMA, M. B.; TAVARES, L. B. Produção de enzimas amilolíticas por *Macrocybe titans* em resíduo do processamento de cerveja. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 8, n. 3, p. 285-293, jul./set. 2010.

WOICIECHOWSKI, A. L.; CARVALHO, J. C. de; SPIER, M. R.; HABUS, S.; YAMAGISHI, C. T.; CHIGGI, V.; SOCOLL, C.R. **Emprego de Resíduos Agroindustriais em Bioprocessos Alimentares**. Capítulo de Biotecnologia de Alimentos; coleção Ciência, tecnologia, engenharia de alimentos e nutrição, editora Ateneu, São Paulo, Rio de Janeiro e Belo Horizonte, p. 143-172, 2013. Disponível em: <https://docplayer.com.br/66372402-Emprego-de-residuos-agroindustriais-em-bioprocessos-alimentares.html>. Acesso em 10 ago. 2020.

ZAPAROLLI, D. **Papel de bagaço e palha**. Pesquisa FAPESP, 263: 69 – 71. 2018.