



MATHEUS SIQUEIRA CAMPOS DE MENEZES

**AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE DE
Pleurotus spp E *Flammulina velutipes* UTILIZANDO BAGAÇO
DE MALTE E SERRAGEM COMO SUBSTRATOS**

**LAVRAS – MG
2021**

MATHEUS SIQUEIRA CAMPOS DE MENEZES

**AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *PLEUROTUS* spp. E
FLAMMULINA VELUTIPES UTILIZANDO BAGAÇO DE MALTE E SERRAGEM
COMO SUBSTRATOS**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Ciências Biológicas, para obtenção do título de Bacharel.

Prof. Eustáquio Souza Dias
Orientador (a)
Ma. Cibelli Paula de Castro
Coorientador (a)

**LAVRAS – MG
2021**

MATHEUS SIQUEIRA CAMPOS DE MENEZES

AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE VARIEDADES DE *PLEUROTUS* spp E *FLAMMULINA VELUTIPES* UTILIZANDO BAGAÇO DE MALTE E SERRAGEM COMO SUBSTRATOS.

EVALUATION OF MYCELIAL GROWTH OF *PLEUROTUS* AND *FLAMMULINA VELUTIPES* VARIETIES USING MALT BAGASSE AND SAWAGE AS SUBSTRATE.

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Ciências Biológicas, para obtenção do título de Bacharel.

APROVADO em 25 de novembro de 2021.
Ma. Cibelli Paula de Castro UFLA
Dra. Tatiana Silveira Junqueira de Moraes UFLA
Me. Carlos Godinho de Abreu UFLA

Prof. Eustáquio Souza Dias
Orientador (a)
Ma. Cibelli Paula de Castro
Coorientador (a)

**LAVRAS-MG
2021**

*À minha mãe Mara e meu pai Marcelo e
minha irmã Maisa por todo apoio, amor,
carinho e por ser um dos meus exemplos de
vida: Dedico.*

AGRADECIMENTOS

A minha mãe, Mara, por ser um exemplo e referência de mulher em minha vida, que tanto me ajudou para que eu conseguisse concluir essa etapa em minha vida.

Ao meu pai, Marcelo, por ter me apoiando em ingressar na UFLA quando saiu o resultado do vestibular, por ser minha referência de homem e por ter me apoiado financeiramente durante esses anos.

Aos meus amigos, Hugo, Celson, Pedro, Juan, Jessica, Veronica, Thaís, Adilson, Luiz, Victória, Luz por terem proporcionado momentos incríveis em Lavras e principalmente por terem contribuído de várias formas para que eu conseguisse chegar aonde cheguei.

Aos meus companheiros de laboratório, Cibelli, Tati, Lundo, Lídia, Livia, Cidinha, Danilo, Lucas, Carlos, Paulinho, por todo companheirismo, amizade, acolhimento e principalmente por terem me ajudado a concluir essa etapa da minha vida.

Ao meu orientador de iniciação científica e TCC, Eustáquio, por todo o acolhimento durante esses anos, carinho, paciência, amizade e principalmente por todo o aprendizado.

Aos professores e colegas do curso de Ciências Biológicas pelos saberes compartilhados.

A Universidade Federal de Lavras por ter sido minha segunda casa durante esses anos.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram com a realização deste trabalho.

Ao CNPQ por terem me proporcionado através da bolsa, o desenvolvimento dos meus projetos.

A todos vocês; o meu muito obrigado!

RESUMO

Com a progressiva busca por uma vida mais saudável e divulgação de novos estudos, a população tem se tornado mais rigorosa em sua qualidade de vida em relação a uma alimentação saudável. Um grande exemplo de busca por alimentação saudável são os cogumelos, que possuem diversas propriedades envolvidas na imunoterapia, nutrição e prevenção de doenças tumorais. Para que a produção de cogumelos comestíveis seja acessível nos vários setores da produção de alimentos, é necessário que pesquisadores desenvolvam técnicas de cultivo que utilizem os diversos subprodutos agroindustriais. O bagaço de malte é o sobranço do primeiro processo da produção de cerveja. É composto pela casca da cevada maltada, esse subproduto está disponível em grande quantidade nas grandes indústrias de cervejaria e nos pequenos produtores artesanais. Pensando nisso, o objetivo deste trabalho foi o de utilização do bagaço de malte de uma indústria de cervejaria para a produção de três cogumelos comestíveis. Substratos contendo níveis de bagaço de malte e serragem foram feitos a partir de uma matriz de planejamento. Todos os níveis foram feitos em potes contendo 300g de substratos, que após a confecção foram autoclavados a 121°C por 2h. Após a esterilização, os potes foram inoculados em câmara de fluxo contínuo, com as seguintes linhagens: *Flammulina velutipes*, *Pleurotus eryngii* e *Pleurotus ostreatus* variedade Preto. A avaliação do crescimento micelial foi feita com a utilização de paquímetro, durante 7 dias onde os dados foram representados em crescimento micelial em milímetros por dia. Houve uma tendência para o maior crescimento micelial de *Pleurotus ostreatus* variedade Preto e *Pleurotus eryngii* nas maiores concentrações de bagaço de malte de acordo com a otimização. Para *Flammulina velutipes* a tendência do crescimento micelial se deu pela maior concentração de serragem. Foi observado produção de cogumelos apenas nas linhagens de *Pleurotus eryngii* e *Pleurotus ostreatus* variedade Preto. Com esses resultados, conclui-se que o bagaço de malte pode ser utilizado para a produção de diversas espécies de cogumelos comestíveis. No entanto, é necessário que, outros estudos simulando a produção real em blocos sejam feitos utilizando as melhores concentrações descobertas neste estudo.

Palavras-chave: Cogumelos, subproduto agroindustriais, cerveja, micélio, produtividade

ABSTRACT

Due to the progressive search for a healthier life and the dissemination of new studies, the population has become stricter in their quality of life in relation to healthy diet. A great example of the searching for healthy diet are mushrooms, which have several properties involved in immunotherapy, nutrition and prevention of tumor diseases. In order for the production of edible mushrooms to be accessible in the various sectors of food production, it's for researchers to develop cultivation techniques that use various agro-industrial by-products. Malt bagasse is the leftover from the first beer production process. It is composed of malted barley husk, this by-product is available in large quantities in large breweries and small handcraft producers. So with that in mind, the Aim of this study was to use malt bagasse from a brewery industry for the production of three edible mushrooms. Substrates containing malt bagasse and sawdust levels were made from a planning matrix. All levels were made in pots containing 300g of substrates, and then autoclaved at 121°C for 2h. After sterilization, the pots were inoculated in a continuous flow chamber, with the following strains: *Flammulina velutipes*, *Pleurotus eryngii* and *Pleurotus ostreatus*, Preto variety. The evaluation of mycelial growth was made using a caliper during 7 days, and the data were represented in mycelial growth in millimeters per day. There was a trend for greater mycelial growth of *Pleurotus ostreatus* variety Preto and *Pleurotus eryngii* in the highest concentrations of malt bagasse according to the optimization. For *Flammulina velutipes*, the tendency of mycelial growth was due to the higher concentration of sawdust. Mushroom production was observed only in lines of *Pleurotus eryngii* and *Pleurotus ostreatus*, variety Preto. According to these results, it's concluded that malt bagasse can be used for the production of several species of edible mushrooms. However, other studies using the best concentrations discovered in this study and simulating the real production in blocks need to be carried out.

Keywords: Mushrooms, agro-industrial by-product, beer, mycelium, productivity

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
1.1 Objetivo Geral	9
1.2 Objetivos Específicos.....	9
2 REFERENCIAL TEÓRICO	10
2.1 Fungos basidiomicetos	10
2.1.1 Fungos do gênero <i>Pleurotus</i> e <i>Flammullina velutipes</i>	10
2.2 Cerveja	14
2.2.1 Etapas do processo de produção	15
2.2.2 Subprodutos da cervejaria	15
2.2.2.1 Bagaço de malte	16
2.3 Delineamento composto central rotacional	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1 Obtenção das linhagens de cogumelos comestíveis	17
3.2 Reativação dos cogumelos comestíveis para a preparação da matriz de inoculação	17
3.2.1 Reativação das linhagens	17
3.2.2 Preparo da matriz de inoculação (sementes)	17
3.2.3 Inoculação das linhagens na matriz de inoculação.....	18
3.3 Obtenção do bagaço de malte.....	18
3.4 Preparo do substrato de cultivo	18
3.5 Delineamento composto central rotacional.....	20
3.6 Montagem do experimento	20
3.6.1 Formulação dos substratos.....	20
3.6.2 Preparo dos potes	20
3.6.3 Inoculação das linhagens de cogumelos comestíveis	21
3.7 Avaliação do crescimento e fechamento micelial dos potes	21
3.8 Indução a frutificação e colheita	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
4.1 Crescimento micelial	22

4.1.1 <i>P. ostreatus shimeji</i> preto	22
4.1.2 <i>P. eryngii</i>	23
4.1.3 <i>F. velutipes</i>	25
4.2 Produtividade	26
4.2.1 <i>P. ostreatus</i> e <i>P. eryngii</i>	26
5 CONCLUSÃO	30
6 REFERÊNCIAS	30

1 INTRODUÇÃO

Com a progressiva busca por uma vida mais saudável, divulgação de novos estudos, a população está se tornando mais rigorosa quanto as buscas de qualidade de vida. Além disso, os novos padrões de consumo e serviços desempenha um papel importante para a busca e diversificação do seu hábito de vida, incluindo sua alimentação (FAO, 2003).

A produção em 2013 de cogumelos representou em mercado cerca de 63 bilhões de dólares, em que 54% englobam cogumelos comestíveis, 38% cogumelos com características medicinais e 8% cogumelos silvestres (ROYSE et al. 2017). De acordo com a associação Nacional dos Produtores de Cogumelos do Brasil, a produção de cogumelos, se concentra no Estados de São Paulo (Mogi das Cruzes, Pinhalzinho, Ibiúna, Sorocaba, Salto, Cabreúva, Jujutiba e Valinhos) e no Paraná (Castro, Tijucas do Sul e Curitiba). Entretanto, a grande concorrência com grandes potências internacionais como a China, Itália, Estados Unidos e outros países contribui com a diminuição do número de produtores. A produção de cogumelos estimada no Brasil é cerca de 12.000 toneladas “in natura”. Além disso, a falta de hábito, o não conhecimento das propriedades medicinais e de como prepará-lo gastronomicamente, contribui para sua baixa divulgação e consumo (ANPC, 2021).

Os cogumelos que podem ser utilizados na alimentação, como os fungos basidiomicetos, apresentam inúmeros benefícios para a saúde, juntamente com seu papel biotecnológico. Além disso, os cogumelos apresentam vários compostos bioativos, como por exemplo, polissacarídeos, β -glucano, peptídeos e proteínas (GOLAKSIWULSKA, KAŁUZEWICZ, SPIZEWSKI, SIWULSKI, & SOBIERALSKI, 2018). Dessa forma, a partir de vários estudos, tem-se atribuídos aos cogumelos propriedades medicinais, como por exemplo, imunomoduladoras, antígenotóxicas, antioxidantes, anti-inflamatórias, hipocolesterolêmicas, anti-hipertensivas, antiagregantes plaquetárias, anti-hiperglicêmicas, antimicrobianas e antivirais (WASSER SP, 2014).

As espécies do gênero *Pleurotus* e *Flammulina velutipes* apresentam uma grande diversidade quanto à exigência de substrato, pois são importantes degradadores de lignoceluloses. São espécies que depende de tecnologias para um cultivo bem-sucedido. Além disso, os substratos mais utilizados em suas produções são subprodutos agrícolas, como por exemplo, serragem, bagaço de cana e casca de algodão. Desta forma, é importante que qualquer desenvolvimento tecnológico seja validado para diferentes espécies de cogumelos, de forma

que ela seja de ampla aplicação (CHANG, 1989; YANG, 1986; FAN ET AL, 1990; WANG, 1995; ROYSE, 1995).

De acordo com os dados fornecidos pela Associação Brasileira da Indústria da Cerveja, o Brasil é um grande produtor de cerveja, produziu cerca de 14,1 bilhões de litros em 2018 e forneceu cerca de 1.6% do PIB do ano (CERVBRASIL, 2021).

O bagaço de malte é o sobraço do primeiro processo da produção de cerveja. É composto pela casca da cevada maltada, esse subproduto está disponível em grande quantidade e sua produção estende-se pelo ano todo com um custo bem reduzido. Estes subprodutos apresentam de 20% a 30% de proteínas e 70% a 80% de fibras. Além disso, os principais componentes da parte fibrosa, são o rabinosilano, lignina e celulose e apresentam componentes minerais como cálcio, cobalto, cobre, ferro, magnésio, entre outros, vitaminas importantes do complexo B e aminoácidos que estão relacionados a proteínas, como a leucina, valina, alanina, serina (MUSSATTO; DRAGONE; ROBERTO, 2006).

Este trabalho tem como objetivo avaliar o crescimento micelial das variedades de *Pleurotus* e *Flammulina velutipes* utilizando bagaço de malte e serragem como substratos em diferentes níveis.

1.1 Objetivo Geral

Avaliar o crescimento micelial dos cogumelos comestíveis do gênero *Pleurotus* e *Flammulina velutipes* em diferentes níveis de bagaço de malte e serragem.

1.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o crescimento micelial em milímetros por dia de *Pleurotus spp* e *Flammulina velutipes*.
- Verificar qual o melhor nível dos subprodutos de cervejaria é mais apropriado para o cultivo de cogumelos do gênero *Pleurotus* e *Flammulina velutipes*

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Fungos basidiomicetos

Os fungos do filo Basidiomycota são seres eucarióticos. Sua reprodução se dá assexuadamente, sua sobrevivência e dispersão são através de esporos, sua parede é constituída principalmente por quitina. Seu crescimento se diferencia do ciclo de vida de animais e plantas, não é obrigatório seu crescimento, mas é facultativo e está relacionado ao ambiente que ele está presente (ESPOSITO, AZEVEDO, 2010). Exercem um importante papel na ciclagem de nutrientes na natureza, especialmente no ciclo do carbono, pois, conseguem degradar a lignina, que é um dos biopolímeros mais encontrados sobre a Terra. Ajudam a contribuir para a continuidade do ciclo de outros elementos como nitrogênio, fósforo e potássio, agregados aos componentes insolúveis das paredes celulares (CARLIL; WATKINSON, 1996; KRISTENSEN et al., 2012).

Além disso, esses fungos são os principais seres degradadores de materiais lignocelulósicos, entre eles, temos, o de podridão branca que consegue decompor todos os constituintes da madeira, o de podridão parda que conseguem decompor lignina e polissacarídeos. Essa degradação ocorre através da inserção das hifas no lúmen das células vegetais, após essa inserção são produzidos pelas hifas inúmeros metabólitos extracelulares que corroboram para a decomposição da parede celular vegetal (ESPOSITO, AZEVEDO, 2010).

Estima-se que existe por volta de 1,5 milhões de espécies de fungos no mundo, entretanto, somente cerca de 90 mil espécies já foram descritas (ESPOSITO, AZEVEDO, 2010). O Brasil centraliza uma grande quantidade de espécies de acordo com a Figura 1, a seguir (MAIA, 2015).

Os fungos desempenham uma importante função gastronômica, outros são venenosos e outros alucinógenos. Por sua produção de metabólitos secundários, muitos fungos são utilizados em um amplo espectro de áreas, se destacando na farmácia, nutrição, fitopatologia, agricultura, biotecnologia etc. (ESPOSITO, AZEVEDO, 2010).

2.1.1 Fungos do gênero *Pleurotus* e *Flammulina velutipes*

Países do continente asiático, principalmente China, são os mais relevantes produtores (grafico 2) e consumidores de *P. ostreatus*, *P. eryngii* e *F. velutipes* (ROYSE et al. 2017). Em relação a produção mundial de cogumelos comestíveis temos, *F. velutipes* com 11% e *P.*

ostreatus com 19% (gráfico 3). A produção de cogumelos comestíveis no Brasil se concentra nas variedades Shimeji branco e Champignon (gráfico 4) (SANCHEZ, ZIED, ALBERTO 2018).



Figura 1: Número de Fungos Registrados por Região no Brasil. Fonte: (Maia & Carvalho Jr. 2010) e o número atual (2015). Adaptação: Do autor.

P. ostreatus (figura 4) por apresentar um conjunto eficiente de enzimas, consegue utilizar vários resíduos agrícolas (KHAN AND CHAUDHARY, 1987; YALINKILIC et al., 1994). Além disso, apresenta ciclo de cultivo reduzido em relação a outras espécies e a sua produção necessita de um baixo financiamento. Apresenta um conjunto de nutrientes que auxiliam na saúde humana (SÁNCHEZ, 2010). O principal substrato para produção é a madeira, entretanto, seu crescimento também ocorre em outros tipos de substratos agroindustriais (bagaço de cana), substratos agrícolas (Trigo, palha, gramíneas) madeira (eucalipto, carvalho) (MOREIRA et al., 2020).

P. eryngii é reconhecido como o melhor cogumelo da espécie de *Pleurotus*, (figura 3) apresenta um chapéu com textura agradável e principalmente o estipe bem desenvolvido e encorpado que traz característica para o cogumelo, apresenta aspectos culinários importantes como sabor e vida útil elevada (MOONMOON et al. 2010). Apresenta um conjunto de nutriente

que são importantes na promoção da saúde e possuem propriedades medicinais (WANG et al. 2001). Substratos, como palha de trigo e arroz, resíduos de algodão e serragem são amplamente utilizados em sua produção (JISKANI, 1999).

Podendo ser conhecido como cogumelo do inverno ou Enokitake, *Flammulina filiformis* antes era conhecida como *Flammulina velutipes* (Figura 2), é a espécie mais significativa de *Flammulina* que ganhou uma relevância considerável, principalmente no Leste Asiático (HUGHES et al.1999). O Enokitake é consumido como uma iguaria, se destacando pelo aroma e textura. Além disso, fornece nutrientes bastante importante para a saúde humana, como proteína, carboidratos minerais, vitaminas, ácidos graxos insaturados e fibras (REIS et al., 2012). Substratos lignocelulósicos com características básicas, como a serragem, sem a presença de outro suplemento, o cogumelo consegue crescer com eficiência (REZAEIAN E POURIANFAR, 2017).

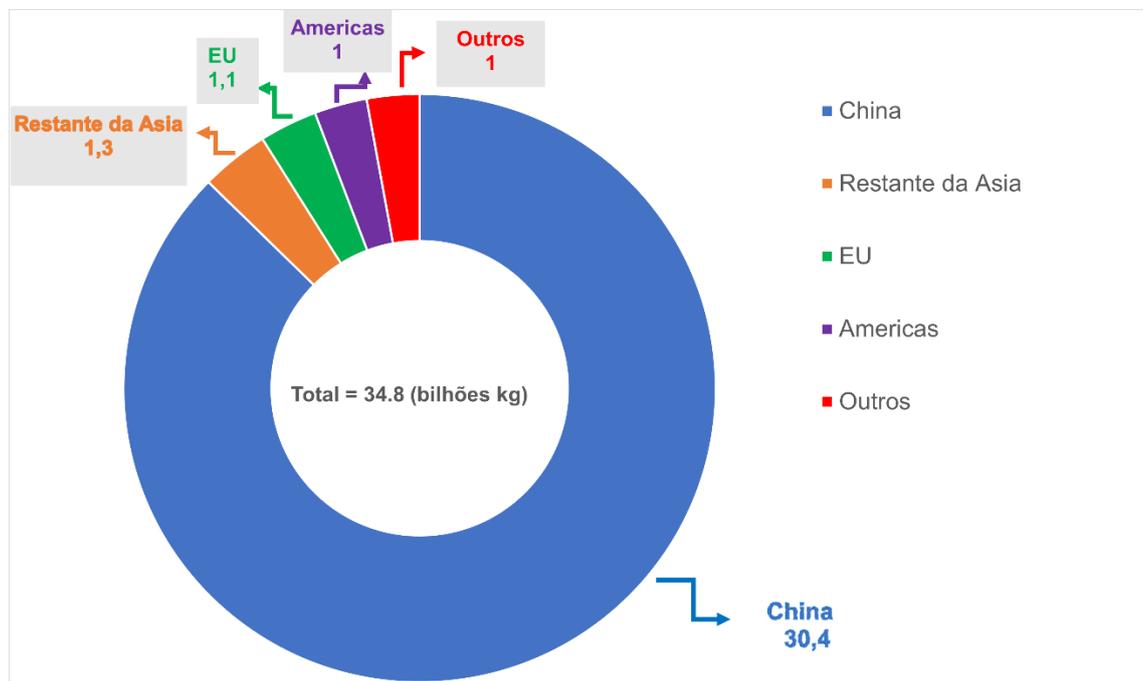


Gráfico 1: Produção de cogumelo na China e em outras regiões do mundo. Fonte: Royse et al. 2017. Adaptação: Do autor.

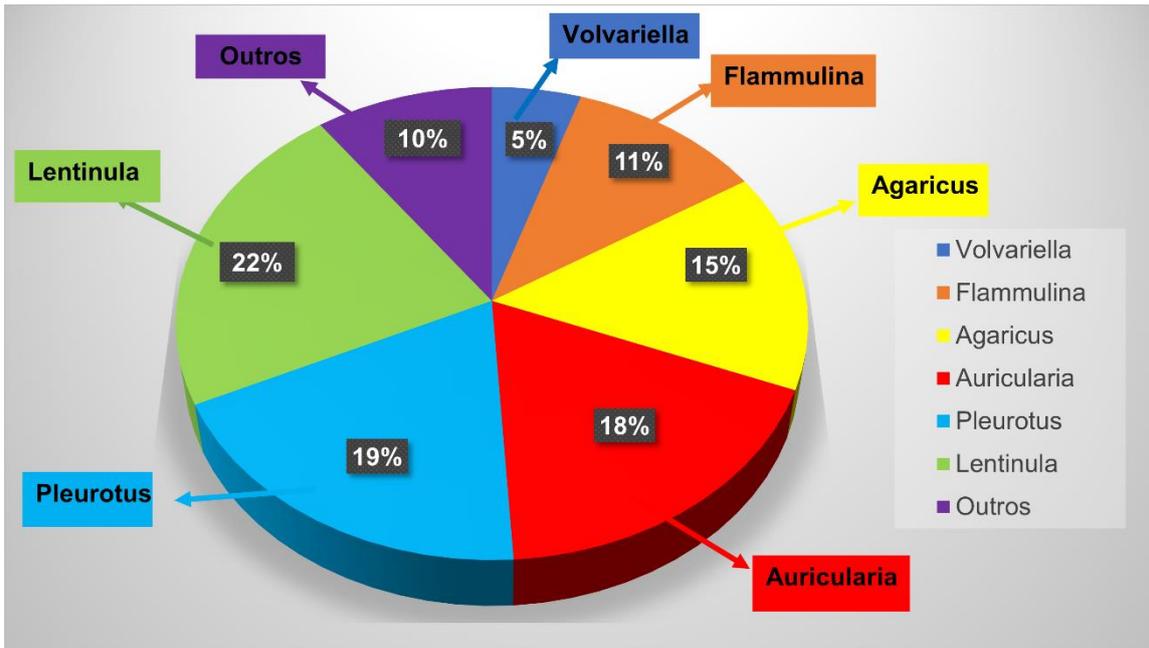


Gráfico 2: Cogumelos comestíveis mais produzidos no mundo. Fonte: Royse et al. 2017.

Adaptação: Do autor.

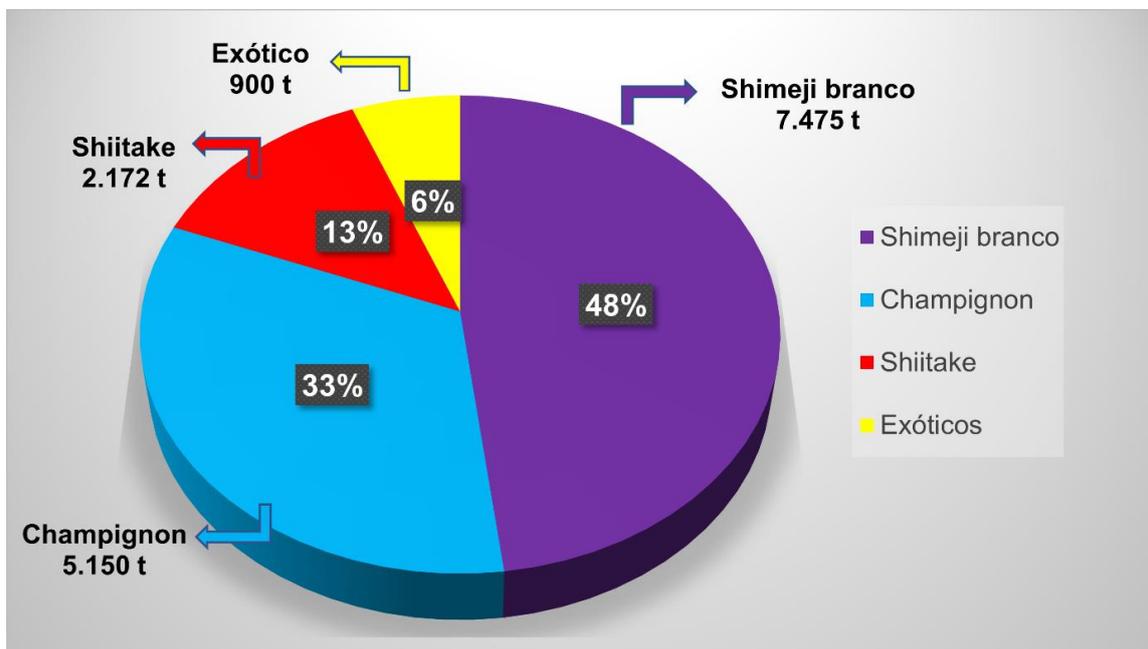


Gráfico 3: Produção de cogumelo comestíveis no Brasil. Fonte: Sanchez, Zied, Alberto (ICMBMP 2018). Adaptação: Do autor.



Figura 2: Enokitake crescendo em pote de vidro. Fonte: do autor.



Figura 3: Eryngii crescendo em pote de vidro. Fonte: do autor.



Figura 4: *P. ostreatus* crescendo em pote de vidro. Fonte: do autor.

2.2 Cerveja

A cerveja começa sua história no Brasil com a vinda da família real portuguesa em 1808 e com a mudança para o Brasil colônia. A legislação válida no Brasil estabelece que essa bebida é resultado da fermentação alcoólica do mosto que é proveniente de malte de cevada em conjunto com a água potável, com a atividade de leveduras e pelo acréscimo de lúpulo (MEGA,

2011). Além disso, pode-se mudar uma porcentagem do malte por outros componentes, seja eles, cereais maltados ou não (cevada, arroz, trigo, centeio, milho) (SLEIMAN, MURIS et al., 2010). De acordo com os dados fornecidos pela Associação Brasileira da Indústria da Cerveja, o Brasil é um grande produtor de cerveja, produziu cerca de 14,1 bilhões de litros em 2018 e forneceu cerca de 1.6% do PIB do ano (CERVBRASIL, 2021). O processo que envolve a produção da cerveja está relacionado a moagem do malte, mosturação, fervura, fermentação e maturação (P. B. SIQUEIRA et al., 2009).

2.2.1 Etapas do processo de produção

Na moagem do malte, precisa-se que o grão de malte seja quebrado e moído para que seja exposto o amido que é o seu conteúdo interno (ASANTE, 2008). A mosturação é uma das etapas mais importantes na produção da cerveja, pois, após a moagem, será acrescentada água e posteriormente aquecida a uma temperatura ideal para que as enzimas contidas no malte α -amilase e β -amilase sejam ativadas e que o malte possa sofrer hidrólise, assim, ocorrendo a degradação enzimática do amido em açúcares (KROTTENHALER et al., 2009; KUNZE, 2010). No processo de filtração e clarificação temos a separação dos produtos solúveis dos insolúveis (bagaço e resíduos dos processos), por fim, é necessário que o mosto fique circulando até que fique com um aspecto límpido. A fervura traz um papel importante, pois é nessa etapa que é adicionado o lúpulo, que traz o amargor, sabor e aroma para a cerveja, inativação das enzimas presentes na mosturação, sanitização e eliminação de microrganismos e compostos voláteis indesejáveis (KROTTENHALER et al., 2009). Na fermentação, temos a utilização dos açúcares que foram transformados pela ação das enzimas na quebra do amido pelas leveduras que irá produzir CO₂, álcool, ésteres fenóis e compostos que produzem aroma e sabor (STEWART, 2000). Na etapa da maturação é quando a cerveja irá ficar em descanso por um determinado período em uma temperatura mais baixa, entorno de 0° a 2°, pois, contribui para que a cerveja apresente características mais límpidas e aprimoramento de sabor (MARTINEZ, 2004; LIMA; FILHO, 2011).

2.2.2 Subprodutos da cervejaria

O bagaço de malte é o sobrado do primeiro processo da produção de cerveja, sendo composto pela casca da cevada maltada (AQUARONE, E. et al 2001). Esse subproduto é

disponibilizado úmido e está relacionado a 85% de todo o subproduto produzido no processo de produção da cerveja (MUSSATTO et al.2008). A cada 100 litros de cerveja produzidos, temos 20 kg de bagaço de malte com a umidade variando de 70% a 80% (KUNZE, 2014). O *trub* quente e formado na etapa de fervura do mosto, está presente resíduos insolúveis do lúpulo e proteínas de elevada massa molar (FĂRCAȘ, et al 2017) (BRIGGS et al., 2004) e pode formar cerca de 0,2 e 0,4 kg de *trub* úmido, com a umidade variando 80 a 90% para cada 100 litros de cerveja produzida (Briggs *et al.*, 2004). O subproduto proveniente das leveduras utilizadas na etapa de fermentação, gera uma quantidade de subproduto em torno de 1,5 e 3 kg com a umidade variando de 85% a 90% para cada 100 L de cerveja produzida (FERREIRA *et al.*, 2010)

2.2.2.1 Bagaço de malte

É obtido no processo de mosturação, no fim desse processo, o subproduto sólido que ficam após a filtragem é o Bagaço de Malte úmido, além disso, é um subproduto utilizado para elaboração de ração animal (AQUARONE, 2001). Por ser o subproduto mais importante na produção de cerveja, pode ser encontrado pelo ano todo em quantidades consideráveis e pelo custo reduzido (MUSSATTO;DRAGONE; ROBERTO, 2006). E um subproduto lignocelulósicos, apresenta 35% de hemicelulose, 20% de celulose, 10% de lignina e 10% de gorduras (REINOLD, 1997). A quantidade de proteína pode variar de e 9,66 a 11,42% (FUKE, 2007). A composição centesimal da Farinha de Bagaço de malte foi de acordo com a tabela 1. (MELO, A. A., et al 2016).

Frações	Farinha do bagaço (%)
Teor de água	10,27 ± 0,21
Cinzas	3,37 ± 0,14
Lipídios	3,08 ± 0,01
Proteína	10,49 ± 0,29
Carboidratos*	72,79 ± 0,03
SST	2,02 ± 0,28
pH	5,86 ± 0,04

Tabela 1: Composição centesimal da farinha bagaço de malte. Fonte: Melo, A. A., Manfio, M., & Rosa, C. S. (2016). Adaptação: Do autor.

2.3 Delineamento composto central rotacional

O DCCR é uma otimização do experimento que será realizado, minimizando os processos a serem executados e principalmente o custo e o tempo. Sua metodologia utiliza um conjunto de métodos estatístico e matemáticos para que seja calculado as relações entre uma ou mais resposta, de acordo com o que quer ser observado (BARROS NETO et al., 1996). Além disso, a metodologia utilizada pelo DCCR, contribui no aumento de sua confiabilidade quando se obtêm os resultados é também quando se quer avaliar o efeito com uma menor quantidade de variáveis significativas (GEORGE, E. P. et al. 2005).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção das linhagens de cogumelos comestíveis

As linhagens utilizadas para o presente experimento foram obtidas da Coleção de Culturas pertencente ao Laboratório de Cogumelos Comestíveis, do Departamento de Biologia, Setor de Microbiologia Agrícola da Universidade Federal De Lavras (UFLA).

3.2 Reativação dos cogumelos comestíveis para a preparação da matriz de inoculação

3.2.1 Reativação das linhagens

A linhagens utilizadas no experimento foram crescidas em meio BDA (15g de ágar, 15g de dextrose e 200g de batata cozida, para 1L de meio) e repicadas em placas de petri na câmara de fluxo laminar e incubadas em BOD com temperatura de 25°C por 7 dias.

3.2.2 Preparo da matriz de inoculação (sementes)

Para a preparação do inoculante (*spawn*), utilizou-se grãos de trigo, suplementados com calcário a 2%. Os grãos de trigo foram pré-cozidos por 30 minutos, drenados e, após o resfriamento, foram misturados com o calcário. A mistura foi acondicionada em frascos de vidro (300g/frasco), os quais foram autoclavados a 121 °C por 2 horas. O processo de autoclavagem foi repetido após um intervalo de 24h. Após a segunda autoclavagem e

resfriamento em temperatura ambiente, foi colocado na câmara fria com temperatura variando de 6 a 8 °C, para que seja inoculado no dia seguinte as linhagens crescidas no BDA na matriz de inoculação.

3.2.3 Inoculação das linhagens na matriz de inoculação

Foram retiradas da câmara fria a matriz de inoculação, esperando ficar em temperatura ambiente. Em seguida na câmara de fluxo laminar cada frasco de vidro recebeu o micélio do fungo crescido em BDA. Posteriormente o frasco foram colocados em uma sala com temperatura ambiente 20-25 °C até a completa colonização do substrato (20 a 30 dias). Sempre observando a cada 2,3 dias se não houve contaminação.

3.3 Obtenção do bagaço de malte

O bagaço de malte úmido após a etapa de filtragem, foi cedido pela empresa Cervejaria Joia Mesquita, localizada no estado de Minas Gerais, na cidade de Lavras-MG

3.4 Preparo do substrato de cultivo

O bagaço de malte úmido foi obtido no mesmo dia de fabricação da cerveja do tipo Pilsen. Após a coleta, foram colocados em prateleiras de ferro (Figura 4). Posteriormente, o Bagaço foi colocado em Estufa a 60 °C com ventilação forçada (Figura 5). Para a secagem total do subproduto, foi revirado 1 vez por dia, passando a parte úmida para cima, a parte seca para baixo e homogeneizando com a parte seca durante 3 dias. Após a secagem completa (figura 6), foi pesado a quantidade de Bagaço seco e posteriormente colocada em câmara fria com temperatura variando de 6-9 graus para o melhor armazenamento e que não adquira umidade.



Figura 5: Bagaço de malte na prateleira. Fonte: do Autor.



Figura 6: Bagaço de malte na estufa. Fonte: do Autor.



Figura 7: Bagaço de malte seco. Fonte: do autor.

3.5 Delineamento composto central rotacional

O experimento foi realizado a partir do delineamento gerado pelo programa Design Expert 13. Todos os níveis utilizados no experimento foram obtidos a partir de limites mínimo e máximo de inclusão do bagaço de malte, respeitando a exigência da quantidade de nitrogênio que as espécies necessitam.

3.6 Montagem do experimento

3.6.1 Formulação dos substratos

Na tabela 2 estão disponíveis os níveis de bagaço de malte e serragem, de acordo com os níveis gerados pelo delineamento experimental.

3.6.2 Preparo dos potes

Na Preparação dos Potes, foram selecionados 33 potes de vidros, para as 3 variedades de cogumelos comestíveis utilizado no trabalho. Foram divididos em 11 RUNS conforme o delineamento experimental. Em cada pote foram colocados 300g da formulação equivalente ao seu RUN e posteriormente compactados. Os potes foram fechados com papel filtro qualitativo,

elástico e com uma cobertura de papel alumínio. Foram autoclavados a 121°C por 2 h. O processo de autoclavagem foi repetido após um intervalo de 24h. Após a segunda autoclavagem e resfriamento em temperatura ambiente, foi colocado na câmara fria com temperatura variando de 6 a 8 °C, para que seja inoculado no dia seguindo as linhagens crescidas na matriz de inoculação.

Tabela 2: níveis de bagaço de malte e serragem.

Run	Bagaço de Malte (g)	Serragem (g)	Massa Total
1	30%	70%	800,0
2	7%	93%	800,0
3	12,5%	87,5%	800,0
4	20%	80%	800,0
5	30%	70%	800,0
6	25%	75%	800,0
7	23%	77%	800,0
8	18%	82%	800,0
9	10%	90%	800,0
10	20%	80%	800,0
11	20%	80%	800,0

Legenda: ¹ Cada Run representa uma unidade experimental

3.6.3 Inoculação das linhagens de cogumelos comestíveis

A matriz de inoculação produzida no item 3.2.3 foi inoculada nos potes em câmara de fluxo laminar na quantidade proporcional a, aproximadamente, 2% da massa de substrato por pote.

3.7 Avaliação do crescimento e fechamento micelial dos potes

Após o início do crescimento, foi feita a primeira marcação dos 11 runs de cada variedade de cogumelo. No final dos 7 dias corridos foi feita a segunda marcação. No fim da segunda marcação, foi feita a medida em mm de 4 regiões do pote com a utilização do equipamento Paquímetro para que seja feito uma média, essa média será utilizada no programa Design Expert 13, sendo possível avaliar o crescimento micelial de cada run. Além disso, após o fechamento total de cada pote, foi anotado o dia e o mês para se ter a estimativa em dias. A fórmula utilizada para a obtenção do crescimento micelial é a seguinte:

$$\text{Crescimento micelial em mm/dia} = \frac{\text{Medição nos potes em cm totais}}{\text{número de dias}}$$

3.8 Indução a frutificação e colheita

Antes do total fechamento dos potes, foi feita a escarificação, retirada da matriz de inoculação (sementes) na parte superior do pote para evitar a contaminação. Os potes dos 11 runs de cada variedade, depois de colonizados, foram retirados da sala e colocados aleatoriamente em casa de cultivo com umidade relativa do ar variando de 70% a 85% e temperatura variando de 18 a 20 °C.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Crescimento micelial

4.1.1 *P. ostreatus shimeji* preto

Na Tabela 4, temos os resultados apresentados da análise da maximização do crescimento micelial independente dos outros fatores presentes. O programa Design Expert apresentou 8 soluções possíveis para maximizar o crescimento, entretanto, podemos observar que mesmo alterando a proporção de bagaço e serragem, a variação do crescimento foi pequena. Na Solução 1 da Tabela 4, tivemos o maior crescimento de 32,76 mm (28,87%) em 7 dias. De acordo com a Tabela 3, esse crescimento teve as maiores concentrações de bagaço e serragem estipuladas pela matriz de planejamento. O crescimento micelial até o completo fechamento pode variar de acordo com o substrato utilizado, seja ele puro ou enriquecido (DIAS, et al. 2003). No Gráfico 5, podemos observar as soluções apontadas pelo programa, mesmo fixando o valor da serragem na quantidade máxima estipulada pela tabela 5 e independentemente da quantidade de bagaço de malte, resulta no maior crescimento micelial.

Tabela 3: Matriz de planejamento

Tratamentos	-1,41	-1	0	1	1,41
Bagaço de Malte (%)	5,9	10	20	30	34,1
Serragem (kg)	65,9	70	80	90	94,1

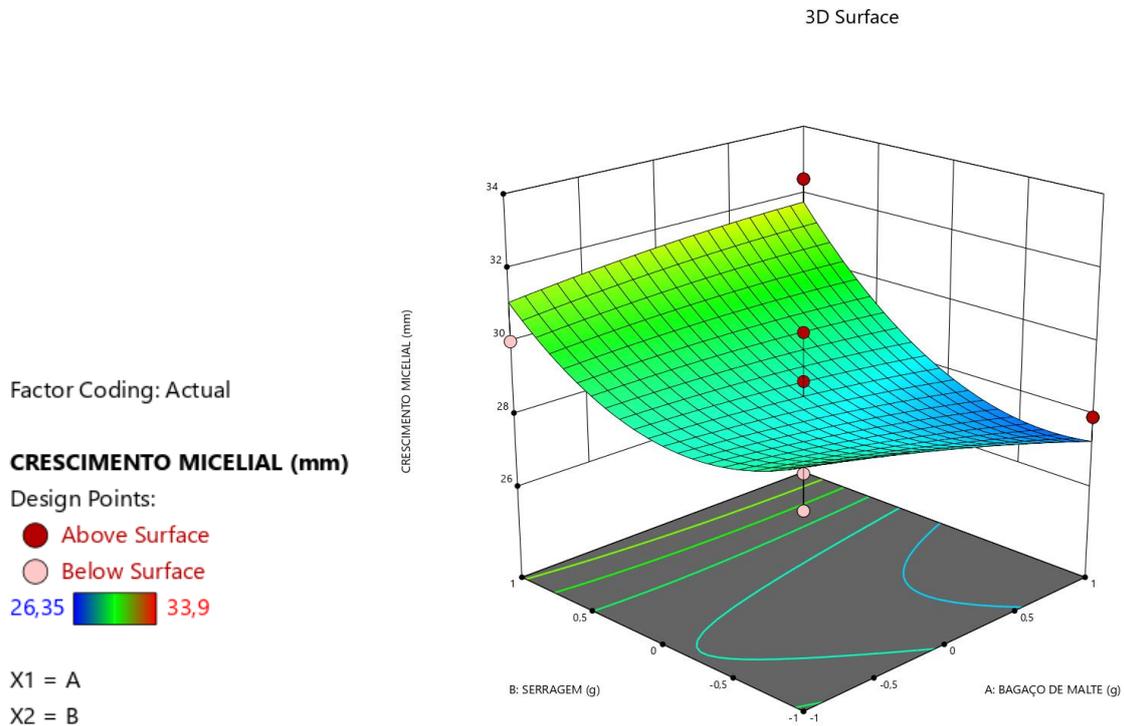
Tabela 4: Soluções encontradas para a maximização do crescimento micelial de acordo com a quantidade de bagaço de malte

Soluções	Bagaço de malte	Serragem	Crescimento micelial	Produção	Desejabilidade
1*	1,000	1,000	31,762	6,491	0,717
2	0,989	1,000	31,762	6,398	0,717
3	-0,652	1,000	31,300	4,986	0,656
4	-0,667	1,000	31,293	5,089	0,655
5	-0,887	1,000	31,179	6,902	0,640
6	-1,000	-1,000	29,575	7,259	0,427

*A solução que obteve o maior crescimento micelial.

4.1.2 *P. eryngii*

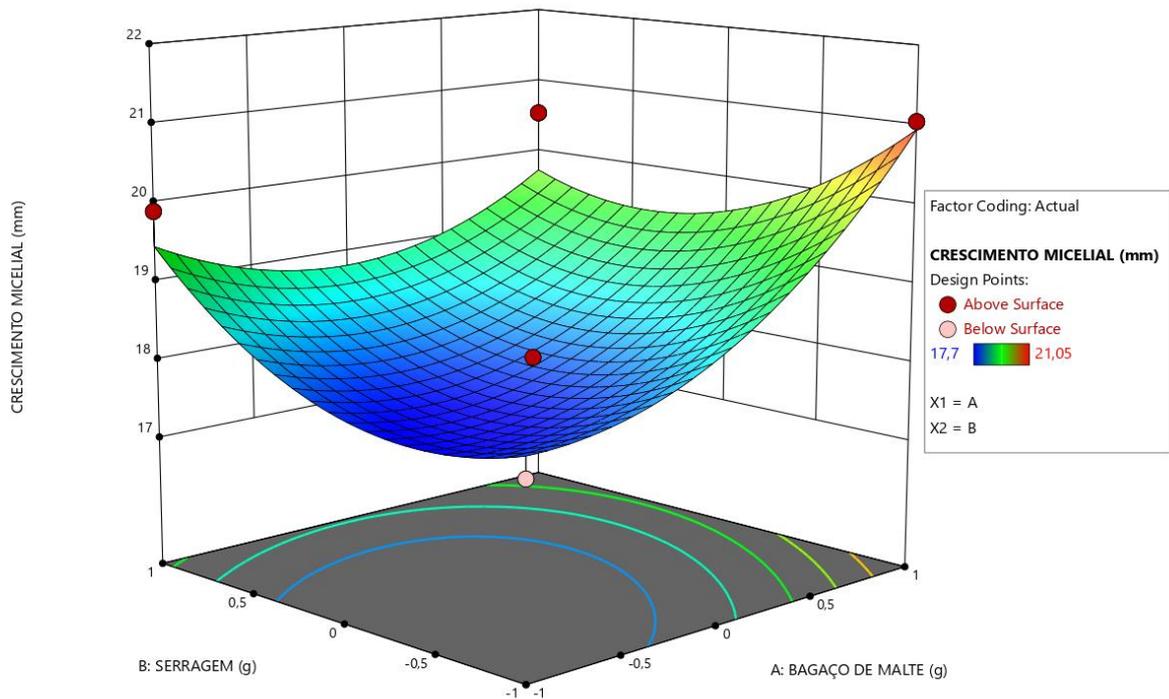
Na Tabela 5, temos os resultados apresentado da análise da maximização do crescimento micelial independente dos outros fatores presentes. O programa Design Expert apresentou 9 soluções possíveis para maximizar o crescimento, entretanto, podemos observar que mesmo alterando a proporção de bagaço e serragem, a variação do crescimento foi pequena. Na solução 1 da Tabela 5, tivemos o maior crescimento de 20,94 mm (19,03%) em 7 dias. De acordo com a Tabela 3, esse crescimento teve a maior concentração de bagaço e a menor concentração de serragem estipuladas pela matriz de planejamento. A quantidade de nitrogênio disponível interfere na colonização do substrato, entretanto, os cogumelos *Pleurotus* consegue crescer bem em substratos com pouco teor de nitrogênio (SILVA, E. G., et al 2020). No Gráfico 6, é possível observar que o crescimento micelial está maximizado na maior concentração de bagaço e na menor concentração de serragem. Além disso, podemos observar também um maior crescimento quando se tem a proporção máxima de bagaço e serragem.

Gráfico 5: superfícies de resposta para o crescimento micelial.**Tabela 5:** Soluções encontradas para a maximização do crescimento micelial de acordo com a

Soluções	Bagaço de malte	Serragem	Crescimento micelial	Produção	Desejabilidade
1*	1,000	-1,000	20,947	18,222	0,969
2	1,000	-0,984	20,912	18,191	0,959
3	0,988	-1,000	20,911	18,151	0,958
4	0,977	-1,000	20,877	18,083	0,948
5	1,000	1,000	19,739	14,273	0,609
6	1,000	0,984	19,723	14,304	0,604
7	1,000	0,972	19,710	14,329	0,600
8	1,000	0,597	19,455	15,068	0,524
9	-1,000	1,000	19,453	2,323	0,523

*A solução que obteve o maior crescimento micelial.

Gráfico 6: superfícies de resposta para o crescimento micelial.



4.1.3 *F. velutipes*

Na tabela 6, temos os resultados apresentado da análise da maximização do crescimento micelial independente dos outros fatores presentes. O programa Design Expert apresentou 16 soluções possíveis para maximizar o crescimento, entretanto, podemos observar que mesmo fixando a porcentagem de bagaço de malte e variando a quantidade de serragem, a diferença do crescimento micelial foi pequena. Na solução 1 da Tabela 6, tivemos o maior crescimento de 19,28 mm (17,52%) em 7 dias. De acordo com a Tabela 3, esse crescimento teve a menor concentração de bagaço e a concentração de serragem foi variando de acordo com a matriz de planejamento. Substratos lignocelulósicos com características básicas, como a serragem, sem a presença de outro suplemento, o cogumelo consegue crescer com eficiência (REZAEIAN AND POURIANFAR, 2017). No Gráfico 7 é possível observar que nas menores concentrações do bagaço de malte e na variação da quantidade de serragem, iremos ter os maiores crescimentos. Além disso, também é possível obter um bom crescimento com a porcentagem máxima de bagaço de malte e variando a quantidade de serragem.

Tabela 6: Soluções encontradas para a maximização do crescimento micelial de acordo com a quantidade de bagaço de malte

Soluções	Bagaço de malte	Serragem	Crescimento micelial	Desejabilidade
1*	-1,000	0,151	19,286	0,727
2	-1,000	0,160	19,286	0,727
3	-1,000	0,183	19,285	0,727
4	-1,000	0,203	19,283	0,726
5	-1,000	0,234	19,278	0,726
6	-1,000	0,263	19,270	0,725
7	-1,000	0,036	19,269	0,725
8	-1,000	-0,054	19,233	0,721
9	-1,000	0,376	19,223	0,719
10	-1,000	-0,115	19,196	0,716
11	-1,000	0,445	19,177	0,714
12	1,000	0,270	17,339	0,502
13	1,000	0,278	17,339	0,502
14	1,000	0,257	17,339	0,502
15	1,000	0,234	17,338	0,501
16	1,000	0,211	17,335	0,501

*A solução que obteve o maior crescimento micelial.

4.2 Produtividade

4.2.1 *P. ostreatus* e *P. eryngii*

Na Tabela 7 e Tabela 8 temos os resultados apresentados da análise da maximização da produção independente dos outros fatores presentes. O programa Design Expert apresentou 6 soluções possíveis para maximizar a produção do cogumelo *P. ostreatus* shimeji preto e 9 soluções para a variedade *P. eryngii*. A expectativa de produção média de *pleurotus* é de 20% do volume total do substrato, foi utilizado amostra de 300g. Na solução 1 da Tabela 7, tivemos a maior produção de 17,73g (29%). Na solução 1 da Tabela 8, tivemos a maior produção de

18,22g (30,36%). A produtividade também está relacionada com a quantidade de nitrogênio presente no substrato, concentrações como 0,65; 0,85; e 1,30% de nitrogênio é indicado para tenha uma produção de qualidade (SILVA, E. G., et al 2020). No trabalho, para o cálculo de teor de nitrogênio, foi utilizado a composição centesimal do bagaço de malte de Hough apud Venturini (2000). O teor de nitrogênio foi calculado pela Metodologia Kjeldahl para determinação de Nitrogênio Total presente no trabalho Galvani e Gaertner, (2006). Foram utilizadas concentrações de 10, 20 e 30% de bagaço de malte com teor de nitrogênio 0,36, 0,72 e 1,08% respectivamente. De acordo com o Gráfico 8, podemos observar que a maior produtividade está relacionada na maior concentração de bagaço de malte e menor de serragem, mas ocorrendo uma menor produtividade em baixas concentrações de bagaço. O Gráfico 9 mostra o mesmo resultado, mostrando um crescimento linear, quanto maior a concentração de bagaço de malte maior será a produtividade. De acordo com Zadrazil e Brunnert, (1979) a adição de nitrogênio pode aumentar a produtividade, mas até um certo nível, altas concentrações de nitrogênio pode acarretar a inibição do seu crescimento.

Gráfico 7: superfícies de resposta para o crescimento micelial.

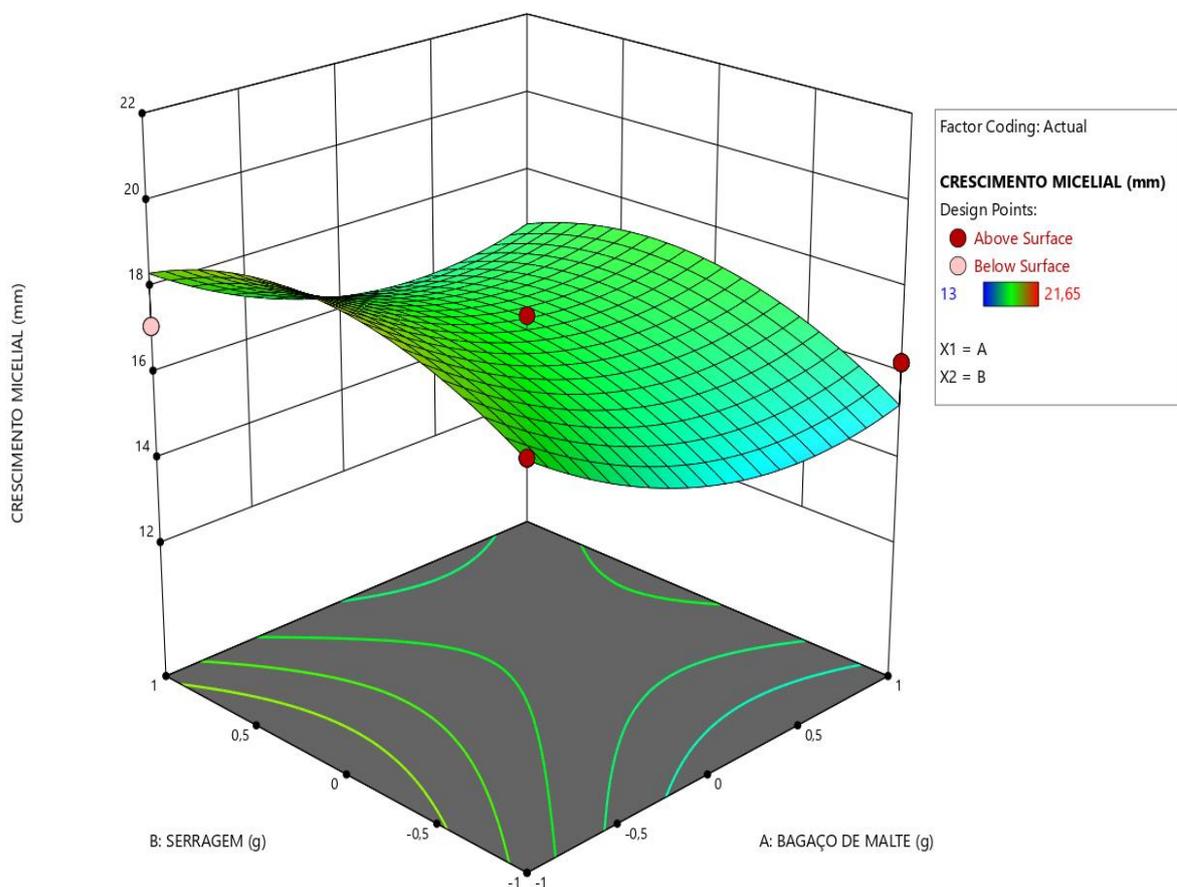


Tabela 7: Soluções encontradas para a maximização da produção do *P. ostreatus* shimeji preto de acordo com a quantidade de bagaço de malte

Soluções	Bagaço de malte	Serragem	Crescimento micelial	Produção	Desejabilidade
1*	1,000	-1,000	27,272	17,734	0,844
2	1,000	-0,821	27,177	17,031	0,811
3	-1,000	0,203	29,040	8,613	0,410
4	-1,000	0,212	29,052	8,613	0,410
5	-1,000	0,220	29,064	8,613	0,410
6	-1,000	0,302	29,192	8,604	0,410

*A solução que obteve a maior produtividade.

Tabela 8: Soluções encontradas para a maximização da produção do *P. eryngii* de acordo com a quantidade de bagaço de malte.

Solução	Bagaço de malte	Serragem	Crescimento micelial	Produção	Desejabilidade
1*	1,000	-1,000	20,947	18,222	0,959
2	1,000	-0,988	20,920	18,199	0,958
3	0,989	-1,000	20,914	18,157	0,956
4	1,000	-0,881	20,691	17,987	0,947
5	0,924	-1,000	20,721	17,769	0,935
6	1,000	-0,667	20,290	17,564	0,924
7	1,000	0,430	19,414	15,399	0,810
8	1,000	0,515	19,429	15,230	0,802
9	1,000	0,579	19,448	15,104	0,795

*A solução que obteve a maior produtividade.

Gráfico 8: superfícies de resposta para a produção do *P. ostreatus* shimeji preto.

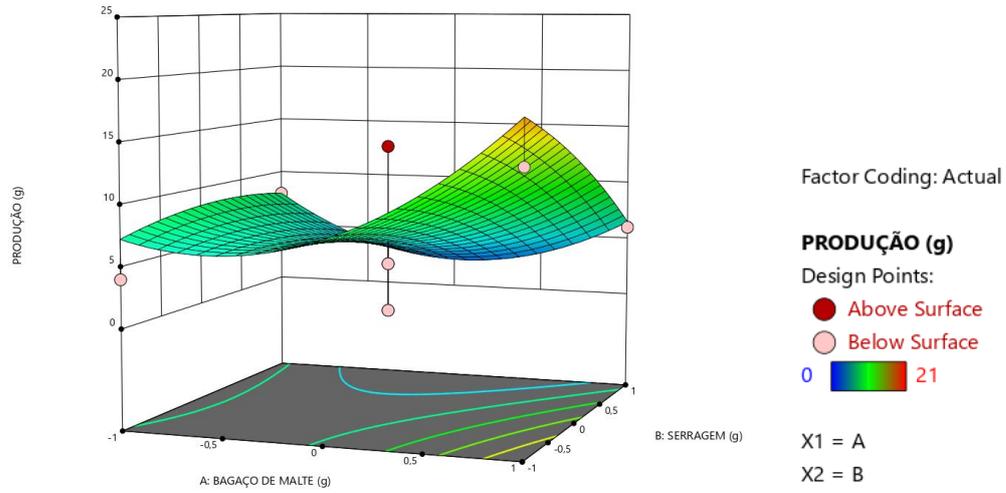
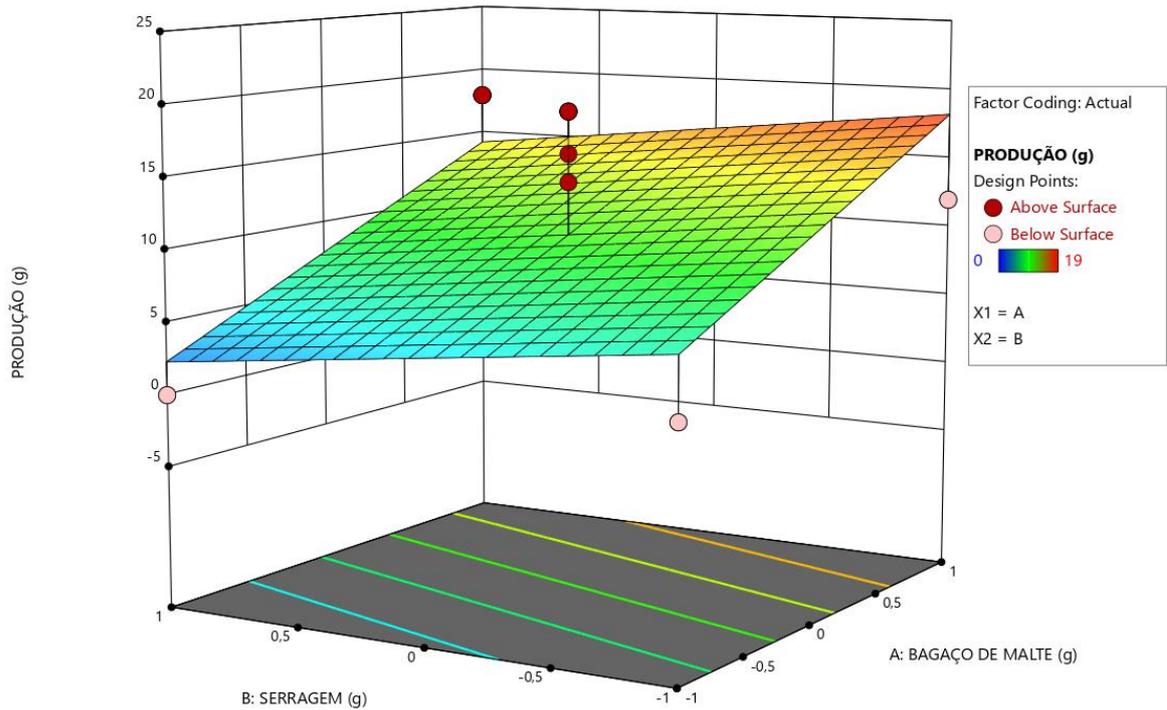


Gráfico 9: superfícies de resposta para a produção do *P. eryngii*.



5 CONCLUSÃO

Com esses resultados, conclui-se que o bagaço de malte pode ser utilizado para a produção de diversas espécies de cogumelos comestíveis. No entanto, é necessário que, outros estudos simulando a produção real em blocos sejam feitos utilizando as melhores concentrações descobertas neste estudo.

6 REFERÊNCIAS

- AQUARONE, E. et al. *Biotecnologia industrial*. São Paulo: Editora Blücher Ltda, 2001. v. 4.
- ASANTE, P. K. Suitability of cassava starch as adjunct substitute for barley in the brewing of beer (stout beer). 2008. 102 f. Master of Science - Department of Biochemistry, Kwame Nkrumah university of science and technology, Kumasi, 2008. 57 p.
- Associação Nacional dos Produtores de Cogumelos. Disponível em: <<https://www.anpccogumelos.org/cogumelos>>
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. Planejamento e otimização de experimentos. Campinas: Editora Unicamp, 1996
- BRIGGS, D. E.; BOULTON, C. A.; BROOKES, P. A.; STEVENS, R. *Brewing Science and Practice*. Flórida: CRC Press LLC and Woodhead Publishing Limited, 2004. 863p.
- CARLILE, M. J.; WATKINSON, S. C. Fungi and biotechnology. **The Fungi**, p. 253-264, 1996.
- CERVBRASIL, “Dados do setor”, Disponível em: <http://www.cervbrasil.org.br/novo_site/dados-do-setor/>. Acesso em: 4 de setembro de 2021
- MOREIRA, B. R.A. et al. (2020). Production of *Pleurotus ostreatus* var. Florida on briquettes and recycling its spent substrate as briquettes for fuel grade biosolids. *Journal of Cleaner Production*, 274, 123919. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.123919>>
- DIAS, Eustáquio Souza et al. Cultivo do cogumelo *Pleurotus sajor-caju* em diferentes resíduos agrícolas. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 6, p. 1363-1369, 2003. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1413-70542003000600022>>
- ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J.L. **Fungos: Uma introdução á biologia, bioquímica e biotecnologia**. 2ª edição; Caxias do Sul: EDUCS. 2010.

FAN, L. F.; ODING, C. K. Handbook of Mushroom Cultivation. **Jiangxi Science and Technology Publishing House, Jiangxi, PR China, 1990.**

FAO. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Geneva, 2003. v.1, 312p. Disponível em: <<http://health.euroafrica.org/books/dietnutritionwho.pdf>>

FĂRCAȘ, A.C. et al. Exploitation of brewing industry wastes to produce functional ingredients. **Brewing technology**, 2017.

FERREIRA, M.P.L.V.O. et al. Brewer's *Saccharomyces* yeast biomass: characteristics and potential applications. *Trends Food Sci. Technol.*, v. 21, p. 77-84, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.10.008>>

FUKE, G. Uso de grãos de cevada: caracterização bromatológica de cultivares e resposta biológica de ratos em crescimento. 2007. 75f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

GALVANI, F.; GAERTNER, E. Adequação da metodologia Kjeldahl para determinação de nitrogênio total e proteína bruta. **Embrapa Pantanal-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2006.

GEORGE, E. P. et al. **Statistics for experimenters: Design, innovation, and discovery**. New York, NY, USA: Wiley, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170527>>

GOLAK-SIWULSKA, I. et al. (2018). Bioactive compounds and medicinal properties of Oyster mushrooms (*Pleurotus* sp.). *Folia Horticulturae*, 30(2), 191–201. Disponível em: <<https://doi.org/10.2478/fhort-2018-0012>>

HUGHES KW et al. (1999) Patterns of geographic speciation in the genus *Flammulina* based on sequences of the ribosomal ITS1-5.8 S-ITS2 area. *Mycologia* 1:978–986. Disponível em: <<https://doi.org/10.2307/3761628>>

JISKANI, M. M. A brief outline “The Fungi” (cultivation of mushrooms). **Izhar Pub. Tandojam, Pakistan**, v. 94, 1999.

KHAN, S.M., CHAUDHARY, I.A., 1987. Some studies on oyster mushroom (*Pleurotus* spp.) on the waste material of corn industry in Pakistan. In: *Mushroom Science XII (Part II) Proceedings of the Twelfth International Congress on the Science and Cultivation of Edible Fungi*, Braunschweig, Germany.

KRISTENSEN, H. L. et al. Increase of vitamin D2 by UV-B exposure during the growth phase of white button mushroom (*Agaricus bisporus*). **Food & nutrition research**, v. 56, n. 1, p. 7114, 2012.

KROTTENHALER, M; WERNER B; ZARNKOW M, Bernd. In: *ESSLINGER, Hans Michael Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets*. wileyVCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2009. p. 147-164.

KUNZE, W. **Technology Brewing and Malting**. 5. ed. Berlin: VLB Berlin, 2014.

LIMA, L. L. A.; FILHO, A. B. M. Técnico em alimentos: tecnologia de bebidas. 2011. (Lindemann, 2009.)

MAIA, L.C.. et al. Diversity of Brazilian fungi. **Rodriguésia**, v. 66, p. 1033-1045, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/2175-7860201566407>>

MARTÍNEZ, J. R. El consumo moderado de cerveza en una dieta sana y equilibrada puede reducir el riesgo cardiovascular. *Cerveza e Salud*, v. 162, p. 65-68. 2004.

MEGA, J. F.; NEVES, E.; ANDRADE, C. J. de. A produção de cerveja no Brasil. **Revista Cítno**, v. 1, n. 1, p. 34-42, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.36524/ric.v7i1.936>>

MELO, A. A.; MANFIO, M.; ROSA, C. S. Composição e propriedades tecnológicas da farinha do resíduo da fermentação da cerveja. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 18, n. 1, p. 91-95, 2016.

MOONMOON, M. et al. Cultivation of different strains of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) on saw dust and rice straw in Bangladesh. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 17, n. 4, p. 341-345, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2010.05.004>>

MUSSATO, S.I., DRAGONE, G., TEIXEIRA, J.A., ROBERTO, I.C. Total reuse of brewer's spent grain and biotechnological processes for the production of added-value compounds. *Bioenergy: challenges and opportunities*, 2008. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/1822/8380>>

MUSSATTO, S.I.; DRAGONE, G.; ROBERTO, I.C. **Brewer's spent grain: generation, characteristics and potential applications**. *Journal of Cereal Science*, v. 43, n. 1, p. 1-14, 2006.

MUSSATTO, S.I.; DRAGONE, G.; ROBERTO, I.C. Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential applications. **Journal of cereal science**, v. 43, n. 1, p. 1-14, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2005.06.001>>

REINOLD, M. **Manual Prático de Cervejaria**. 1.ed. São Paulo: Aden, 1997.213p.

REIS, F.S. et al. Chemical composition and nutritional value of the most widely appreciated cultivated mushrooms: an inter-species comparative study. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 2, p. 191-197,2012. Disponível em <<https://doi.org/10.1271/bbb.69.374>>

REZAEIAN, S.; POURIANFAR, H.R. (2017). A comparative study on bioconversion of different agro wastes by wild and cultivated strains of *Flammulina velutipes*. *Waste Biomass Valorization* 8:2631–2642. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12649-016-9698-7>>

ROYSE, D. J. (1995), Specialty mushrooms: cultivation on synthetic substrate in the USA and Japan. *Interdisciplin. Sci. Rev.* 20, 1-10. Disponível em: <<https://doi.org/10.1179/ISR.1995.20.3.205>>

ROYSE, D.J.; BAARS, J.; TAN, Q. Current overview of mushroom production in the world. **Edible and medicinal mushrooms: technology and applications**, p. 5-13, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/9781119149446.ch2>>

SANCHEZ, C., 2010. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 85, 1321–1337. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00253-009-2343-7>>

SÁNCHEZ, J. E.; ZIED, D. C.; ALBERTÓ, E. Edible mushroom production in the Americas. In: **9th International conference on mushroom biology and mushroom products. Shanghai, China.** 2018. p. 2-11.

SILVA, E. G., DIAS, E. S., SIQUEIRA, F. G., & SCHWAN, R. F. (2007). Análise química de corpos de frutificação de *Pleurotus sajor-caju* cultivado em diferentes concentrações de nitrogênio. *Food Science and Technology*, 27, 72-75. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0101-20612007000100013>>

SIQUEIRA, P.B.; BOLINI, H.M.A.; MACEDO, G.A. O processo de fabricação da cerveja e seus efeitos na presença de polifenóis. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 19, n. 4, p. 491-498, 2009.

SLEIMAN, M. et al. Determinação do percentual de malte e adjuntos em cervejas comerciais brasileiras através de análise isotópica. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, p. 163-172, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1413-70542010000100021>>

STEWART, G. G. A brewer's delight. *Chemistry and Industry*. pp. 706-709. Nov. 2000.

VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de cerveja**. Botucatu, São Paulo. Funep. 2000. 84p.

WANG, D; SAKODA, A.; SUZUKI, M. Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beer grain. **Bioresource technology**, v. 78, n. 3, p. 293-300, 2001.

WANG, N. L. (1995), *Edible Fungi Cyclopedia of China*, Agriculture Printing House, Beijing, PR China.

WASSER S. P. (2014). Medicinal mushroom science: Current perspectives, advances, evidences, and challenges. *Biomedical journal*, 37(6), 345–356. Disponível em: <<https://doi.org/10.4103/2319-4170.138318>>

YALINKILIC_, M.K., ALTUN, L., BAYSAL, E., DEMIRCI, Z., 1994. Development of mushroom cultivation techniques in Eastern Black Sea Region of Turkey. Project of the Scientific and Technical Research Council of Turkey (TUBITAK), No TOAG-875, 287 pp.

YANG, X. M. (1986), *Cultivation of Edible Mushroom in China*, Agriculture Printing House, Beijing, PR China, pp. 489-510

ZADRAZIL, F.; BRUNNERT, H. Influence of ammonium nitrate on the growth and decomposition of higher fungi. **Zeitschrift für Pflanzenernähr Bodenkd**, Deerfield Beach, v. 142, n. 3, p. 446-455, 1979.