PODER EXECUTIVO
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
PROGRAMA MULTI-INSTUCIONAL DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

ESTRATÉGIA E INOVAÇÃO NA GESTÃO DE PRODUÇÃO DE COGUMELOS DA BIODIVERSIDADE AMAZÔNICA: AUMENTO DA RENTABILIDADE E MELHORIA DA QUALIDADE NUTRICIONAL

VICTOR DA SILVA ALMEIDA

MANAUS
2025

VICTOR DA SILVA ALMEIDA

ESTRATÉGIA E INOVAÇÃO NA GESTÃO DE PRODUÇÃO DE COGUMELOS DA BIODIVERSIDADE AMAZÔNICA: AUMENTO DA RENTABILIDADE E MELHORIA DA QUALIDADE NUTRICIONAL

Tese apresentada ao Programa Multi-Institucional de Pós Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas, como requisito à obtenção do título de **Doutor em Biotecnologia.**

Orientadora: Dra Maria Francisca Simas Teixeira
Coorientador: Dr. Salomão Rocha Martim

Área de Concentração: Gestão da Inovação da Biotecnologia

MANAUS

2025

Ficha Catalográfica

Elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

A447e Almeida, Victor da Silva
Estratégia e Inovação na Gestão de Produção de Cogumelos da Biodiversidade Amazônica: Aumento da Rentabilidade e Melhoria da Qualidade Nutricional / Victor da Silva Almeida. - 2025.
116 f. : il., color. ; 31 cm.

Orientador(a): Maria Francisca Simas Teixeira.
Coorientador(a): Salomão Rocha Martim.
Tese (doutorado) - Universidade Federal do Amazonas, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Manaus, 2025.

1. Pleorotus albidus. 2. Spent Mushroom Substrate. 3. Cogumelos Comestíveis. 4. Proteases. 5. Biotecnologia. I. Teixeira, Maria Francisca Simas. II. Martim, Salomão Rocha. III. Universidade Federal do Amazonas. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. IV. Título

---

VICTOR DA SILVA ALMEIDA

ESTRATÉGIA E INOVAÇÃO NA GESTÃO DE PRODUÇÃO DE COGUMELOS DA BIODIVERSIDADE AMAZÔNICA: AUMENTO DA RENTABILIDADE E MELHORIA DA QUALIDADE NUTRICIONAL

Tese de Doutorado apresentada ao Programa Multi-Institucional em Biotecnologia – PPGBIOTEC da Universidade Federal do Amazonas – UFAM, como requisito para obtenção do título de **Doutor em Biotecnologia** na área de concentração em **Gestão da Inovação da Biotecnologia.**

Orientadora: Profa. Dra. Maria Francisca Simas Teixeira

Aprovado em 31/03/2025

Banca Examinadora

Prof. Dr. Salomão Rocha Martim – UNINILTON LINS
Coorientador - Presidente da Banca

Profa Dra. Ires Paula de Andrade Miranda – INPA
Membro

Profa. Dra. Roberta Monique da Silva Santos – TJ-AM
Membro

Prof. Dra. Kilma Cristiane Silva Neves - IFAM
Membro

Profa. Dra. Alexandra Priscilla Tregue Costa – CEUNI FAMETRO
Membro

MANAUS – AM
2025

DEDICATÓRIA

À Deus, por me permitir chegar até aqui.

Aos meus Pais, por me ensinarem o caminho a trilhar

À minha esposa Dra Ana Rita Machado por todo o apoio.

Ao amorzinho do papai – Giovanna Almeida *("papai tá estudando")*

AGRADECIMENTOS

A conclusão desta tese de doutorado é fruto de uma jornada que não seria possível sem o apoio e contribuição de muitas pessoas.

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, pela força, saúde e resiliência ao longo dessa caminhada que não foi fácil, mas com toda certeza, foi gratificante.

A minha orientadora, Prof Dra Maria Francisca Simas Teixeira, pela paciência, orientação incansável, e por acreditar no meu potencial mesmo diante das dificuldades. Sua dedicação e expertise foram fundamentais para a conclusão deste trabalho.

Aos membros da banca, pela leitura atenta e pelas contribuições valiosas que enriqueceram esta pesquisa.

Agradeço aos meus colegas de laboratório e amigos da universidade, em especial Elliza, Laynah, Salomão e Tiara, por compartilharem experiências, por estarem presentes nos momentos desafiadores, pelas conversas que aliviaram a pressão e pelo suporte à pesquisa quando necessário.

À minha família, que sempre foi meu porto seguro. Aos meus pais, Francisco Almeida e Célia Almeida, pelo amor, incentivo e por sempre acreditarem nos meus sonhos. A minha irmã, por sua torcida silenciosa, mas constante.

A minha querida esposa Dra Ana Rita Gaia Machado, pelo amor, compreensão, cumplicidade, orientações e revisões do trabalho e por estar ao meu lado em cada etapa desta jornada, celebrando as conquistas e oferecendo conforto nos momentos difíceis, bem como contribuindo na correção desta tese.

Aos amigos, que mesmo distantes fisicamente, foram presentes de outras formas, torcendo por mim e oferecendo palavras de motivação.

À instituição Universidade Federal do Amazonas e a CAPES, pelo apoio financeiro e estrutural que tornaram este trabalho possível.

Por fim, a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste sonho, deixo aqui minha gratidão eterna.

Este trabalho é dedicado a vocês.

A sabedoria é a coisa principal; adquire, pois, a sabedoria; sim, com tudo o que possuis, adquire o conhecimento. Exalta-a, e ela te exaltará; e, abraçando-a tu, ela te honrará. Dará à tua cabeça um diadema de graça e uma coroa de glória te entregará. **Pv. 4: 5-9**

RESUMO

O cultivo de cogumelos comestíveis gera um resíduo rico em nutrientes denominado *Spent Mushroom Substrate* (SMS), cujo descarte inadequado pode causar impactos ambientais. A reutilização desse substrato apresenta-se como alternativa sustentável para a obtenção de biomassa e biomoléculas de interesse biotecnológico. Este estudo investigou o uso do SMS na produção de *Pleurotus albidus* e *P. ostreatoroseus* e na síntese de proteases, além de avaliar o custo do processo. O cultivo foi realizado em substratos compostos por exocarpo de cupuaçu, resíduos do processamento do açaí e farelo de arroz. A fermentação ocorreu em dois ciclos sob condições controladas de temperatura, umidade e iluminação. A reutilização do SMS resultou em alta eficiência biológica, produtividade e composição nutricional dos basidiomas, destacando-se os cultivos ET2 (14,8% de eficiência biológica, 2,3% de produtividade) e ET5 (151 basidiomas, 7,42% de proteínas, 10,39% de cinzas) da produção de *P. albidus*. Na síntese de proteases, *P. albidus* excretou enzimas com atividade significativa em ET2 (144,75 U/mL) e ET5 (461,20 U/mL), apresentando estabilidade entre 30 °C e 40 °C e atividade ótima a 60 °C em pH 5,0 a 6,0, predominantemente cisteíno, aspártico e serina proteases. Já na espécie de *P. ostreatoroseus* não houve desenvolvimento da espécie no cenário e nas condições propostas nesse estudo, por questões relacionadas ao Ph, umidade, relação Carbono e Nitrogênio, pois são estes fatores preponderantes para o bom desenvolvimento do fungo, os quais não foram identificadas nas condições avaliadas. A análise econômica indicou um markup de 1,63 para a produção de 1.000 unidades. Os resultados reforçam o potencial do SMS como substrato sustentável para bioprocessos industriais, contribuindo para a redução de resíduos e agregação de valor à cadeia produtiva de cogumelos.

Palavras-chave: *Pleurotus albidus*, *Spent Mushroom Substrate*, cogumelos comestíveis, proteases, sustentabilidade, biotecnologia.

ABSTRACT

The cultivation of edible mushrooms generates a nutrient-rich residue called Spent Mushroom Substrate (SMS), the improper disposal of which can cause environmental impacts. Reusing this substrate is a sustainable alternative for obtaining biomass and biomolecules of biotechnological interest. This study investigated the use of SMS in the production of Pleurotus albidus and P. ostreatoroseus and in the synthesis of proteases, as well as assessing the economic viability of the process. Cultivation was carried out on substrates consisting of cupuaçu exocarp, açaí processing waste and rice bran. Fermentation took place in two cycles under controlled conditions of temperature, humidity and lighting. The reuse of the SMS resulted in high biological efficiency, productivity and nutritional composition of the basidiomes, with crops ET2 (14.8% biological efficiency, 2.3% productivity) and ET5 (151 basidiomes, 7.42% protein, 10.39% ash) standing out in the production of P. albidus. In protease synthesis, P. albidus excreted enzymes with maximum activity in ET2 (144.75 U/mL) and ET5 (461.20 U/mL), showing stability between 30 °C and 40 °C and optimum activity at 60 °C at pH 5.0 to 6.0, predominantly cysteine, aspartic and serine proteases. The P. ostreatoroseus species did not develop in the scenario and conditions proposed in this study. The economic analysis indicated a markup of 1.63934 for the production of 1,000 units. The results reinforce the potential of SMS as a sustainable substrate for industrial bioprocesses, contributing to waste reduction and adding value to the mushroom production chain.

Keywords: Pleurotus albidus, Spent Mushroom Substrate, edible mushrooms, proteases, sustainability, biotechnology.

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Espécies de *Pleurotus*..... 26

Capítulo I..... 53

Figura 1 – Produção de *P. albidus* em exocarpo de cupuaçu + SMS + farelo de arroz e resíduo do processamento do açaí + SMS..... 60

Capítulo II..... 68

Figura 1 – Espécies de *Pleurotus*..... 73

Figura 2 – Gráfico representando a utilização de enzimas por diversas indústrias..... 75

Figura 3 – (A)Efeito do pH na atividade de proteases. (B) Efeito da temperatura na atividade de proteases de *P.albidus*..... 80

Figura 4 - (C) Efeito da estabilidade do pH na atividade de proteases. (D) Efeito da estabilidade temperatura na atividade de proteases de *P.albidus*..... 81

Capítulo III 90

Figura 1 – Cadeia Produtiva de *P. albidus* 104

INDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Delineamento Experimental para Produção de *P. albidus e P. ostreatoroseus* com reuso do substrato pós cultivo (SMS) em diferentes concentrações..... 41

Capítulo I 60

Tabela 1 – Delineamento Experimental para Produção de *P. albidus e P. ostreatoroseus* com reuso do substrato pós cultivo (SMS) em diferentes concentrações..... 58

Tabela 2 - Valores médios das características e rendimento total de *P. albidus* cultivado no exocarpo do cupuaçu e em resíduos do processamento do açaí..... 60

Tabela 3 - Composição centesimal dos basidiomas de *P. albidus* produzidos na mistura de substrato suporte exocarpo do cupuaçú ou em resíduos do processamento de açaí..... 61

Capítulo II..... 67

Tabela 1 - Delineamento Experimental para produção de *P. albidus* no substrato pós-cultivo (SMS), em diferentes concentrações..... 76

Tabela 2 - Média de atividade quantitativa de proteases de *P. albidus* DPUA 1692 em diferentes concentrações de resíduos lignocelulósicos..... 79

Tabela 3 - Efeito de íons e substâncias inibidoras nas atividades de Proteases produzidas no Açaí e no Cupuaçu..... 82

Capítulo III 90

Tabela 1 - Delineamento Experimental para produção de Pleurotus albidus com uso do substrato pós-cultivo (SMS), em diferentes concentrações..... 99

Tabela 2 – Ativos Biológicos e Processamento.....100

Tabela 3 – Cenário de Simulação.....102

Tabela 4 – Custo Operacional da Produção de *P. albidus* 103

Tabela 5 – Ativo Fixo.....103

Tabela 6 – Insumos 103

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 14
2 JUSTIFICATIVA 18
3 OBJETIVOS 21
3.1 Objetivo Geral 21
3.2 Objetivos Específicos 21
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 23
4.1 Cogumelos Comestíveis 23
4.2 Hierarquia Taxonômica 24
4.3 Valor Nutricional de *Pleurotus* 28
4.4 Enzimas de Microrganismos 30
4.5 Tecnologia da Fermentação em Estado Sólido 32
4.6 Aproveitamento de Resíduos Agroindustriais na produção de Cogumelos 32
4.7 SMS (*Spent Mushroom Substrate*) ou Substrato Pós Cultivo 33
4.8 Bioeconomia 35
4.9 Métodos de Custeio 36
4.10 Mercado mundial de Cogumelos e Enzimas para aplicação biotecnológica 37
5. Metodologia 39
5.1 Localização do Experimento 39
5.2 Cogumelos: crescimento em ágar Glicose, Extrato de Levedura e Peptona 39
5.3 Fermentação no estado sólido 40
5.3.1 Produção de *Pleurotus* ostreatoroseus e *P. albidus* com reaproveitamento do resíduo pós- cultivo. 40
5.3.2 Preparo dos Substratos 40
5.3.2.1 Pré-cultivo dos cogumelos em grãos de trigo 40
5.4 Avalição da Influência do resíduo pós-cultivo na produção de cogumelos comestíveis (*Pleurotus ostreatoroseus e P. albidus*). 40
5.5 Determinação das características físico-químicas dos resíduos agroindustriais e Nutricionais da biomassa de *Pleurotus ostreatoroseus e P. albidus* obtida por fermentação no estado sólido. 42
5.6 Caracterização das Proteases: extração e determinação da atividade enzimática 43

5.7 Determinação da atividade de proteases 43
5.8 Determinação do efeito do pH e da temperatura na atividade e estabilidade da protease 43
5.9 Efeito de inibidores de proteases e íons metálicos na atividade proteolítica 44
5.10 Determinar o valor dos bioprocessos formulados com os resíduos lignocelulósico 44
6. ANALISE ESTATÍSTICA 45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 46
8. RESULTADOS 55
CAPÍTULO 1 56
Produção sustentável e composição nutricional de cogumelo comestível em consórcios de resíduos lignocelulósicos na Amazônia 56
CAPÍTULO 2 56
Potencial do Substrato Pós Cultivo (SMS) de Cogumelo Comestível para a Produção de Proteases de Importância Industrial ..... **Erro! Indicador não definido.**
CAPÍTULO 3 ..... **Erro! Indicador não definido.**
Análise de Custo da Produção de Cogumelo Cosmestível da Biodiversidade Amazônica: Um Estudo de Caso da Produção em Escala Laboratorial ..... **Erro! Indicador não definido.**
Anexos 112

1 INTRODUÇÃO

As últimas décadas foram marcadas pelo crescimento econômico mundial, populacional, aceleração do processo de urbanização, associado ao avanço tecnológico. E implicações ambientais considerando esses fenômenos são de grande importância e devem ser objetos de reflexão não só de comunidades científicas, mas de organismos internacionais, governos e sociedade civil (Faria *et al.*, 2018).

Uma das principais preocupações ambientais está relacionada ao desenvolvimento de tecnologias renováveis, que deverão contribuir para mudança da visão econômica linear baseada em combustíveis fósseis para uma economia capaz de atender as principais demandas ambientais, sociais e econômicas (Mohan *et al*., 2016).

A bioeconomia e a economia circular se apresentam como abordagens essenciais para um desenvolvimento sustentável, promovendo uma relação equilibrada entre crescimento econômico e preservação ambiental, porém, evidenciando que há uma distinção entre ambas (Bastos *et al.*, 2021).

De um lado tem-se a bioeconomia envolvendo o uso de recursos biológicos renováveis para a produção de alimentos, energia e produtos industriais, substituindo o uso de materiais fósseis e não renováveis, enquanto que a economia circular, por sua vez, promove o ciclo contínuo de reuso dos recursos, com foco na reciclagem, reutilização e reparo dos produtos, prolongando sua vida útil (Bastos *et al.* 2021; Maia *et al.* 2021; Barbosa *et al.* 2021).

A economia circular compreendida, portanto, como um modelo econômico tem como estratégia o foco na reutilização eficiente dos recursos, reciclagem e recuperação de materiais após o fim da sua vida útil, promovendo a minimização dos resíduos, com valor a longo prazo em retenção, redução dos recursos primários dentro dos limites da proteção ambiental e dos benefícios socioeconômicos (Morseletto, 2020).

A bioeconomia, por outro lado, segundo Heijman (2016) vem ganhando cada vez mais destaque nas discussões entre partes interessadas e tomadores de decisão, especialmente em setores que utilizam insumos de produção primária de base biológica, como a cadeia do agronegócio.

Neste sentido, diante da questão econômica de fluxo linear global insustentável, os conceitos acima apresentados corroboram para a proposta de adequação de qualquer empresa que priorize o desenvolvimento sustentável, a preservação dos ecossistemas

ambientais globais e sua manutenção, assim como, crescimento econômico de maneira responsável no segmento em que atua (Korhonen *et al*., 2020; Morseletto, 2020).

O modelo de economia evidencia o compromisso e preocupação dos atores envolvidos em processos de fabricação e transformação com os recursos globais, uma vez que os rendimentos são otimizados por fabricação de produtos reutilizáveis e com menor geração de resíduos (Abreu, 2023).

Segundo dados da Organização das Nações Unidas (ONU), na alimentação e agricultura, boa parte dos alimentos produzidos no mundo para o consumo humano são desperdiçados. Dados apontam que a quantidade de desperdício de alimentos está em torno de 1,3 bilhões de toneladas por ano que, ocorre em toda a Cadeia de Suprimentos Agroalimentares, desde a produção inicial até os consumidores (Leitão e Salim, 2020; Souza, 2021).

Segundo dados publicados pela ONU (2021), na América Latina e no Caribe, 90% dos resíduos não são reaproveitados. Apesar da economia circular poder ser aplicada nas mais diversas áreas de produção e consumo, os dados de resíduos sólidos são os mais alarmantes.

Observa-se que a taxa de reciclagem no Brasil é de apenas 3%, conforme dados da ABRELPE, o que contrasta fortemente com outros países. A Alemanha, por exemplo, lidera globalmente, com uma taxa de reciclagem de resíduos sólidos de 66,7%, segundo dados da Eurostat (2019). A média de reciclagem na União Europeia, em 2019, foi de 47,7%, com países como Itália (51,9%), Espanha (34,7%) e Portugal (28,9%). Dos 20 países da UE (União Europeia) que tinham esses dados disponíveis, apenas quatro apresentaram taxas de reciclagem inferiores a 20%, sendo eles, Chipre (15,0%), Romênia (11,5%), Turquia (11,5%) e Malta (8,9%), todas ainda assim superiores ao índice brasileiro.

A Europa foi pioneira na implementação de mudanças em seus processos produtivos. Um exemplo notável ocorreu em uma cidade da Dinamarca, que, em 1980, criou uma "simbiose industrial" ao desenvolver um parque industrial onde uma empresa se instala próxima a outra para aproveitar seus resíduos (Abdalla & Sampaio, 2018).

As normas regulamentadoras mundiais ambientais e emergentes preocupações com problemas de desperdício alimentares são crescentes, com o impacto na tomada de decisões dos formuladores de políticas públicas oriunda dos países desenvolvidos (Bonfá *et al.*, 2017).

Com isso, a reciclagem de resíduos urbanos e agroindustriais continua sendo uma condição indesejável econômico-ambiental. Nesse contexto dos agros resíduos, encontram-se o SMS (*Spent Mushroom Substrate*) mais conhecido como substrato pós cultivo, que consiste no material que permanece após o cultivo de organismos, como cogumelos, plantas ou microrganismos (Asrhafi, 2017).

Após a colheita, o substrato pode incluir os resíduos orgânicos, como palha, serragem, cascas, e outros materiais utilizados para o crescimento, que muitas vezes contêm nutrientes não totalmente consumidos pelos organismos cultivados, podendo ser reintroduzido em novos ciclos de produção de espécies de cogumelos (Owaid *et al.* 2016).

Estudos realizados versando sobre a utilização do substrato pós-cultivo (SMS) de *Agaricus subrufescens* e *Pleurotus ostreatus* na produção de alface e rúcula, demonstraram o efeito positivo do uso de SMS como adubo para vegetais (Abreu, 2019).

Em outra investigação Santacolomo-Londoño (2020) avaliando o efeito de biossólidos, resíduo de uma Planta de Tratamento de Águas Residuais (PTAR), constatou a viabilidade do crescimento vegetal e germinação de sementes, os resultados revelaram que, 98,3% a torna viável para aplicação como adubo.

Em uma pesquisa realizada na Índia foi avaliado SMS como substrato para crescimento de cogumelo e fertilizante na plantação de Spinacia Oleracea (Espinafre), como resultado foi observado a redução do tempo de germinação e o aumento do rendimento (Siddhant, 2009). Shrafi *et al.* (2017) concluíram que SMS pode ser uma grande solução para redução da deposição de resíduos no ambiente, pois trata-se de um ingrediente que promove o crescimento e o desenvolvimento dos basidiomas (corpos de frutificação).

Partindo dessa propriedade, produtos alimentícios que contém cogumelos, quando usados na dieta humana, podem ajudar a manter a estabilidade das funções fisiológicas do organismo. Assim, cogumelos comestíveis podem ser utilizados na suplementação de diversos alimentos, tornando a dieta humana mais saudável (Wendiro *et al*., 2019).

Cogumelos comestíveis são produtos alimentícios saudáveis, rico em proteínas, fonte de fibras, minerais, vitaminas. A diversidade de espécies sintetiza compostos de importância medicinal e, enzimas com ação para degradar resíduos lignocelulósicos (Cetin e Atila, 2024).

Nos últimos anos, a seletividade alimentar dos consumidores por alimentos de alto valor nutricional, tem crescido bastante, os cogumelos comestíveis se apresentam como alimento que beneficia a saúde dos seres humanos, sendo capaz de tornar-se alternativo

em relação aos demais alimentos que costumeiramente são consumidos, viabilizando, dessa forma, o aumento da produção desses fungos e a disponibilização de novos produtos com características que possam substituir outros tipos de alimentos (Raman *et al*., 2021).

Espécies representantes do gênero *Pleurotus* estão em expansão, quanto ao seu uso, em diversos processos biotecnológicos. Espécies desse gênero estão classificados no filo *Basiodiomycota*, na classe *Agaricomycetes* e na ordem *Agaricales* (Putzke *et al*., 2021; Raman *et al*., 2021). Eles são utilizados como substitutos de outras proteínas em dietas alimentares, devido ao teor proteico (99%), e como aditivo alimentar, elevando nutricionalmente a qualidade dos alimentos (Raman *et al*., 2021).

Esses cogumelos comestíveis frequentemente são cultivados em larga escala por diferentes métodos de cultivo, a exemplo da fermentação em estado sólido ou em estado líquido (Raman *et al.*, 2021).

Essas espécies comestíveis também atuam como poderosos biocatalisadores, pois são fontes valiosas de nutrientes e fibras, que, sob diferentes condições de cultivo, produzem compostos bioativos, como proteases e enzimas de grande importância econômica, com aplicações nas indústrias alimentícia, farmacêutica e ambiental (Coelho *et al.,* 2021).

Na indústria alimentícia, esses cogumelos são frequentemente utilizados na produção de laticínios, bebidas, produtos de panificação, dentre outros (Liu *et al*., 2014; Choi *et al*., 2021; Bigliardi, 2020).

Neste contexto, o presente estudo tem como objetivo avaliar o reuso do substrato pós cultivo (SMS) de espécies de cogumelos comestíveis *(Pleurotus albidus, Pleurotus ostreatoroseus)* para a inserção em novos ciclos de cultivo da mesma espécie com base nos preceitos da economia circular, bem como aferir presença de proteases de importância biotecnológica e industrial nas biomassas obtidas deste cultivo.

2 JUSTIFICATIVA

O cultivo de cogumelos comestíveis que está em ascendência contribui de forma positiva para redução de resíduos lignocelulósicos, processo que proporciona a produção de alimento de alto valor nutritivo, além de acelerar a decomposição desses substratos (Pimenta *et al.*, 2021).

A produção de cogumelos como uma alternativa sustentável coopera para redução de matéria orgânica e minimiza o conteúdo de poluentes ambientais, eles também agregam valor a produtos de baixo custo como os agro resíduos. (Kirsch *et al*, 2013; Machado *et al*. 2016; Prado *et al*., 2021, Brito *et al*, 2021).

Dos processos de bioconversão utilizados para produção de biomassa desses cogumelos comestíveis em exocarpo de cupuaçu, resíduos do processamento do açaí, serragem, serrapilheira, entre outros, resultam os resíduos pós cultivo (SMS), que são descartados ao término do processo de produção, sendo potencial contaminante ambiental.

Diante disso, o aproveitamento do resíduo pós-cultivo da produção de cogumelos, como fonte de nutrientes, surge como alternativa para a reintrodução destes substratos em novos ciclos de cultivo, pois podem reduzir os custos e o tempo de um novo bioprocesso.

No estado do Amazonas, da diversidade de resíduos agroindustriais como exocarpo de cupuaçu (*Theobroma grandiflrum Willd ex-Spreng Schum*) e resíduos do processamento do açaí (*Euterpe oleracea Mart*), são substratos promissores para crescimento de cogumelos comestíveis (Pimenta *et al*., 2021; Fonseca *et al*., 2014; Machado *et al*., 2017; Barbosa *et al*., 2020).

O mercado mundial de cogumelos comestíveis movimenta cerca de US$ 35 bilhões por ano, com perspectiva de crescimento em torno de 9% já identificada em 2021. A produção é liderada, em ordem decrescente, por China, Estados Unidos e Holanda (Stephen et al., 2020). O cultivo desses fungos está amplamente difundido e a produção global tem apresentado crescimento expressivo desde 2010 (Kumla et al., 2020).

Entre os cogumelos mais relevantes destaca-se o gênero *Pleurotus*, que engloba mais de 30 espécies, com ocorrência predominante em regiões tropicais e subtropicais. Em 2022, a comercialização dessas espécies foi estimada em US$ 42 bilhões, com projeção de alcançar US$ 69 bilhões até 2026 (Neun, 2023). Essa estimativa é corroborada por estudos que apontam que o mercado global de cogumelos comestíveis

pode atingir o mesmo patamar de produção 2026 (Vandewalle, 2020; Barbosa et al., 2020).

A produção de cogumelos comestíveis está em plena ascensão no Brasil, a maior produção está concentrada no estado de São Paulo, movimentando R$ 21 milhões. Contudo, a produção corresponde a 12 mil toneladas de cogumelos *in natura*, que por sua vez não atende a demanda interna do país (Stephen *et al*. 2020).

Entre os cogumelos comestíveis, as espécies de *Pleurotus* são cosmopolitas crescem em clima subtropical tem alto valor nutricional e uma variedade de aplicação biotecnológica e ambiental.

A produção de espécies de *Pleurotus* predominam no continente asiático, especialmente na China. Na América Latina a produção comercial está sendo uma atividade agroindustrial promissora e em expansão, tendo domínio em países como Brasil, México, Colômbia, Argentina e Guatemala (Salmones, 2017).

Além da relevância alimentar em que se apresentam os cogumelos comestíveis, suas finalidades biotecnológicas se ampliam na medida que eles também interessam no cenário econômico, não só devido ao significativo valor nutricional, mas também por sintetizarem compostos bioativos com ação antimicrobiana, antioxidante, anticancerígeno, antiviral, anti-inflamatório, entre outros (Behera; Gupta, 2015; Gimenes; Rojas, 2015).

Estudos recentes destacam o potencial do gênero *Pleurotus* como uma fonte promissora de proteases de alto valor econômico, incluindo amilases, celulases e hidrolases (Ergun e Urek, 2017; Araújo *et al*., 2022).

Essas enzimas, que são catalisadoras na quebra das ligações peptídicas em proteínas, convertendo-as em fragmentos menores como peptídeos e aminoácidos, são amplamente aplicadas na produção de alimentos como queijos, bebidas e pães, além de desempenharem um papel importante em detergentes e no amaciamento de carnes (Singh *et al.*, 2019).

Em 2019, o mercado global de enzimas, com destaque para as proteases, foi estimado em US$ 9,9 bilhões, com uma previsão de crescimento anual de 7,1% entre 2020 e 2029 (Araújo, 2022).

As proteases correspondem a aproximadamente 90% do mercado global de vendas de enzimas e são amplamente aplicadas em setores como processamento de alimentos, panificação, produção de sucos e queijos. Suas propriedades versáteis contribuem para sua dominância no mercado global de enzimas, que é avaliado em bilhões de dólares. O

crescente interesse por essas enzimas deve-se não apenas à sua importância essencial nas atividades metabólicas, mas também à sua vasta aplicabilidade em processos industriais (Inácio *et al*., 2015; Razzaq *et al.*, 2019).

A literatura científica disponível evidencia a eficácia do reuso de resíduos como substrato (SMS) para produção de cogumelos ou como adubo para crescimento de vegetais. Porém, há carência de estudos mais detalhados para elucidar os possíveis efeitos destes resíduos agregando valor a cadeia produtiva das espécies de *Pleurotus*, tanto para novos ciclos de cultivo como potencial influencia na geração de biomassa com atividade enzimática significativa.

Quando se trata da região Amazônica, inexistem estudos que demonstrem esse reuso com finalidade de fomentar a produção de cogumelos comestíveis a partir do uso dos resíduos pós cultivo na Biodiversidade Amazônica, visando redução dos impactos no ecossistema ambiental e potencializando a atividade enzimática das espécies estudadas.

Portanto, a importância desta pesquisa se fundamenta na busca de solução em termos de gestão de produção avaliando a cadeia produtiva das espécies propostas nesse estudo a fim de identificar a concentração ideal para a reutilização de SMS da produção de cogumelos com foco na eliminação de resíduos de maneira sustentável, bem como aferição de enzimas de importância biotecnológica a partir dessa cadeia produtiva.

Com base nas características científicas da Coleção de Culturas DPUA da Universadade Federal do Amazonas, este estudo explora a aplicação da Economia Circular no manejo e desenvolvimento de bioprocessos. O objetivo é demonstrar a viabilidade do reuso de SMS para produção de cogumelos e extração de proteases de importância biotecnológica, definindo indicadores de desempenho mais concretos para direcionar a tomada de decisão em empresas, especialmente em processos de transferência de tecnologia visando a produção em escala industrial.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Investigar a viabilidade do reaproveitamento de resíduos pós-cultivo (SMS) como alternativa econômico-ambiental para a produção de cogumelos da Amazônia e extração de proteases com importância biotecnológica.

3.2 Objetivos Específicos

1. Determinar a eficácia do uso do substrato pós-cultivo na produção das espécies de *Pleurotus* investigadas em relação aos substratos orgânicos convencionais;
Meta: Verificar a formulação adequada para utilização de substrato pós cultivo para produção de espécies de *Pleurotus*.

2. Avaliar a reutilização de resíduos recuperados do cultivo de cogumelos comestíveis para novo ciclo de produção de *Pleurotus ostreatoroseus* e *P. albidus* e, nas amostras de biomassa aferir presença de proteases para caracterização da amostra com atividade significativa;
Meta: Produção de *Pleurotus ostreatoroseus e P. albidus* com reaproveitamento de substrato pós-cultivo para viabilizar a redução de resíduos e a produção de proteases ao término do processo de cultivo in vitro.

3. Selecionar uma mistura de substrato que demonstrar crescimento de cogumelo com propriedade nutricional significativa para produção de biomassa pela tecnologia da fermentação em estado sólido.
Meta: Promover o desenvolvimento de um meio de cultivo natural para produção de biomassa.

4. Avaliar a composição nutricional da biomassa dos cogumelos cultivados nas proporções testadas de substrato pós-cultivo e em meio líquido natural.
Meta: Avaliar os efeitos dos substratos nas características morfológicas e nutricionais dos cogumelos estudados.

5. Determinar o valor dos bioprocessos formulados com os resíduos lignocelulósico selecionados e da mistura acrescida do resíduo pós-cultivo de produção de *Pleurotus*.

Meta: Descrever a precificação dos substratos gerados no processo produtivo e apresentar a composição de custos destes e sua viabilidade econômica.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Cogumelos Comestíveis

Cogumelos comestíveis têm despertado grande interesse, devido ao seu alto potencial econômico, propriedades medicinais, sabor e alto valor nutricional (Naim *et. al*, 2020). Diversas são as espécies desse fungo que são consumidas globalmente, tais como: *Pleorotus ostreatus, Pleorotus florida, Shitake, P. albidus, P. djamor,* entre outros.

Dentre estas espécies, destacam-se os do gênero *Pleurotus* comumente conhecido como cogumelo ostra. Eles são apreciados pelas suas qualidades culinárias e são cultivados em todo o mundo. Caracterizam-se pelo seu formato distinto, semelhante a conchas de ostras, e apresentam-se em diversas cores dependendo da espécie. Os cogumelos ostra não são apenas deliciosos, mas também nutritivos (Raman *et al.*, 2021).

Espécies de cogumelos comestíveis são versáteis na culinária e podem ser usados em diversos pratos, como refogados, sopas, saladas e massas. Os cogumelos também são conhecidos pela sua capacidade de crescer numa variedade de substratos, incluindo resíduos agrícolas como resíduo de processamento do açaí e exocarpo de cupuaçu, tornando-os escolhas populares para cultivo em explorações de cogumelos (Putzke *et al*., 2018; Raman *et al*., 2021).

Além dos seus usos culinários, os cogumelos também foram estudados pelas suas propriedades medicinais, incluindo efeitos antioxidantes e imunomoduladores. Bem como, na síntese de proteases de aplicação industrial no setor de alimentos, têxtil, farmacêutico (Barbosa *et al*., 2020).

Em geral, os *Pleurotus* são valorizados pela sua diversidade culinária, facilidade de cultivo e potenciais benefícios para a saúde (Machado *et al*., 2017).

Além disso, *Pleurotus* apresentam na morfologia basidiomas do tipo pleurotóide e carnoso, medindo aproximadamente de 5 a 15 cm, com píleo carmoso em forma de concha, estipe curta, excêntrica, véu ausente, lamelas não intervenosas, esporos geralmente cilíndricos (Putzke *et al*., 2018; Raman *et al.*, 2021).

Tais cogumelos podem ser cultivados em larga escala, usando diferentes métodos de cultivo, como meio líquido ou através de resíduos lignocelulósicos agroindustriais. Cerca de 998 milhões de toneladas de agro resíduos são produzidos anualmente, incluindo arroz, trigo e palhas de cereais (Raman *et al*., 2021).

Eles têm grande representatividade como fontes importantes de proteínas, vitaminas, gorduras, carboidratos, aminoácidos e minerais e podem ser uma alternativa viável como substituto de proteínas em algumas dietas (Sarikurkcu *et al*., 2020).

Jayasuriya *et al.* (2020), Lin *et al.* (2020) afirmaram que *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus tuber-regium*, respectivamente, podem ser utilizados como alimentos funcionais em que produzem substâncias biológicas benéficas para saúde.

Devido a essas aplicações, com destaque para o ramo alimentício, os cogumelos ostra estão entre os mais comercializados do mundo alcançando a terceira posição na produção de cogumelos comestíveis (Raman *et al*., 2021).

Na Amazônia, estudos têm sido desenvolvidos e os resultados demonstram que a utilização de *Pleurotus ostreatoroseus P. ostreatus, P. djamor e P. albidus* (Figura 1), tem impacto positivo na formulação de bioprodutos, como forma de promover o consumo de cogumelos pela população como alimentos saudáveis (Kirsch *et al*, 2013; Machado *et al*, 2017; Martim *et al*, 2017; Brito *et al*., 2021).

Figura 1: Espécies de *Pleurotus*. **Fonte:** Herbário Micológico Jair Putzke/ UniversidadeFederal do Amazonas - UFAM

A Coleção de Culturas DPUA, da Universidade Federal do Amazonas-UFAM, atualmente certificada na NBR ISO 9001:2015, mantém há mais de três décadas uma diversidade de fungos vivos conservados (1.633 culturas). Em 20 anos já foram realizados

1.513 acessos às culturas dessa coleção. E dentro deste cenário destacam-se diversos estudos realizados que contemplam o uso de espécies de fungos para fins de desenvolvimento de bioprocessos e bioprodutos de valor comercial com viabilidade industrial (Chaves; Coelho, 2016).

Para que se possa compreender este contexto é importante destacar que coleções de microrganismos são base da bioeconomia, desse modo, esses novos valores demandam implementação de melhores práticas de gerenciamento para compartilhamento de dados e visibilidade dos materiais de forma sustentável, visando a preservação do meio ambiente e o uso consciente de recursos (Mccluskey, 2017).

Desse modo, estabelecer conexões estruturadas de ensino e pesquisa na Coleção de Culturas DPUA, torna-se indispensável para sustentação das atividades didáticas e científicas em função da sua relevância na formação de recursos humanos, no desenvolvimento de produtos, identificação de biocompostos para fins medicinais, e/ou alimentícios, além de alternativas econômicas correlacionadas à geração de emprego e renda.

Putzke (2019) descreve que, já são conhecidas cerca de 300 espécies de cogumelos comestíveis, 30 já foram domesticadas e aproximadamente 10 são cultivadas comercialmente. Destas, predominam as espécies do gênero *Agaricus* e *Pleurotus*. Os resultados das pesquisas com a finalidade biotecnológica têm demonstrado que espécies de *Pleurotus* são eficientes na produção de enzimas como, amilases, celulases, proteases e coagulantes, além desses compostos, diversos produtos alimentícios foram desenvolvidos utilizando a biomassa como suplemento alimentar (Quadro 1).

Quadro 1 – Produtos ou processos utilizando *P. albidus, P. ostreatoroseus, P. djamor.*

Espécies	Resultados/Aplicação industrial	Fonte
Pleurotus albidus	Elaboração de barras de cereais utilizando a biomassa micelial desidratada	Kirsh (2013)
P. ostreatoroseus	Processo usando como substrato casca de cupuaçu, produziu basidiomas(*in natura*) de boa aparência, textura e sabor	Fonseca *et al*. (2015)
P. albidus	Produção de biomassa micelial, usada como aditivo, em alimentos para oconsumo humano e para a extração de compostos bioativos, antimicrobianos, antioxidantes, polissacarídeos	Kirsch *et al*. (2016)
P. albidus	Bioproduto com uso da casca de abacaxi e biomassa de *P. albidus* de valornutricional para a indústria de panificação	Souza *et al*. (2016)
P. ostreatoroseus	Bioproduto formulado com tubérculos amazônico (D alata), para o enriquecimento de massas alimentícias do tipo capeletti, com proteínas, fibras e minerais, representando uma inovação na indústria de alimentos	Machado (2017)
P. albidus	Coagulante do leite bovino para a fabricação de queijos	Martim *et al*. (2017)
P. albidus	Produção de produto de panificação com propriedades nutricionais -massa alimentícia.	Figueiredo (2017)

P. ostreatoroseus	Desenvolvimento de produto de panificação suplementado com farinhados basidiomas	Barbosa e Teixeira (2018)
P. albidus	Enzimas do tipo peptidases com características para aplicação na indústriade alimentos	Pimenta *et al*., (2020)
P. djamor	Produção de biomassa para futura aplicação para elaboração de produtoalimentício.	Brito (2021)

Fonte: Adaptado de Coelho, 2021.

Pleurotus albidus, uma das espécies deste estudo, é um cogumelo ostra do gênero *Pleurotus*. Tal como outros cogumelos ostra, o *P. albidus* caracteriza-se pelas suas tampas em forma de leque ou ostra, que podem variar na cor do branco ao creme ou castanho claro. Esta espécie é conhecida pelo seu sabor delicado e textura macia, tornando-se uma escolha popular em aplicações culinárias. (Lechner, 2011).

O *Pleurotus albidus* é frequentemente cultivado comercialmente e também podem ser encontrados crescendo naturalmente em uma variedade de habitats, incluindo florestas, bosques e em madeira morta ou em decomposição. Eles são conhecidos por terem uma ampla distribuição geográfica, sendo encontrados em regiões da Europa, Ásia e América do Norte (Gambato *et al.*, 2018).

Tal como acontece com outros membros do gênero *Pleurotus,* os cogumelos *P. albidus* são apreciados não só pelos seus atributos culinários, mas também pelos seus potenciais benefícios para a saúde. Eles são uma boa fonte de proteínas, fibras, vitaminas e minerais, o que os torna um complemento nutritivo para vários pratos (Gambato et al., 2018).

No entanto, é importante notar que, embora muitas espécies de cogumelos ostra, incluindo *Pleurotus albidus*, sejam comestíveis e cultivadas para consumo, a identificação adequada é crucial quando se procura cogumelos selvagens para evitar o consumo de espécies tóxicas que podem assemelhar-se a variedades comestíveis.

Pleurotus albidus tem ocorrência no Brasil, México, Argentina (Lechner, 2011). Apresenta píleo em forma de concha, glabro, de branco a creme e pode apresentar cor marrom próximo ao encontro do estipe, margem inteira à crenada, fina, geralmente encurvada, com lamelas decorrentes e brancas, estipe branco, geralmente curvado ascendentemente, ocasionalmente com pelos na base e esporada branca a creme (Lechner *et al.*, 2004).

A biomassa de *P. albidus* tem composição química rica em fibras alimentares, proteínas e substâncias antioxidantes, sendo uma fonte promissora de biocompostos capazes de promover a melhoria da saúde humana e animal (Gambato *et al*., 2018).

Pleurotus ostreatoroseus, outra espécie investigada neste estudo é amplamente cultivada e consumida devido à sua versatilidade culinária e benefícios nutricionais, sendo conhecidos pelo seu sabor delicado e pela sua textura carnuda, mas tenra (Barbosa *et al.,* 2020; Brito *et. al.,* 2021).

Trata-se de espécie que tem várias aplicações biotecnológicas, como a Bioremediação, pois os *Pleurotus* são conhecidos pela sua capacidade de degradar uma vasta gama de substratos orgânicos, incluindo a celulose. Propriedade que os torna úteis em processos de biorremediação, onde podem ser empregados para limpar poluentes ambientais, como hidrocarbonetos de petróleo, pesticidas e resíduos industriais (Fonseca *et al.,* 2015; Machado *et al.,* 2016; Coelho *et al.*, 2021, Coelho *et al.,* 2022).

Podem também ser cultivados a partir da reutilização de resíduos, onde podem ser cultivados em diversos resíduos lignocelulósicos, agrícolas e industriais, como serradura, palha, resíduos de algodão e polpa de café. O *Pleurotus ostreatoroseus* pode converter eficazmente estes resíduos em biomassa valiosa, que depois pode ser utilizada para vários fins, como alimentação animal, biofertilizantes ou mesmo como fonte de bioenergia através de digestão anaeróbica ou pirólise. (Fonseca *et al.*, 2015; Machado *et al*., 2016; Coelho *et al*., 2021, Coelho *et al*., 2022).

Outro elemento importante a partir do cultivo de espécies de *Pleurotus* é a produção de enzimas, pois eles produzem várias enzimas durante o crescimento e a frutificação, incluindo celulases, xilanases, laccases, proteases e peroxidases. Estas enzimas têm aplicações industriais em processos como a degradação da biomassa, a produção de biocombustíveis, o processamento têxtil e o tratamento de águas residuais.

O *Pleurotus ostreatoroseus* pode ser cultivado para a produção destas enzimas, quer como cogumelos inteiros, quer através de fermentação submersa para extrair e purificar as enzimas (Martim, 2017).

Em geral, o *Pleurotus ostreatoroseus* e outras espécies têm diversas aplicações biotecnológicas que vão desde a remediação ambiental até aos setores alimentar, farmacêutico e agrícola.

4.2 Hierarquia Taxonômica

As espécies de *Pleurotus* estão definidas quanto a sua taxonomia conforme detalhamento abaixo (Lin *et al*, 2020):

Reino: *Fungi*
Filo: *Basidiomycota*
Classe: *Agaricomycetes*
Ordem: *Agaricales*
Família: *Pleurotaceae*
Gênero: *Pleurotus*

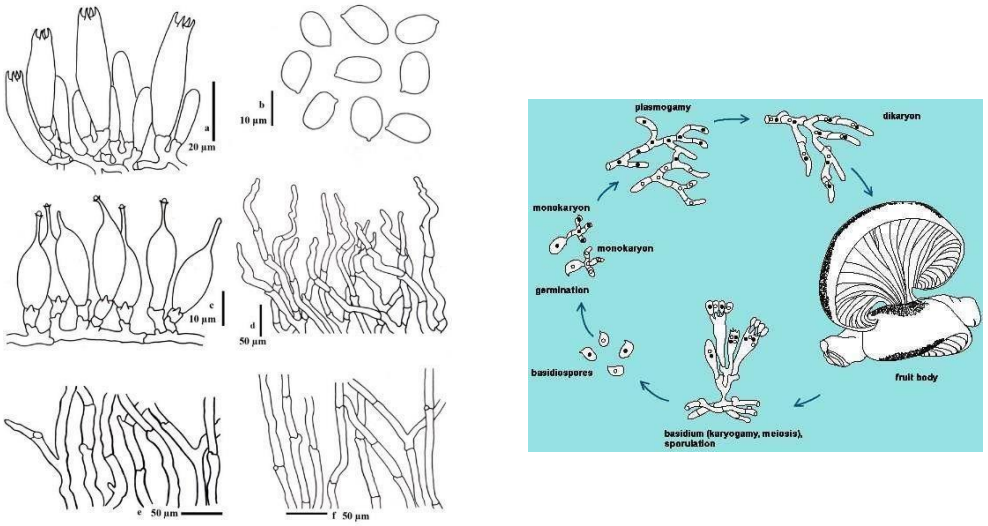


Figura 2: Taxonomia de *Pleurotus*. **Fonte:** Adaptado de Martínez-Carrera (1999)

O gênero *Pleurotus* é conhecido por suas características morfológicas distintas, como chapéu em forma de concha, presença de lamelas decorrentes, e estipe lateral ou ausente. Esses fungos são saprófitos, geralmente encontrados em madeira morta, e alguns apresentam capacidade nematófaga. São amplamente cultivados por seu valor alimentar e aplicabilidade em processos de biorremediação.

Desde sua delimitação formal por Paul Kummer em 1871, o gênero *Pleurotus* passou por revisões taxonômicas que resultaram na realocação de várias espécies. Estudos moleculares mais recentes confirmam que *Pleurotus* forma um grupo monofilético, com subdivisões baseadas em compatibilidade sexual e genética.

Principais Grupos e Espécies

- Clado *P. ostreatus: P. ostreatus, P. pulmonarius, P. florida.*
- Clado *djamor-cornucopiae: P. cornucopiae, P. citrinopileatus, P. djamor.*
- Clado *cystidiosus: P. cystidiosus, P. tuber-regium.*

Diversidade Morfológica em *Pleurotus*

Espécies como *P. ostreatus, P. djamor* (ostra rosa) e *P. citrinopileatus* (ostra dourada) apresentam variações marcantes em cor e forma, mantendo características taxonômicas comuns, como lâminas decorrentes e esporos cilíndricos.

O gênero *Pleurotus* representa um importante grupo taxonômico, não apenas pela sua diversidade genética e morfológica, mas também pelas suas aplicações na alimentação humana, agricultura e na sustentabilidade ambiental.

4.3 Valor Nutricional de *Pleurotus*

Os cogumelos comestíveis são apreciados por suas características sensoriais e excelente perfil nutricional, entres eles: *Pleurotus* possuem uma composição nutricional significativa, cerca de 15,4% -28,6 de proteínas (Raman *et al*., 2021). Com base nesse dado, são 99% comparável à da carne, por isso podem ser utilizados nas substituições em dietas alimentares por apresentarem teor proteico maior do que é observado em carnes e leite, podem ser utilizados também como suplementação alimentar, elevando a qualidade dos alimentos (Raman *et al.*, 2021).

O conteúdo de carboidratos pode variar de 84,1- 61,3%, esse percentual está relacionado a fatores genéticos envolvidos na quantidade e tipo de sacarídeos presentes na parede celular, o conteúdo de carboidratos sugere a presença de polissacarídeos e glicoproteínas no cogumelo. Além disso, pode estar associado a atividade enzimática que é capaz de degradar a lignina que tem como resultado o aumento de carboidratos estruturais fermentáveis (Familoni *et al*., 2018; Stoffel *et al*., 2019; González, *et al*., 2021)

Estes cogumelos pertencentes a este gênero são considerados como fonte de fibra alimentar, as beta-glucanos encontradas na parede celular, a qual é semelhante à fibra principal dos produtos de aveia, esta que é benéfica para o controle de açúcar e colesterol no sangue (Kumari, 2020).

4.4 Enzimas de Microrganismos

As enzimas de microrganismos têm atraído atenção crescente devido ao seu papel fundamental em diversos processos biotecnológicos e industriais, além de sua importância na bioquímica e no metabolismo das células. Esses biocatalisadores são produzidos por uma vasta gama de microrganismos, incluindo bactérias, fungos e leveduras, e desempenham funções importantes, como a quebra de compostos orgânicos complexos e a catalisação de reações químicas específicas, muitas das quais são de grande interesse industrial (Gurumallesh, 2019).

Um dos aspectos mais importantes das enzimas microbianas é sua capacidade de atuar sob condições extremas, como altas temperaturas, variações de pH e salinidade, o que as torna ideais para processos industriais que exigem robustez (Philippini, 2020). As enzimas termofílicas, por exemplo, provenientes de bactérias como *Thermus thermophilus*, são amplamente utilizadas em processos como a degradação de polímeros e a produção de biocombustíveis (Singh & Purohit, 2023).

Além disso, enzimas de microrganismos têm sido exploradas em aplicações ambientais, como no tratamento de águas residuais e na biorremediação de poluentes. Por exemplo, as lignocelulases, produzidas por fungos como *Trichoderma reesei*, são fundamentais na degradação de biomassa vegetal e têm grande potencial no setor de biocombustíveis (Mahari, 2020).

A utilização de enzimas microbianas para a conversão de resíduos orgânicos em compostos de valor agregado, como ácidos graxos e álcoois, também tem sido amplamente investigada, oferecendo uma alternativa sustentável ao uso de processos químicos tradicionais (Liu *et al*., 2023).

A biotecnologia moderna tem se beneficiado do estudo das enzimas microbianas não apenas pela produção de compostos de interesse industrial, mas também pela crescente utilização de técnicas de engenharia genética para melhorar a eficiência de produção e a estabilidade enzimática (Kumar *et al.*, 2020).

A aplicação de CRISPR-Cas9 e outras ferramentas de edição genômica tem permitido a modificação de cepas microbianas, aumentando a produção de enzimas de interesse ou conferindo-lhes novas propriedades catalíticas, o que abre novas possibilidades para a indústria de alimentos, farmacêutica e energética (Manjunathan, 2011).

Existem ainda as enzimas produzidas por fungos comestíveis, como os do gênero *Pleurotus* e *Lentinula edodes* (shitake), estes têm se destacado devido ao seu potencial

biotecnológico em diversas áreas, incluindo o processamento de alimentos, biorremediação e produção de compostos bioativos.

Esses fungos são fontes ricas de enzimas hidrolíticas, como celulases, ligninases e amilases, que são utilizadas para a degradação de polímeros complexos presentes em biomassa vegetal e em resíduos orgânicos. Estudos recentes têm demonstrado que essas enzimas podem ser aplicadas na melhoria do valor nutritivo de alimentos, como a hidrólise de carboidratos complexos e proteínas, aumentando a digestibilidade e a disponibilidade de nutrientes (Cai *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2022).

Além disso, as enzimas fúngicas têm sido exploradas na produção de alimentos fermentados e em processos de maturação de queijos e outros produtos lácteos, destacando-se pelo aumento da qualidade sensorial e pela produção de compostos aromáticos (Martim *et al*., 2017).

No campo da biotecnologia ambiental, as enzimas de fungos comestíveis têm se mostrado promissoras na biorremediação de poluentes e na conversão de resíduos orgânicos em compostos de interesse industrial (Barbosa *et al.,* 2020)

Fungos como *P. ostreatus* possuem enzimas que degradam eficientemente compostos recalcitrantes, como lignina, hemicelulose e plásticos biodegradáveis, tornando-os candidatos ideais para o uso em processos de biorremediação de resíduos agroindustriais e no tratamento de águas residuais.

A aplicação de enzimas fúngicas também tem sido associada à produção de biocombustíveis, uma vez que estas enzimas podem atuar na conversão de biomassa lignocelulósica em açúcares fermentáveis (Kumar *et al*., 2020).

Além disso, as enzimas de fungos comestíveis apresentam características de estabilidade em diferentes condições ambientais, o que as torna altamente eficazes em processos industriais, ampliando suas possíveis aplicações em diversas indústrias, desde a alimentícia até a farmacêutica e energética (Pimenta *et al.,* 2021).

Em síntese, as enzimas de microrganismos representam uma fonte promissora para uma variedade de aplicações biotecnológicas, e os avanços recentes em biologia molecular e engenharia genética têm ampliado significativamente o seu potencial. O contínuo estudo dessas enzimas promete revolucionar processos industriais e ambientais, oferecendo soluções mais eficientes e sustentáveis.

4.5 Tecnologia da Fermentação em Estado Sólido

Existem muitas formas de cultivo de cogumelos e pode variar desde a atividade agrícola até indústria altamente tecnológica. Pesquisas são realizadas sobre o melhor método de cultivo de *Pleurotus* quanto a composição do substrato, teor nutricional, uma vez que ocupam o terceiro lugar de cogumelos mais produzidos e comercializados mundialmente (Royse *et al.,* 2017; Yamed *et al.,* 2021).

A fermentação em estado sólido, também chamada de fermentação sólida, consiste no desenvolvimento do microrganismo na superfície de materiais sólidos que apresentam a propriedade de absorver ou de conter água, com ou sem nutrientes solúveis (Fonseca *et al.,* 2015; Singh *et al.,* 2019).

A composição de cada resíduo varia com relação a fonte de carbono e proteínas, fatores determinantes na produção de cogumelos e produção de alimentos através da bioconversão, dessa forma, para se obter uma melhor eficiência e rendimento na produção de basidiomas, o ideal é que ocorra a suplementação de resíduos lignocelulósicos para obter satisfatoriamente condições nutricionais para cada fungo (Raman *et al.,* 2021).

Como substrato suporte, estão os resíduos lignocelulósicos, que são considerados como recurso natural renovável, variando a sua composição dependendo de sua origem (Tavares *et al*., 2015).

A utilização de resíduos lignocelulósicos (exocarpos, endocarpos, madeiras e serragem), além de constituir uma alternativa viável para a produção de alimentos através da bioconversão, auxilia no gerenciamento adequado desses resíduos que seriam descartados no ambiente (Wyman *et al*., 2018; Mendonza e Rincón, 2021).

Espécies de *Pleurotus* sintetizam enzimas capazes de degradar diferentes substratos, condição que favorece o cultivo desses cogumelos em diversas matrizes lignocelulósicas (Almeida *et al*., 2025).

4.6 Aproveitamento de Resíduos Agroindustriais na produção de Cogumelos

A agroindústria gera uma grande quantidade de resíduos que representam não apenas um desafio ambiental, mas também uma oportunidade para reutilização em novos processos produtivos. A produção de cogumelos comestíveis e medicinais emerge como uma alternativa promissora para o reaproveitamento desses resíduos, transformando-os em substratos para o cultivo de espécies como *Pleurotus ostreatus*, *Agaricus bisporus*, entre outras (Nunes *et al*., 2022).

O processo de cultivo de cogumelos é relativamente eficiente, requerendo baixa demanda energética e gerando poucos resíduos finais, os quais podem ser reaproveitados como compostagem ou fertilizantes orgânicos, fechando o ciclo de produção (Royse *et al.,* 2021).

Pesquisas recentes destacam o uso de resíduos agroindustriais como substratos para cogumelos melhorando a eficiência e o rendimento da produção. Estudos de Nunes *et al.* (2022) mostrou que o uso de casca de café, um resíduo comum no Brasil, aumentou o rendimento do cultivo de *Pleurotus ostreatus* em 20% em comparação com substratos convencionais.

Além disso, o uso de resíduos promove benefícios econômicos para pequenos produtores, que podem reduzir custos de produção ao utilizar materiais de baixo custo ou até mesmo gratuitos (Souza *et al*., 2023).

Outro aspecto relevante é a adaptação dos processos de cultivo de cogumelos à realidade local, o que permite o uso de diferentes tipos de resíduos agroindustriais, dependendo da disponibilidade regional. Estudos conduzidos na Ásia, por exemplo, exploraram o uso de resíduos de chá e bambu, enquanto no Brasil são mais comuns o bagaço de cana e a casca de arroz (Oliveira *et al.,* 2020).

A viabilidade técnica e econômica do uso desses materiais evidencia a importância de pesquisas que integrem o conhecimento sobre resíduos locais e as necessidades de cada espécie de cogumelo.

Em síntese, a integração de resíduos agroindustriais no cultivo de cogumelos é uma estratégia vantajosa, tanto do ponto de vista ambiental quanto econômico. O uso de materiais lignocelulósicos provenientes de atividades agroindustriais permite uma produção sustentável, promovendo a economia circular e contribuindo para a segurança alimentar. Esse enfoque atende a tendências globais de sustentabilidade e valorização de resíduos, consolidando-se como uma prática de alto potencial e relevância no cenário atual (Zwirtes *et al.,* 2021).

4.7 SMS (Spent Mushroom Substrate) ou Substrato Pós Cultivo

O *Spent Mushroom Substrate* (SMS) consiste no resíduo gerado após o cultivo de cogumelos, principalmente os tipos *Agaricus bisporus*, *Pleurotus* e *Lentinula edodes*. Esse resíduo é composto por substratos orgânicos usados no cultivo, como palha, serragem, casca de arroz e outros materiais vegetais, que, após a colheita dos cogumelos, ainda retêm nutrientes e compostos bioativos (Zakil *et al*., 2022).

O SMS tem se tornado objeto de estudo devido ao seu potencial para diversas aplicações, tanto no campo agrícola quanto em biotecnologia, oferecendo uma alternativa sustentável para o descarte de resíduos agrícolas (Zakil *et al*., 2022).

Um dos principais usos do SMS é como fonte de matéria-prima para a produção de compostos bioativos e biomoléculas de valor agregado, como enzimas, ácidos graxos e antibióticos. Devido à sua composição rica em fibras e nutrientes, o SMS pode ser aproveitado na bioconversão de resíduos agrícolas em compostos com aplicação em biocombustíveis, fertilizantes orgânicos e até mesmo produtos farmacêuticos (Baptista *et al*., 2023).

A fermentação do SMS por microrganismos, como fungos e bactérias, tem demonstrado grande potencial na produção de compostos antioxidantes, polissacarídeos e proteínas (Mishra *et al.,* 2025). Além disso, a presença de lignina e celulose em sua estrutura torna o SMS uma excelente fonte para a produção de biocombustíveis, principalmente por meio de processos de biodegradação enzimática (Mendonza *et al*., 2018).

No setor agrícola, o SMS tem sido empregado como fertilizante orgânico devido à sua alta concentração de nutrientes como nitrogênio, fósforo e potássio, além de micronutrientes essenciais para o crescimento de plantas (Xu *et al.,* 2024).

Estudos recentes demonstraram que a aplicação de SMS no solo pode melhorar a qualidade e produtividade das culturas, promovendo a fertilidade do solo e estimulando a atividade microbiana benéfica (Zakil *et al*., 2022). O SMS também tem sido investigado como substrato para o cultivo de plantas ornamentais e vegetais alimentares, devido à sua capacidade de retenção de água e nutrientes. Além disso, sua utilização como biocontrole de patógenos de plantas tem mostrado resultados promissores, já que compostos presentes no SMS possuem propriedades antimicrobianas (Xu *et al.,* 2024).

Ainda, no contexto da biorremediação, o SMS tem sido utilizado para a remoção de poluentes do solo e da água, devido à sua capacidade de adsorção de metais pesados e compostos tóxicos. A combinação do SMS com outros materiais, como carvão ativado ou zeólitas, tem demonstrado alta eficiência na purificação ambiental, o que abre novas perspectivas para a utilização desse resíduo na recuperação de áreas contaminadas (Luo *et al.,* 2024).

Assim, o SMS emerge como um recurso valioso para a economia circular, onde sua reutilização contribui para a sustentabilidade de diversos processos industriais e agrícolas.

4.8 Bioeconomia

A bioeconomia é um termo que se refere a uma abordagem econômica sustentável que procura utilizar os recursos biológicos de forma eficiente para satisfazer as necessidades humanas, conservando simultaneamente a biodiversidade e protegendo o ambiente (Pozzetti, 2021).

Baseia-se na ideia de que os recursos biológicos, como as plantas, os animais, os microrganismos e a biomassa, podem ser utilizados de forma sustentável para produzir alimentos, energia, materiais e produtos químicos (Gaetani, 2023).

A bioeconomia abrange uma vasta gama de setores, incluindo a agricultura, a silvicultura, a pesca, a aquicultura, a biotecnologia e a indústria alimentar. Exemplos de aplicações da bioeconomia incluem a produção de biocombustíveis a partir de culturas energéticas, a fabricação de materiais biodegradáveis a partir da biomassa e a utilização de microrganismos para produzir produtos químicos e medicamentos (Barbosa *et al.,* 2021).

A bioeconomia também se centra na economia circular, que procura minimizar os resíduos e maximizar a eficiência dos recursos através da reutilização, reciclagem e recuperação de subprodutos e resíduos. Em suma, a bioeconomia promove um modelo econômico que é simultaneamente rentável e amigo do ambiente, ajudando a enfrentar desafios globais como as alterações climáticas, a escassez de recursos e a segurança alimentar (Oliveira *et al.,* 2024).

Três elementos principais são envolvidos na bioeconomia: conhecimentos em biomassa renovável, biotecnologias e integração em todas as aplicações. O primeiro elemento é referente a transformação da biomassa renovável por meio de um bioprocesso capaz de auxiliar na produção de um alimento mais sustentável e com características melhores. A biomassa renovável pode ser obtida em fontes primárias, como culturas alimentares, resíduos agrícolas (Silva *et al.,* 2019).

O segundo elemento abrange conhecimentos tecnológicos que favorecem o desenvolvimento de novos processos e produtos destinados a dar origem a outros produtos que podem ser enzimas industriais. O terceiro elemento é a integração dos conhecimentos e aplicações em campos principais, produtos básicos e saúde (recursos naturais vivos, florestas, plantações, animais ou farmacêuticos, os nutracêuticos) e indústria (produtos químicos, plásticos, enzimas) (Silva *et al.,* 2019).

Esse tipo de economia sustentável é capaz de movimentar no mercado mundial, cerca de 2 trilhões de euros, gerando mais de 22 milhões de empregos. O crescimento da população e o aumento do consumo dos alimentos demandarão o incremento de produção de 70 a 100% até 2050 (Severo, 2024). A partir disso, algumas preocupações surgem juntamente com tentativas de soluções relacionadas a provisão de alimento para a crescente população levando em consideração as mudanças climáticas e impactos de produção na região (Abreu, 2018).

4.9 Métodos de Custeio

De acordo com Ribeiro (2018) os métodos de custeio são técnicas utilizadas pelas empresas para distribuir custos entre os produtos ou serviços que produzem. Esses métodos desempenham um papel essencial na gestão financeira e contábil, ao possibilitar a determinação dos custos de produção de cada item, fornecendo informações fundamentais para a tomada de decisão.

Berto e Beulke (2018) listam alguns dos métodos de custeio mais comuns, entre os quais se destacam:

- **Custeio por absorção**: Neste método, todos os custos de produção, sejam diretos ou indiretos, são atribuídos aos produtos, incluindo custos variáveis e fixos. É amplamente utilizado para fins contábeis e fiscais, sendo o método mais aceito nesses contextos.
- **Custeio variável ou direto**: Apenas os custos variáveis são alocados aos produtos, enquanto os custos fixos são considerados despesas do período. Esse método evidencia a margem de contribuição de cada produto, sendo útil para decisões de curto prazo.
- **Custeio ABC (Activity-Based Costing)**: Este método atribui custos às atividades que geram custos e, em seguida, distribui esses custos aos produtos com base no uso das atividades. É especialmente útil em empresas com produtos ou serviços diversificados e de complexidade variada.
- **Custeio por ordem de produção**: Utilizado em indústrias que fabricam produtos sob encomenda ou em lotes específicos, onde os custos são associados a cada ordem de produção.
- **Custeio padrão**: Baseia-se em padrões de custo pré-definidos para materiais, mão de obra e custos indiretos de fabricação. As variações entre os custos reais e os padrões são analisadas para identificar áreas de melhoria.

- **Custeio por alvo (Target costing)**: Aqui, o custo máximo permitido para a produção de um produto é definido subtraindo-se o lucro desejado do preço de venda esperado. Essa abordagem, orientada para o mercado, considera o preço de venda como principal fator dos custos.

A escolha do método de custeio depende das características específicas da empresa, do setor em que atua e de seus objetivos de gestão. Em alguns casos, as empresas optam por uma combinação de métodos para atender suas demandas de informação e suportar a tomada de decisões gerenciais (Antoni, 2017).

4.10 Mercado mundial de Cogumelos e Enzimas para aplicação biotecnológica

O mercado mundial de cogumelos tem experimentado um crescimento substancial nos últimos anos, impulsionado tanto pelo aumento do consumo de alimentos vegetais como pela crescente demanda por produtos de saúde e bem-estar (Barbosa *et al.,* 2021).

Os cogumelos comestíveis, como *Agaricus bisporus*, *Pleurotus* (cogumelo ostra), e *Lentinula edodes* (shitake), são amplamente consumidos devido às suas qualidades nutricionais e terapêuticas. Considerados fontes ricas em proteínas, fibras, vitaminas, e minerais, os cogumelos têm ganhado destaque no mercado global, especialmente com o crescente interesse por dietas baseadas em plantas e alternativas à carne (Lourenço, 2022)

Além disso, os cogumelos são reconhecidos por suas propriedades farmacológicas, incluindo efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, imunomoduladores e anticâncer, o que tem aumentado ainda mais seu apelo no setor de alimentos funcionais e suplementos nutricionais (Menolli *et al*., 2025).

O mercado de cogumelos tem sido particularmente dinâmico em regiões como a Ásia, Europa e América do Norte, com um crescente foco na diversificação de produtos derivados de cogumelos, como cogumelos desidratados, concentrados de extratos e produtos fermentados. O aumento da conscientização sobre a alimentação saudável e a sustentabilidade ambiental tem impulsionado essa demanda (Barbosa *et al*., 2020).

Na Ásia, especialmente no Japão e na China, os cogumelos são consumidos amplamente não apenas como alimento, mas também como remédios tradicionais, com muitos estudos destacando os benefícios de variedades como *Ganoderma lucidum* (Reishi) e *Cordyceps sinensis* na medicina alternativa (Xu *et al.,* 2024).

Em paralelo, o mercado global de cogumelos está sendo impulsionado pela inovação em técnicas de cultivo, que incluem o uso de tecnologias como cultivo em

substratos orgânicos e sistemas de produção controlados, para garantir maior produtividade e qualidade, atendendo à crescente demanda mundial (Sharma *et al.,* 2023).

Além de sua aplicação na alimentação e saúde, os cogumelos têm se tornado uma fonte importante de enzimas com potencial para diversas aplicações biotecnológicas. Cogumelos comestíveis, em particular, são conhecidos por produzirem enzimas como celulases, ligninases e amilases, que têm vastas aplicações industriais (Denti *et al.,* 2022).

As celulases, por exemplo, são fundamentais na biodegradabilidade de biomassa e na produção de biocombustíveis, enquanto as ligninases têm sido utilizadas na degradação de resíduos lignocelulósicos, com aplicações na biorremediação e no processamento de papel e celulose (Gianolini *et al*., 2025).

A produção de enzimas a partir de fungos tem demonstrado ser uma alternativa mais econômica e sustentável em comparação com métodos químicos tradicionais, oferecendo uma rota mais verde para diversos processos industriais (Pimenta *et al.*, 2021).

O mercado de enzimas produzidas por cogumelos tem expandido consideravelmente nos últimos anos, impulsionado pela crescente demanda por soluções biotecnológicas em indústrias como alimentos, farmacêutica, têxtil e de papel e celulose. O uso de enzimas fúngicas na indústria de alimentos tem sido particularmente importante para a melhoria da digestibilidade de alimentos, como no caso de pães e queijos, além de ser utilizado no processamento de líquidos como sucos e vinhos (Gianolini *et al*., 2025).

A biocatálise enzimática promovida por fungos tem se mostrado promissora também em processos mais ecológicos de conversão de biomassa em bioenergia e biocombustíveis, com enzimas como a xilanase e celulase sendo amplamente estudadas para a conversão de resíduos agrícolas em açúcares fermentáveis (Denti *et al.,* 2022).

Além disso, as enzimas de cogumelos têm aplicações na indústria farmacêutica, particularmente na produção de antibióticos, anti-inflamatórios e outros compostos bioativos. *Ganoderma lucidum*, por exemplo, tem sido amplamente estudado por sua produção de enzimas que podem ser usadas em terapias anticâncer, antifúngicas e anti-hipertensivas (Jiang *et al.,* 2023).

As enzimas fúngicas também têm sido usadas na fabricação de cosméticos e produtos de cuidado pessoal, devido às suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas, que ajudam a proteger a pele contra danos oxidativos e infecções.

A indústria de enzimas está projetando um crescimento robusto, com projeções de um aumento significativo da demanda por enzimas biotecnológicas até 2026, impulsionado pela transição de processos químicos convencionais para alternativas

biológicas mais sustentáveis e eficientes. As enzimas de origem fúngica, como as celulases, proteases, lipases, e amilases, representam uma parte significativa desse mercado, especialmente em aplicações industriais que exigem processos eficientes e de baixo impacto ambiental (Brito *et al.,* 2021).

Essas enzimas têm sido amplamente utilizadas para a produção de biocombustíveis, tratamentos de águas residuais, biorremediação e até mesmo em bioplásticos, favorecendo um movimento crescente rumo à bioeconomia.

O mercado mundial de cogumelos e enzimas para aplicações biotecnológicas está em plena expansão, impulsionado pela crescente demanda por alimentos vegetais e por soluções sustentáveis e eficientes nas indústrias alimentícia, farmacêutica, energética e ambiental (Gianolini *et al*., 2025).

A combinação das propriedades nutricionais dos cogumelos com suas enzimas biocatalisadoras abre um vasto leque de oportunidades para inovação e desenvolvimento de produtos biotecnológicos, alinhados às necessidades globais de sustentabilidade e saúde. A pesquisa contínua e o avanço das tecnologias de cultivo prometem aumentar ainda mais o impacto dessas soluções biotecnológicas nos próximos anos.

5. Metodologia

5.1 Localização do Experimento

A produção de *Pleurotus ostreatoroseus* e *P. albidus* para reaproveitamento de resíduo pós cultivo pela tecnologia da fermentação em estado sólido foi realizada no Herbário Micológico "Jair Putzke", localizado no Instituto de Ciências Biológicas (ICB), da Universidade Federal do Amazonas-UFAM, Setor Sul, Campus Universitário, Manaus - Amazonas.

5.2 Cogumelos: crescimento em ágar Glicose, Extrato de Levedura e Peptona

Para obtenção da fase filamentosa, *Pleurotus ostreatoroseus* e *P. albidus*, cedido do acervo da Coleção de Culturas DPUA, da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), foram cultivados em ágar GYP [g/L (ágar 10.0 glicose 20.0, extrato de levedura 0,5, peptona 0,5 e água destilada 1000 mL)]. O meio de cultura foi esterilizado a 121 ºC por 15 minutos. Durante o crescimento dos cogumelos, as culturas foram mantidas a 25 ºC por 8 dias. Todos os cultivos foram preparados em triplicata. As culturas foram conservadas a 4 °C para posterior preparação de cultura viável e uso nos experimentos.

5.3 Fermentação no estado sólido

5.3.1 Produção de *Pleurotus* ostreatoroseus e *P. albidus* com reaproveitamento do resíduo pós- cultivo.

Na primeira etapa experimental, as espécies de cogumelos selecionadas foram cultivadas na mistura de resíduos lignocelulósicos tradicionais (Fonseca *et al.,* 2015) ou em resíduo pós- cultivo, utilizando formulações em diferentes concentrações, suplementadas com farelo de arroz, em base úmida como suplemento (Barbosa *et al.*, 2020).

5.3.2 Preparo dos Substratos

5.3.2.1 Pré-cultivo dos cogumelos em grãos de trigo

Os grãos de trigo foram lavados e deixados em imersão em água e, após 12 h, o excesso da água foi retirado, seguindo a imersão em solução desinfetante para hortifrutícolas (COALA®) por 30 minutos. Ao término desse tratamento, os grãos foram pré-cozidos por 15 minutos e drenado o excesso de água. Em seguida para cada 100 g de grãos foi adicionado 0,3 g de carbonato de cálcio.

Nesses experimentos foram utilizados 100 g de grãos pré-cozidos, armazenados em sacos de polietileno de alta densidade de 20,3 cm x 17,8cm. Os sacos com os grãos foram esterilizados a 121 ° C durante 15 minutos. Após resfriamento, das culturas obtidas em ágar GYP foram retirados discos miceliais de 3 mm e transferidos para superfície dos grãos de trigo. Os cultivos foram mantidos a 28 °C, na ausência de luz até completa miceliação do substrato (Castillo, 2011; Machado, 2015; Fonseca *et al.,* 2015).

5.4 Avalição da influência do resíduo pós-cultivo na produção de cogumelos comestíveis (*Pleurotus ostreatoroseus e P. albidus*).

Delineamento e condução experimental

No processo de produção dos cogumelos comestíveis foram realizados 09 experimentos, citados na tabela 1. Em cada experimento foram preparados cultivos utilizando 1.000 g de cada formulação (resíduo lignocelulósico tradicional ou resíduo pós-cultivo misturado com farelo de arroz). Todos os experimentos foram realizados em triplicatas. Em todas as formulações de resíduos, a umidade foi aferida para 60% e o pH 6,5 (Fonseca *et al.*, 2014).

Tabela 1. Delineamento Experimental para Produção de *Pleurotus ostreatoroseus e P. albidus* com reuso do substrato pós cultivo (SMS), em diferentes concentrações.

Experimentos	Substrato + Suplemento	%
Padrão 1	Exocarpo de Cupuaçu + Farelo de Arroz	80:20
Padrão 2	Resíduo do Processamento do Açaí + Farelo de Arroz	80:20
Padrão 3	SMS + Farelo de Arroz	80:20
ET1	Exocarpo de Cupuaçu + SMS + Farelo de Arroz	40:40:20
ET2	Exocarpo de Cupuaçu + SMS + Farelo de Arroz	45:40:15
ET3	Exocarpo de Cupuaçu + SMS + Farelo de Arroz	50:40:10
ET4	Resíduo do Processamento do Açaí + SMS + Farelo de Arroz	40:40:20
ET5	Resíduo do Processamento do Açaí + SMS + Farelo de Arroz	45:40:15
ET6	Resíduo do Processamento do Açaí + SMS + Farelo de Arroz	50:40:10

Legenda: ET: Experimento Teste; EC: Exocarpo de Cupuaçu; RPA: Resíduo do Processamento do Açaí; SMS: Substrato Pós Cultivo; FA: Farelo de Arroz

Fonte: Autores, 2022

A produção dos cogumelos foi realizada durante oito dias sem luminosidade, a 25 ºC, com umidade ambiental a 80%. Após 72 horas, nas sacolas foram feitas perfurações de 2 cm e os cultivos mantidos em condições similares até completa miceliação do substrato e desenvolvimento dos primórdios. Com o aparecimento dos primórdios, os cultivos foram expostos à luz difusa a cada 12 horas, a 15 ºC por três dias até formação dos basidiomas. Os basidiomas maduros foram colhidos e armazenados em bandejas de isopor envoltos em PVC flexíveis, com capacidade para 250 g do produto para as análises da composição nutricional.

Os cálculos da produtividade (P) e da eficiência biológica (EB) e taxa de produção (TP) foi determinada com base na equação de 1 a 3. A determinação da perda da matéria orgânica do substrato (PMO) foi determinada com base no peso dos resíduos não desidratados, equação 4 (Fonseca *et al.,* 2015).

Equação I: Eficiência biológica (EB) $= \frac{massa\ do\ cogumelo\ (base\ úmida)}{massa\ do\ substrato\ (base\ seca)}$ x 100

Equação II: Produtividade (P) $= \frac{massa\ do\ cogumelo\ (base\ seca)}{massa\ do\ substrato\ (base\ seca)}$ x 100

Equação III: Taxa de Produção (TP) $= \frac{eficiência\ biológica}{número\ total\ de\ dias\ de\ cultivo}$

Equação IV: Perda de Matéria Orgânica (PMO) $= \frac{Peso\ do\ Substrato\ Miceliado\ (g)}{Peso\ Inicial\ do\ Substrato\ (g)}$ x 100

5.5 Determinação das características físico-químicas dos resíduos agroindustriais e Nutricionais da biomassa de *Pleurotus ostreatoroseus e P. albidus* obtida por fermentação no estado sólido.

Os resíduos utilizados e os basidiomas de *P. albidus* foram submetidas à determinação de pH e dos teores de umidade, cinzas, fibras, lipídios, proteínas totais, carboidratos, e energia, segundo metodologia descrita pela A.O.A.C. (2005). As análises e os métodos que foram empregados estão descritos a seguir:

- **Determinação do pH**: para a determinação da medida de pH foi pesado 10g de cada amostra e homogeneizados com 100 mL de água destilada. A solução foi agitada por 10 minutos e o sobrenadante obtido foi coletado utilizado para realização da leitura do pH metro.

- **Determinação da umidade:** o conteúdo de umidade das amostras foi determinado por dessecação em estufa a 105 ºC e os basidiomas a 40 ºC, até peso constante.

- **Determinação de cinzas:** para a determinação do conteúdo de cinzas foi utilizado o método de incineração em mufla a 550 ºC até os resíduos apresentaram uma coloração cinza claro ou branca. Os resultados foram expressos em percentagem, em relação ao peso seco da amostra.

- **Determinação de fibras:** para determinar o teor de fibras as amostras foram submetidas a digestão ácida com solução de ácido sulfúrico 1,25%, seguida por digestão alcalina com hidróxido de sódio 1,25%. As amostras foram filtradas a vácuo com papel de filtro e o resíduo resultante da hidrólise foi incinerado em mufla a 550 ºC até a formação de cinzas. Os resultados foram expressos em percentagem em relação ao peso seco da amostra.

- **Determinação de lipídios:** o teor de lipídios foi determinado pelo pelo método de Bligh e Dyer (1959). Nesse método são extraídas todas as classes de lipídios sem aquecimento que são por pesagem e os resultados expressos em gramas por 100g de amostra.

- **Determinação de nitrogênio total e proteínas:** a determinação de nitrogênio total foi feita com 0,2 g de amostra pelo método de Kjedahl. Para calcular o fator de conversão em proteína bruta referente aos resíduos foi utilizada a fórmula P (%) = N x 6,25, enquanto para os basidiomas, P (%) = N x 4,38. Os resultados foram expressos em percentagem em relação ao peso seco da amostra.

- **Determinação de carboidratos totais:** estimados por diferença entre o somatório das porcentagens de umidade, proteína, lipídios, cinzas (NEPA, 2006), conforme a fórmula: C (%) = [100g – (total g proteína+ cinzas + lipídios+fibra)].

Determinação de energia: o valor calórico foi determinado considerando-se os fatores de conversão de Atwater: kcal = 4 kcal/g (proteína), 4 kcal/g (carboidratos) e 9 kcal/g (lipídios), fórmula: (4 x g proteína) + (4 x g carboidratos totais – fibras) + (9 x g lipídios), (NEPA, 2006).

5.6 Caracterização das proteases: extração e determinação da atividade enzimática

Após a colheita dos basidiomas de *P. albidus*, eles foram desidratados em desidratadora com controle de temperatura e circulação de ar forçado a 60º C, posteriormente triturada em Mini Processador com Função Pulsar (modelo MP120B2, 110V). Por conseguinte, para obtenção do extrato bruto, as amostras foram extraídas em água destilada esterilizada [1:5 (substrato: água, p/v)], 30 °C, 180 rpm, por 30 minutos. As enzimas foram recuperadas por papel de filtro Whatman nº 1 a vácuo.

5.7 Determinação da atividade de proteases

Para determinação da atividade das proteases, foi utilizado o extrato bruto advindo dos basidiomas obtidos das diferentes concentrações de SMS previamente extraídas em água destilada, este que foi centrifugado a 4.000 rpm.

A atividade quantitativa das proteases foi determinada de acordo com citação de Barbosa *et al*. (2020). Um volume de 150 µL de extrato bruto foi adicionado em 250 µL de solução de azocaseína 1 % (p/v) em tampão Tris-HCl 0,1 M, pH 7,2. Os tubos de reação foram mantidos por uma hora a 25 °C em câmara escura, em temperatura ambiente. A reação foi interrompida adicionando-se 1,2 mL de ácido tricloroacético 10 % (p/v). Em seguida a amostra foi submetida a centrifugação por 10 minutos a 10000 rpm, a 4 °C. De cada sobrenadante foram retirados 0,8 mL e transferidos para tubos de ensaio contendo 1,4 mL de hidróxido de sódio 1 M. Como branco foi utilizada solução de azocaseína 1 % (p/v) em tampão Tris-HCl 0,1 M, pH 7,2. A leitura foi realizada a 440 nm.

5.8 Determinação do efeito do pH e da temperatura na atividade e estabilidade da protease

Para determinação do pH ótimo, a atividade proteolítica de *P. albidus* foi determinada a 25 °C, em diferentes faixas de pH usando as seguintes soluções tampão 0,1 M: Citrato Fosfato (pH 5,0-6,0), Tris-HCl (pH 7,0-8,0), Glicina-NaOH (pH 9,0-10). A temperatura ótima foi determinada incubando o extrato enzimático com a azocaseína em

diferentes temperaturas (30 a 80 °C), por uma hora (Braga *et al*., 2020). No teste de estabilidade ao pH, o extrato bruto foi disperso (1:1, v/v) nas seguintes soluções tampão 0,2 M: Citrato Fosfato 0,2 M (pH 5,0-6,0), Tris-HCl 0,2M (pH 7,0-8,0), Glicina-NaOH (pH 9,0- 10), por uma hora, 25 °C. Para o estudo da estabilidade térmica, os extratos enzimáticos foram incubados em diferentes temperaturas variando de 30 a 80 °C por uma hora (Braga *et al*., 2020).

5.9 Efeito de inibidores de proteases e íons metálicos na atividade proteolítica

O efeito de inibidores na atividade das proteases foi determinado conforme Martim *et al.* (2017). Os extratos enzimáticos foram incubados nas condições ótimas de pH e de temperatura por 30 minutos com diferentes inibidores de proteases (10 mM): etilenodiamino tetra-acético (EDTA), Ácido Iodoacético, Fluoreto de Fenilmetilsulfonila (PMSF) e Pepstatina 1mM. O efeito dos íons metálicos foi determinado nas soluções (10mM): sulfato ferroso (FeSO4), sulfato de manganês (MnSO4), sulfato de magnésio (MgSO4), cloreto de sódio (NaCl), sulfato de zinco (ZnSO4), cloreto de potássio (KCl), cloreto de cálcio (CaCl2) e sulfato de cobre (CuSO4). A atividade enzimática residual da mistura reacional utilizando solução de azocaseína a 1% (p/v) foi comparada com o branco e, os valores de 100% foram estabelecidos sem inibidores ou íons metálicos (Barbosa *et al*., 2020).

5.10 Determinar o valor dos bioprocessos formulados com os resíduos lignocelulósico

O método de custeio por absorção é utilizado por satisfazer princípios fundamentais de contabilidade e por consistir em associar todos os gastos incorridos na elaboração de bens e serviços, onde os custos fixos são feitos por rateio e os custos variáveis apropriados de forma direta, com exceção das despesas. (Alves *et al.,* 2016).

Desta forma, para definição do custo da produção da espécie estudada, considerou-se o modelo de custeio por absorção apresentada por Ribeiro *et al*., (2021) e pela metodologia de Vicenconti (2018). Neste método, todos os custos de produção, sejam diretos ou indiretos, foram atribuídos ao produto *(P. albidus*), incluindo custos variáveis e fixos, destacando-se que para finalidade fiscal é o método amplamente utilizado para fins contábeis, portanto, sendo o método mais aceito nesses contextos.

6. ANALISE ESTATÍSTICA

Os resultados de todos os experimentos realizados em triplicata foram submetidos à análise de variância e às médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) utilizando Minitab versão 19.0.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLA, Fernando Antônio; SAMPAIO, Antônio Carlos Freire. Os novos princípios e conceitos inovadores da Economia Circular. *Entorno Geográfico*, v. 15, p. 82–102, jan./jun. 2018.

ABREU, C. G. Utilização do Substrato Pós-Cultivo (SMS) DE Agaricus subrufescens e Pleurotus ostreatus na Produção de Alface e Rúcula. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Lavras: Minas Gerais, 2019.

ABREU, Cristiano Santos Pereira de et al. Um sistema de controle de energia sustentável para abrigos de cultivo. 2018.

ALMEIDA, Victor da Silva et al. Potencial do substrato pós cultivo (SMS) de cogumelo comestível para a produção de proteases de importância industrial. REVISTA DELOS, v. 18, n. 63, p. e3879-e3879, 2025.

ALVES, E. R. et al. Análise de custo da produção de champignon: estudo em uma propriedade rural no município de Domingos Martins-ES. 2016.

ANTONI, Gustavo. Gestão de custos industriais: Grupo A, 2017. E-book. ISBN 9788595021198. Disponível em: https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788595021198/. Acesso em: 29 fev. 2024.

A.O.A.C. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of AOAC International. 18.ed. atual. Gaithersburg, MA: AOAC International, 2005.

ASHRAFI, R. et al. Reuse of spent mushroom substrate as casing material for the production of milky white mushroom. Journal of the Bangladesh Agricultural University, v. 15, n. 2, p. 239-247, 2017.

ASHRAFI, R.; MIAN, M. H.; RAHMAN, M. M.; JAHIRUDDIN, M. Reuse of spent mushroom substrate as casing material for the production of milky white mushroom. *Journal of the Bangladesh Agricultural University*, Mymensingh, v. 15, n. 2, p. 239–247, dez. 2017.

ARAÚJO, K. M et al. Dados sobre produção e consumo de cogumelos comestíveis no Brasil. 2021. Citado em: COSTA, A. L. et al. Produção do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatoroseus* a partir de serrapilheira de *Eucalyptus grandis* e *Pinus elliottii*. *Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável*, v. 12, n. 1, p. 164–173, 2022

ATILA, Funda. Compositional changes in lignocellulosic content of some agro-wastes during the production cycle of shiitake mushroom. Scientia Horticulturae, v. 245, p. 263-268, 2019.

BASTOS LIMA, M. G. et al. Corporate power in the bioeconomy transition: the policies and politics of conservative ecological modernization in Brazil. *Sustainability*, Basel, v. 13, n. 12, p. 6952, 2021.

BARBOSA, E. E. P. et al. Cultivo de cogumelo comestível em resíduos lignocelulósicos de floresta tropical para produção de proteases. Brazilian Journal of Development, v. 6, n. 11, p. 92475-92485, 2020.

BAPTISTA, Filipa et al. Unlocking the potential of spent mushroom substrate (SMS) for enhanced agricultural sustainability: from environmental benefits to poultry nutrition. Life, v. 13, n. 10, p. 1948, 2023.

BRAGA, R. S. et al. Lentinus villosus Klotzsch (1833) AM 169: a natural and renewable source of alkaline protease. Braz. J. of Develop. Curitiba, v. 6, n. 11, p.85867-85883, nov. 2020.

BERTO, Dálvio J.; BEULKE, Rolando. Gestão de custos. Editora Saraiva, 2013. E-book. ISBN 9788502212336. Disponível em: https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788502212336/. Acesso em: 29 fev. 2024.

BESUFEKAD, Yohannes et al. Selection of appropriate substrate for production of oyster mushroom (Pleurotus ostreatus). Journal of Yeast and Fungal Research, v. 11, n. 1, p. 15-25, 2020.

BEHERA, S.; GUPTA, N. Utilization of vegetable waste for biomass production of some wild edible mushroom cultures. *Tropical Plant Research*, [S.l.], v. 2, n. 1, p. 5–9, 2015.

BIGLIARDI, B.; GALATI, F. Innovation models in food industry: a review of the literature. *Revista de Inovação Industrial*, [s.l.], v. X, n. 3, p. 100–120, 2020.

BONFÁ, L. J. O desperdício de frutas, verduras e legumes em supermercados. 2017.

BONONI, VLR; GIMENES, L. J.; ROJAS, ACB. Produção de cogumelos e biotecnologia. SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE COGUMELOS NO BRASIL, v. 8, p. 96-109, 2015.

BRITO, A. K. P. et al. Avaliação de substratos de floresta tropical para cultivo e produção de proteases por Pleurotus djamor. Research, Society and Development, v. 10, n. 3, p. e31810313385, 2021.

BRITO, A. K. P. de et al. Produção de uma espécie de cogumelo salmão comercial para elaboração de um produto alimentício. 2021.

BRUNI, Adriano L.; FAMÁ, Rubens. Série Finanças na Prática - Gestão de Custos e Formação de Preço, 7ª edição. Grupo GEN, 2019. E-book. ISBN 9788597021059. Disponível em: https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788597021059/. Acesso em: 29 fev. 2024.

CAI, T. et al. Cell-free chemoenzymatic starch synthesis from carbon dioxide: a hybrid chemical-biochemical pathway enabling starch production from CO_2 and H_2 Science, v. 373, p. 1523–1527, 2021.

CASTILLO, T. A. Caracterização fisiológica, produção de biocompostos e biomassa em substrato agroflorestal amazônico de Pleurotus e Lentinus. 2009.

CETIN, Mehmet; ATILA, Funda. Efeito de bioinoculantes e substratos residuais na produtividade de cogumelos comestíveis. *BIO Web of Conferences*, janeiro 2024

CHAVES, M. P. S. R.; VERDE, M. P. S. L. Inovação Socioacadêmica na Amazônia. Manaus: EDUA. 2016, 341p.

CHOI, K. H. Muscle stem cell isolation and in vitro culture for meat production. *Foods and Beverages Review*, [s.l.], v. 1, p. 2021

COELHO, M. P. S. L.V. et al. Alternativa fontes nutricionais para desenvolvimento da fase micelial e produção de hidrolases por cogumelo comestível de floresta tropical / Alternative of nutritional sources for the development of the mycellial phase and production of hydrolases by edible mushroom from tropical forest. Brazilian Journal of Development, v. 7, n. 3, p. 22890– 22907, 2021.

COELHO, M. P. S. L. V.; BARBOSA, E. E. P.; PIMENTA, L.; BATISTA, S. C. P.; PRADO, F. B.; MARTIM, S. R. M.; FILHO, R. F. C.; TEIXEIRA M. F. S. Alternativa de fontes nutricionais para desenvolvimento da fase micelial e produção de hidrolases por cogumelo comestível de floresta tropical. Brazilian Journal of Development. v.7, n.3, p. 22890-22907 Curitiba. 2021.

COSTA, José Luís et al. Mushroom poisoning in Portugal. Acta Médica Portuguesa, v. 24, p. 269-278, 2015.

CHAMBERGO, F. S.; VALENCIA, Estela Y. Fungal biodiversity to biotechnology. Applied microbiology and biotechnology, v. 100, n. 6, p. 2567-2577, 2016.

DAS, Arun K. et al. Edible Mushrooms as Functional Ingredients for Development of Healthier and More Sustainable Muscle Foods: A Flexitarian Approach. Molecules, v. 26, n. 9, p. 2463, 2021.

DE SOUZA, Carlos Henrique Moscardo et al. Perdas e Desperdício de Alimentos. 2021.

DE SOUZA, Nádia Maria et al. EFICIÊNCIA DA HIDRÓLISE ÁCIDA E EXPLOSÃO A VAPOR NA LIBERAÇÃO DE PENTOSES E HEXOSES DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS. Revista Contemporânea, v. 3, n. 8, p. 12078-12095, 2023.

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

FARIA, Edson; CALDEIRA-PIRES, Armando de Azevedo. Economia circular e bioeconomia: como as abordagens se relacionam. In: 7º Workshop Acadêmico Internacional em produção limpa avançada. Anais... Barranquila, Colombia. 2018.

FAMILONI, T. V., OGIDI, C. O., AKINYELE, B. J., ONIFADE, A. K. Evaluation of yield, biological efficiency and proximate composition of Pleurotus species cultivated on diferente wood dusts. CZECH MYCOLOGY, v. 70, n. 1, p. 33-45.2018.

FERDOUSI, Jannatul et al. Mushroom production benefits, status, challenges and opportunities in Bangladesh: a review. Annual Research & Review in Biology, v. 34, n. 6, p. 1-13, 2020.

FONSECA, T. R. B.; BARRONCAS, J. F.; TEIXEIRA, M. F. S. Produção em matriz sólida e Caracterização parcial das proteases de cogumelo comestível da Floresta Amazônica. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial, v. 8, n. 1, 2014.

FONSECA, T. R. B. et al. Cultivation and nutritional studies of an edible mushroom from North Brazil. African Journal of Microbiology Research, v. 9, n. 30, p. 1814–1822, 2015.

FONSECA, T.R.B. et al. Produção em matriz sólida e caracterização parcial das proteases de cogumelo comestível da floresta Amazônica. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial. v.8, n.1, p: 1227-1236. 2015.

GAMBATO, G. et al. Evaluation of productivity and antioxidant profile of solid-state cultivated macrofungi Pleurotus albidus and Pycnoporus sanguineus. Bioresource Technology, v. 207, p. 46–51, 2018.

GAETANI, Francisco; TEIXEIRA, Izabella; BRITO, Marcello; et al. Inquietações de um Brasil contemporâneo: desafio das eras climáticas, digital-tecnológica e biológica. Grupo Autêntica, 2023. E-book. ISBN 9786559283095. Disponível em: https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9786559283095/. Acesso em: 29 fev. 2024.

GIANOLINI, Julián E.; RIVERO, Cintia W. Las lacasas: enzimas versátiles con aplicación en múltiples industrias. Divulgatio. Perfiles académicos de posgrado, v. 9, n. 26, p. 120-146, 2025.

GONZÁLEZ, A.; NOBRE, C.; SIMÕES, L. S.; CRUZ, M.; LOREDO, A.; RODRÍGUEZ-JASSO, R. M., CONTRETAS, J., TEIXEIRA, J., BELMARES, R. Evaluation of functional and nutritional potential of a protein concentrate from Pleurotus ostreatus mushroom. Food Chemistry. 2021.

GURUMALLESH, P. et al. A systematic reconsideration on proteases. International journal of biological macromolecules, v. 128, p. 254-267, 2019.

GUMMERT, Martin et al. Sustainable rice straw management. Springer Nature, 2020.

HEIJMAN, W. J. M. How big is the bio-business? Notes on measuring the size of the Dutch bio-economy. *NJAS – Wageningen Journal of Life Sciences*, Wageningen, v. 77, p. 5–8, 2016.

IAC. Instituo Agronômico. Bioeconomia cultivando a vida e colhendo o futuro. Vol. 70. 2018. SILVA, M. F. O. S.; PEREIRA, F. S.; MARTINS, J. V. B. A bioeconomia em números. Banco Nacional do Desenvolvimento Setorial. V.47, n.1, p. 277- 332. 2019.

INÁCIO, F. D. et al. Production of enzymes and biotransformation of orange waste by oyster mushroom *Pleurotus pulmonarius*. *[s.l.]*, 2015

JAYASURIYA, W. J. A. B. N. et al. Anti-inflammatory activity of *Pleurotus ostreatus*, a culinary medicinal mushroom, in Wistar rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2020, art. 6845383, 2020. DOI: 10.1155/2020/6845383.

KIRSCH, L. S. et al. Produção da biomassa de Pleurotus albidus por fermentação submersa para elaboração de barras de cereais. 2013.

KORHONEN, Jouni; HONKASALO, Antero; SEPPÄLÄ, Jyri. Circular economy: the concept and its limitations. Ecological economics, v. 143, p. 37-46, 2020.

KUMLA, Jaturong et al. Cultivation of mushrooms and their lignocellulolytic enzyme production through the utilization of agro-industrial waste. Molecules, v. 25, n. 12, p. 2811, 2020.

KUMARI, KANCHAN. Mushrooms as source of dietary fiber and its medicinais value: A review article. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. V.9, N. 2. P. 2075-2078. 2020.

KUMAR, A. et al. Microbial lipolytic enzymes – promising energy-efficient biodegradation tools. *Energy*, v. 197, p. 117253, 2020.

LECHNER, B. E.; ALBERTÓ, E. Search for new naturally occurring strains of Pleurotus to improve yields. Pleurotus albidus as a novel proposed species for mushroom production. Revista Iberoamericana de Micologia, v. 28, n. 4, p. 148–154, 2011.

LEITÃO, Fabrício Oliveira; SALIM, Omar Ouro. O papel da logística reversa na mitigação do desperdício em cadeias de suprimentos agroalimentares. Informe GEPEC, v. 24, n. 2, p. 154- 173, 2020.

LIGUORI, R.; FARACO, V. Biological processes for advancing lignocellulosic waste biorefinery by advocating circular economy. Bioresource Technology, v. 215, p. 13–20, 2016.

LI, S. et al. Edible mushroom classification based on clinical toxicity and molecular taxonomy: A comprehensive system for over 2,000 species. *Fungal Biology Reviews*, v. 35, n. 4, p. 275–289, 2021. DOI: https://doi.org/10.1016/j.fbr.2021.10.005.

LIU, F. et al. Current advances in the structural biology and molecular mechanisms of PET-degrading enzymes: IsPETase, MHETase and related hydrolases. *Bioengineering & Biotechnology*, 2023.

LIN, Z. et al. *Pleurotus tuber-regium*, um fungo comestível e medicinal rico em polissacarídeos bioativos, proteínas essenciais, ácidos graxos, fibras e vitaminas, com forte atividade na degradação de resíduos lignocelulósicos. *ResearchGate*, 2020.

LOURENÇO, Emilene de Carvalho. Caracterização do Substrato Exaurido do Cultivo de Pleurotus Ostreatus composto por Borra de Café e Gramíneas e Avaliação do Potencial Bioquímico de Metano. 2022.

LUO, Jiahao; CHEN, Lijing. Status and development of spent mushroom substrate recycling: A review. Journal of the Air & Waste Management Association, v. 74, n. 12, p. 843-860, 2024.

MACHADO, Ana Rita Gaia et al. Nutritional value and proteases of Lentinus citrinus produced by solid state fermentation of lignocellulosic waste from tropical region. Saudi journal of biological sciences, v. 23, n. 5, p. 621-627, 2016.

_____, A.R.G. et al. Production and characterization of proteases from edible mushrooms cultivated on amazonic tubers. African Journal of Biotechnology. v.16, n.46, p: 2160-2166. 2017.

_____, Ana Rita Gaia et al. Elaboração de um produto de panificação à base de crueira e cogumelo comestível. 2015.

MARTIM, Salomão Rocha et al. Proteases ácidas de cogumelo comestível da Amazônia para aplicabilidade industrial. Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi-Ciências Naturais, v. 12, n. 3, p. 353-362, 2017.

MAHARI, Wan Adibah Wan et al. Applying microwave vacuum pyrolysis to design moisture retention and pH neutralizing palm kernel shell biochar for mushroom production. Bioresource technology, v. 312, p. 123572, 2020.

MANJUNATHAN, J.; KAVIYARASAN, V. Nutrient composition in wild and cultivated edible mushroom, Lentinus tuberregium (Fr.) Tamil Nadu., India. International Food Research Journal, v. 18, n. 2, p. 809-811, 2011.

MANJUNATHAN, J.; KAVIYARASAN, V. Optimization of mycelia growth and antimicrobial activity of new edible mushroom, Lentinus tuberregium (Fr.). Tamil Nadu., India. 2011.

MEDEIROS, Rafael Lima et al. Cenários logísticos alternativos para a cabotagem do estado do Amazonas utilizando simulação computacional. Journal of Transport Literature, v. 9, p. 60- 64, 2015.

MEHMOOD, Tahir et al. Pleurotus shentelii (Pleurotaceae): a new edible mushroom from Trans-Himalayan region of Ladakh, India. Taiwania, v. 68, n. 1, p. 90-96, 2023.

MENDOZA MORALES, Natalia Andrea; RINCÓN DÍAZ, Julián Mauricio. Evaluación de la implementación de hongos de la podredumbre blanca en una fermentación en sólido para la generación de biomasa como producto de beneficio energético utilizando residuos lignocelulosicos. 2021.

MENOLLI, Nelson et al. el Cogumelos comestíveis no Brasil: estado atual do conhecimento, avanços e perspectivas. Lilloa, p. 103-161, 2025.

MOHAN, S. V. et al. Waste biorefinery models towards sustainable circular bioeconomy: critical review and future perspectives. Bioresource technology, v. 215, p. 2-12, 2016.

MORSELETTO, P. Targets for a circular economy. Resources, Conservation and Recycling, v. 153, p. 104553, 2020.

MCCLUSKEY, K. A review of living collections with special emphasis on sustainability and its impact on research across multiple disciplines. Biopreservation and biobanking, v. 15, n. 1, p. 20-30, 2017.

MISHRA, Anjali; SUTHAR, Surindra. Cow dung biochar amendment affects the bioconversion of spent mushroom substrate and fruit waste by black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae. Journal of Environmental Management, v. 392, p. 126763, 2025.

MENDOZA, Josman Andrey Velasco; SEGATO, Fernando. Expressão heteróloga, análise bioquímica e avaliação da produção fermentativa de uma enzima exo-arabinanase da família GH93. 2018.

NAIM, L. et al. Supplementation of spent oyster substrate enhances nutritional properties and crop cycle productivity of *Pleurotus ostreatus*. *Nottingham Journal of Science*, v. [s.d.], p. 2020

NEUEN, João Phillip Tilopa Barbosa de Oliveira. Caminhos fúngicos: etnografia de um projeto de inovação com cogumelos. 2023.

NEPA. Tabela de Composição de Alimentos. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação.UNICAMP. Campinas, Brasil., 2006. 105 p.

NUNES, Monique Luciana et al. Utilização de secador solar e resíduos de coco verde para produção energética. 2022.

OLIVEIRA, Aline P.; NAOZUKA, Juliana. Enriquecimento elementar por meio de cultivo: plantas e cogumelos. Química nova, v. 43, n. 9, p. 1277-1293, 2020.

OLIVEIRA, Adna Caroline Vale et al. Bioeconomia Circular e biorrefinaria: conceitos, oportunidades e desafios considerando o uso de biomassa de microalgas no Brasil. Revista Brasileira de Planejamento e Desenvolvimento, v. 14, n. 1, p. 236-268, 2024.

OWAID, M. N.; ABED, I. A.; AL-SAEEDI, S. S. S. Properties of fruit bodies of oyster mushroom (Pleurotus ostreatus) cultivated on some local cellulosic residues in Iraq. *GIDA (Journal of Food)*, v. 41, n. 4, p. 189–195, 2016.

PRADO, Fabiano Brito et al. Viabilidade da produção de proteases por espécies de Aspergillaceae e triagem de coagulantes do leite bovino. Brazilian Journal of Development, v. 7, n. 2, p. 16356-16373, 2021.

PIMENTA, Laynah et al. Processo eco-amigável para selecionar substrato Lignocelulósico para produção de peptidases ácidas. Brazilian Journal of Development, v. 7, n. 1, p. 3469-3479, 2021.

PIMENTA, L., BARBOSA, E. E. P., BRITO, A. K. P., MARTIM, S. R., TEIXEIRA, M. F. S. Processo eco-amigável para selecionar substrato lignocelulósico para produção de peptidases ácidas. Brazilian Journal of Development. v. 7, n.1, p. 3469-3479. 2021.

POZZETTI, Valmir César; FERREIRA, Marie Joan Nascimento; SILVA, Anderson Solimões. Bioeconomia: a economia do futuro, sob a ótica dos objetivos de desenvolvimento sustentável. Percurso, v. 6, n. 37, p. 346-363, 2021.

PHILIPPINI, R. R. et al. Agroindustrial Byproducts for the Generation of Biobased Products: Alternatives for Sustainable Biorefineries. Frontiers in Energy Research, v. 8, n. July, p. 1– 23, 2020.

PUTZKE, J.; MTL, Putzke. Cogumelos (fungos Agaricales) no Brasil-Ordens Boletales (Boletaceae e Paxillaceae), Polyporales (Polyporaceae/Lentinaceae), Russulales(Russulaceae) e Agaricales (Cortinariaceae, Inocybaceae, Pluteaceae e Strophariaceae). São Gabriel, v. 2, 2018.

PUTZKE, M. T. L., PUTZKE, J. Identificação de espécies de cogumelos comestíveis e tóxicas da família Agaricaceae (fungos - Agaricomycetes) encontradas no Brasil. Brazilian Applied Science Review. v.5, n.1, p.391-416. Curitiba. 2021.

RAMAN, J., JANG, K. Y., OH, Y. L., OH M., IM, J. H., LAKSHMANAN, H., SABARATNAM, V. Cultivation and Nutritional Value of Prominent Pleurotus spp.: An Overview. Mycobiology. V. 49, N. 1, p. 1–14. 2021.

RASHAD, Ferial M. et al. Recycling of agro-wastes for Ganoderma lucidum mushroom production and Ganoderma post mushroom substrate as soil amendment. Waste management, v. 88, p. 147-159, 2019.

RAZZAQ, A. et al. Microbial proteases applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, v. 7, art. 110, 12 jun. 2019. DOI: 10.3389/fbioe.2019.00110.

RIBEIRO, VICTOR BENTO. A importância dos métodos de rateio para alocação dos custos indirectos dos produtos e na tomada de decisão. 2018.

ROYSE, Daniel J.; BAARS, Johan; TAN, Qi. Current overview of mushroom production in the world. Edible and medicinal mushrooms: technology and applications, p. 5-13, 2017.

SAKOVICH, V. V. Structural and functional peculiarities of aspartic proteases of basidiomycetes. Biopolymers & Cell, v. 36, n. 2, p. 87, 2020.

SALMONES, Dulce. Pleurotus djamor, un hongo con potencial aplicación biotecnológica para el neotrópico. Revista mexicana de micología, v. 46, p. 73-85, 2017.

SANTACOLOMA-LONDOÑO, Sandra Patricia et al. Agricultural use of biosolids generated in wastewater treatment of a food industry. Revista Facultad de Ingeniería, v. 29, n. 54, p. e10666-e10666, 2020.

SARIKURKCU, C.; POPOVIC-DJORDJEVIC, J.; SOLAK, M. H. Wild edible mushroom from mediterrane anregion: Metal concentration and health riesk assessement. Ecotoxicology and Enviromental Safety. v. 190, n. 1. September. 2020.

SETTE, Laura Durães. Recursos Genéticos Microbianos. Revista RG News 5 - Sociedade Brasileira de Recursos Genéticos. (1): 34-41, 2019

STEFFEN, Gerusa Pauli Kist et al. ASPECTOS TÉCNICOS SOBRE A PRODUÇÃO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS EM SUBSTRATOS ORGÂNICOS. ASPECTOS TÉCNICOS SOBRE A PRODUÇÃO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS EM SUBSTRATOS ORGÂNICOS, p. 1-388–416. 2020.

SEVERO, Eliana Andréa. INOVAÇÃO E ECONOMIA CIRCULAR PARA A PERFORMANCE ORGANIZACIONAL E O DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL. Revista Gestão e Desenvolvimento, v. 21, n. 2, 2024.

SIDDHANT, C.; SINGH, S. Recycling of spent oyster mushroom substrate to recover additional value. Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology, v. 5, n. 2, p. 66-71, 2009.

SINGH, R. S. K. et al. Statistical optimization of solid-state fermentation for the production of fungal inulinase from apple pomace. Bioresource Technology Reports, v.9, n.1, p:100364. 2019.

SINGH, Subhash; PUROHIT, Mukul. Desenvolvimento e caracterização de protease alcalina metagenômica para aplicações industriais. *Journal of Environmental Enzymology*, v. 10, n. 4, p. 200–215, 2019.

SOUZA, F. R. A. et al. Biopolímeros na indústria de alimentos: do aproveitamento de resíduos agroindustriais a produção de biopolímeros. Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 4, 2021.

STOFFEL, F., SANTANA, W. O., GREGOLON, J. G. N., KIST, T. B. L., FONTANA, R. C., CAMASSOLA, M. Production of edible mycoprotein using agroindustrial wastes: Influence on nutritional, chemical and biological properties. Innovative Food Science and Emerging Technologies. V.58, N.1. 2021.

TACO, L. V. B. et al. Production of Commercial and Amazonian Strains of Pleurotus ostreatus in Plant Waste/Produção de linhagens comerciais e amazônicas de Pleurotus ostreatus em resíduos de plantas. Brazilian Journal of Development, v. 8, n. 6, p. 47299-47321, 2022.

TAVARES, Anne Caroline Dantas. Cultivo do cogumelo comestível Pleurotus ostreatus INPA 1467: Produção, composição centesimal e mineral. 2015.

THAKUR, M. P. Advances in mushroom production: Key to food, nutritional and employment security: A review. Indian Phytopathology, v. 73, p. 377-395, 2020.

VANDEWALLE-CAPO, Marine et al. 13 The biotechnological potential of yeast under extreme conditions. In: Biotechnological Applications of Extremophilic Microorganisms. De Gruyter, 2020. p. 313-356.

VALLE, Rogerio; SOUZA, Ricardo Gabbay de. Logística reversa: processo a processo. Grupo GEN, 2023. E-book. ISBN 9788522486359. Disponível em: https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788522486359/. Acesso em: 29 fev. 2024.

VICECONTI, Paulo Eduardo V. O processo de industrialização brasileira. Revista de Administração de Empresas, v. 17, p. 33-43, 2018.

WENDIRO, D., WACOO, A. P., WISE, G. Identifying indigenous practices for cultivation of wild saprophytic mushrooms: responding to the need for sustainable utilization of natural resources. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine. v. 1, n.1, p: 15-65. 2019.

WYMAN, V., HENRÍQUEZ, J., PALMA, C., CARVAJAL, A. Lignocellulosic waste valorisation strategy through enzyme and biogas production. Oyster Mushroom (Pleurotus Species); A Natural Functional Food. Jounral Microbiol Biotech Food Sci. N.7, vol. (3), 254- 264. 2018.

YAHME, N. B. K., DAUPTAIN, E., LAJNEF, I., CARRERE, H., TRABLY, E., SMAALI, I.,
New sustainable bioconversion concept of date byproducts (Phoenix dactylifera L.) to biohydrogen, biogas and date-syrup. International journal o f hydrogen energ., n.1, vol. 4 6, 297 e 305. 2021.

XU, Shuai et al. Formaldehyde-free mycelium composites production from spent mushroom substrates for particleboard substitution: Physical, antimicrobial, and environmental assessments. Chemical Engineering Journal, v. 482, p. 149170, 2024.

ZHANG, X. et al. Discovery and characterization of PET40, a versatile PET-hydrolyzing esterase divergent from known PETases. *FEBS Journal*, 2022.

ZAKIL, Fathie Ahmad et al. Growth performance and mineral analysis of Pleurotus ostreatus (oyster mushroom) cultivated on spent mushroom medium mixed with rubber tree sawdust. Materials Today: Proceedings, v. 57, p. 1329-1337, 2022.

ZWIRTES, Lucas de Souza. Influência da composição do substrato na produção de cogumelos do tipo Pleurotus Ostreatus. 2021.

8. RESULTADOS

CAPÍTULO 1

Produção e composição nutricional de cogumelo comestível em consórcios de resíduos lignocelulósicos na Amazônia

REVISTA GEAMA – Ciências Ambientais e Biotecnologia

Revista GEAMA – Ciências Ambientais e Biotecnologia
Scientific Journal of Environmental Sciences and Biotechnology
ISNN: 2447-0740

10
3

Production and nutritional composition of edible mushrooms in consortia of lignocellulosic residues from in Amazon

Produção e composição nutricional de cogumelo comestível em consórcios de resíduos lignocelulósicos na Amazônia

Victor da Silva Almeida[1], Ana Rita Gaia Machado[1], Elliza Emily Perrone Barbosa[1], Tiara Sousa Cabral[1], Laynah Pimenta[1], Maria Francisca Simas Teixeira[1]

[1] Universidade Federal do Amazonas, Amazonas, Brasil

Contato: admvictor2@outlook.com

Keyword
macrofungus
seed
exocarp
açaí
fermentation

ABSTRACT

Edible mushrooms are healthy foods with high nutritional value. However, at the end of the bioprocess, a nutrient-rich compound called Spent mushroom substrate (SMS) is generated which can be disposed of incorrectly, causing environmental pollution. The reuse of SMS in the mushroom production chain has been an eco-friendly option for obtaining biomass at low cost. There is a lack of studies reporting on the use of SMS from the production of edible mushrooms in lignocellulosic waste available in the Amazon. In this context, the aim of this work was to investigate the reuse of SMS from mushroom species for new cultivation cycles in the growth of Pleurotus albidus. The production of this macrofungus was carried out in substrate mixtures made up of cupuaçu exocarp, açaí processing waste and SMS, supplemented with rice bran. The mushroom was grown for eight days in the absence of light at 25 °C and 80% humidity. After complete myceliation of the substrate and development of the primordium, the cultures were exposed to diffused light every 12 hours at 15 °C for three days. The mature basidiomata were then harvested and assessed for physical characteristics, productivity parameters and centesimal composition. In the ET2 cultures [cupuaçu exocarp + SMS + rice bran (450:400:150) g], significant values were obtained for biological efficiency (14.8%), productivity (2.3%) and production rate (0.49%). In ET2 [açaí waste + SMS + rice bran (500:400:100) g], significant values were determined for basidiomata (151 units), weight (151 g), stipe length (1.01 cm), protein (7.42%) and ash (10.39%). The addition of SMS to the substrate mixture is an innovative alternative for the production of P. albidus isolated from the Amazon.

Palavras-Chave
macrofungo
semente
exocarpo
açaí
fermentação

RESUMO

Os cogumelos comestíveis são alimentos saudáveis e possuem alto valor nutricional. Porém, ao final do bioprocesso é gerado um composto rico em nutrientes denominado Spent mushroom substrate (SMS) que pode ser descartado de forma incorreta, causando poluição ambiental. A reutilização do SMS na cadeia produtiva de cogumelos vem sendo uma opção ecoamigável para obtenção de biomassa, a baixo custo. Há carência de estudos reportando o uso de SMS oriundo da produção de cogumelos comestíveis em resíduos lignocelulósicos disponíveis na Amazônia. Neste contexto, este trabalho teve por objetivo investigar a reutilização de SMS de espécies de cogumelos para novos ciclos de cultivo no crescimento de Pleurotus albidus. A produção desse macrofungo foi realizada em misturas de substratos constituídas por exocarpo de cupuaçu, resíduos do processamento do açaí e SMS, suplementados com farelo de arroz. O cultivo do cogumelo foi realizado por oito dias, na ausência de luz a 25 °C, umidade ambiente de 80%. Após miceliação completa do substrato e desenvolvimento do primórdio, as culturas foram expostas à luz difusa a cada 12 horas a 15 °C, por três dias. Em seguida, os basidiomas maduros foram colhidos e avaliados quanto às características físicas, parâmetros de produtividade e composição centesimal. Nos cultivos em ET2 [exocarpo de cupuaçu + SMS + Farelo de Arroz (450:400:150) g] foram obtidos valores significativos de eficiência biológica (14,8%), produtividade (2,3%) e taxa de produção (0,49%). Em ET2 [resíduos de açaí + SMS + farelo de arroz (500:400:100) g] foram determinados valores expressivos de basidiomas (151 unidades), peso (151 g), comprimento do estipe (1,01 cm), proteínas (7,42%) e cinzas (10,39%). A adição de SMS na mistura de substratos é uma alternativa inovadora para a produção de P. albidus isolado da Amazônia

Informações do artigo
Recebido: 08 de agosto, 2024
Aceito: 09 de novembro, 2024
Publicado: 30 de dezembro, 2024

Introduction

The production of edible mushrooms has proven to be a good business opportunity and continues to be an expanding sector worldwide (INDRATMI et al., 2024). Mushrooms are grown on a commercial scale, in many countries, and edible species constitute a reservoir of nutrients, such as proteins, carbohydrates, minerals, vitamins, amino acids and dietary fiber, with a reduced fat content. Some of these fungi also synthesize bioactive compounds with medicinal action, an attribute of functional foods (COELHO et al., 2022).

Mushrooms have played a significant role in the culture and history of mankind, spanning various civilizations since ancient times. In recent years, the importance of these macrofungi goes beyond their importance as a food and extends into the domains of medicine and ecology (OMOWAYE-TAIWO et al., 2023; ADEWOLE, 2022). *Pleurotus ostreatus, Agaricus bisporus,* and *Lentinula edodes* are the most commercially cultivated mushroom species worldwide (BULAM et al., 2022; CETIN; ATTILA, 2024). In Brazil, the literature shows that *Agaricus bisporus, Agaricus brasiliensis* and *Pleurotus* species, among others, dominate production due to the discovery of their medicinal and culinary value (AKCAY et al., 2023; BARBOSA et al., 2023).

The cultivation of mushrooms allows the generation of food, in addition to being a model of exploitation of residual lignocellulosic biomass mediated by an efficient continuous flow process that can be carried out even in closed environments, requiring significantly smaller land areas than most other crops (MARTÍN et al., 2023). In recent decades, this activity has aroused the interest of entrepreneurs and scientists since mushrooms are organisms with the potential to contribute to agricultural production, research, pollution control, waste management, medicine, economy, whilst also being a source of protein (HAUKONGO et al., 2021; DE BRITO et al., 2023).

The diffusion of mushroom cultivation has occurred worldwide, a factor that has promoted a significant increase in production since 2010 (KUMLA et al., 2020). The technologies of cultivation of edible mushrooms involving the use of lignocellulosic residues are the result of agricultural production in Brazil, among which stand out substrates such as sugarcane, soy and corn (DE BRITO et al., 2023).

Data from scientific investigations carried out in the Amazon have shown that cupuaçu exocarp (*Theobroma grandiflorum* Willd ex-Spreng Schum) and residues from the processing of açai (*Euterpe oleracea* Mart) are also potential lignocellulosic residues that can be used in the production of *Lentinus citrinus* and *Pleurotus* species (SILVA NEVES, 2014; MACHADO, 2016; CASTILLO, 2018; BARBOSA et al., 2020).

Among the various processes used for growing edible mushrooms, the technique of using sterilized substrate in polyethylene bags allows one to grow quality products (ATILA, 2019; HAUKONGO et al., 2021; INDRATMI et al., 2024).

Solid state fermentation continues to be the main technology used for mushroom production, at a commercial level. It is a bioprocess that uses mixtures of lignocellulosic materials to supply nutritional deficiencies. From this process, at the end of fermentation, SMS (spent mushroom substrate) is produced, and it is a by-product of cultivation that contains residual nutrients that pollute the atmosphere and, if incorrectly disposed of as waste, there is a potential of ecosystem contamination. Therefore, further treatment and use of SMS are essential (KUMAR et al., 2021; RAVLIKOVSKY et al., 2024). Commonly, at the end of the fermentation process, after harvest, mushroom crop residues (SMS) are disposed of locally, either by spreading them on the ground or sending them to a landfill site. Waste prevention has top priority in order to manage them sustainably, thus reuse or recycling can be an effective way to handle this solid waste (OWAID et al., 2017).

In many countries, the substrates that remain after harvesting the mushrooms are often be discarded as waste and become environmental pollutants. As a solution, the feasibility of reuse as an ingredient for growing new mushrooms is recommended (ASRHAFI et al., 2014; OWAID et al., 2017; THAKUR et al., 2022; RAVLIKOVSKY et al., 2024). In addition to providing soil corrective effect, it acts as a bioremediation agent and a substrate for the production of other renewable energies, such as biogas, bioethanol, biohydrogen and biooil. (PHAN et al., 2012; BARBOSA et al., 2020; KUMAR et al., 2021).

Given the medicinal and nutritional importance of edible mushrooms, the need for treatment and the additional use of residues, this research presents the results for the reuse of post-cultivation residues (SMS from the production of *P. albidus* and conventional forest residues) for new crops of *P. albidus*.

Materials and Methods

Mushrooms

Pleurotus albidus DPUA 1692 was the edible mushroom species investigated in this study. To obtain the filamentous phase of *P. albidus* DPUA 1692, conceded by the DPUA collection of cultures at the Federal University of Amazonas (UFAM), was grown on GYP agar [g/L (agar 15.0 glucose 20.0, yeast extract 5 g, peptone 15 g and distilled water 1,000 mL)], pH 6.5. The culture medium was sterilized at 121 ºC for 15 minutes. All cultures were prepared in triplicate in a Petri dish. During the growth of the mushrooms, the cultures were kept at 25 ºC for 8 days. The cultures were stored at 4 °C for subsequent preparation of viable ones and use in the experiments. The basidiomata were collected and counted individually. They were weighed on an analytical balance (0.001g precision). The width and length of the pileus and stipe were measured using a caliper.

Production of *P. albidus* spawn

The spawn was prepared according to MACHADO (2017) and FONSECA et al. (2015). The wheat grains were washed, pre-cooked for 15 minutes and supplemented with calcium carbonate 0.3% (w/v, wet basis). Each spawn was formulated with 100 g of pre-cooked grains, stored in 20.3 cm x 17.8 cm high-density polyethylene bags. The bags with the grains were sterilized at 121 °C for 15 minutes. After cooling, mycelial discs with a diameter of 3 mm were inoculated on the surface of the wheat grains after removal from the cultures in GYP. The cultures were kept at 28 °C, in the absence of light until complete myceliation of the grains.

Cultivation of *P. albidus* in lignocellulosic residues

The production of *P. albidus* was performed as cited by FONSECA et al. (2015) and BARBOSA et al. (2020). The mixture of lignocellulosic residues was composed of cupuaçu exocarp (*Theobroma grandiflorum* Willd ex-Spreng Schum) and residues from the processing of açai (*Euterpe oleracea* Mart) or post-cultivation residue (SMS), with the addition of calcium carbonate 0.3% (w/v, wet basis). The formulations in different concentrations, supplemented with rice bran, on a wet basis, are listed in Table 1.

Table 1. Experimental Trial for production of *P. albidus* with reuse of post-cultivation substrate (SMS) in different concentrations

Experiments	Substrate + Supplement	%
Standard 1	Cupuaçu exocarp + Rice bran	80:20
Standard 2	Açaí processing residues + Rice bran	80:20
Standard 3	SMS + Rice bran	80:20
ET1	Cupuaçu exocarp + SMS + Rice bran	40:40:20
ET2	Cupuaçu exocarp + SMS + Rice bran	45:40:15
ET3	Cupuaçu exocarp + SMS + Rice bran	50:40:10
ET4	Açaí processing residues + SMS + Rice bran	40:40:20
ET5	Açaí processing residues + SMS + Rice bran	45:40:15
ET6	Açaí processing residues + SMS + Rice bran	50:40:10

Abbreviations: ET: Experimental Test; SMS: Post-cultivation substrate.
Source: Authors (2023).

The cultivation of the mushrooms was carried out for eight days, in the absence of light at 25 ºC, with 80% ambient humidity. After 72 hours, 2 cm perforations were made in the polyethylene bags and the cultures were kept in similar conditions until complete mycelialization of the substrate and development of the primordium. With the appearance of the primordium, the cultures were exposed to diffuse light every 12 hours at 15 ºC, for three days, until basidiomata formation. The mature basidiomata were harvested and stored in Styrofoam® trays wrapped in flexible PVC, with a capacity of 250 g of product for the nutritional composition analysis.

The calculations of productivity (P), biological efficiency (BE) and production rate (PR) were determined based on Equations 1 to 3. The loss of organic matter from the substrate (LOM) was determined based on the weight of non-dehydrated residues (Equation 4) (FONSECA *et al.,* 2015).

$$\text{BIOLOGICAL EFFICIENCY (BE)} = \frac{\textit{Mushroom mass (wet basis)}}{\textit{Substrate mass (dry basis)}} x\ 100 \quad \text{Eq.1}$$

$$\text{PRODUTIVITY (P)} = \frac{\textit{Mushroom mass (dry basis)}}{\textit{Substrate mass (dry basis)}} x\ 100 \quad \text{Eq.2}$$

$$\text{PRODUCTION RATE (PR)} = \frac{\textit{Biological Efficiency (g)}}{\textit{Total number of growing days}} x\ 100 \quad \text{Eq.3}$$

$$\text{LOM} = \frac{\textit{Weight of mycelial substrate (g)}}{\textit{Initial weight of substrate (g)}} x\ 100 \quad \text{Eq.4}$$

Determination of the physicochemical characteristics of the biomass of *P. albidus*

The basidiomata of *P. albidus* were analyzed for moisture, lipids, protein, ash and carbohydrates. Moisture was determined by dehydration in a forced air circulation oven at 40 °C to obtain a constant weight, according to AOAC (2006). The protein fraction analysis was performed using the micro Kjeldahl method (AOAC, 2006), using the factor 4.38. Lipid quantification was performed using the Bligh and Dyer method (1959). The ash was determined by incineration of the material in a muffle furnace at 550-660 °C until a constant weight was obtained, according to AOAC (2006). Crude fiber was obtained through acid-base digestion, according to the Weende method, established by AOAC (2006). Total carbohydrates were estimated by difference (100 g - total grams of moisture, protein, lipids and ash) and total energy was calculated using the Atwater conversion factor, both recommended by NEPA (2006)

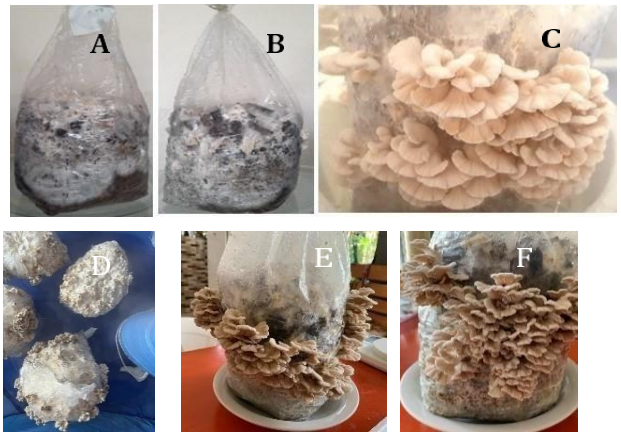
Statistical analysis

The results were submitted to statistical analysis using MiniTab, version 19.0. Descriptive tests (means), ANOVA and Tukey were used in the calculations, with 5% significance.

Results and Discussion

In this study, we investigated the production of *Pleurotus albidus*, a species of edible mushroom that colonizes ecosystems in the Amazon. The data obtained from the production of *P. albidus* are presented in Table 2. The results showed the development of P. albidus mycelial mass on all substrates; however, each substrate exhibited a characteristic development cycle. On average, the myceliation period for each substrate mixture was 14 days, while the development of the primordium to basidiomata formation took 13 days, and the basidiomata maturation period lasted 3 days.

Figure 1. Production of *P. albidus* in cupuaçu exocarp + SMS + rice bran and Açaí processing residues + SMS: (A e B) substrate myceliation; (D) formation of the primordium (E e F) formation of the basidiomata.



Souce: Authors (2023)

Table 2. Mean values of the characteristics and total yield of *P. albidus* grown in cupuaçu exocarp and in residues from the processing of açaí

Variables	Number of Basidiomata	Weight (g)	Biological Efficiency (%)	Produtivity (%)	Loss of Organic Matter - LOM	Production Rate (%)	Cap Width	Cap length	Stem length
P1	76±0,4^{t}	83±0,4^{t}	8,31 ±0,4^{e}	1,30 ±0,4^{t}	126,15±1,75^{c}	0,27 ±0,4^{e}	3,55 ±0,4^{i}	2,45 ±0,4^{h}	0,63 ±0,4^{t}
P2	50±0,4^{h}	74±0,4^{h}	7,41 ±0,4^{g}	1,32 ±0,4^{e}	125,20±1,60^{c}	0,24 ±0,4^{h}	4,54 ±0,4^{c}	0,63 ±0,4^{i}	1,01 ±0,4^{c}
P3	85±0,4^{e}	98±0,4^{e}	9,81 ±0,4^{d}	1,52 ±0,4^{d}	135,50±7,80^{b}	0,32±0,4^{d}	4,52±0,4^{g}	2,32±0,4^{g}	0,61±0,4^{e}
ET1	50± 2,5^{g}	75± 38^{g}	7,53 ±2,2^{f}	1,20 ±1,9^{g}	125,25±4,15^{c}	0,25 ±8^{f}	3,73 ±0,8^{h}	2,91 ±0,4^{e}	0,32 ±0,3^{i}
ET2	112± 2,8^{b}	148 ± 54^{b}	14,80±3,1^{a}	2,33 ±2,1^{a}	151,70±0,70^{a}	0,49 ±14^{a}	4,01±0,8^{f}	3,01±0,6^{c}	0,51±0,4^{h}
ET3	90±0,4^{c}	103 ±0,4^{c}	10,31±0,4^{b}	1,52 ±0,4^{c}	151,70±1,70^{a}	0,34 ±0,4^{c}	4,32 ±0,4^{e}	2,92 ±0,4^{d}	1,23 ±0,4^{b}
ET4	88± 2,5^{d}	102 ± 38^{d}	10,21±2,2^{c}	1,81 ±1,9^{b}	126,85±0,35^{c}	0,34 ±8^{b}	6,23 ±0,8^{a}	3,51 ±0,4^{a}	0,62 ±0,3^{d}
ET5	38± 2,8^{i}	72 ± 54^{i}	7,23 ±3,1^{h}	1,11 ±2,1^{h}	148,86±0,54^{a}	0,24 ±14^{g}	4,23 ±0,8^{d}	2,52 ±0,6^{f}	0,52 ±0,4^{g}
ET6	120±0,4^{a}	151 ±0,4^{a}	5,11 ±0,4i	1,00 ±0,4^{i}	134,25±4,03^{c}	0,17 ±0,4^{i}	4,51 ±0,4^{b}	3,01 ±0,4^{b}	1,01 ±0,4^{a}

Source: Authors, 2023. Abbreviations: **P1**: Cupuaçu exocarp + Rice bran [800:200]; **P2:** Açaí processing residues + Rice bran [800:200]; **P3:** SMS + Rice bran [800:200]. **ET1:** Cupuaçu exocarp + SMS + Rice bran [(400:400:200)]; **ET2:** Cupuaçu exocarp + SMS + Rice bran [450:400:150]; **ET3**: Cupuaçu exocarp + SMS + Rice bran [500;400;100]; **ET4:** Açaí processing residues + SMS + Rice bran [g (400:400:200)]**; ET5:** Açaí processing residues + SMS + Rice bran [450:400:150]**; ET6:** Açaí processing residues + SMS + Rice bran [500;400;100]**;**
Means followed by the same letters in the columns did not differ from one another by the Tukey's test ($\rho < 0.05$).

Table 3. Centesimal composition of *P. albidus* basidiomata produced in the substrate mixture supported by cupuaçú exocarp or in residues from the processing of açaí

Variables (%)	Moisture	Lipids	Proteín	Ash	Fiber	Carbohydrates	Caloric Value (Kcal)
P1	9,16±0,02^{a}	2,54±0,08^{d}	2,71±0,06^{i}	3,75±0,03^{g}	2,92±0,4^{e}	78,95±0,4^{d}	361±0,03^{d}
P2	5,52±0,02^{g}	3,13±0,06^{c}	4,59±0,08^{e}	9,03±0,03^{c}	3,74±0,08^{a}	74,73±0,4^{i}	357±0,03^{f}
P3	8,55±0,3^{e}	2,08±0,04^{f}	6,82±0,07^{b}	4,11±0,4^{e}	3,20±0,08^{c}	75,51±0,03^{h}	359±0,07^{e}
ET1	8,28±0,03^{f}	0,42±0,5^{i}	3,43±0,04^{f}	3,28±0,03^{i}	2,01±0,5^{i}	82,64±0,02^{a}	355±0,06^{g}
ET2	8,65±0,02^{d}	2,08±0,03^{e}	3,12±0,05^{h}	3,68±0,06^{h}	2,62±0,4^{g}	79,89±0,3^{c}	361±0,03^{c}
ET3	9,06±0,05^{c}	1,03±0,4^{h}	3,33±0,03^{g}	3,79±0,08^{f}	2,40±0,08^{h}	80,42±0,5^{b}	353±0,02^{h}
ET4	3,39±0,03^{h}	4,44±0,04^{a}	6,43±0,5^{d}	8,67±0,03^{d}	2,99±0,5^{d}	77,07±0,02^{f}	374±0,06^{a}
ET5	3,29±0,02^{i}	3,44±0,05^{b}	6,47±0,03^{c}	9,50±0,06^{b}	3,69±0,03^{b}	77,30±0,3^{e}	366±0,03^{b}
ET6	9,06±0,05^{b}	1,76±0,03^{g}	7,42±0,4^{a}	10,39±0,08^{a}	2,72±0,4^{f}	76,61±0,5^{g}	351±0,02^{i}

Source: Authors, 2023. Abbreviations: **P1**: Cupuaçu exocarp + Rice bran [800:200]; **P2:** Açaí processing residues + Rice bran [800:200]; **P3:** SMS + Rice bran [800:200]. **ET1:** Cupuaçu exocarp + SMS + Rice bran [(400:400:200)]; **ET2:** Cupuaçu exocarp + SMS + Rice bran [450:400:150]; **ET3**: Cupuaçu exocarp + SMS + Rice bran [500;400;100]; **ET4:** Açaí processing residues + SMS + Rice bran [g (400:400:200)]**; ET5:** Açaí processing residues + SMS + Rice bran [450:400:150]**; ET6:** Açaí processing residues + SMS + Rice bran [500;400;100]**;**
Means followed by the same letters in the columns did not differ from one another by the Tukey's test ($\rho < 0.05$).

The number of basidiomata varied among the substrate mixtures, with ET5 (açaí processing residue [45] + SMS [40] + rice bran [15]) demonstrating a lower number of basidiomata (68.33%) compared to the significant number (120 basidiomata) observed in ET6 (açaí processing residue [50] + SMS [40] + rice bran [10]).

In the ET5 substrate (açaí processing residue [45] + SMS [40] + rice bran [15]), lower biomass (52.32%) was observed compared to the significant value (151 g) determined in ET6 (açaí processing residue [50] + SMS [40] + rice bran [10]). The results presented in Table 2 demonstrate that P. albidus achieved significant values for Biological Efficiency, Productivity, and Production Rate (148%, 23%; 0.49%) when produced on ET2 (cupuaçu exocarp [45] + SMS [40] + rice bran [15]). It can be inferred that the addition of SMS to the substrate mixture contributed positively to the development of P. albidus under the evaluated cultivation conditions, reducing production costs and enhancing sustainability by utilizing clean technologies for food production.

Regarding the loss of organic matter, significant values were determined in ET2, ET3, and ET5, respectively. The basidiomata of P. albidus exhibited different shapes, with significant characteristics observed (cap width, cap length, and stem length) when grown on açaí processing residues and cupuaçu exocarp with SMS. A smaller size was recorded in the other substrates (Table 3). In substrate mixtures, the dimensions of the basidiomata were significant in ET4 (açaí processing residue [40] + SMS [40] + rice bran [20]) and ET6 (açaí processing residue [50] + SMS [40] + rice bran [10]).

In these substrates, ET5 (açaí processing residue [45] + SMS [40] + rice bran [15]) also showed lower biomass (52.32%) when compared to the significant value (151g) observed in ET6 (açaí processing residue [50] + SMS [40] + rice bran [10]). The results presented in Table 2 demonstrate that P. albidus achieved significant values for Biological Efficiency, Productivity, and Production Rate (148%, 23%; 0.49%) when produced in ET2 (cupuaçu exocarp [45] + SMS [40] + rice bran [15]). It can be inferred that the addition of SMS to the substrate mixture contributed positively to the development of P. albidus under the evaluated cultivation conditions, reducing production costs and promoting sustainability through the use of clean technologies for this food production.

Several techniques can be used for mushroom cultivation to produce high-quality products. However, the use of sterilized substrates in polyethylene bags and the utilization of regionally available organic materials facilitate mushroom production, supporting strategies for commercial purposes (INDRATMI et al., 2024). Research has demonstrated the effectiveness of cupuaçu exocarp and other organic substrates available in various ecosystems of the Amazon, which are viable for mushroom growth and bioactive compound production

(COELHO et al., 2022; PIMENTA et al., 2021). Additionally, the data provided by Souza et al. (2021) showed that the biomass of mushrooms produced on these substrates exhibited nutritional characteristics that can enhance food products due to their significant fiber content (14.23%), protein (8.61%), and minerals (5.26%).

The results presented in Table 3 show that the addition of SMS to the substrate mixture using cupuaçu exocarp or açaí processing residue for P. albidus production resulted in the growth and production of basidiomata (Figure 1) with relevant nutritional characteristics. In these substrates, on a dry basis, the nutrient content of P. albidus biomass varied according to the concentration and composition of the substrate mixtures.

Among the mixtures listed in Table 3, those containing açaí processing residue predominated in the biomass of P. albidus, with significant lipid content (4.44%), protein (7.42%), ash (10.39%), and carbohydrates (77.30%). In the cupuaçu exocarp, only the carbohydrate content (82.64%) was significant. Among the mixtures with SMS and rice bran or without SMS, significant moisture content (91.6%) and fiber (3.74%) were observed, respectively. This variation in centesimal composition may be related to the composition of the substrates used for the cultivation of P. albidus (LACERDA, 2021; RODRIGUES; OKURA, 2022).

Besides influencing the nutritional content, appropriate substrates for mushroom cultivation impact production costs, cultivation time, biological efficiency, and yield (HAUKONGO et al., 2021).

Considering the above, edible mushrooms can be consumed fresh or as supplements with other foods, given their relevant protein content and low lipid content compared to animal protein and other vegetable sources. Their use in diets may help prevent cardiovascular diseases, type 2 diabetes (DM2), and other chronic diseases (CRISPIM, 2023).

According to the Brazilian Food Composition Table (TBCA, 2013), 100g of beef contains, on average, 15g of protein, while the mushrooms studied showed an average of 7g of protein per 100g. Since the cultivation method is sustainable, owing to the reintroduction of SMS in the production chain for new crops, the principles of the circular economy are evident when evaluating this bioprocess. The basidiomata also present an optimal amount of protein when compared to conventional production cycles without the addition of SMS (PIMENTA, 2021; MACHADO, 2017).

Mushrooms are food products that contribute nutrients to diets, including proteins, vitamins, minerals, fibers, and more. In the Amazonian ecosystems, various mushroom species colonize different organic substrates, providing viable products that foster economic development, either as food or in other industrial sectors, especially pharmaceuticals, for producing bioactive compounds. Therefore, new production strategies and adaptations for native edible mushroom species are essential activities, contributing to the generation of knowledge, meeting nutritional and health demands, and creating new employment and income opportunities for local populations. Supporting this context, Kirsch (2016) demonstrated that P. albidus biomass can be used as food or as a supplement for developing new food products, offering positive health effects for the population

Conclusion

The results showed the development of the mycelial mass and basidiomes of *Pleurotus albidus* in all the substrates evaluated; however, the characteristics of the residues (cupuaçu exocarp and residues from açaí processing with or without addition of SMS) influence the development cycle of the mushroom. Nutritionally, the low fat content and high protein content constitute the biomass from the mushrooms developed in formulations containing residues from the processing of açai mixed with SMS. Furthermore, the technological process used for *in vitro* growth of *P. albidus* is viable for production of this species of edible mushroom.

Acknowledgements

We thank the Federal University of Amazonas (UFAM) through the PPGBIOTEC – Biotechnology Graduate Program. Special thanks to my advisor, Professor Dr. Maria Francisca Simas Teixeira, and to the members of our research group at the Medical and Industrial Mycology Laboratory at the Biological Sciences Institute – UFAM. We also acknowledge the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) for providing financial support for this research.

References

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of AOAC International. 18.ed. atual. Gaithersburg, **MA: AOAC International**, 2006.

ADEWOLE, Taiwo Scholes; OGIDI, Clement Olusola; KUKU, Adenike. Bioactivities of calocybe indica protein combined with cell-free supernatant of lactobacilli from a fermented cereal against free radicals and microorganisms. **Journal of Food Bioactives**, v. 18, 2022.

AKCAY, Caglar; CEYLAN, Faik; ARSLAN, Recai. Production of oyster mushroom (Pleurotus ostreatus) from some waste lignocellulosic materials and FTIR characterization of structural changes. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 12897, 2023.

ATILA, Funda. Compositional changes in lignocellulosic content of some agro-wastes during the production cycle of shiitake mushroom. **Scientia Horticulturae**, v. 245, p. 263-268, 2019.

BARBOSA, Elliza *et al*. Salmon oyster mushroom: growth characteristics and protease production on a laboratory scale: Cogumelo ostra salmão: características de crescimento e produção de proteases em escala laboratorial. **Concilium**, v. 23, n. 2, p. 367-379, 2023.

BARBOSA, E. E. P. *et al.* Cultivo de cogumelo comestível em resíduos lignocelulósicos de floresta tropical para produção de proteases. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p. 92475-92485, 2020.

BLIGH, E. Graham; DYER, W. Justin. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian journal of biochemistry and physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

BULAM, Sanem; ÜSTÜN, Nebahat; PEKŞEN, Aysun. Oyster mushroom (Pleurotus ostreatus) as a healthy ingredient for sustainable functional food production. **Mantar Dergisi**, v. 13, n. 3, p. 131-143, 2022.

CASTILLO, Teresa A. *et al.* Mycelial growth and antimicrobial activity of Pleurotus species (Agaricomycetes). **International journal of medicinal mushrooms**, v. 20, n. 2, 2018.

CETIN, Mehmet; ATILA, Funda. The potential of bioinoculants in enhancing the mushroom productivity. In: **BIO Web of Conferences**. EDP Sciences, 2024. p. 01049.

COELHO, Maria *et al.* Ciclo de produção de cogumelos comestíveis cultivados em resíduos lignocelulósicos da fruticultura Amazônica: um estudo de caso. Concilium, v. 22, n. 2, p. 284-294, 2022.

CRISPIM, Renata Barros et al. Potencial nutricional de cogumelos comestíveis (Pleurotus djamor) cultivados em resíduos agrícolas. 2023.

DE BRITO, Diego de Mello Conde *et al.* The World Mushroom Market and Brazil's Role: Industrial Integration as a Key for Competitiveness. **International Journal of Professional Business Review: Int. J. Prof. Bus. Rev.**, v. 8, n. 11, p. 11, 2023.

NEPA. Tabela de Composição de Alimentos. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação.UNICAMP. Campinas, Brasil., 2006. 105 p.

FONSECA, T.R.B. *et al.* Produção em matriz sólida e caracterização parcial das proteases de cogumelo comestível da floresta Amazônica. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. v.8, n.1, p: 1227-1236. 2015.

HAUKONGO, Kristine. Effects of different substrates as medium for mushrooms cultivation. 2021.

INDRATMI, Dian *et al.* Utilization of Rice Husk Waste and Gliricidia to Pink Oyster Mushroom Production and Nutritional Content. In: **BIO Web of Conferences**. EDP Sciences, 2024. p. 00007.

KIRSCH, Larissa de Souza; MACEDO, Ana Júlia Porto de; TEIXEIRA, Maria Francisca Simas. Production of mycelial biomass by the Amazonian edible mushroom Pleurotus albidus. **brazilian journal of microbiology**, v. 47, n. 3, p. 658-664, 2016.

KUMAR, Krishan *et al.* Edible mushrooms: A comprehensive review on bioactive compounds with health benefits and processing aspects. **Foods**, v. 10, n. 12, p. 2996, 2021.

KUMLA, Jaturong *et al.* Cultivation of mushrooms and their lignocellulolytic enzyme production through the utilization of agro-industrial waste. **Molecules**, v. 25, n. 12, p. 2811, 2020.

LACERDA, Sthefany. COGUMELOS COMESTÍVEIS: BENEFÍCIOS À SAÚDE, MERCADO E ASPECTOS A RESPEITO DA SUA PRODUÇÃO. **Agron Food Academy**. UNESP Campus de Botucatu São Paulo, p. 1-4, 2021.

MACHADO, Ana Rita Gaia *et al.,* Nutritional value and proteases of Lentinus citrinus produced by solid state fermentation of lignocellulosic waste from tropical region. **Saudi journal of biological sciences**, v. 23, n. 5, p. 621-627, 2016.

_____, A.R.G. *et al.* Production and characterization of proteases from edible mushrooms cultivated on amazonic tubers. African Journal of Biotechnology. v.16, n.46, p: 2160-2166. 2017.

MAGALHÃES, Alessandra Alves *et al.* Produção e caracterização de enzimas proteolíticas de Lentinus crinitus (L.) Fr. 1825 DPUA 1693 do bioma amazônico (Polyporaceae). **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi-Ciências Naturais**, v. 14, n. 3, p. 453-462, 2019.

MARTÍN, Carlos et al. Spent substrate from mushroom cultivation: exploitation potential toward various applications and value-added products. **Bioengineered**, v. 14, n. 1, p. 2252138, 2023.

NEVES, Kilma Cristiane Silva *et al.* Produção de proteases coagulantes por espécies de Pleurotus em resíduos vegetais da Amazônia. 2014.

PIMENTA, Laynah *et al.* Processo eco-amigável para selecionar substrato Lignocelulósico para produção de peptidases ácidas. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 3469-3479, 2021.

RODRIGUES, Gabriela; OKURA, Mônica Hitomi. Cogumelos comestíveis no Brasil: uma revisão bibliográfica. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 8, p. e24711830830-e24711830830, 2022.

SOUZA, F. R. A. *et al.* Biopolímeros na indústria de alimentos: do aproveitamento de resíduos agroindustriais a produção de biopolímeros. **Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 4, 2021.

OMOWAYE-TAIWO, O. A.; OLUWAMUKOMI, M. O.; BOLADE, M. K. Antioxidant and Anti-Ulcer Potentials of Bread Supplemented with Lentinus squarrosulus (Mont.) Mushroom. **Nigerian Food Journal**, v. 41, 2023.

CAPÍTULO 2

Potencial do Substrato Pós Cultivo (SMS) de Cogumelo Comestível para a Produção de Proteases de Importância Industrial

REVISTA DELOS

DOI: 10.55905/rdelosv18.n63-214
ISSN: 1988-5245

Originals received: 12/30/2024
Acceptance for publication: 01/23/2025

Potencial do substrato pós cultivo (SMS) de cogumelo comestível para a produção de proteases de importância industrial

Potential of spent mushroom substrate (SMS) for the production of industrially important proteases

Potencial del sustrato de post-cultivo de hongos comestibles (SMS) para la producción de proteasas de importancia industrial

Victor da Silva Almeida
Mestre em Engenharia de Processos
Instituição: Universidade Federal do Pará
Endereço: Manaus – Amazonas, Brasil
E-mail: admvictor2@outlook.com

Ana Rita Gaia Machado
Doutora em Biodiversidade e Biotecnologia
Instituição: Universidade Federal do Amazonas
Endereço: Manaus – Amazonas, Brasil
E-mail: ritamachado.nutri@hotmail.com

Elliza Emily Perrone Barbosa
Mestra em Biotecnologia
Instituição: Universidade Federal do Amazonas
Endereço: Manaus – Amazonas, Brasil
E-mail: elliza.perrone01@gmail.com

Laynah Pimenta
Mestra em Biotecnologia
Instituição: Universidade Federal do Amazonas
Endereço: Manaus – Amazonas, Brasil
E-mail: laynahpimenta7@gmail.com

Karoline dos Santos Araújo
Mestra em Biotecnologia
Instituição: Universidade Federal do Amazonas
Endereço: Manaus – Amazonas, Brasil
E-mail: araujo.karoline96@gmail.com

Salomão Rocha Martim
Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia
Instituição: Universidade Federal do Amazonas
Endereço: Manaus – Amazonas, Brasil
E-mail: salomao.martim@gmail.com

Tiara Sousa Cabral
Doutora em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva
Instituição: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
Endereço: Manaus – Amazonas, Brasil
E-mail: tiarascabral@ufam.edu.br

Maria Francisca Simas Teixeira
Doutora em Ciências Biológicas
Instituição: Universidade Federal do Amazonas
Endereço: Manaus – Amazonas, Brasil
E-mail: mteixeira@ufam.edu.br

RESUMO
As proteases são enzimas de grande importância industrial, sendo as de origem fúngica as mais comercializadas, devido as diversas aplicações biotecnológicas e vantagens econômicas. Em destaque, as proteases advindas de Basidiomycetes ganharam atenção especial nas indústrias. Além disso, o SMS demonstrou ser substrato potencializador tanto na produção de cogumelos comestíveis, quanto na síntese de proteases. O objetivo deste estudo foi avaliar o reuso de diferentes concentrações de SMS (*Spent Mushroom Substrate*) na síntese de proteases por *P. albidus* DPUA 1692 e caracteriza-las bioquimicamente.. A cultura matriz foi preparada em ágar GYP [Glicose, peptona e extrato de levedura 0,5%) . esterilizado a 121ºC por 15 minutos. As culturas foram mantidas a 25 ºC por 8 dias. A fermentação em estado sólido ocorreu nos substratos: em Exocarpo de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), Resíduo do Processamento do Açaí (*Euterpe oleracea)*, suplementados com farelo de arroz (*Oryza sativa*) 0,5% (p/v). As proteases foram extraídas em água destilada esterilizada. A partir do extrato bruto, foi determinada a atividade de proteasesutilizando-se como substrato azocaseína 1 % (p/v), as proteases foram submetidas a caracterização enzimática pH, temperatura, estabilidade, íons e inibidores. *P. albidus* excretou proteases em todos os SMS testados. No entanto, com atividades ótimas em ET2 (Exocarpo de Cupuaçu [45] + SMS [40] + Farelo de Arroz [15]) (144,75 U/ml) e ET5 (Resíduo do Processamento do Açaí [45] + SMS [40] + Farelo de Arroz [15]) (461,20 U/ml). As proteases expressaram atividade ótima em pH levemente ácido, a 60 °C, com estabilidade de 30 °C a 40 °C, em pH 5,0 a 6,0. Assim, foi observada a predominância de cisteíno, aspártico, e serina proteases, dados que demonstram alta aplicabilidade destas enzimas na indústria farmacêutica e de alimentos.

Palavras-chave: enzimas, proteases, SMS, cogumelos comestíveis.

ABSTRACT
Proteases are enzymes of great industrial importance, with those of fungal origin being the most commercialized due to their diverse biotechnological applications and economic advantages. In particular, proteases from Basidiomycetes have gained special attention in the industry. In addition, SMS has been shown to be a potentiating substrate for both the production of edible mushrooms and the synthesis of proteases. The aim of this study was to evaluate the reuse of different concentrations of SMS (Spent Mushroom Substrate) in the synthesis of proteases by P. albidus DPUA 1692 and to characterize them biochemically. The matrix culture was prepared on GYP agar (glucose, peptone and yeast extract 0.5%), sterilized at 121ºC for 15 minutes. The cultures were kept at 25ºC for 8 days. Solid-state fermentation took place on the substrates:

cupuaçu exocarp (Theobroma grandiflorum), açaí processing residue (Euterpe oleracea), supplemented with 0.5% (w/v) rice bran (Oryza sativa). The proteases were extracted in sterilized distilled water. From the crude extract, protease activity was determined using azocasein 1% (w/v) as a substrate, and the proteases were subjected to enzymatic characterization pH, temperature, stability, ions and inhibitors. P. albidus excreted proteases in all the SMS tested. However, with optimum activities in ET2 (Cupuaçu Exocarp [45] + SMS [40] + Rice Bran [15]) (144.75 U/ml) and ET5 (Açaí Processing Residue [45] + SMS [40] + Rice Bran [15]) (461.20 U/ml). The proteases expressed optimum activity at a slightly acidic pH of 60 °C, with stability from 30 °C to 40 °C at pH 5.0 to 6.0. Thus, a predominance of cysteine, aspartic and serine proteases was observed, data which demonstrates the high applicability of these enzymes in the pharmaceutical and food industries.

Keywords: enzymes, proteases, SMS, edible mushrooms.

RESUMEN

Las proteasas son enzimas de gran importancia industrial, siendo las de origen fúngico las más comercializadas debido a sus diversas aplicaciones biotecnológicas y ventajas económicas. En particular, las proteasas de Basidiomycetes han ganado especial atención en la industria. Además, se ha demostrado que el SMS es un sustrato potenciador tanto para la producción de hongos comestibles como para la síntesis de proteasas. El objetivo de este estudio fue evaluar la reutilización de diferentes concentraciones de SMS (Spent Mushroom Substrate) en la síntesis de proteasas por P. albidus DPUA 1692 y caracterizarlas bioquímicamente. El cultivo matriz se preparó en agar GYP (glucosa, peptona y extracto de levadura al 0,5%), esterilizado a 121ºC durante 15 minutos. Los cultivos se mantuvieron a 25ºC durante 8 días. La fermentación en estado sólido tuvo lugar en los sustratos: exocarpio de cupuaçu (Theobroma grandiflorum), residuo de procesamiento de açaí (Euterpe oleracea), suplementado con 0,5% (p/v) de salvado de arroz (Oryza sativa). Las proteasas se extrajeron en agua destilada esterilizada. A partir del extracto crudo, se determinó la actividad proteásica utilizando azocaseína al 1% (p/v) como sustrato, y las proteasas se sometieron a caracterización enzimática pH, temperatura, estabilidad, iones e inhibidores. P. albidus excretó proteasas en todos los SMS ensayados. Sin embargo, con actividades óptimas en ET2 (Exocarpo de Cupuaçu [45] + SMS [40] + Salvado de Arroz [15]) (144,75 U/ml) y ET5 (Residuo de Procesamiento de Açaí [45] + SMS [40] + Salvado de Arroz [15]) (461,20 U/ml). Las proteasas expresaron una actividad óptima a un pH ligeramente ácido de 60 °C, con una estabilidad de 30 °C a 40 °C a un pH de 5,0 a 6,0. Así pues, se observó un predominio de las proteasas de cisteína, aspártico y serina, datos que demuestran la gran aplicabilidad de estas enzimas en las industrias farmacéutica y alimentaria.

Palabras clave: enzimas, proteasas, SMS, hongos comestibles.

1 INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos, uma das principais preocupações ambientais está relacionada ao desenvolvimento de tecnologias ecológicas renováveis (Mohan *et al.,* 2017). Deste modo, conceitos como "economia circular" ganham notoriedade, devido ao seu modelo econômico ser totalmente voltado para uso eficiente de recursos, com o potencial de levar o desenvolvimento sustentável a partir do reaproveitamento de materiais e, consequentemente, evitar o esgotamento de recursos e a degradação ambiental (Korhonen *et al.*, 2018; Morseletto, 2020; Barbosa *et al*., 2021).

A Economia Circular é compreendida como um modelo econômico que tem como estratégia o foco na utilização eficiente dos recursos, reciclagem e recuperação de materiais após o fim de determinado ciclo, promovendo a minimização dos resíduos, com valor a longo prazo em retenção, redução dos recursos primários dentro dos limites da proteção ambiental e dos benefícios socioeconômicos (Morseletto, 2020).

Desse modo, a produção de cogumelos tem se tornado alternativa sustentável, poi coopera para redução de matéria orgânica e minimiza o conteúdo de poluentes ambientais, eles também agregam valor a produtos de baixo custo como os resíduos agroindustriais. Assim, desenvolvendo premissas baseadas na bioeconomia e biorrefinaria (Kirsch *et al*, 2013; Machado *et al.* 2016; Prado *et al.,* 2021, Brito *et al*, 2021).

A região amazônica, apresenta uma diversidade de resíduos agroindustriais como exocarpo de cupuaçu (*Theobroma grandiflrum* Willd. *ex-Spreng Schum)* e resíduos do processamento do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), estes que são substratos promissores para crescimento de cogumelos comestíveis (Fonseca *et al.,* 2014, Machado *et al.*, 2017, Barbosa *et al*., 2020; Pimenta *et al.,* 2021).

Mundialmente, cogumelos comestíveis movimentam U$ 35 bilhões ao ano, existindo perspectiva de aumento em 2024, com liderança na produção em ordem decrescente, a China, Estados Unidos e Holanda (Stephen *et al*. 2020).

O cultivo de cogumelo está difundido globalmente e, sua produção global tem aumentado significativamente desde 2010 (Kumla *et al.,* 2020). Considerando este fato, a comercialização de espécies de cogumelos comestíveis está estimada em crescimento de 9,7% ao ano para o setor

até 2030. E o faturamento global do mercado deve saltar de U$ 50,27 bilhões em 2021 para U$ 115,79 bilhões em 2030 (Ramalho *et al,.* 2024; Vandewalle, 2020; Barbosa *et al.,* 2020).

Só entre 2015 e 2022, a importação do produto em conserva deu um salto de 70%, saindo de cerca de 7 mil toneladas para pouco mais de 12 mil toneladas, segundo dados do Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços (MDIC).

Cogumelos comestíveis são produtos alimentícios saudáveis, altamente ricos em proteínas, fibras, minerais e vitaminas, além de baixos teores de lipídios. Apesar do seu valor nutricional, muitos cogumelos podem ser fontes de bioativos de importância industrial e medicinal. (Wendiro *et al*., 2019; Coelho *et al* 2021; Santana *et al* 2022; Almeida *et al.*, 2024).

Dentre os os fungos basidiomicetos, destacam-se gênero *Pleurotus*. Essas espécies são conhecidas por sua capacidade de degradar componentes complexos da biomassa vegetal, como a lignina, e de secretar uma variedade de enzimas, incluindo as proteases (Da Silva *et. al.,* 2021; Gurumallesh *et al.* 2019, Sakovich *et al.,* 2020).

Dos processos de bioconversão utilizados para produção de biomassa desses cogumelos comestíveis em exocarpo de cupuaçu, resíduos do processamento do açaí, serragem, serrapilheira, entre outros, resultam os resíduos pós cultivo (SMS), que são descartados ao término do processo de produção, sendo potencial contaminante ambiental (Owaid. *et al.*, 2017; Rathod *et al.,* 2023).

Diante disso, o aproveitamento do resíduo pós-cultivo da produção de cogumelos, como fonte de nutrientes, surge como alternativa para a reintrodução destes substratos em novos ciclos de cultivo, pois podem reduzir os custos e o tempo de um novo bioprocesso (Abreu *et. al.,* 2020; Almeida *et al.,* 2024; Rathod *et al.,* 2023).

Em uma pesquisa realizada na Índia foi avaliado SMS como substrato para crescimento de cogumelo e fertilizante na plantação de *Spinacia Oleracea* (Espinafre), como resultado foi observado a redução do tempo de germinação e o aumento do rendimento (Siddhant, 2009). Ashrafi *et al.* (2014) concluíram que SMS pode ser uma grande solução para redução da deposição de resíduos no ambiente, pois trata-se de um ingrediente que promove o crescimento e o desenvolvimento dos basidiomas (corpos de frutificação).

Com isso, a reciclagem de resíduos urbanos e agroindustriais demonstra grande importância frente a necessidade econômico-ambiental. Outros estudos realizados versando sobre a utilização do substrato pós-cultivo (SMS) de *Agaricus subrufescens* e *Pleurotus ostreatus*

na produção de alface e rúcula, demonstraram o efeito positivo do uso de SMS como adubo para vegetais (Abreu, 2019).

Portanto, a importância deste estudo se fundamenta na busca de solução em termos de gestão de produção por meio da avaliação da cadeia produtiva da espécie a fim de inferir o impacto do reuso de SMS na produção enzimas proteolíticas.

Quando se trata da região Amazônica, inexistem estudos que demonstrem esse reuso com finalidade de fomentar a produção de cogumelos comestíveis a partir do reuso dos resíduos pós cultivo na Biodiversidade Amazônica e agregando valor aos processos produtivos de enzimas.

Portanto, o presente estudo investigou a viabilidade do reaproveitamento de resíduos pós-cultivo (SMS) na produção e caracterização bioquímica de proteases por um cogumelo da Amazônia.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *PLEUROTUS*

Pleurotus é um gênero de cogumelos comumente conhecido como cogumelo ostra. São apreciados pelas suas qualidades culinárias e cultivados em todo o mundo. Caracterizam-se pelo seu formato distinto, semelhante a conchas de ostras, e apresentam-se em diversas cores dependendo da espécie. Os cogumelos ostra não são apenas deliciosos, mas também nutritivos (Raman *et al*., 2021).

Espécies de cogumelos comestíveis são versáteis na culinária e podem ser usados em diversos pratos. Os cogumelos também são conhecidos pela sua capacidade de crescer numa variedade de substratos, incluindo resíduos lignocelulósicos como resíduo de processamento do açaí e exocarpo de cupuaçu, tornando-os escolhas populares para cultivo em explorações de cogumelos (Putzke *et al*., 2018; Raman *et al*., 2021).

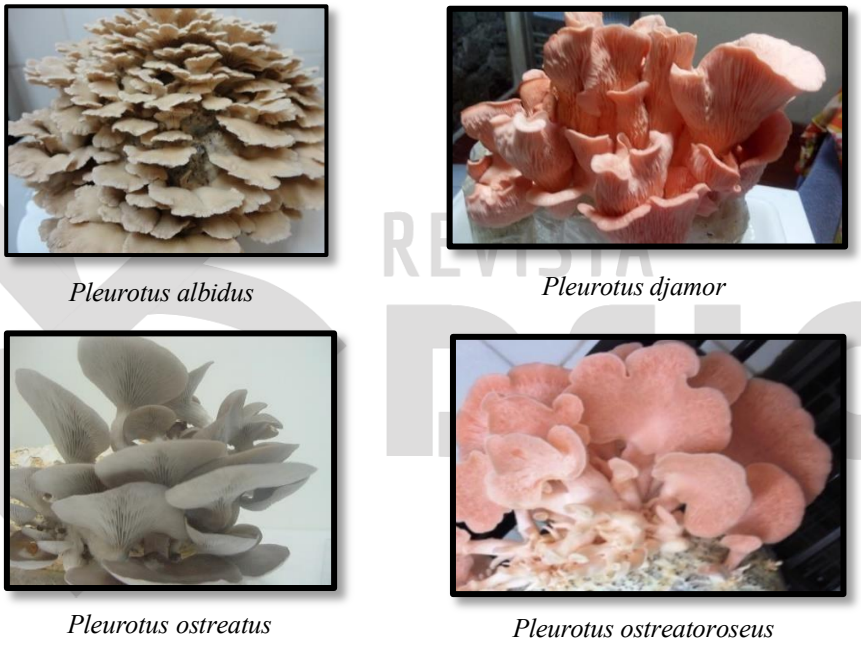
Além dos seus usos culinários, os cogumelos também foram estudados pelos seus potenciais medicinais, capacidade de secretar substâncias bioativas, incluindo as proteases com importante aplicação biotecnológica (Duarte-Trujillo *et al*., 2020; Machado *et al*.,2017).

Tais cogumelos podem ser cultivados em larga escala, usando diferentes métodos de cultivo, como meio líquido ou através de resíduos lignocelulósicos agroindustriais (meio sólido).

Cerca de 998 milhões de toneladas de agro resíduos são produzidos anualmente, incluindo arroz, trigo e palhas de cereais (Raman *et al*., 2021; Machado, 2017; Putzke *et al*., 2018; Raman *et al*., 2021).

Na Amazônia, estudos têm sido desenvolvidos e os resultados demonstram que a utilização de *Pleurotus ostreatoroseus, P. ostreatus, P. djamor* e *P. albidus* (Figura 1), tem impacto positivo na formulação de bioprodutos, como forma de promover o consumo de cogumelos pela população como alimentos saudáveis (Kirsch *et al*, 2013; Machado *et al*, 2017; Martim *et al*, 2017; Brito *et al*., 2021).

Figura 1. Espécies de *Pleurotus*



Pleurotus albidus *Pleurotus djamor*

Pleurotus ostreatus *Pleurotus ostreatoroseus*

Fonte: Herbário Micológico Jair Putzke/ Universidade Federal do Amazonas - UFAM

2.2 TECNOLOGIA DA FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO

Existem muitas formas de cultivo de cogumelos e pode variar desde a atividade agrícola até indústria altamente tecnológica. Pesquisas são realizadas sobre o melhor método de cultivo de *Pleurotus* quanto a composição do substrato, teor nutricional, uma vez que ocupam o terceiro lugar de cogumelos mais produzidos e comercializados mundialmente (Royse *et al*., 2017; Yamed *et al*., 2021).

A fermentação em estado sólido, consiste no desenvolvimento de organismos na superfície de materiais sólidos que apresentam a propriedade de absorver ou de conter água, com ou sem nutrientes solúveis (Fonseca *et al*., 2015; Singh *et al*., 2019).

A composição de cada resíduo varia com relação a fonte de carbono e proteínas, fatores determinantes na produção de cogumelos e produção de alimentos através da bioconversão. Dessa forma, para se obter uma melhor eficiência e rendimento na produção de basidiomas, o ideal é que ocorra a suplementação de resíduos lignocelulósicos para obter satisfatoriamente condições nutricionais para cada fungo (Raman *et al*., 2021).

Como substrato suporte, estão os resíduos lignocelulósicos, que são considerados como recurso natural renovável, variando a sua composição dependendo de sua origem (Adebayo; Martinez-Carrera, 2015).

A utilização de resíduos lignocelulósicos (exocarpos, endocarpos, madeiras e serragem), além de constituir uma alternativa viável para a produção de cogumelos através da bioconversão, auxilia no gerenciamento adequado desses resíduos que seriam descartados no ambiente de forma irregular (Wyman *et al*., 2018; Julian *et al*., 2019).

Espécies de *Pleurotus* sintetizam enzimas capazes de degradar diferentes substratos, condição que favorece o cultivo desses cogumelos em diversas matrizes lignocelulósicas (IQBAL *et al*., 2024).

2.3 ENZIMAS

As enzimas, são moléculas orgânicas compostas por proteínas, são catalisadores biológicos que aumentam a velocidade das reações químicas nos organismos vivos. Seja na digestão, produção de energia, crescimento ou regulação hormonal, as enzimas desempenham papéis cruciais no equilíbrio do corpo (Enzyme,2021; Nelson e Cox, 2018).

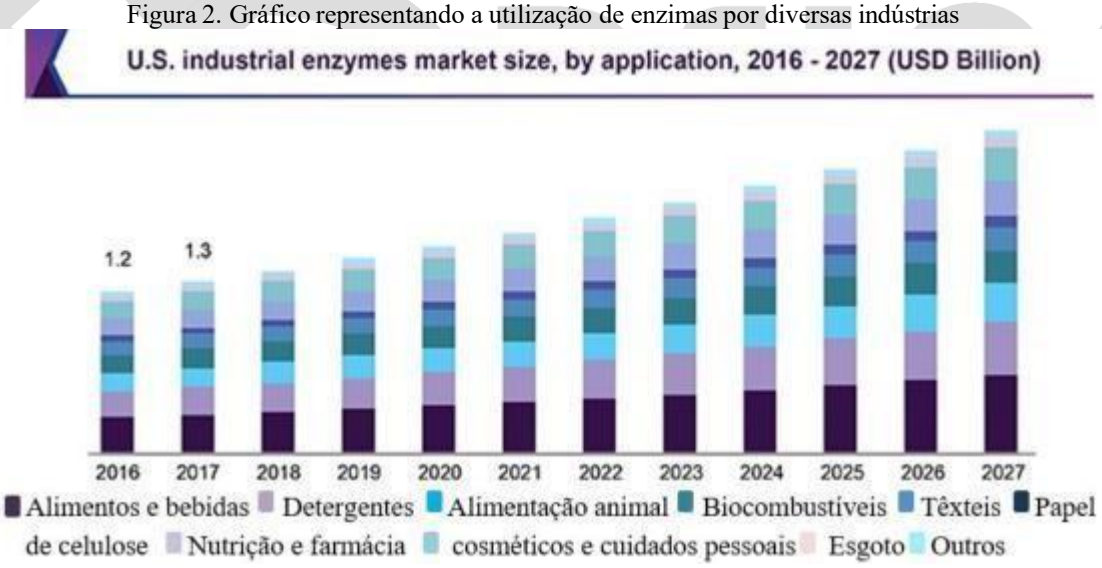
A complexidade estrutural das enzimas pode exigir a presença de coenzimas ou cofatores para o funcionamento adequado. A diversidade dessas moléculas levou à necessidade de uma classificação baseada no tipo de reação catalisada. Assim, as enzimas são divididas em seis classes principais: oxidorredutases, transferases, hidrolases, liases, isomerases e ligases (Pimenta *et al.,* 2021; Benchaya *et al.,* 2022; Barreto, 2024).

2.4 APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS DAS PROTEASES

As proteases possuem capacidade de degradar proteínas e encontram amplas aplicações em diversos setores industriais. A indústria alimentícia, por exemplo, utiliza proteases para o amaciamento de carnes e a melhoria das propriedades texturais de diversos produtos (Dos Santos *et al.,* 2023; Pascoto, 2021). Na indústria farmacêutica, essas enzimas são empregadas na produção de medicamentos e na terapia de doenças. Além disso, as proteases são amplamente utilizadas em detergentes, no tratamento de couro e em procedimentos estéticos, como o peeling (Talabera *et al*., 2024)

Nascimento *et al*., (2021) apresenta um estudo que destaca a importância econômica das proteases evidenciada por dados analisados de mercado. Segundo a *Grand View Research*, o mercado mundial de enzimas, no qual as proteases ocupam uma parcela significativa, atingiu um valor estimado em 14,9 bilhões de dólares em 2020. Essa projeção demonstra o crescente interesse industrial pelas proteases e suas diversas aplicações biotecnológicas.

Figura 2. Gráfico representando a utilização de enzimas por diversas indústrias



Fonte: Nascimento et. al, 2021 adaptado de Grand View Reserach, 2019

A compreensão detalhada do mecanismo de ação dessas enzimas, bem como de sua diversidade estrutural e funcional, é essencial para o desenvolvimento de novas aplicações biotecnológicas. As proteases, em particular, destacam-se como um exemplo emblemático da importância das enzimas na indústria e na sociedade como um todo.

A biotecnologia tem sido um importante aliado da indústria alimentícia, proporcionando

soluções inovadoras para a produção de alimentos de alta qualidade. As proteases, enzimas de origem biológica, destacam-se nesse contexto, sendo amplamente utilizadas para otimizar as características sensoriais e funcionais de diversos produtos. Seja na produção de laticínios, carnes, bebidas ou panificação, as proteases contribuem para a obtenção de alimentos com sabor, textura e valor nutricional aprimorados, atendendo às demandas de um mercado cada vez mais exigente (Silva *et al*., 2020).

3 METODOLOGIA

Pleurotus albidus DPUA 1692 foi cedido do acervo da Coleção de Culturas DPUA, da Universidade Federal do Amazonas - UFAM, cultivado em ágar GYP [g/L (Glicose, peptona, extrato de levedura 0,5%). O meio de cultura foi esterilizado a 121ºC por 15 minutos. Todos os cultivos foram preparados em triplicata, em placa de Petri. Durante o crescimento dos cogumelos, as culturas foram mantidas a 25 ºC por oito dias.

3.1 PRODUÇÃO DE *P. ALBIDUS* (SPAWN)

O Spawn foi preparado de acordo com Fonseca *et al*., (2015) e Machado (2017) . Os grãos de trigo foram lavados, pré-cozidos por 15 minutos e suplementados com carbonato de cálcio 0,3% (p/v, base úmida). Cada spwan foi formulado com 100 g de grãos pré-cozidos, armazenados em sacos de polietileno de alta densidade de 20,3 cm x 17,8cm. Os sacos com os grãos foram esterilizados a 121° C durante 15 minutos. Após resfriamento, na superfície dos grãos de trigo foram inoculados 15 discos miceliais de 3 mm de diâmetro, obtidos das culturas em GYP. Os cultivos foram mantidos a 28 °C, na ausência de luz até completa miceliação dos grãos.

3.2 CULTIVO *P. ALBIDUS* EM RESÍDUO LIGNOCELULÓSICO

A produção de *P. albidus* foi realizada conforme citado por Fonseca *et al*., (2015) e Barbosa *et al*., (2020), na mistura de resíduos lignocelulósicos, exocarpo de cupuaçu (*Theobroma grandiflrum Willd ex-Spreng Schum*) e resíduo do processamento do açaí (*Euterpe oleracea Mart*) ou em resíduo pós-cultivo (SMS). As formulações em diferentes concentrações,

suplementadas com farelo de arroz, em base úmida como suplemento foram realizadas conforme delineamento experimental apresentado na tabela 1, a seguir:

Tabela 1. Delineamento Experimental para produção de *P. albidus* no substrato pós-cultivo (SMS), em diferentes concentrações

Experimentos	Substrato +Suplemento	%
Padrão 1	Exocarpo de Cupuaçu + Farelo de Arroz	80:20
Padrão 2	Resíduo do Processamento do Açaí + Farelo de Arroz	80:20
Padrão 3	SMS + Farelo de Arroz	80:20
ET1	Exocarpo de Cupuaçu + SMS + Farelo de Arroz	40:40:20
ET2	Exocarpo de Cupuaçu + SMS + Farelo de Arroz	45:40:15
ET3	Exocarpo de Cupuaçu + SMS + Farelo de Arroz	50:40:10
ET4	Resíduo do Processamento do Açaí + SMS + Farelo de Arroz	40:40:20
ET5	Resíduo do Processamento do Açaí + SMS + Farelo de Arroz	45:40:15
ET6	Resíduo do Processamento do Açaí + SMS + FA	50:40:10

Legenda: ET: Experimento Teste; EC: Exocarpo de Cupuaçu; RPA: Resíduo do Processamento do Açaí; SMS: Substrato Pós Cultivo; FA: Farelo de Arroz.
Fonte: Autores (2023).

O cultivo do cogumelo foi realizado durante oito dias, na ausência de luz a 25º C, com 80% de umidade ambiental. Após 72 horas, nos sacos de polietileno foram feitas perfurações de 2 cm e, os cultivos foram mantidos em condições similares até completa miceliação do substrato e desenvolvimento dos primórdios. Com o aparecimento dos primórdios, os cultivos foram expostos à luz difusa a cada 12 horas a 15º C, por três dias, até formação dos basidiomas. Os basidiomas maduros foram colhidos e armazenados em bandejas de isopor envoltos em PVC flexíveis, com capacidade para 250g do produto para as análises posteriores.

3.3 EXTRAÇÃO DE PROTEASES

Após a colheita dos basidiomas de *P. albidus*, estes foram desidratados em desidratadora com controle de temperatura e circulação de ar forçado a 60º C, posteriormente triturada em Miniprocessador com Função Pulsar (modelo MP120B2, 110V). Por conseguinte, para obtenção do extrato bruto, as amostras foram extraídas em água destilada esterilizada [1:5 (substrato: água, p/v)], 30°C, 180 rpm, por 30 minutos. As enzimas foram recuperadas por papel de filtro Whatman nº 1 por filtração a vácuo.

3.4 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE QUANTITATIVA DE PROTEASES

Para determinação da atividade das proteases, foi utilizado o extrato bruto advindo dos basidiomas obtidos das diferentes concentrações de SMS previamente extraídas em água destilada, este que foi centrifugado a 4.000 rpm.

A atividade quantitativa das proteases foi determinada de acordo com citação de Barbosa *et al.* (2020). Um volume de 150 µL de extrato bruto foi adicionado em 250 µL de solução de azocaseína 1 % (p/v) em tampão Tris-HCl 0,1 M, pH 7,2. Os tubos de reação foram mantidos por uma hora a 25 °C em câmara escura, em temperatura ambiente. A reação foi interrompida adicionando-se 1,2 mL de ácido tricloroacético 10 % (p/v). Em seguida a amostra foi submetida a centrifugação por 10 minutos a 10000 rpm, a 4 °C. De cada sobrenadante foram retirados 0,8 mL e transferidos para tubos de ensaio contendo 1,4 mL de hidróxido de sódio 1 M. Como branco foi utilizada solução de azocaseína 1 % (p/v) em tampão Tris-HCl 0,1 M, pH 7,2. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 440 nm.

3.4.1 Caracterização das Proteases

3.4.1.1 Efeito do pH e da temperatura na atividade e estabilidade das proteases

Para determinação do pH ótimo, a atividade proteolítica de *P. albidus* foi determinada a 25°C, em diferentes faixas de pH usando as seguintes soluções tampão 0,1 M: Citrato Fosfato (pH 5,0-6,0), Tris-HCl (pH 7,0-8,0), Glicina-NaOH (pH 9,0-10). A temperatura ótima foi determinada incubando o extrato enzimático com a azocaseína em diferentes temperaturas (30 a 80 °C), por uma hora (Braga *et al*., 2020). No teste de estabilidade ao pH, o extrato bruto foi disperso (1:1, v/v) nas seguintes soluções tampão 0,2 M: Citrato Fosfato 0,2 M (pH 5,0-6,0), Tris-HCl 0,2M (pH 7,0-8,0), Glicina-NaOH (pH 9,0- 10), por uma hora, 25 °C. Para o estudo da estabilidade térmica, os extratos enzimáticos foram incubados em diferentes temperaturas variando de 30 a 80 °C por uma hora. (Braga *et al*., 2020).

3.4.1.2 Efeito de inibidores e íons metálicos na atividade das peptidases

O efeito de inibidores na atividade das proteases foi determinado conforme Martim *et al.* (2017). Os extratos enzimáticos foram incubados nas condições ótimas de pH e de temperatura por 30 minutos com diferentes inibidores de proteases (10 mM): etilenodiamino tetra-acético (EDTA), Ácido Iodoacético, Fluoreto de Fenilmetilsulfonila (PMSF) e Pepstatina 1mM. O efeito dos íons metálicos foi determinado nas soluções (10mM): sulfato ferroso (FeSO4), sulfato de manganês (MnSO4), sulfato de magnésio (MgSO4), cloreto de sódio (NaCl), sulfato de zinco (ZnSO4), cloreto de potássio (KCl), cloreto de cálcio (CaCl2) e sulfato de cobre (CuSO4). A atividade enzimática residual da mistura reacional utilizando solução de azocaseína a 1% (p/v) foi comparada com o branco e, os valores de 100% foram estabelecidos sem inibidores ou íons metálicos (Barbosa *et al*., 2020).

4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados dos experimentos realizados em triplicata foram submetidos a análise de variância e às médias comparadas pelo teste de Tukey ($P<0,05$), utilizando o programa estatístico Minitab, versão 19.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados apresentados na tabela 2 demonstraram que *Pleurotus albidus* sintetizou proteases em todas as condições de cultivo avaliadas (tabela 1). A atividade significativa das proteases foi detectada em **ET2** (Exocarpo de Cupuaçu [45] + SMS [40] + Farelo de Arroz [15]) (144,76 U/ml), **ET5** (Resíduo do Processamento do Açaí [45] + SMS [40] + Farelo de Arroz [15]) (461,20 U/ml) e no **Padrão 3** (SMS [80] + Farelo de Arroz [20]) (137,73 U/ml). Nas três condições avaliadas, a adição de SMS estimulou a síntese de proteases, confirmando o potencial da reutilização desse resíduo, além disso nas concentrações de **ET2** e **ET5** as proporções de SMS e Resíduos foram iguais, corroborando para essa análise.

A caracterização das enzimas foi realizada nas concentrações significativas de excreção de proteases, sendo elas **ET2** e **ET5**A tabela 2, demonstra o efeito da atividade de proteases em

diferentes concentrações de tratamento dos SMS e padrão nos resíduos de exocarpo de cupuaçu e resíduo de processamento de açaí. Em todos os tratamentos realizados houve excreção de proteases. Assim, sendo possível verificar síntese significativa de proteases em **ET5** (461,20 ± 4,78 U/mL).

Tabela 2. Média de atividade quantitativa de proteases de *P. albidus* DPUA 1692 em diferentes concentrações de resíduos lignocelulósicos.

Substrato	Atividade Proteolítica (U/ml)
Experimentos Padrões Convencionais	
Padrão 1	$128,11 \pm 8,80^{c}$
Padrão 2	$224,44 \pm 5,16^{b}$
Padrão 3	$137,73 \pm 3,60^{a}$
Experimentos com Exocarpo de Cupuaçu	
ET 1	$132,40 \pm 10,91^{b}$
ET 2	$144,75 \pm 9,55^{a}$
ET 3	$124,27 \pm 2,71^{c}$
Experimentos com Resíduo do Processamento do Açaí	
ET4	$371,69 \pm 11,04^{b}$
ET 5	$461,20 \pm 4,78^{a}$
ET6	$322,69 \pm 4,26^{c}$

Legenda: ET: Experimento Teste; EC: Exocarpo de Cupuaçu; RPA: Resíduo do Processamento do Açaí; SMS: Substrato Pós Cultivo; FA: Farelo de Arroz.
Médias seguidas por letras iguais não são diferentes significativamente pelo Teste de Tukey ($p<0,05$).
Fonte: Autores (2023).

As proteases de *P. albidus* foram estimuladas significativamente nas amostras de ET2 e ET5. Estes resultados demonstram a eficácia no reuso de SMS como fonte promissora para novos ciclos de cultivo e síntese enzimática.

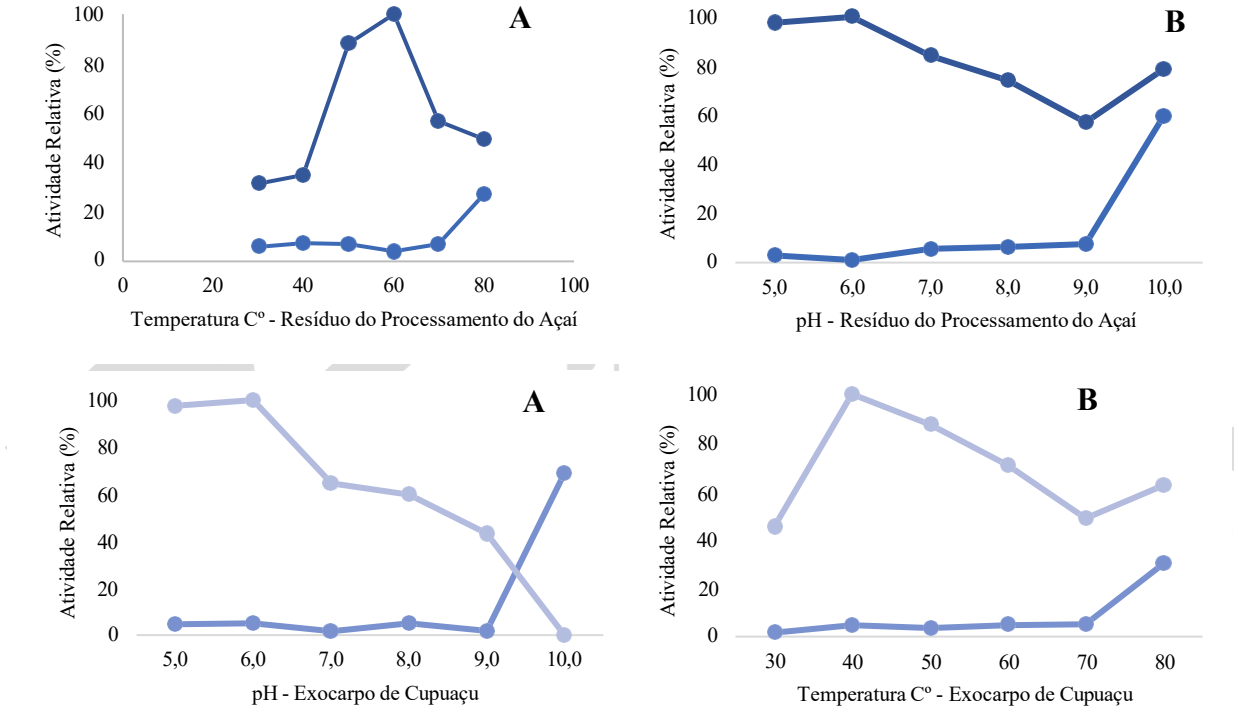
Um dos fatores influenciadores neste resultado é que a razão C/N de 9 a 15:1 encontrada no SMS, favorece o crescimento e desenvolvimento dos basidiomas, pois são elementos fundamentais para os crescimentos dos cogumelos (Costa *et al*., 2022). Além disso, apresenta características como elevado teor de água, nutrientes e baixa densidade, de modo que este substrato pode ser selecionado na produção de hortaliças (Contato *et al.,* 2022).

Siqueira *et al*., (2021), afirma que além de diversas vantagens com relação a aspectos físico-químicos, o SMS é rico em microrganismos, o que pode contribuir na promoção do crescimento de cogumelos, consequentemente, estimulando proteases de importância industrial, além de proporcionar um equilíbrio fitossanitário para as culturas, por possibilitar que alguns desses microrganismos induzam resistência nas plantas contra alguns patógenos.

A produção de proteases por cogumelos comestíveis apresenta um grande potencial biotecnológico. Diversos fatores, como a fisiologia do fungo, a composição dos resíduos

lignocelulósicos e as condições de cultivo, influenciam a síntese dessas enzimas. A utilização de resíduos agroindustriais como substrato para a produção de proteases representa uma estratégia promissora para a obtenção de bioprodutos de alto valor agregado, além de contribuir para a sustentabilidade ambiental e a redução de custos de produção (Eline *et al.*, 2024; Razzaq *et al.*, 2019).

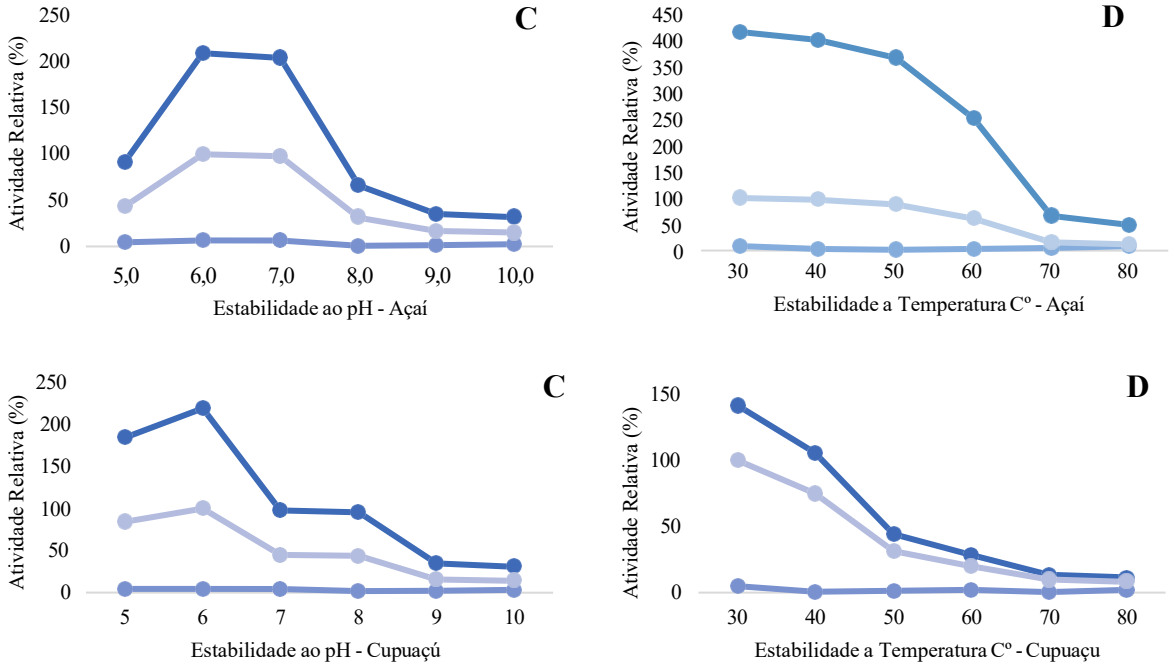
Figura 3: (A) Efeito do pH na atividade de proteases. (B) Efeito da temperatura na atividade de proteases de *P.albidus*.



Fonte: Autores, 2024.

O efeito do pH na atividade de proteases sintetizada por *P. albidus*, em exocarpo de cupuaçu e resíduo do processamento de açaí está demonstrado na **Figura 3A.** *P. albidus* excretou proteases em todos os pH testados. As atividades significativas foram obtidas, em pH 6,0, com decréscimo nos valores de pH superiores para ambas as amostras de ET2 e ET5. *P. albidus* excretou proteases em todas as temperaturas testadas, conforme demonstrado na **Figura 3B**. No entanto, apresentou temperatura ótima das proteases produzidas em exocarpo de cupuaçu em 40ºC em ET2, nos cultivos em ET5 a temperatura ótima foi verificada a 60ºC.

Figura 4: (C) Efeito da estabilidade do pH na atividade de proteases. (D) Efeito da estabilidade temperatura na atividade de proteases de *P.albidus*.



Fonte: Autores, 2024.

Na figura 4, as proteases apresentaram estabilidade entre 30º e 40º C, com decréscimo de atividade em temperaturas acima de 50 ºC. No entanto, as proteases advindas dos extratos da produção em exocarpo de cupuaçu foram estáveis em pH 5,0 e 6,0. Enquanto as proteases produzidas no extrato de açaí apresentaram estabilidade entre pH 6,0 e 7,0, reduzindo atividade enzimática em pH superiores.

Resultado similar foi descrito por Abdel-Rahma *et al*. (2018) para as proteases de *P.albidus*. A relevância das proteases com pH ótimo entre 5,0 e 8,0 é evidente em diversos estudos. Bajic *et al*., (2022); Santana *et al.,* (2022) Nolli *et al.,* (2022), destacaram a importância destas proteases em diferentes segmentos industriais.

A aplicabilidade dessas enzimas é ampla, abrangendo desde a digestão de proteína de soja para a produção de molho até a degradação de glúten na indústria de panificação (Teixeira *et al*., 2011; Singh *et al*., 2017; Brito *et al*., 2019).

Em estudos de Pimenta *et al.* (2021) realizada com resíduos lignocelulósicos para produção de enzimas por *P. albidus*, os resultados demonstraram ser significativos no cultivo em exocarpo de cupuaçu suplementado com farelo de arroz, reafirmando a efetividade e o êxito do resíduo para produção destas enzimas. Estudos realizados por Barbosa *et al.* (2020) com uma

espécie de *Pleurotus* foi constatado que as proteases demonstraram características bioquímicas similares aos obtidos nesta pesquisa, como temperatura ótima a 40 °C, estabilidade em pH 5,0-6,0 e temperatura na faixa de 30-40 °C.

O efeito de substâncias inibidoras e íons metálicos na atividade das proteases de *P.albidus* está citado na tabela 3. A pesquisa revelou que as proteases não foram sensíveis aos inibidores de metaloproteases (EDTA) e cisteíno proteases (Ácido Iodoacético), os quais apresentaram 100% de atividade residual. No entanto, a enzima reteve atividade inferior em média a 66,68 % quando submetida aos inibidores PMSF ou Pepstatina das proteases obtidas em resíduo de processamento de açai. As proteases provenientes dos extratos de exocarpo de cupuaçu não demonstraram serem afetadas por EDTA, no entanto reteram em média 35,68% de atividade nos demais inibidores.

Épossível inferir que os inibidores são muito utilizados para identificar o grupo do sítio ativo da enzima (Abdel-Rhaman *et al*.,2018). Assim, estes resultados sugerem a predominância de serino protease e aspártico protease nos extratos obtidos de resíduo de processamento de açaí. Por se tratar de um extrato bruto, as proteases obtidas dos extratos de exocarpo de cupuaçu podem ser classificadas como cisteíno, aspártico, e serina proteases.

Machado *et al.* (2017) também verificaram a presença de metaloproteases no extrato de *P. ostreatoroseus* . Sabotič *et al.* (2007) citaram que no extrato de *P. ostreatus* (Jacq.) P. Kumm 1871 há presença significativa de cisteinoproteases.

Com relação aos resultados referentes ao efeito de íons metálicos na atividade das proteases, estão demonstrados na Tabela 3. Nos extratos de resíduo de processamento de açaí, todos os íons exerceram forte influência nas proteases de *P. albidus*, causando redução de atividade de proteases. No entanto, podemos considerar que nos extratos do exocarpo de cupuaçu os íons cobre e manganês tiveram baixa influencias nas proteases, em média, 69,27% em relação aos demais íons testados.

Tabela 3. Efeito de íons e substâncias inibidoras nas atividades de Proteases produzidas no Açaí e no Cupuaçu

Inibidores Substâncias	**Atividade Residual (%) - Açaí**	**Atividade Residual (%) - Cupuaçu**
Controle	100±0,7	100±0,90
EDTA	118,78±0,33[a]	74,33±0,42[a]
PMSF	33,70±0,75[c]	37,99±0,06[c]
Ácido Iodoacético	109,81±0,50[b]	22,24±0,90[d]
Pepstatina	32,93±0,49[d]	46,83±0,49[b]
Íons (10 Mm)	**Atividade Residual (%) – Açaí**	**Atividade Residual (%) - Cupuaçu**
Controle	100,00±0,32	100,00±0,37
Cobre (CuSo)	90,64±0,26[h]	40,29±0,88[g]
Zinco (ZnSO4)	113,79±0,83[c]	84,91±0,03[f]
Potássio (KCl)	108,12±0,76[e]	100,85±0,64[d]
Cálcio (CaCl2)	111,50±0,97[d]	88,31±0,25[e]
Magnésio (MgSO4)	114,77±0,82[b]	103,81±0,16[b]
Ferro (FeSo4)	163,69±0,8[a]	210,70±0,55[a]
Manganês (MnSO4)	97,79±0,85[g]	21,17±0,61[h]
Sódio (CaCl2)	103,45±0,24[h]	103,54±0,51[c]

Fonte: Autores, 2024.

No setor industrial, há uma busca constante por novas fontes de enzimas com alta estabilidade frente a variações de pH, temperatura, íons metálicos, surfactantes e solventes orgânicos, pois essas características são determinantes para a aplicação das enzimas em processos industriais (Sharma *et al*., 2019).

Os estudos realizados por Barbosa *et al.* (2020) evidenciaram que os íons metálicos apresentam impacto significativo na atividade de proteases de *P. ostreatoroseus.* Nesse contexto, observou-se que os íons Mn^{2+} e Fe^{2+} inibiram completamente a atividade enzimática dessas proteases.

Em outro estudo que foi realizado por Pimenta *et al.,* 2021, foi identificado que o exocarpo de cupuaçu combinado com farelo de arroz demonstrou ser um resíduo lignocelulósico eficiente para a produção de peptidases pelo fungo *Pleurotus albidus*. As enzimas obtidas apresentaram atividade ótima em pH levemente ácido, a uma temperatura de 40 °C, mantendo estabilidade térmica entre 40 °C e 60 °C, em faixas de pH de 5,0 a 7,0. Dados muito próximos dos encontrados nesse estudo.

Por outro lado, os íons Zn^{2+} e Cu^{2+} reduziram a atividade enzimática em 59,32% e 52,0%, respectivamente. Na presença de outros íons, a retenção da atividade enzimática foi superior a 75%. De maneira semelhante, Martim *et al.* (2017) constataram que os íons Cu^{2+} e Zn^{2+} promoveram uma leve inibição das peptidases ou proteases de *P. albidus*. Entretanto, estudos de Choi *et al.* (2017) e Machado *et al.* (2017) relataram que os mesmos íons (Cu^{2+} e Zn^{2+}) resultaram

em uma redução mais acentuada na atividade proteolítica, com valores de 95% e 60% para *P. ostreatoroseus e P. ferulae*, respectivamente.

6 CONCLUSÃO

Diante do estudo realizado, verificou-se que as amostras analisadas de ET2 e ET5, dentre todas as amostras, foram as que demonstraram atividade significativa quanto a síntese de proteases, além de terem as mesmas proporções de SMS nas concentrações de resíduos avaliadas.

Todavia, constatou-se que o ET5 (resíduo do processamento do açaí com SMS e farelo de arroz) mostrou-se o mais eficaz e eficiente na síntese de proteases por *P. albidus* quando comparado ao ET2. Essas enzimas expressaram atividade ótima em pH **levemente ácido**, a 60 °C, com estabilidade de 30 °C a 40 °C, em pH 5,0 a 6,0.

Diante disso foi observada a predominância de cisteíno, aspártico, e serina proteases demonstrando aplicabilidade na industria farmacêutica e de alimentos.

REFERÊNCIAS

ABREU, C. G. Utilização do Substrato Pós-Cultivo (SMS) DE Agaricus subrufescens e Pleurotus ostreatus na Produção de Alface e Rúcula. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Lavras: Minas Gerais, 2019.

A.O.A.C. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of AOAC International. 18.ed. atual. Gaithersburg, MA: AOAC International, 2005.

ADEBAYO, E. A.; MARTINEZ-CARRERA, D. Oyster mushrooms (Pleurotus) are useful for utilizing lignocellulosic biomass. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 1, p. 52-67, 2015.

ALMEIDA, V da S *et al*. PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL E COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DE COGUMELO COMESTÍVEL EM CONSÓRCIOS DE RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS DA AMAZÔNIA. **Revista Geama**, v. 10, n. 3, p. 13-18, 2024.

ASHRAFI, R. *et al*. Reuse of spent mushroom substrate as casing material for the production of milky white mushroom. Journal of the Bangladesh Agricultural University, v. 15, n. 2, p. 239-247, 2017.

_____. *et al*. Recycling of spent mushroom substrate for the production of oyster mushroom. **Research in Biotechnology**, v. 5, n. 2, 2014.

ATILA, F. Compositional changes in lignocellulosic content of some agro-wastes during the production cycle of shiitake mushroom. Scientia Horticulturae, v. 245, p. 263-268, 2019.

BAJIĆ, B *et al*. Biotechnological production of sustainable microbial proteins from agro-industrial residues and by-products. **Foods**, v. 12, n. 1, p. 107, 2022.

BARBOSA, E. E. P. *et al*. Cultivo de cogumelo comestível em resíduos lignocelulósicos de floresta tropical para produção de proteases. Brazilian Journal of Development, v. 6, n. 11, p. 92475-92485, 2020.

BARRETO, R A. Produção e caracterização bioquímica funcional de peptidases do fungo termofílico Myceliophthora heterothallica. 2024.

BESUFEKAD, Y *et al*. Selection of appropriate substrate for production of oyster mushroom (Pleurotus ostreatus). Journal of Yeast and Fungal Research, v. 11, n. 1, p. 15-25, 2020.

BONFÁ, L. J. O desperdício de frutas, verduras e legumes em supermercados. 2017.

BRITO, A. K. P. *et al*. Avaliação de substratos de floresta tropical para cultivo e produção de proteases por Pleurotus djamor. Research, Society and Development, v. 10, n. 3, p. e31810313385, 2021.

BRITO, A. K. P. de *et al*. Produção de uma espécie de cogumelo salmão comercial para elaboração de um produto alimentício. 2021.

COELHO, M. P. S. L.V. *et al*. Alternativa fontes nutricionais para desenvolvimento da fase

micelial e produção de hidrolases por cogumelo comestível de floresta tropical / Alternative of nutritional sources for the development of the mycellial phase and production of hydrolases by edible mushroom from tropical forest. Brazilian Journal of Development, v. 7, n. 3, p. 22890–22907, 2021.

COELHO, M. P. S. L. V.; BARBOSA, E. E. P.; PIMENTA, L.; BATISTA, S. C. P.; PRADO,

F. B.; MARTIM, S. R. M.; FILHO, R. F. C.; TEIXEIRA M. F. S. Alternativa de fontes nutricionais para desenvolvimento da fase micelial e produção de hidrolases por cogumelo comestível de floresta tropical. Brazilian Journal of Development. v.7, n.3, p. 22890-22907 Curitiba. 2021.

CONTATO, A G *et al*. Pleurotus pulmonarius: A protease-producing white rot fungus in lignocellulosic residues. **International Microbiology**, v. 26, n. 1, p. 43-50, 2023.

COSTA, J L *et al*. Mushroom poisoning in Portugal. Acta Médica Portuguesa, v. 24, p. 269-278, 2015.

DA SILVA, C C *et al*. Utilização do bagaço de malte da indústria cervejeira como substrato para produção de pectinase por cogumelos. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 4, n. 4, p. 5042-5060, 2021.

DA SILVA SANTANA, R *et al*. Cultivation conditions and biochemical characterization of the proteolytic enzymes with fibrinolytic action obtained from mushrooms in the last ten years. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 14, p. e530111436652-e530111436652, 2022.

DE AGUIAR, L V B *et al*. Growth of different strains of Pleurotus ostreatus in lignocellulosic biomasses. **Concilium**, v. 22, n. 6, p. 324-334, 2022.

DE AZEVEDO BENCHAYA, G *et al*. Proteases de uma espécie da família Trichocomaceae para aplicação na indústria de alimentos. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 16, p. e547111638525-e547111638525, 2022.

DE MATOS BRITO, E C *et al*. Produção e caracterização parcial de proteases aspárticas sintetizadas por Lentinus crinitus (L.) Fr. 1825 DPUA 1693 (Polyporaceae). **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi-Ciências Naturais**, v. 14, n. 3, p. 463-472, 2019.

DOS SANTOS, I G C *et al*. Prospecção de linhagens fúngicas produtoras de enzimas hidrolíticas a partir de substratos agroindustriais usados em nutrição animal. 2023.

DUARTE-TRUJILLO, A S *et al*. Extracción de sustancias bioactivas de Pleurotos ostreatus (Pleurotaceae) por maceración dinámica. **Acta biológica colombiana**, v. 25, n. 1, p. 61-74, 2020.

ENZYME. Search by enzyme class. Disponível em: (https://enzyme.expasy.org/cgi-bin/enzyme/enzyme-search-cl?2). Acesso em 20 mar. 2021.

FONSECA, T. R. B.; BARRONCAS, J. F.; TEIXEIRA, M. F. S. Produção em matriz sólida e Caracterização parcial das proteases de cogumelo comestível da Floresta Amazônica. Revista

Brasileira de Tecnologia Agroindustrial, v. 8, n. 1, 2014.

FONSECA, T. R. B. *et al*. Cultivation and nutritional studies of an edible mushroom from North Brazil. African Journal of Microbiology Research, v. 9, n. 30, p. 1814–1822, 2015.

FONSECA, T.R.B. *et al*. Produção em matriz sólida e caracterização parcial das proteases de cogumelo comestível da floresta Amazônica. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial. v.8, n.1, p: 1227-1236. 2015.

GURUMALLESH, P. *et al*. A systematic reconsideration on proteases. International journal of biological macromolecules, v. 128, p. 254-267, 2019.

IAC. Instituo Agronômico. Bioeconomia cultivando a vida e colhendo o futuro. Vol. 70. 2018. SILVA, M. F. O. S.; PEREIRA, F. S.; MARTINS, J. V. B. A bioeconomia em números. Banco Nacional do Desenvolvimento Setorial. V.47, n.1, p. 277- 332. 2019.

IQBAL, S; TIRPANALAN-STABEN, Ö; FRANKE, K. Effect of solid-state fermentation with Pleurotus ostreatus on the protein content and other nutritional components of de-seeded carob fruits. **Sustainable Food Technology**, v. 2, n. 5, p. 1537-1544, 2024.

JULIÁN, I; GUEVARA, S. Is circular economy the key to transitioning towards sustainable development? Challenges from the perspective of care ethics. **Futures**, v. 105, p. 67-77, 2019.

KIRSCH, L de S; MACEDO, A J P de; TEIXEIRA, M F S. Production of mycelial biomass by the Amazonian edible mushroom Pleurotus albidus. **brazilian journal of microbiology**, v. 47, n. 3, p. 658-664, 2016.

_____. *et al*. Produção da biomassa de Pleurotus albidus por fermentação submersa para elaboração de barras de cereais. 2013.

KORHONEN, J; HONKASALO, A; SEPPÄLÄ, J. Circular economy: the concept and its limitations. Ecological economics, v. 143, p. 37-46, 2020.

MACHADO, A R G *et al*. Nutritional value and proteases of Lentinus citrinus produced by solid state fermentation of lignocellulosic waste from tropical region. Saudi journal of biological sciences, v. 23, n. 5, p. 621-627, 2016.

_____, A.R.G. *et al*. Production and characterization of proteases from edible mushrooms cultivated on amazonic tubers. African Journal of Biotechnology. v.16, n.46, p: 2160-2166. 2017.

_____, A R G *et al*. Elaboração de um produto de panificação à base de crueira e cogumelo comestível. 2015.

MAHMOUD ABDEL RAHMA BANI FAWAZ, S. The Effectiveness of a Bibliotherapy in Facing Shyness among Al-Jouf University Undergraduate Students. **مجلة البحوث في مجالات التربية النوعية**, v. 4, n. 17, p. 89-117, 2018.

MARTIM, S R *et al*. Proteases ácidas de cogumelo comestível da Amazônia para aplicabilidade industrial. Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi-Ciências Naturais, v. 12,

n. 3, p. 353-362, 2017.

MOHAN, S. V. *et al*. Waste biorefinery models towards sustainable circular bioeconomy: critical review and future perspectives. Bioresource technology, v. 215, p. 2-12, 2016.

MORSELETTO, P. Targets for a circular economy. Resources, Conservation and Recycling, v. 153, p. 104553, 2020.

NASCIMENTO, T CES *et al*. Antarctic fungus proteases generate bioactive peptides from caseinate. **Food Research International**, v. 139, p. 109944, 2021.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 7ed. Artmed Editora, 2018.

NOLLI, M M *et al*. Evaluation of the milk clotting potential and characterization of proteases from Aspergillus sp. and Pleurotus albidus. **Acta Sci Technol**, v. 44, p. e57766, 2022.

OWAID, M N; ABED, I Ali; AL-SAEEDI, S S S. Applicable properties of the bio-fertilizer spent mushroom substrate in organic systems as a byproduct from the cultivation of Pleurotus spp. **Information Processing in Agriculture**, v. 4, n. 1, p. 78-82, 2017.

PASCOTO, C F G. Biocompatibilidade da membrana de celulose bacteriana implantada no subcutâneo, intramuscular e intraperitoneal-Estudo experimental em ratos Wistar. 2021.

PRADO, F B *et al*. Viabilidade da produção de proteases por espécies de Aspergillaceae e triagem de coagulantes do leite bovino. Brazilian Journal of Development, v. 7, n. 2, p. 16356-16373, 2021.

PIMENTA, L., BARBOSA, E. E. P., BRITO, A. K. P., MARTIM, S. R., TEIXEIRA, M. F. S. Processo eco-amigável para selecionar substrato lignocelulósico para produção de peptidases ácidas. Brazilian Journal of Development. v. 7, n.1, p. 3469-3479. 2021.

PUTZKE, J.; MTL, P. Cogumelos (fungos Agaricales) no Brasil-Ordens Boletales (Boletaceae e Paxillaceae), Polyporales (Polyporaceae/Lentinaceae), Russulales(Russulaceae) e Agaricales (Cortinariaceae, Inocybaceae, Pluteaceae e Strophariaceae). São Gabriel, v. 2, 2018.

PUTZKE, M. T. L., PUTZKE, J. Identificação de espécies de cogumelos comestíveis e tóxicas da família Agaricaceae (fungos - Agaricomycetes) encontradas no Brasil. Brazilian Applied Science Review. v.5, n.1, p.391-416. Curitiba. 2021.

RAMAN, J., JANG, K. Y., OH, Y. L., OH M., IM, J. H., LAKSHMANAN, H.,

SABARATNAM, V. Cultivation and Nutritional Value of Prominent Pleurotus spp.: An Overview. Mycobiology. V. 49, N. 1, p. 1–14. 2021.

RAMALHO, J B *et al*. Propriedades alimentícias, nutracêuticas e farmacêuticas da Spirulina: uma revisão da literatura científica. 2024.

RATHOD, M G *et al*. Comparative study of nutritional composition of oyster mushroom Pleurotus florida cultivated on different consortiums of substrates. **IJISET-International Journal of Innovative Science, Engineering & Technology**, v. 10, n. 1, p. 201-207, 2023.

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.

SAKOVICH, V. V. Structural and functional peculiarities of aspartic proteases of basidiomycetes. Biopolymers & Cell, v. 36, n. 2, p. 87, 2020.

STEFFEN, Gerusa Pauli Kist *et al*. ASPECTOS TÉCNICOS SOBRE A PRODUÇÃO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS EM SUBSTRATOS ORGÂNICOS. ASPECTOS TÉCNICOS SOBRE A PRODUÇÃO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS EM SUBSTRATOS ORGÂNICOS, p. 1-388–416. 2020.

SIDDHANT, C.; SINGH, S. Recycling of spent oyster mushroom substrate to recover additional value. Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology, v. 5, n. 2, p. 66-71, 2009.

SILVA, M. Z. R. *et al*. Biotechnological potential of a cysteine protease (CpCP3) from Calotropis procera latex for cheesemaking. Food chemistry, v. 307, p. 125574, 2020.

SINGH, R. S. K. *et al*. Statistical optimization of solid-state fermentation for the production of fungal inulinase from apple pomace. Bioresource Technology Reports, v.9, n.1, p:100364. 2019.

SHARMA, B., DANGI, A. K., & SHUKLA, P. (2019). Contemporary enzyme based technologies for bioremediation: a review. Journal of Environmental Management, 210, 10-22.

TALABERA, A P P *et al*. Macromorphological characterization of filamentous fungi isolated from ripened cheese samples as potential protease producers. **OBSERVATÓRIO DE LA ECONOMÍA LATINOAMERICANA**, v. 22, n. 11, p. e7743-e7743, 2024.

VANDEWALLE-CAPO, M *et al*. 13 The biotechnological potential of yeast under extreme conditions. In: Biotechnological Applications of Extremophilic Microorganisms. De Gruyter, 2020. p. 313-356.

WENDIRO, D., WACOO, A. P., WISE, G. Identifying indigenous practices for cultivation of wild saprophytic mushrooms: responding to the need for sustainable utilization of natural resources. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine. v. 1, n.1, p: 15-65. 2019.

WYMAN, V., HENRÍQUEZ, J., PALMA, C., CARVAJAL, A. Lignocellulosic waste valorisation strategy through enzyme and biogas production. Oyster Mushroom (Pleurotus Species); A Natural Functional Food. Jounral Microbiol Biotech Food Sci. N.7, vol. (3), 254-264. 2018.

YAHME, N. B. K., DAUPTAIN, E., LAJNEF, I., CARRERE, H., TRABLY, E., SMAALI, I., New sustainable bioconversion concept of date byproducts (Phoenix dactylifera L.) to biohydrogen, biogas and date-syrup. International journal o f hydrogen energ., n.1, vol. 4 6, 297 e 305. 2021.

CAPÍTULO 3

Análise de Custo da Produção de Cogumelo Cosmestível da Biodiversidade Amazônica: Um Estudo de Caso da Produção em Escala Laboratorial

REVISTA CUADERNOS

CUADERNOS DE EDUCACIÓN Y DESARROLLO
Europub European Publications
ISSN: 1989-4155

DOI: 10.55905/cuadv17n2-004

Receipt of originals: 1/3/2025
Acceptance for publication: 1/28/2025

Análise de custo da produção de cogumelo cosmestível da biodiversidade amazônica: um estudo de caso da produção em escala laboratorial

Cost analysis of the production of a cosmetic mushroom from amazonian biodiversity: a case study of laboratory-scale production

Análisis de costes de la producción de un hongo cosmético a partir de la biodiversidad amazónica: estudio de un caso de producción a escala de laboratorio

Victor da Silva Almeida
Mestre em Engenharia de Processos
Instituição: Universidade Federal do Pará (UFPA)
Endereço: Av. Gen. Rodrigo Octávio, 6200, Bairro Coroado I, Manaus - AM, CEP: 69080-900
E-mail: admvictor2@outlook.com

Ana Rita Gaia Machado
Doutora em Biodiversidade e Biotecnologia
Instituição: Universidade Federal do Amazonas (UFAM)
Endereço: Av Constantino Nery, 3740, Chapada, Manaus - AM
E-mail: ritamachado.nutri@hotmail.com

Elliza Emily Perrone Barbosa
Mestra em Biotecnologia
Instituição: Universidade Federal do Amazonas (UFAM)
Endereço: Av. Gen. Rodrigo Octávio, 6200, Bairro Coroado I, Manaus - AM, CEP: 69080-900
E-mail: elliza.perrone01@gmail.com

Luciana Oliveira do Valle Carminé
Mestra em Engenharia de Produção
Instituição: Universidade Federal do Amazonas (UFAM)
Endereço: Av Constantino Nery, 3740, Chapada, Manaus - AM
E-mail: lucianadovalle@hotmail.com

José Carlos Alves Roberto
Mestre em Engenharia de Produção
Instituição: Universidade Federal do Amazonas (UFAM)
Endereço: Av Constantino Nery, 3740, Chapada, Manaus - AM
E-mail: jose.roberto@fametro.edu.br

CUADERNOS DE EDUCACIÓN Y DESARROLLO
Europub European Publications
ISSN: 1989-4155

Carlos André Silva dos Anjos
Especialista em Auditoria e Perícia Contábil
Instituição: Universidade Nilton Lins
Endereço: Av Constantino Nery, 3740, Chapada, Manaus - AM
E-mail: c.a.anjos@bol.com.br

Tiara Sousa Cabral
Doutora em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva
Instituição: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA)
Endereço: Av. Gen. Rodrigo Octávio, 6200, Bairro Coroado I, Manaus - AM,
CEP: 69080-900
E-mail: tiarascabral@ufam.edu.br

Maria Francisca Simas Teixeira
Doutora em Ciências Biológicas
Instituição: Universidade Federal do Amazonas (UFAM)
Endereço: Av. Gen. Rodrigo Octávio, 6200, Bairro Coroado I, Manaus - AM,
CEP: 69080-900
E-mail: mteixeira@ufam.edu.br

RESUMO
Organismos industriais são modelos de negócios estruturados em seus segmentos para uma finalidade comercial específica a fim de gerar margens de lucratividade aos seus acionistas, em qualquer nível. Os setores em que se fragmentam o mercado mantém-se, sobretudo, a partir das relações comerciais existentes entre empresas e seus consumidores. E para que as atividades industriais possam ser avaliadas como positivas, atualmente precisam apresentar indicadores, que uma vez analisados, farão delas empresas mais fortes e sólidas nos segmentos em que atuam. O controle de custos incorridos na produção possibilita ao produtor informações importantes e precisas a respeito da sua atividade, auxiliando na tomada de decisões e no controle da organização. O estudo em questão avaliou o custo da produção, com simulação em escala laboratorial de *Pleurotus albidus*, cogumelo comestível da biodiversidade da Amazônia. Este estudo foi realizado pelo método de custeio por absorção associada a produção *in vitro* da espécie estudada. A cultura matriz foi obtida em ágar GYP (Glicose, Extrato de Levedura e ágar), a 28ºC por oito dias. O spawn foi produzido em grãos de trigo pré-cozido, adicionado carbonato de cálcio (1,0 g/kg de trigo) e os grãos foram acondicionados em saco de polipropileno de alta densidade. A produção do cogumelo foi conduzida por fermentação no estado sólido, em dois ciclos. No primeiro ciclo, após inoculação do spwan, no resíduo lignocelulósico suplementado com farelo de arroz e SMS (substrato pós-cultivo), umidade 60%, pH 6,5, o desenvolvimento micelial foi conduzida a 25 oC, na ausência de luz por 15 dias, com umidade ambiental 80%. No segundo ciclo, os cultivos em sacos de poliproleno, perfurados após 72 horas foram deixados a 25 oC, com luz alternada a cada 12 horas, umidade de 80% até o surgimento dos primórdios. Para a indução dos corpos de frutificação a 15 oC por 72 horas, com umidade 60 a 80% , na sala de cultivo, em condições

CUADERNOS DE EDUCACIÓN Y DESARROLLO
Europub European Publications
ISSN: 1989-4155

asépticas. Constata-se, após o levantamento de custos, para uma produção em escala laboratorial, um markup de 1.63934 para a produção de 1.000 unidades.

Palavras-chave: cogumelos comestíveis, pleurotus, contabilidade de custos, método de custeio por absorção.

ABSTRACT

Industrial organizations are business models structured in their segments for a specific commercial purpose in order to generate profit margins for their shareholders, at any level. The sectors into which the market is fragmented are maintained, above all, on the basis of the commercial relationships that exist between companies and their consumers. And in order for industrial activities to be evaluated as positive, they currently need to present indicators that, once analyzed, will make them stronger and more solid companies in the segments in which they operate. Controlling the costs incurred in production provides producers with important and precise information about their activities, helping them to make decisions and control the organization. The study in question evaluated the cost of production, with laboratory-scale simulation of Pleurotus albidus, an edible mushroom from the biodiversity of the Amazon. This study was carried out using the absorption costing method associated with the in vitro production of the species studied. The matrix culture was obtained on GYP agar (Glucose, Yeast Extract and Agar) at 28°C for eight days. The spawn was produced on pre-cooked wheat grains, calcium carbonate (1.0 g/kg of wheat) was added and the grains were packed in a high-density polypropylene bag. The mushroom was produced by solid-state fermentation in two cycles. In the first cycle, after inoculating the spwan in lignocellulosic residue supplemented with rice bran and SMS (post-cultivation substrate), humidity 60%, pH 6.5, mycelial development was conducted at 25 oC, in the absence of light for 15 days, with ambient humidity 80%. In the second cycle, the cultures in polyprolene bags, perforated after 72 hours, were left at 25 oC, with light alternating every 12 hours, 80% humidity until the primordia appeared. The fruiting bodies were induced at 15 oC for 72 hours, with humidity between 60 and 80%, in the growing room, under aseptic conditions. After surveying costs, for laboratory-scale production, a markup of 1.63934 for the production of 1,000 units can be seen.

Keywords: edible mushrooms, pleurotus, cost accounting, absorption costing method.

RESUMEN

Las organizaciones industriales son modelos de negocio estructurados en sus segmentos con un fin comercial específico para generar márgenes de beneficio para sus accionistas, a cualquier nivel. Los sectores en los que se fragmenta el mercado se mantienen, sobre todo, a partir de las relaciones comerciales que existen entre las empresas y sus consumidores. Y para que las actividades industriales puedan ser valoradas positivamente, actualmente necesitan presentar indicadores que, una vez analizados, las conviertan en empresas más fuertes y sólidas en los segmentos en los que operan. El control de los costes

CUADERNOS DE EDUCACIÓN Y DESARROLLO
Europub European Publications
ISSN: 1989-4155

incurridos en la producción proporciona a los productores información importante y precisa sobre sus actividades, ayudándoles a tomar decisiones y a controlar su organización. El estudio en cuestión evaluó el costo de producción, con simulación a escala de laboratorio de Pleurotus albidus, un hongo comestible de la biodiversidad de la Amazonia. Este estudio se realizó utilizando el método de costeo por absorción asociado a la producción in vitro de la especie estudiada. El cultivo matriz se obtuvo en agar GYP (Glucosa, Extracto de Levadura y Agar) a 28°C durante ocho días. El desove se produjo sobre granos de trigo precocidos, se añadió carbonato cálcico (1,0 g/kg de trigo) y los granos se envasaron en una bolsa de polipropileno de alta densidad. El hongo se produjo por fermentación en estado sólido en dos ciclos. En el primer ciclo, tras inocular el spwan en residuos lignocelulósicos suplementados con salvado de arroz y SMS (sustrato post-cultivo), humedad 60%, pH 6,5, el desarrollo micelial se llevó a cabo a 25 oC, en ausencia de luz durante 15 días, con humedad ambiente 80%. En el segundo ciclo, los cultivos en bolsas de poliproleno, perforadas a las 72 horas, se dejaron a 25 oC, con alternancia de luz cada 12 horas, humedad del 80% hasta que aparecieron los primordios. Los cuerpos fructíferos se indujeron a 15 oC durante 72 horas, con una humedad entre el 60 y el 80%, en la sala de cultivo, en condiciones asépticas. Después de evaluar los costos, para la producción a escala de laboratorio, se puede ver un margen de beneficio de 1,63934 para la producción de 1.000 unidades.

Palabras clave: hongos comestibles, pleurotus, contabilidad de costes, método del coste por absorción.

1 INTRODUÇÃO

Os cogumelos do gênero Pleurotus são fungos representados por cerca de mais de 30 espécies conhecidos como fungo da podridão branca, ocorrem em regiões tropicais e subtropicais, sendo destas, diversas espécies comestíveis, tendo comercialização avaliada em $ 42 bilhões em 2018, com potencial crescimento explanado para $ 69 bilhões até 2024 (Barbosa, 2020).

O cultivo de espécies de cogumelos está difundido mundialmente, fator que tem promovido o aumento significativo da produção desde 2010 (Silva et al., 2023). A tecnologia de cultivo de macrofungos comestíveis envolve processamento acessível que, para crescimento são utilizados resíduos lignocelulósicos resultantes da produção agricola no país, entre os quais se destacam como substrato a cana de açúcar, soja e milho (Moreira et al, 2022).

CUADERNOS DE EDUCACIÓN Y DESARROLLO
Europub European Publications
ISSN: 1989-4155

Dados disponíveis na literatura demonstram que, exorcapo de cupuaçú (Theobroma grandiflrum Willd ex-Spreng Schum) e o resíduo do processamento do açai (Euterpe oleracea Mart), oriundos do bioma amazônico também são potenciais residuos que podem ser usados na produção de diversas espécies (Batista, 2021; Machado et al., 2017; Ataides et al., 2021; Barbosa et al., 2020).

A produção de cogumelos como uma alternativa sustentável coopera para redução de matéria orgânica, minimiza o conteúdo de poluentes ambientais e também agrega valor a produtos de baixo custo, como os agro-resíduos. (Kirsch et al, 2013; Machado et al. 2016; Prado et al., 2021, Brito et al, 2021). A ascendência do cultivo de cogumelos contribui de forma positiva para redução de resíduos lignocelulósicos, processo que proporciona a produção de alimento de alto valor nutritivo, além de acelerar a decomposição desses substratos (Pimenta et al., 2021).

No Estado do Amazonas, da diversidade de resíduos agroindustriais, exocarpo de cupuaçu (Theobroma grandiflrum Willd ex-Spreng Schum) e resíduos do processamento do açaí (Euterpe oleracea Mart), são substratos promissores para crescimento de cogumelos comestíveis (Pimenta et al., 2021; Fonseca et al., 2014; Machado et al., 2017; Barbosa et al., 2020).

Mundialmente, cogumelos comestíveis movimentam U$ 35 bilhões ao ano, com estimativa de crescimento da ordem de de aumento em torno de 9% em 2021, com liderança na produção em ordem decrescente, a China, Estados Unidos e Holanda (Steffen et al. 2020). A produção de cogumelos comestíveis está em plena ascensão no Brasil, a maior produção está concentrada no estado de São Paulo, movimentando R$ 21 milhões. Contudo, a produção corresponde a 12 mil toneladas de cogumelos *in natura*, que por sua vez não atende a demanda interna do país (Stephen et al. 2020).

Cogumelos comestíveis são alimentos saudáveis, que têm expressivo conteúdo de proteínas, carboidratos, fibras alimentares e baixo teor de lipídios, assim como são fontes de vitaminas e minerais (Gurumallesh et al. 2019; Sakovich et al., 2020; Rodrigues et al., 2022). Entre os cogumelos comestíveis, as espécies de Pleurotus são cosmopolitas crescem em clima subtropical tem

CUADERNOS DE EDUCACIÓN Y DESARROLLO
Europub European Publications
ISSN: 1989-4155

alto valor nutricional e uma variedade de aplicação biotecnológica e ambiental.

Diante deste cenário o cultivo e a comercialização dos cogumelos comestíveis não podem estar associados a práticas amadoras de gestão de custos em seus ciclos produtivos, uma vez que sendo empresas atuantes no setor de alimentos, estas exploram esse nicho e deverão tornar-se cada vez mais competitivas a partir das técnicas e estratégias implementadas em seus modelos de negócio a fim de atingir o mercado local ou global (Embrapa, 2020).

Assim, é indispensável que as empresas acompanhem o desenvolvimento tecnológico e adotem sistemas de informação bem estruturados, para gerir os negócios de forma mais eficiente, bem como para fornecer informações precisas para a tomada de decisão com assertividade. Assim sendo, é necessário compreender a importância da contabilidade de custos, ferramenta fundamental de controle e decisão gerencial.

Segundo Custódio (2023) os custos de produção se tornaram o principal objeto de estudo dentro das organizações, isso ocorre pela alta dinamicidade e competitividade existente, todavia as empresas devem considerar diversos outros fatores na precificação de seus produtos e serviços.

Estudos anteriores realizados no laboratório de micologia industrial e médica da Universidade Federal do Amazonas – UFAM, em que se avaliam microorganismos com grande importância industrial, a área de custos foi pouco explorada, em função das propostas de estudo que eram desenvolvidas com alto teor biotecnológico, demonstrando a importância de realizar este estudo a fim de evidenciar a relevância do pensamento administrativo e dos custos inerentes aos processos de produção de quaisquer espécies de microorganismos estudadas, delineando um padrão de produção que pudesse ser sustentável e no futuro pudesse ser escalonado para fins comerciais.

Voltada especificamente para produção rural existe a contabilidade rural, entretanto Hipler (2022) afirma que ela é pouco utilizada, já que os produtores, em sua maioria, desconhecem a importância das informações obtidas através da contabilidade, principalmente pela falta de conhecimento que levam a desenvolverem atividades na agricultura familiar de maneira empirica. Isso

CUADERNOS DE EDUCACIÓN Y DESARROLLO
Europub European Publications
ISSN: 1989-4155

acontece pelo conservadorismo da maioria desses agricultores que persistem em manter controles baseados em experiências pessoais.

Diante do exposto surgiu o seguinte objetivo de estudo: Determinar o valor dos bioprocessos formulados com os resíduos lignocelulósico selecionados na produção de *Pleurotus albidus* e a precificação do ciclo completo de produção.

Neste contexto, foi desenvolvido um estudo de caso com o objetivo de conhecer e caracterizar o processo produtivo em escala laboratorial, a fim de demonstrar a importância da contabilidade de custos como ferramenta de controle e decisão gerencial da produção de cogumelo, descrevendo o processo produtivo, os gastos incorridos na produção, analisando os resultados obtidos, bem como verificando a oportunidade promissora dessa atividade agrícola.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 COGUMELOS COMESTÍVEIS

Os cogumelos do gênero *Pleurotus* são amplamente reconhecidos por sua versatilidade nutricional, propriedades funcionais e aplicação no aproveitamento de resíduos agroindustriais (Pineda-Insuasti, J. A, *et. al,* 2023).

Dentre as espécies, *Pleurotus albidus* destaca-se como uma alternativa promissora devido ao seu rápido crescimento, alta produtividade e valor nutricional. Estudos recentes de Santos *et. al*., (2023) têm explorado sua biologia, manejo produtivo, e aplicações sustentáveis, reforçando seu papel na promoção da segurança alimentar e economia circular.

Pleurotus albidus, comumente conhecido como cogumelo ostra branco, é uma espécie que cresce em substratos lignocelulósicos, como resíduos agrícolas (palha de trigo, bagaço de cana, serragem, entre outros). Estudos de Machado et al., (2017) demonstram que ele possui:

- Alto valor nutricional, com teores significativos de proteínas, vitaminas do complexo B, fibras alimentares e minerais como potássio e fósforo;
- Propriedades funcionais, como potencial antioxidante e imunomodulador,

CUADERNOS DE EDUCACIÓN Y DESARROLLO
Europub European Publications
ISSN: 1989-4155

tornando-o alimento funcional relevante.

A produção de *Pleurotus albidus* é caracterizada pela simplicidade do manejo, envolvendo técnicas de fermentação em estado sólido e em estado líquido (Pimenta et al., 2021). Sendo assim, a utilização de resíduos agroindustriais, como bagaço de cana, palha de milho e serragem, são substratos eficazes e sustentáveis na produção. E promovem impacto nos nutrientes do substrato, pois aditivos como farelo de trigo e farinha de arroz aumentam a produtividade e o valor nutricional do cogumelo (Salazar et al., 2022).

Além disso, o controle ambiental, com temperaturas entre 20°C e 28°C e umidade acima de 70%, favorecem o crescimento do micélio e frutificação, tornando a produção de *Pleurotus albidus* alinhada com práticas sustentáveis, promovendo:

- **Redução de resíduos agroindustriais**, convertendo materiais lignocelulósicos em biomassa comestível;
- **Reaproveitamento de substratos pós-cultivo**, ricos em nutrientes, como fertilizantes orgânicos e inseridos em novos ciclos de produção;
- **Aplicações medicinais e cosméticas**, com compostos bioativos que podem ser usados em tratamentos antioxidantes e na produção de cosméticos naturais.

Destaca-se que a utilização de resíduos contribui para o atingimento dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável - ODS da Organização das Nações Unidas – ONU possibilitando a geração de oportunidades e geração de renda alinhadas à sustentabilidade ambiental.

2.2 MÉTODOS DE CUSTEIO

Os métodos de custeio são ferramentas essenciais para a gestão financeira e estratégica das empresas. Eles possibilitam a alocação correta de custos aos produtos e serviços, promovendo uma visão mais clara sobre a lucratividade e a eficiência operacional (Zielinski e Stroparo, 2023)

CUADERNOS DE EDUCACIÓN Y DESARROLLO
Europub European Publications
ISSN: 1989-4155

Entre os principais métodos, destacam-se o **custeio por absorção**, **custeio variável**, **custeio ABC (Activity-Based Costing)** e **custeio por throughput**. A seguir, são apresentados conceitos e aplicações de cada um desses métodos, com base em estudos de Araújo et al. (2021).

2.2.1 Custeio por absorção

Este é o método tradicional em que todos os custos de produção, fixos e variáveis, são alocados aos produtos. Ele é amplamente utilizado por ser exigido na contabilidade fiscal e tributária em diversos países, em destaque, no Brasil.

- **Vantagens:** Simplicidade na implementação e cumprimento das normas contábeis;
- **Limitações:** Pode mascarar informações de custos fixos e variáveis, dificultando a análise de lucratividade por produto;

Estudos recentes de Filho e Silva (2022) destacam sua relevância no setor agrícola e industrial, sobretudo em análises de custos de produção e precificação de produtos.

2.2.2 Custeio variável

Diferentemente do custeio por absorção, este método aloca apenas os custos variáveis aos produtos, enquanto os custos fixos são tratados como despesas do período.

- **Aplicações:** Muito utilizado em análises de ponto de equilíbrio e decisão de curto prazo;
- **Vantagens:** Foco na contribuição marginal de cada produto ou serviço;
- **Desvantagens:** Não cumpre exigências fiscais e pode não ser adequado para organizações com alta proporção de custos fixos.

Pesquisas recentes mostram sua aplicação em startups e empresas de tecnologia para decisões estratégicas rápidas e precisas.

CUADERNOS DE EDUCACIÓN Y DESARROLLO
Europub European Publications
ISSN: 1989-4155

2.2.3 Custeio ABC (Activity-Based Costing)

O método ABC identifica as atividades que geram custos e os distribui conforme o consumo de recursos por essas atividades. É ideal para ambientes produtivos complexos.

- **Benefícios:** Melhor precisão na alocação de custos indiretos e suporte à tomada de decisão estratégica;
- **Desafios:** Implementação mais complexa e custos elevados de manutenção.

Estudos de 2020 a 2024 apontam o crescimento do uso do ABC em indústrias de manufatura avançada e serviços financeiros, com foco na identificação de atividades que agregam valor (Ferreira e Leite, 2022).

2.2.4 Custeio por throughput

Baseado na Teoria das Restrições (Theory of Constraints), este método foca em maximizar o throughput (margem de contribuição gerada pelo gargalo produtivo) enquanto minimiza estoques e custos operacionais.

- **Adequação:** Empresas com produção just-in-time e setores com forte pressão por eficiência;
- **Vantagens:** Foco na restrição mais crítica do sistema;
- **Desvantagens:** Não contempla análise abrangente de custos fixos;

Pesquisas recentes destacam sua aplicabilidade em operações industriais e setores de logística, onde a eficiência do fluxo é crítica.

2.2.5 Comparação e integração dos métodos

A escolha do método de custeio mais adequado depende do objetivo gerencial e do ambiente operacional da empresa. Enquanto o custeio por absorção atende às exigências legais (inclusive brasileiras), métodos como o ABC e throughput são mais adequados para análise gerencial e estratégica.

CUADERNOS DE EDUCACIÓN Y DESARROLLO
Europub European Publications
ISSN: 1989-4155

Desta forma, considerando a legislação fiscal aplicada no Brasil o método de custeio por absorção se apresenta como a alternativa viável e indicada para o desenvolvimento deste estudo.

2.3 CUSTEIO POR ABSORÇÃO NA PRODUÇÃO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS

O custeio por absorção é um método de alocação de custos no qual todos os custos de produção, sejam diretos ou indiretos, são atribuídos ao produto (Zielinski e Stroparo, 2023). Este método é relevante para análises econômicas em atividades agrícolas e biotecnológicas, incluindo a produção de cogumelos comestíveis como o *Pleurotus albidus*.

Estudos recentes de Costa *et. al.* (2022) destacam a viabilidade de produção de *Pleurotus*, especialmente em condições controladas e semiprofissionais. O método de custeio por absorção pode ser útil para determinar o custo de cada ciclo produtivo, considerando os seguintes aspectos:

1. **Custos Diretos**: Incluem o substrato utilizado, como resíduos agrícolas ricos em carbono e nitrogênio (ex.: bagaço de cana ou serragem), além de despesas com inoculantes, energia e água necessários para o cultivo. Estudos de Souza Falcão (2023) identificaram que o uso de fontes como sacarose pode melhorar a biomassa micelial, influenciando positivamente o custo-benefício da produção.
2. **Custos Indiretos**: Envolvem despesas gerais, como manutenção de câmaras de cultivo (controle de temperatura e umidade) e mão de obra indireta. A alocação desses custos pode ser feita por métodos de ponderação baseados em horas de produção ou proporção de insumos usados para cada lote de cultivo.

2.3.1 Relevância para o *Pleurotus albidus*

Estudos de Silva (2022) apontaram para a eficácia de diferentes

CUADERNOS DE EDUCACIÓN Y DESARROLLO
Europub European Publications
ISSN: 1989-4155

condições ambientais e substratos no desempenho do *Pleurotus albidus*. Por exemplo:

- A escolha adequada de substratos e condições ambientais foi associada a um maior rendimento, variando de 7% a 19%, dependendo da cepa e do sistema de cultivo (controlado ou semi-controlado);
- A produtividade foi influenciada pela interação entre a composição do substrato e o manejo ambiental, destacando a necessidade de integração de variáveis econômicas e produtivas no planejamento.

2.3.2 Utilização do método de custeio por absorção

Este método é apropriado para:

- **Determinar a viabilidade econômica** do cultivo de *Pleurotus albidus* em diferentes escalas;
- **Apoiar a precificação** do produto final;
- **Auxiliar no controle de custos**, identificando gargalos financeiros no processo produtivo

A combinação entre a análise de dados de produção e a aplicação de ferramentas como o custeio por absorção contribui para a sustentabilidade econômica de empreendimentos baseados na produção de cogumelos.

3 METODOLOGIA

3.1 PROCESSO DE PRODUÇÃO DO COGUMELO *PLEUROTUS ALBIDUS.*

3.1.1 Cogumelos: crescimento em ágar glicose, extrato de levedura e peptona

Pleurotus albidus DPUA 1692 foi cedido do acervo da Coleção de Culturas DPUA, da Universidade Federal do Amazonas - UFAM, cultivado em ágar GYP [g/L (ágar 15.0 glicose 20.0, extrato de levedura 5g, peptona 15g e água

CUADERNOS DE EDUCACIÓN Y DESARROLLO
Europub European Publications
ISSN: 1989-4155

destilada 1000 mL)], pH 6,5. O meio de cultura foi esterilizado a 121ºC por 15 minutos. Todos os cultivos foram preparados em triplicata, em placa de Petri. Durante o crescimento dos cogumelos, as culturas foram mantidas a 25 ºC por 8 dias.

3.1.2 Fermentação no estado sólido

A Produção de *Pleurotus. albidus* com reaproveitamento do resíduo pós-cultivo, em sua primeira etapa experimental, utilizou a espécie de cogumelo selecionada que foi cultivada na mistura de resíduos lignocelulósicos tradicionais (Fonseca et al, 2015) ou em resíduo pós-cultivo, utilizando formulações em diferentes concentrações, suplementadas com farelo de arroz, em base úmida como suplemento (Barbosa et al., 2020) conforme descrito na Tabela 1.

3.2 PREPARO DOS SUBSTRATOS

3.2.1 Pré-cultivo dos cogumelos em grãos de trigo

Os grãos de trigo foram lavados e deixados em imersão em água e, após 12h, o excesso da água foi retirado, seguindo a imersão em solução desinfetante para hortifrutícolas (COALA®) por 30 minutos. Ao término desse tratamento, os grãos foram pré-cozidos por 15 minutos e drenado o excesso de água. Em seguida para cada 100 g de grãos foi adicionado 0,3 g de carbonato de cálcio.

Nesses experimentos foram utilizados 2.000g de grãos pré-cozidos, armazenados em sacos de polietileno de alta densidade de 20,3 cm x 17,8cm. Os sacos com os grãos foram esterilizados a 121 ° C durante 15 minutos. Após resfriamento, das culturas obtidas em ágar GYP foram retirados discos miceliais de 3 mm e transferidos para superfície dos grãos de trigo. Os cultivos foram mantidos a 28 °C, na ausência de luz até completa miceliação do substrato (Machado et al., 2014; Fonseca et al., 2015).

CUADERNOS DE EDUCACIÓN Y DESARROLLO
Europub European Publications
ISSN: 1989-4155

3.3 AVALIÇÃO DA INFLUÊNCIA DO RESÍDUO PÓS-CULTIVO NA PRODUÇÃO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS (*PLEUROTUS ALBIDUS*).

3.3.1 Delineamento e condução experimental

No processo de produção dos cogumelos comestíveis foram realizados 09 experimentos, citados na tabela 1. Em cada experimento foram preparados cultivos utilizando 1.000 g de cada formulação (resíduo lignocelulósico tradicional ou resíduo pós-cultivo misturado com farelo de arroz). Em todas as formulações de resíduos, a umidade foi aferida para 60% e o pH 6,5 (Fonseca et al., 2014).

Tabela 1. Delineamento Experimental para produção de *Pleurotus albidus* com uso do substrato pós-cultivo (SMS), em diferentes concentrações.

Experimentos	Substrato +Suplemento	%
Padrão 1	Exocarpo de Cupuaçu + Farelo de Arroz	80:20
Padrão 2	Resíduo do Processamento do Açaí + Farelo de Arroz	80:20
Padrão 3	SMS + Farelo de Arroz	80:20
ET1	Exocarpo de Cupuaçu + SMS + Farelo de Arroz	40:40:20
ET2	Exocarpo de Cupuaçu + SMS + Farelo de Arroz	45:40:15
ET3	Exocarpo de Cupuaçu + SMS + Farelo de Arroz	50:40:10
ET4	Resíduo do Processamento do Açaí + SMS + Farelo de Arroz	40:40:20
ET5	Resíduo do Processamento do Açaí + SMS + Farelo de Arroz	45:40:15
ET6	Resíduo do Processamento do Açaí + SMS + FA	50:40:10

Legenda: ET: Experimento Teste; EC: Exocarpo de Cupuaçu; RPA: Resíduo do Processamento do Açaí; SMS: Substrato Pós Cultivo; FA: Farelo de Arroz.
Fonte: Autores (2023).

A produção dos cogumelos foi realizada durante oito dias sem luminosidade, a 25ºC, com umidade ambiental a 80%. Após 72 horas, nas sacolas foram feitas perfurações de 2 cm e os cultivos mantidos em condições similares até completa miceliação do substrato. Com o aparecimento dos primórdios, os cultivos foram expostos à luz difusa a cada 12 horas, a 15 oC por três dias para a formação dos basidiomas.

CUADERNOS DE EDUCACIÓN Y DESARROLLO
Europub European Publications
ISSN: 1989-4155

Os basidiomas foram colhidos e armazenados em bandejas de isopor envoltos em PVC flexíveis, com capacidade para 250g do produto para as análises da composição nutricional a posteriori.

A condução deste estudo foi realizada para produção de *Pleurotus albidus* com base na tecnologia da fermentação no estado sólido, no Herbário Micológico "Jair Putzke", localizado no Instituto de Ciências Biológicas (ICB), da Universidade Federal do Amazonas-UFAM, Setor Sul, Campus Universitário, Manaus-Amazonas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Martins et al. (2023) afirmam que a atividade agrícola compreende um conjunto de diversas práticas, como silvicultura, floricultura, fruticultura, piscicultura, entre outras. Apesar dessa diversidade, essas atividades compartilham características comuns, como o gerenciamento e a mensuração das transformações biológicas resultantes do crescimento e da reprodução de plantas ou animais.

Em outras palavras, a atividade agrícola exige a gestão de processos biológicos, não abrangendo, por exemplo, práticas como a pesca em mar aberto ou o desmatamento.

A Tabela 2, apresenta informações da classificação contábil do CPC (Comitê de Pronunciamento Contábil) para ativos biológicos de modo a subsidiar a avaliação tributária acerca do modelo de negócio que está sendo contabilizado.

CUADERNOS DE EDUCACIÓN Y DESARROLLO
Europub European Publications
ISSN: 1989-4155

Tabela 2. Ativos Biológicos e Processamento

Ativos biológicos	**Produtos agrícolas**	**Produtos resultantes do processamento após colheita**
Carneiros	Lã	Fio, tapete
Fungo (Cogumelos Comestíveis)	Cogumelos in natura	Enzimas, Cogumelos
Árvores de uma plantação	Madeira, tronco	"Fio de algodão, roupa, açúcar, álcool, café limpo em
grão, moído, torrado"		
Plantas, plantações	Algodão, cana colhida, café	"Fio de algodão, roupa, açúcar, álcool, café limpo em grão, moído, torrado"
Gado de leite	Leite	Queijo
Porcos	Carcaça	Salsicha, presunto
Arbustos	Folhas	Chá, tabaco

Fonte: Adaptado de CPC 29, 2013.

Neste escopo do CPC (Comitê de Pronunciamento Contábil) 29, é importante destacar que esse Pronunciamento Técnico se aplica à produção agrícola somente até o momento da colheita. A colheita é definida como "a extração do produto de um ativo biológico ou a cessação da vida desse ativo biológico". Assim, o CPC 29 não trata do processamento dos produtos agrícolas após a colheita, e os itens resultantes desse processamento estão fora do seu escopo (Martins et al., 2023).

Um exemplo interessante relacionado à abrangência do CPC 29 é o cultivo de cogumelos comestíveis conforme cadeia produtiva demonstrada na Figura 1, que também se enquadra como atividade agrícola.

O processo de cultivo de *P. albidus* envolveu a gestão de um ciclo biológico, desde a inoculação do substrato até a extração dos cogumelos maduros, o que caracteriza a colheita.

No entanto, etapas como a secagem, o enlatamento ou a transformação dos cogumelos em outros produtos de valor agregado são atividades de processamento que não estão cobertas pelo CPC 29, mas sim por outros normativos contábeis aplicáveis à indústria. Dessa forma, o cultivo de cogumelos aqui demonstrado destacou a importância de compreender os limites entre a atividade agrícola e o processamento industrial para uma adequada aplicação dos princípios contábeis (Martins et al., 2023).

CUADERNOS DE EDUCACIÓN Y DESARROLLO
Europub European Publications
ISSN: 1989-4155

Portanto, a demonstração contábil de custo do processo produtivo aferida nesse estudo foi realizada a partir da simulação da produção em escala laboratorial, para identificar o custo da cadeia produtiva de cogumelos do gênero *P. albidus.*

Figura 1. Cadeia Produtiva de *P. albidus.*

Fonte: Autores, 2022

A Figura 1 apresenta o ciclo completo da cadeia produtiva desde o inóculo até a colheita dos basidiomas de *P. albidus* que foi realizada no âmbito do laboratório de micologia médica e industrial da Universidade Federal do Amazonas, onde, realizou-se produção específica a fim de identificar os insumos necessários e seus respectivos custos para essa produção.

Posteriormente foi feita simulação para produção de 1.000 unidades mensais do ativo biológico, com custo unitário estimado em R$ 6,11 que foi definido a partir de metodologia contábil apresentada por Neves e Viceconti (2018), onde foi possível constatar que em toda a cadeia produtiva, os gastos incorridos nesse processo desde a aquisição de insumos, custos diretos e

CUADERNOS DE EDUCACIÓN Y DESARROLLO
Europub European Publications
ISSN: 1989-4155

indiretos deverão ser considerados contabilmente e estão demonstrados nas Tabelas 3, 4, 5 e 6 a seguir:

Tabela 3. Cenário de Simulação

Produto	**Unidades (basidiomas)**
Cogumelo	1.000
Custo Unitário Total	6,11
Custo de Produção	R$ 6.110,00

Fonte: Autores, 2024

Tabela 4. Custo Operacional da produção de *P. albidus*

Custo Operacional	**Valor de Aquisição**	**Custo Unitário – 1.000 unds**
Mão de obra + Encargos	R$ 3.200,00	R$ 3,20
Água	R$ 500,00	R$ 0,50
Energia elétrica	R$ 500,00	R$ 0,50
Luvas de borracha	R$ 20,50	R$ 0,02
Toucas	R$ 12,78	R$ 0,01
Jalecos	R$ 25,75	R$ 0,03
Sacos polietileno	R$ 30,29	R$ 0,03
Recipientes de vidro	R$ 25,00	R$ 0,03
Bandejas de isopor	R$ 21,99	R$ 0,02
Papel film	R$ 3,69	R$ 0,00
Papel toalha	R$ 10,40	R$ 0,01
Papel aluminio	R$ 3,49	R$ 0,00
Bacias plásticas	R$ 100,00	R$ 0,10
Armazenagem	R$320,00	R$ 0,32

Fonte: Autores, 2024

Tabela 5. Ativo Fixo

Ativo Fixo	**Valor de Aquisição**	**Depreciação Mensal**	**Custo Unitário - Unds**
Balança de precisão	R$ 1.810,71	R$ 15,09	R$ 0,02
Desidratadora industrial	R$ 3.021,00	R$ 25,18	R$ 0,03
Fogão	R$ 1.000,00	R$ 8,33	R$ 0,01
Autoclave	R$ 31.983,00	R$ 266,53	R$ 0,27
Bisturi	R$ 49,99	R$ 0,42	R$ 0,00
Incubadora - bod	R$ 14.430,00	R$ 120,25	R$ 0,12
Fluxo laminar	R$ 31.975,00	R$ 266,46	R$ 0,27

Fonte: Autores, 2024

CUADERNOS DE EDUCACIÓN Y DESARROLLO
Europub European Publications
ISSN: 1989-4155

Tabela 6. Insumos

2.150 kg	Coleta de Exocarpo de Cupuaçu	R$ 65,00	R$ 0,065
2.150 kg	Coleta de Residuo do Processamento do Açai	R$ 65,00	R$ 0,065
500g	Meio de Cultura - AGAR GYP	R$ 431,55	R$ 0,43
unid	Placa de Petri	R$ 11,34	R$ 0,01
2 kg	Farelo de Arroz	R$27,98	R$0,02798
1kg	Grãos de trigo	R$ 13,90	R$ 0,01
100g	Carbonato de calcio	R$ 14,40	R$ 0,01

Fonte: Autores, 2024

Há inúmeros métodos de custeio e critérios de avaliação da produção e dos estoques, e dentro dos princípios contábeis, consagrados pela Lei nº 6.404/76, e pelo Pronunciamento Técnico CPC 16 – Estoques, o método de custeio real por absorção é o indicado (Maciel, 2022). Isso significa dizer que devem ser adicionados ao custo da produção os custos reais incorridos, obtidos pela contabilidade geral e pelo método por absorção, o que significa a inclusão de todos os gastos relativos à produção, quer diretos, quer indiretos em relação a cada produto.

De acordo com o Pronunciamento, os custos a serem incluídos são os referentes à aquisição (preço de compra, gastos de manuseio, materiais, serviços etc.) e transformação (custos indiretos de fabricação, sejam fixos ou variáveis), além de quaisquer custos diretamente atribuíveis ao processo de trazer os estoques ao seu local e condições atuais.

Desta forma, para definição do custo da produção da espécie estudada, considerou-se o modelo de custeio por absorção apresentada por Ribeiro et al., 2021) e pela metodologia de Vicenconti (2018). Neste método, todos os custos de produção demonstrados nas Tabelas 3, 4, 5 e 6, sejam diretos ou indiretos, foram atribuídos ao produto (*P. albidus*), incluindo custos variáveis e fixos.

Há de se destacar que para finalidade fiscal é o método amplamente utilizado para fins contábeis, portanto, sendo o método mais aceito nesses contextos.

CUADERNOS DE EDUCACIÓN Y DESARROLLO
Europub European Publications
ISSN: 1989-4155

Outrossim, para definição dos valores que estão demonstrados nas tabelas 4, 5 e 6 foram realizadas pesquisas de mercado quanto aos valores comerciais reais de cada um dos elementos buscando dar efetividade e aproximação realista do custo da cadeia produtiva de *P. albidus.*

Por fim, considerou-se os impostos no valor de R$ 3.906,39 referente à produção de 1.000 cogumelos em que cada unidade apresenta peso de 1,32 gramas com *markup* de 1.63934 e preço de venda de R$10,02 a unidade.

4.2 ESTRATEGIA DE MENSURAÇÃO DE RESULTADOS

Considerando a fundamental necessidade de construir parâmetros para avaliar os resultados do estudo, se estabelece um grupo de indicadores de desempenho, que permitem analisar a eficiência e a lucratividade da produção de cogumelos (Kaplan e Norton, 2002; Drucker et al., 2018; Fernandes et al., 2021).

4.2.1 Indicadores de produtividade

- Quantidade de cogumelos produzidos por unidade de tempo (kg/semana ou kg/mês);
- Quantidade de cogumelos produzidos por área de cultivo (kg/m²);
- Comparar a produtividade com diferentes substratos e condições de cultivo.

4.2.2 Eficiência do substrato

- Calcular a conversão de substrato em cogumelos (kg de cogumelos/kg de substrato);
- Avaliar a influência do tipo de substrato e da suplementação na eficiência.

CUADERNOS DE EDUCACIÓN Y DESARROLLO
Europub European Publications
ISSN: 1989-4155

4.2.3 Ciclo de produção

- Tempo total do ciclo de produção, desde a inoculação até a colheita;
- Identificar gargalos no processo e otimizar o tempo de produção.

4.2.4 Custo por unidade

- Calcular o custo total de produção por unidade de cogumelo (r$/kg);
- Avaliar a variação do custo com diferentes insumos e métodos de produção.

4.3 INDICADORES DE LUCRATIVIDADE

4.3.1 Lucro bruto

- Receita total da venda dos cogumelos menos o custo total de produção;
- Avaliar a lucratividade da produção em diferentes cenários de mercado.

4.3.2 Margen de lucro bruta

- Lucro bruto dividido pela receita total da venda dos cogumelos;
- Analisar a rentabilidade da produção em relação à receita gerada.

4.3.3 Retorno sobre o investimento (ROI)

- Lucro líquido dividido pelo investimento total na produção;
- Avaliar a lucratividade do negócio em relação ao capital investido.

4.3.4 Ponto de equilibrio

- Quantidade de cogumelos que precisam ser vendidos para cobrir os custos totais;
- Determinar o volume de produção necessário para alcançar a lucratividade;
- análise de rentabilidade em diferentes cenários;
- Simular diferentes cenários de produção e venda, variando o volume de produção, o preço de venda dos cogumelos, e os custos de produção;
- Avaliar a viabilidade econômica da produção em cada cenário, utilizando os indicadores de lucratividade;
- Identificar os cenários mais lucrativos e os fatores críticos de sucesso para a produção de cogumelos.

4.3.5 Considerações adicionais

- Escalabilidade: analisar a possibilidade de escalar a produção para atender a uma demanda maior, considerando os custos e os desafios de produção em larga escala;
- Mercado: analisar o mercado local e regional para identificar potenciais compradores em busca de produtos sustentáveis.

5 CONCLUSÃO

O objetivo deste estudo foi fornecer uma base para a gestão eficiente dos ativos biológicos estudados, destacando a importância de um controle rigoroso de custos e uma mensuração adequada, em conformidade com as normas contábeis vigentes.

A análise também contribuiu para uma tomada de decisões estratégicas que pudesse maximizar a lucratividade e minimizar riscos, dada a implementação da cadeia produtiva apresentada neste modelo.

CUADERNOS DE EDUCACIÓN Y DESARROLLO
Europub European Publications
ISSN: 1989-4155

Desta forma este estudo analisou a produção de produtos a partir de ativos biológicos, com ênfase na aplicação das diretrizes do CPC 29 (Ativo Biológico e Produto Agrícola) para o reconhecimento e mensuração contábil, desde o ciclo de vida inicial de *P. albidus* até a transformação final em produto acabado (*in natura*).

A pesquisa buscou compreender como a adoção das práticas contábeis previstas no CPC 29 impacta a avaliação desses ativos biológicos, considerando fatores como o valor justo, os custos de produção, e o momento do reconhecimento da receita.

O estudo teve como finalidade fornecer uma abordagem mais eficaz e transparente para a gestão de ativos biológicos nas empresas, contribuindo para a otimização da rentabilidade, sustentabilidade financeira e conformidade com as normas contábeis e fiscais.

O cultivo do *P. albidus* implicou na utilização de critérios de qualidade e cuidados especiais em todas as suas etapas de produção.

O P. albidus poderá também ser vendido seco para ser transformado em forma de macerados e chás, pois contém compostos com ação anticancerígena, substâncias que previnem o processo de metástase, propriedades antivirais, bacterianas, antialérgicas, redução dos níveis de colesterol, hepatite e pressão arterial (Elsayed et al*.,* 2022). Ou ainda, poderá ser incorporado a outros alimentos como parte da dieta humana, por conter propriedades nutricionais favoráveis à saúde humana (Machado, 2017).

Por fim, havendo interesse de produzir em escala industrial, parâmetros mais específicos e aprofundados deverão ser considerados, tendo em vista que a natureza administrativa da empresa deverá entrar na mensuração do cálculo da cadeia de produção com base no seu enquadramento fiscal, regime de tributação e redimensionamento de estrutura para a escala pretendida.

CUADERNOS DE EDUCACIÓN Y DESARROLLO
Europub European Publications
ISSN: 1989-4155

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Universidade Federal do Amazonas (UFAM) por meio do PPGBIOTEC - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Agradecimentos especiais à minha orientadora, Professora Dra. Maria Francisca Simas Teixeira, e aos membros do nosso grupo de pesquisa no Laboratório de Micologia Médica e Industrial do Instituto de Ciências Biológicas - UFAM. Agradecemos também à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro a esta pesquisa.

CUADERNOS DE EDUCACIÓN Y DESARROLLO
Europub European Publications
ISSN: 1989-4155

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, Marcelo Bernardino; MARGUEIRO, Everton Aristides; DE OLIVEIRA MORAIS, Marcos. O dilema dos métodos de custeio e das ferramentas de gerenciamento de custos: Uma proposta conceitual. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 9, p. e59710918638-e59710918638, 2021.

ATAIDES, Carolane et al. Potencial uso biotecnológico dos resíduos de processamento de frutas. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, p. 30766-30784, 2021.

BARBOSA, E. E. P. et al. Cultivo de cogumelo comestível em resíduos lignocelulósicos de floresta tropical para produção de proteases. Brazilian Journal of Development, v. 6, n. 11, p. 92475-92485, 2020.

BATISTA, Samara Claudia Picanço et al. Biomassa residual do processamento de produtos hortícolas da Amazônia para crescimento micelial e produção de proteases por uma espécie de cogumelo comestível. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, p. e35310313393-e35310313393, 2021.

BRITO, A. K. P. et al. Avaliação de substratos de floresta tropical para cultivo e produção de proteases por Pleurotus djamor. Research, Society and Development, v. 10, n. 3, p. e31810313385, 2021.

BRITO, A. K. P. de et al. Produção de uma espécie de cogumelo salmão comercial para elaboração de um produto alimentício. 2021.

COSTA, José Luís et al. Mushroom poisoning in Portugal. Acta Médica Portuguesa, v. 24, p. 269-278, 2015.

CUSTÓDIO, Felipe Varize et al. Análise dos custos de produção do café arábica nas regiões polos do Brasil. **Revista de Contabilidade do Mestrado em Ciências Contábeis da UERJ**, v. 26, n. 1, p. 121-136, 2023.

DA COSTA, Arlete Ferreira et al. CARACTERIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS: ESTUDO DE CASO NA REGIÃO DO ALTO TIETÊ. **RETEC-Revista de Tecnologias**, v. 15, n. 2, p. 47-60, 2022.

DA SILVA FILHO, Clodoaldo Alves. Contabilidade de Custos: uma análise sobre os métodos de custeio para o auxílio na tomada de decisões. **Revista de Estudos Interdisciplinares do Vale do Araguaia-REIVA**, v. 5, n. 03, p. 21-21, 2022.

DE MOURA RODRIGUES, Gabriela; OKURA, Mônica Hitomi. Cogumelos comestíveis no Brasil: uma revisão bibliográfica. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 8, p. e24711830830-e24711830830, 2022.
DRUCKER, P. *The Practice of Management.* HarperBusiness, 2018.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). Produção de cogumelos comestíveis no Brasil. Brasília: EMBRAPA, 2020. – Fornece dados sobre técnicas de cultivo e gestão da produção de cogumelos.

EL-SAYED, Heba S. et al. Ocean acidification induced changes in Ulva fasciata biochemistry may improve Dicentrarchus labrax aquaculture via enhanced antimicrobial activity. **Aquaculture**, v. 560, p. 738474, 2022.

DE FERREIRA, Andressa Samara; LEITE, Maria Silene Alexandre. Aplicação do Método ABC para Mensuração dos Custos de Produção em uma Indústria de Alimentos. **ABCustos**, v. 17, n. 1, p. 30-55, 2022.

FERNANDES, F. C.; SOUZA, M. A. *Indicadores de Desempenho Empresarial: Um Estudo Comparativo.* Revista de Administração Contemporânea, v. 25, n. 3, p. 89-105, 2021.

FONSECA, T. R. B.; BARRONCAS, J. F.; TEIXEIRA, M. F. S. Produção em matriz sólida e Caracterização parcial das proteases de cogumelo comestível da Floresta Amazônica. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial, v. 8, n. 1, 2014.

FONSECA, T. R. B. et al. Cultivation and nutritional studies of an edible mushroom from North Brazil. African Journal of Microbiology Research, v. 9, n. 30, p. 1814–1822, 2015.

FONSECA, T.R.B. et al. Produção em matriz sólida e caracterização parcial das proteases de cogumelo comestível da floresta Amazônica. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial. v.8, n.1, p: 1227-1236. 2015.

GURUMALLESH, P. et al. A systematic reconsideration on proteases. International journal of biological macromolecules, v. 128, p. 254-267, 2019.

HIPPLER, Isamara Mughiuti et al. CONTABILIDADE RURAL. **REVISTA DE CONTABILIDADE DOM ALBERTO**, v. 11, n. 21, p. 1-22, 2022.

KAPLAN, R. S.; NORTON, D. P. *The Balanced Scorecard: Translating Strategy into Action.* Harvard Business Press, 2002.

KIRSCH, Larissa de Souza; MACEDO, Ana Júlia Porto de; TEIXEIRA, Maria Francisca Simas. Production of mycelial biomass by the Amazonian edible mushroom Pleurotus albidus. **brazilian journal of microbiology**, v. 47, n. 3, p. 658-664, 2016.

_____. et al. Produção da biomassa de Pleurotus albidus por fermentação submersa para elaboração de barras de cereais. 2013.
MACIEL, Mansuer de Lavor de Freitas. Nível de aderência do CPC 29 das

empresas do setor de agronegócios listadas na b3. **Nível de aderência do CPC 29 das empresas do setor de agronegócios listadas na b3**, 2022.

MACHADO, Ana Rita Gaia et al. Nutritional value and proteases of Lentinus citrinus produced by solid state fermentation of lignocellulosic waste from tropical region. Saudi journal of biological sciences, v. 23, n. 5, p. 621-627, 2016.

_____, A.R.G. et al. Production and characterization of proteases from edible mushrooms cultivated on amazonic tubers. African Journal of Biotechnology. v.16, n.46, p: 2160-2166. 2017.

_____, Ana Rita Gaia et al. Elaboração de um produto de panificação à base de crueira e cogumelo comestível. 2015.

MARTIM, Salomão Rocha et al. Proteases ácidas de cogumelo comestível da Amazônia para aplicabilidade industrial. Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi-Ciências Naturais, v. 12, n. 3, p. 353-362, 2017.

MARTINS FILHO, José Bonifácio; COSTA, Raimundo Nonato Távora. CUSTOS DE PRODUÇÃO DA BATATA-DOCE E NÍVEL DE REPRODUÇÃO SOCIAL NA AGRICULTURA FAMILIAR. **ENERGIA NA AGRICULTURA**, v. 38, n. 4, p. 16-24, 2023.

MOREIRA, Jaqueline da Silva Coelho et al. Isolamento e seleção de basidiomicetos comerciais e selvagens produtores de amilases e fenoloxidases. **Open Science Research III. Editora Científica Digital**, v. 3, p. 576-585, 2022.

PRADO, Fabiano Brito et al. Viabilidade da produção de proteases por espécies de Aspergillaceae e triagem de coagulantes do leite bovino. Brazilian Journal of Development, v. 7, n. 2, p. 16356-16373, 2021.

PIMENTA, L., BARBOSA, E. E. P., BRITO, A. K. P., MARTIM, S. R., TEIXEIRA, M. F. S. Processo eco-amigável para selecionar substrato lignocelulósico para produção de peptidases ácidas. Brazilian Journal of Development. v. 7, n.1, p. 3469-3479. 2021.

PINEDA-INSUASTI, Julio Amilcar; VIRACOCHA-CACUANGO, Jairo; ANDRADE-COLAHUAZO, Julio. Influence of particle size and agitation time on the production of an extract from the cuticle of sugar cane (Saccharum officiarum). 2021.

RIBEIRO, Francielle Wanderley et al. Análise econômico-financeira da implantação de soja com sucessão de milho e girassol safrinha. **Revista Agrotecnologia-Agrotec**, v. 12, n. 1, p. 1-13, 2021.
SALAZAR, Jhonatan Rafael Zárate et al. Uso de substratos pós-cultivo de

cogumelos de Pleurotus ostreatus (Jacq.) na recuperação da fertilidade de um Luvissolo degradado. 2022.

SAKOVICH, V. V. Structural and functional peculiarities of aspartic proteases of basidiomycetes. Biopolymers & Cell, v. 36, n. 2, p. 87, 2020.

SANTOS, Barbarah Valeska Soares dos et al. Complementação nutricional de cogumelos em dietas hospitalares. 2023.

STEFFEN, Gerusa Pauli Kist et al. ASPECTOS TÉCNICOS SOBRE A PRODUÇÃO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS EM SUBSTRATOS ORGÂNICOS. ASPECTOS TÉCNICOS SOBRE A PRODUÇÃO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS EM SUBSTRATOS ORGÂNICOS, p. 1-388–416. 2020.

SILVA, M. Z. R. et al. Biotechnological potential of a cysteine protease (CpCP3) from
Calotropis procera latex for cheesemaking. Food chemistry, v. 307, p. 125574, 2020.

SILVA, Gessymara Cainã Sales da et al. Avaliação da potencial atividade antifúngica de extratos de substratos gastos de cogumelo Pleurotus spp. sobre Aspergillus flavus. 2023.

VICECONTI, P.; NEVES, S. D. Contabilidade de custos. 12. ed. São Paulo: Saraiva, 2018.
312 p.

ZIELINSKI, Fatima Luana; STROPARO, Telma Regina. Método de custeio do ciclo de vida adicionado (CCV Add) como alternativa de avaliação de ativos biológicos: uma análise comparativa com o Fair Value. **Revista de Gestão e Secretariado**, v. 14, n. 1, p. 781-801, 2023.