



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA MULTI-INSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOTECNOLOGIA
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA



Beneficiamento de resíduo da cadeia produtiva do abacaxi: enriquecimento da casca do
fruto para produção de suplemento alimentar

RAIANE ÁILA TEIXEIRA SOUZA

MANAUS – AM
2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA MULTI-INSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOTECNOLOGIA
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA

Beneficiamento de resíduo da cadeia produtiva do abacaxi: enriquecimento da casca do
fruto para produção de suplemento alimentar

Dissertação de Mestrado apresentada
para o Programa Multi-Institucional de
Pós-Graduação em Biotecnologia como
parte do requisito para obtenção do título
de Mestre em Biotecnologia

Orientador: Professora Doutora Maria Francisca Simas Teixeira (DPUA/UFAM).

MANAUS – AM
2013

Ficha Catalográfica
(Catalogação realizada pela Biblioteca Central da UFAM)

Souza, Raiane Áila Teixeira

S729b

Beneficiamento de resíduo da cadeia produtiva do abacaxi: enriquecimento da casca do fruto para produção de suplemento alimentar / Raiane Áila Teixeira Souza. - Manaus: UFAM, 2013.

75 f.; il. color.

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) — Universidade Federal do Amazonas, 2013.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Maria Francisca Simas Teixeira

1. Fermentação semi-sólida 2. Abacaxi – Valor nutricional 3. *Pleurotus*, *Lentinus* 4. Alimentação humana 5. Cogumelos comestíveis I. Teixeira, Maria Francisca Simas (Orient.) II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

CDU (2007): 663:634.774(811.3)(043.3)

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA MULTI-INSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOTECNOLOGIA
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA

BANCA EXAMINADORA:

1. Dra. Maria Francisca Simas Teixeira
2. Dra. Ani Beatriz Jackisch Matsuura
3. Dra. Maria Conceição de Oliveira

Suplentes:

1. Dra. Helyde Albuquerque Marinho
2. Dr. Antonio José Inhamuns Silva

COORDENADOR DO CURSO:

Prof. Dr. Edmar Vaz de Andrade

ORIENTADOR:

Prof. Dra. Maria Francisca Simas Teixeira

DEDICATÓRIA

Aos meus amados pais, Aparecida e Francisco,
À minha inseparável irmã Rayssa,
Pelo amor, carinho e apoio em todos os momentos.

Só uma coisa torna um sonho impossível: o medo de fracassar.

(Paulo Coelho – O Alquimista)

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Profa. Dra. Maria Francisca Simas Teixeira, pela orientação, dedicação e apoio durante a realização deste projeto.

Às companheiras de laboratório Nély Vinhote, Larissa Kirsh, Taciana Amorim, Ana Rita, Mircella Marialva, Lorena Azevedo, Leonanda Albuquerque por toda a ajuda, suporte e risadas que tornaram todos os dias de trabalho únicos e agradáveis.

Ao técnico Felipe Cruz pelo auxílio nas análises microbiológicas.

À minha mãe, Cida Teixeira, pelo apoio, compreensão, incentivo e por ser meu modelo de vida e profissionalismo.

Ao meu pai, Francisco Souza, que apesar da distância, sempre me incentivou e acreditou no meu potencial.

À minha irmã e revisora, Rayssa Halyanne, pela grande ajuda, pelos momentos únicos e pelas risadas sem fim.

Ao meu namorado, Francisco Luiz, pelo carinho, paciência e palavras de incentivo.

Aos meus amigos de vida e companheiros de aventura, Tamiris, Jéssica, Meire, Larissa, Christiano, por todos os momentos inesquecíveis.

Agradeço à Universidade Federal do Amazonas, ao Laboratório de Micologia da UFAM e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro.

Meus sinceros agradecimentos.

Raiane Áila Teixeira Souza

Beneficiamento de resíduo da cadeia produtiva do abacaxi: enriquecimento da casca do fruto para produção de suplemento alimentar

RESUMO

Cogumelos comestíveis são facilmente cultiváveis e sua produção a partir de resíduos agroindustriais é uma forma de aproveitamento destes resíduos, reduzindo a poluição ambiental e criando oportunidades econômicas, uma vez que valoriza os resíduos sólidos e origina novos produtos. O objetivo deste estudo foi gerar um produto a base de casca de abacaxi enriquecido com massa micelial de *Pleurotus albidus*, *Pleurotus florida* e *Lentinus citrinus* que possa ser utilizado na alimentação humana. *Pleurotus albidus*, *Pleurotus florida* e *Lentinus citrinus* foram cultivado em meio Sabouraud, a 25°C, por sete dias. Destes cultivos, o inóculo [10, 15 e 20 discos miceliais (Ø10 mm)] foi transferido para 50 mL de meio banana-cupuaçu em três diferentes concentrações, meio A: [BC banana pacovi 9,95%(p/v) adicionado de cupuaçu 0,05% (p/v)]; meio B: [BC banana 9,9% (p/v) e cupuaçu 0,1% (p/v)] e meio C: [BC banana 9,8% (p/v) e de cupuaçu 0,2% (p/v)]. A fermentação submersa foi conduzida a 25° C, 150 rpm, por cinco dias, seguindo-se a filtração para separar a biomassa do extrato bruto. O rendimento máximo de biomassa seca foi determinado no cultivo utilizando o meio C e com inóculo de 20 discos miceliais. A partir deste resultado foi realizada a fermentação semi-sólida na casca de abacaxi. A fermentação semi-sólida foi conduzida a 25 °C até completa miceliação do substrato. O produto enriquecido com massa micelial foi desintegrado e desidratado a 60°C. A casca do abacaxi e a casca suplementada com cogumelos foram submetidas à determinação de composição centesimal, teor de minerais e aminoácidos e determinação da qualidade microbiológica. A adição dos fungos no resíduo ocasionou o aumento do teor de proteínas e minerais e a redução do conteúdo de fibras e carboidratos. Todos os aminoácidos essenciais foram observados no substrato enriquecido com cogumelo, assim como os aminoácidos não essenciais. A miceliação da casca do abacaxi por *P. albidus*, *P. florida* e *L. citrinus* enriqueceu nutricionalmente este resíduo, proporcionando um produto com qualidade para ser incorporado na dieta humana e que funcione como suplemento alimentar.

Palavras-chave: *Pleurotus*, *Lentinus*, fermentação semi-sólida, valor nutricional.

ABSTRACT

Edible mushrooms are easily cultivable and its production from agro-industrial waste is a form of exploitation of these residues, reducing environmental pollution and creating economic opportunities, since that increases the values of solid wastes and produces new products. The aim of this study was to generate a product based on pineapple peel enriched with mycelial mass of *Pleurotus albidus*, *Pleurotus florida* and *Lentinus citrinus* that can be use in human food. *Pleurotus albidus*, *Pleurotus florida* and *Lentinus citrinus* were grown in Sabouraud medium at 25 ° C for seven days. From these cultures, the inoculum [10, 15 and 20 mycelial disks (Ø10 mm)] was transferred to 50 ml medium banana cupuassu in three different concentrations, medium A: [CB banana pacovi 9.95% (w / v) added cupuassu 0.05% (w / v)]; medium B: [CB banana 9.9% (w / v) and cupuassu 0.1% (w / v)] ½ C: [CB banana 9.8 % (w / v) and cupuassu 0.2% (w / v)]. The submerged fermentation was conducted at 25 ° C, 150 rpm, for five days, followed by filtration to separate the biomass from the crude extract. The maximum yield of dry biomass was determined using the cultivation medium C and with 20 discs mycelial inoculum. Using this results, the solid-state fermentation was carried out using pineapple peel as substrate. The solid state fermentation was conducted at 25 ° C until complete substrate mycelium formation. The product enriched with mycelial mass was disintegrated and dried at 60 ° C. Pineapple peel and peel supplemented with mushrooms underwent determination of proximate composition, mineral content, amino acids content and determination of microbiological quality. The addition of the fungi residue resulted have increased protein and minerals content and reduced fiber and carbohydrates content. All essential amino acids were found on the enriched substrate, as well as nonessential zamino acids. The myceliation of pineapple peel by *P. albidus*, *P. florida* and *L. citrinus* nutritionally enriched this residue, providing a quality product that can be incorporated in the human diet and that works as a food supplement.

Key-words: *Pleurotus*, *Lentinus*, solid-state fermentation, nutritional value

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Gráfico de Pareto dos efeitos estimados em relação à produção de biomassa de <i>P. albidus</i>	42
Figura 2. Gráfico de Pareto dos efeitos estimados em relação à atividade proteolítica de <i>P. florida</i>	43
Figura 3. Gráfico de Pareto dos efeitos estimados em relação à produção de biomassa de <i>L. citrinus</i>	43

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Composição química média do abacaxi.	22
Tabela 2. Teor de nutrientes analisados da casca e da polpa de abacaxi.....	23
Capítulo 1.....	33
Tabela 1. Matriz de planejamento fatorial completo 2 ² :avaliação tamanho do inóculo e concentração do substrato	40
Tabela 2. Composição centesimal das polpas de banana e cupuaçu desidratadas	44
Tabela 3. Composição centesimal da biomassa micelial desidratada de <i>P. albidus</i> , <i>P. florida</i> e <i>L. citrinus</i>	45
Capítulo 2.....	52
Tabela 1. Média da composição centesimal do substrato antes da miceliação e do substrato miceliado por cogumelos comestíveis (<i>P. albidus</i> , <i>P. florida</i> , <i>L. citrinus</i>).	59
Tabela 2. Concentração de minerais no substrato antes da miceliação e no substrato miceliado	61
Tabela 3. Perfil aminoacídico do substrato antes da miceliação e do substrato miceliado por cogumelos comestíveis (<i>P. albidus</i> , <i>P. florida</i> , <i>L. citrinus</i>).	61
Tabela 4. Controle de qualidade microbiológica na casca de abacaxi não miceliada e no substrato miceliado	63

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	15
2 OBJETIVOS.....	16
2.1 Objetivo Geral.....	16
2.2 Objetivos Específicos	16
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1 Cogumelos Comestíveis	17
3.2 Gênero <i>Pleurotus</i>	18
3.3 Gênero <i>Lentinus</i>	19
3.4 Cogumelos comestíveis como veículo de nutrientes	20
3.5 Abacaxi (<i>Ananas comosus</i>).....	21
3.6 Banana (<i>Musa</i> sp.).....	23
3.7 Cupuaçu (<i>Theobroma grandiflorum</i>)	24
4 METODOLOGIA	25
4.1 Cogumelo e cultivo em meio sólido.....	25
4.2 Fermentação em meio líquido.....	26
4.2.1 Processamento e tratamento do substrato natural.....	26
4.2.2 Preparação do meio de cultura líquido.....	26
4.2.3 Determinação da influência do tamanho do inóculo.....	26
4.3 Fermentação Semi-Sólida	27
4.3.1 Preparo da casca de abacaxi para utilização como substrato	27
4.3.2 Inóculo	27
4.3.3 Enriquecimento da casca do abacaxi desidratado.....	28
4.4 Determinação da Composição físico-química dos frutos (banana e cupuaçu), da biomassa micelial, do substrato e do produto enriquecido com <i>P. albidus</i> , <i>P. florida</i> e <i>L. citrinus</i>	28
4.5 Determinação de macro e micro minerais	29
4.6 Doseamento de aminoácidos e triptofano	29

4.7 Determinação da qualidade microbiológica do substrato enriquecido	29
4.7.1 Preparo das amostras	29
4.7.2 Determinação do Número Mais Provável (NMP.g ⁻¹) de coliformes totais e termotolerantes.....	30
4.7.3 Pesquisa de <i>Salmonella</i> sp	30
4.7.4 Quantificação de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulase positiva.....	30
4.8 Análises estatísticas	31
CAPÍTULO 1: DESENVOLVIMENTO DE UM MEIO DE CULTURA LÍQUIDO UTILIZANDO POLPA DE BANANA E DE CUPUAÇU DESIDRATADAS PARA PRODUÇÃO DE BIOMASSA POR FUNGOS FILAMENTOSOS.....	32
CAMPO DA INVENÇÃO	33
ANTECEDENTES DA INVENÇÃO	33
Banana (<i>Musa</i> sp.).....	33
Cupuaçu (<i>Theobroma grandiflorum</i>)	35
Cogumelos Comestíveis	36
Gênero <i>Pleurotus</i>	37
Gênero <i>Lentinus</i>	38
DETALHES DA INVENÇÃO	38
Preparação da cultura matriz dos cogumelos comestíveis.....	38
Processamento e tratamento da polpa de banana e de cupuaçu	39
Preparação do meio de cultura líquido utilizando como substrato a polpa de banana e cupuaçu trituradas e desidratadas.....	39
Determinação da influência do tamanho do inóculo	39
ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	41
CARACTERÍSTICAS DO INVENTO.....	41
Composição centesimal da polpa de banana e cupuaçu	44
FLUXOGRAMA DO INVENTO.....	46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
CAPÍTULO 2: CARACTERÍSTICA NUTRICIONAL DE BIOPRODUTO A BASE DE CASCA DE ABACAXI ENRIQUECIDA COM COGUMELO COMESTÍVEL	51

Introdução.....	53
Material e Métodos	54
Microrganismo e manutenção.....	54
Preparo do substrato.....	54
Preparo do inóculo	55
Fermentação semi-sólida	55
Determinação da composição centesimal.....	55
Determinação de macro e micro minerais	56
Doseamento de aminoácidos e triptofano.....	57
Determinação da qualidade microbiológica.....	57
Resultados e Discussão	58
Composição centesimal.....	58
Teores de minerais	60
Teores de aminoácidos	61
Análise microbiológica.....	62
Conclusão	63
Referências Bibliográficas.....	63
CONCLUSÕES	67
REFERÊNCIAS	68

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos têm se registrado um avanço significativo no número de indústrias no território brasileiro, com o objetivo de produzir alimentos suficientes para atender a demanda e contribuir com a melhoria da qualidade de vida da população. O aumento do número de fábricas leva a um conseqüente aumento na quantidade de resíduos oriundos do processamento de alimentos. Em muitos casos, esses resíduos são considerados custos operacionais para as empresas e são descartados sem serem adequadamente trabalhados, podendo gerar uma série de complicações ambientais (LOUSADA JUNIOR *et al.*, 2006).

O processamento de frutas e hortaliças, em especial, gera uma grande quantidade de resíduos com alto valor nutricional, que poderiam ser inseridos na dieta do brasileiro, muitas vezes deficiente em nutrientes essenciais. No Brasil, cerca de 70 toneladas de alimentos são desprezados a cada dia e parte desse lixo é composto por talos, folhas e cascas utilizáveis de muitas maneiras (RODRIGUES, 2007).

Uma alternativa para o aproveitamento de resíduos agroindustriais é o cultivo e produção de cogumelos comestíveis, que vêm sendo cada vez mais reconhecidos pelas suas propriedades nutricionais e pelas suas características nutracêuticas.

As vantagens da produção de cogumelos sobre resíduos agroindustriais são várias: possuem um tempo de geração relativamente curto; alto teor protéico, por vezes mais elevado do que em muitos vegetais; são mais fáceis de serem trabalhados de modo independente; podem ser produzidos em uma diversidade de substratos, diminuindo os impactos ambientais causados pelo descarte de resíduos da agricultura. Além disso, a produção de cogumelos agrega valor a partir de produtos de baixo ou nenhum custo (AGUIAR *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2005).

Deste modo, é essencial a busca por processos biotecnológicos que utilizem resíduos agroindustriais como substratos alternativos para a produção de cogumelos comestíveis. Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo utilizar resíduos da cadeia produtiva do abacaxi para o cultivo de três espécies de cogumelos comestíveis *Pleurotus albidus*, *Pleurotus florida* e *Lentinus citrinus*, para a obtenção de um subproduto enriquecido com possibilidade de uso como suplemento alimentar.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver um suplemento alimentar saudável e econômico enriquecendo a casca de abacaxi triturada e desidratada com a massa micelial de *P. albidus*, *P. florida* e *L. citrinus* para uso como suplemento na elaboração de produtos alimentícios.

2.2 Objetivos Específicos

- Desenvolver um meio de cultura complexo formulado com polpa de banana pacovi (*Musa* sp.) e cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) para produção de inóculo;
- Produzir *P. albidus*, *P. florida* e *L. citrinus* em casca de abacaxi triturada e desidratada;
- Determinar a qualidade microbiológica da casca do abacaxi desidratada e do produto miceliado ao término do cultivo;
- Determinar a composição físico-química da casca do abacaxi desidratada e do produto enriquecido com massa micelial dos três fungos como matéria-prima para a preparação de suplemento alimentar;
- Determinar o teor de minerais e aminoácidos da casca do abacaxi desidratada e do produto enriquecido com a massa micelial dos cogumelos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Cogumelos Comestíveis

A utilização de cogumelos comestíveis é uma prática documentada desde a antiguidade. Os egípcios cultivavam cogumelos para servi-los de iguarias aos faraós e os gregos e romanos consumiam em suas festas (MONTEIRO, 2005). No sudoeste asiático o cultivo de cogumelos data de 600 a.C, com a produção principal de *Auricularia auricularia*, fungo conhecido popularmente como orelha de pau, contudo, *Lentinula edodes* (Shitake) tornou-se o cogumelo mais apreciado. Na França, o consumo de cogumelos remonta desde o século XVII, sendo *Agaricus bisporus* (champignon-de-Paris), a principal espécie cultivada pelos franceses (MODA, 2008).

Os cogumelos apresentam alto teor de proteínas e fibras alimentares e também são fontes de diversos minerais. Possuem um teor baixo de lipídeos e pode ser fonte de vitaminas, entre elas B1, B2, niacina, biotina e vitamina C (GODOY & FURLANI, 2007). O valor nutritivo em proteínas pode ser maior do que em diversas frutas e legumes (EIRA, 2004). Devido seu alto valor protéico, o cultivo de cogumelos surge como uma alternativa viável para aumentar a oferta de proteínas aos países que apresentam alto nível de desnutrição (FURLANI & GODOY, 2005; LOSS, 2009). Além disso, eles produzem vários metabólitos de interesse medicinal, como antitumorais, antioxidantes, imunoestimuladores e antimicrobianos (FINIMUNDY et al., 2013; RAI, 2005; YANG et al. 2013)

Os cogumelos possuem elevado potencial produtivo, uma vez que possuem um tempo de geração curto e crescem nos mais diversos substratos (EIRA, 2004). O cultivo de cogumelos não depende de técnicas complicadas e podem ser realizados em substratos agrícolas umedecidos e pausterizados, sob condições naturais ou *in vitro*. Além disso, a produção de cogumelos é uma alternativa extremamente eficiente para reciclagem de resíduos, produzindo alimentos de alto valor nutricional e reduzindo os impactos ambientais oriundo do descarte de materiais dispensáveis (KULSHRESHTHA et al., 2013; REFFATTI et al., 2006; SILVA et al., 2007).

Mundialmente, são conhecidas cerca de 2000 espécies de cogumelos comestíveis, sendo que cerca de 20 são cultivadas e menos de 10 espécies são

comercializadas (SILVA, 2011). O cenário do mercado mundial de cogumelos é dominado pelo champignon-de-Paris (*A. bisporus*), com 38% do volume total de cogumelos produzidos. Os cogumelos do gênero *Pleurotus* despontam em segundo lugar, detendo 25% da produção, seguido de *Lentinula edodes*, representando 10% do volume produtivo (MODA, 2008). No Brasil, estas são as três espécies são mais comumente produzidas (GODOY & FURLANI, 2007).

Segundo dados da FAO (2011), a China é atualmente o maior produtor de cogumelos, com uma produção de 5 milhões de toneladas, seguida de Itália e Estados Unidos, com uma produção estimada em 761 mil toneladas e 390 mil toneladas, respectivamente. A produção brasileira de cogumelos não aparece na estatística mundial, mas o maior produtor brasileiro está centrado na região do Alto Tiête, no estado de São Paulo. Esta região produziu, no ano de 2004, cerca de 16 toneladas de cogumelos *in natura*, em sua maioria do gênero *Agaricus bisporus* (MODA, 2008).

3.2 Gênero *Pleurotus*

Os *Pleurotus* são um grupo de basidiomicetes com habilidade saprofítica, cosmopolitas, comestíveis, encontrados naturalmente em florestas úmidas tropicais e subtropicais, que colonizam os mais diversos substratos (COHEN *et al.*, 2002; PEDRA E MARINO, 2006; RIVAS, 2010). Esses macrofungos têm distribuição mundial, já foram documentados em áreas da mata atlântica brasileira e mesmo na região da Floresta Amazônica. Pertencem à família Agaricaceae Fr., ordem Agaricales, classe Basidiomycetes (RIVAS *et al.*, 2010).

Pleurotus são os fungos causadores de podridão branca devido a colonização do substrato pelo seu micélio branco, capaz de degradar lignina e celulose. Para tanto, secretam um complexo de enzimas, incluindo peroxidases, lacases, celulasas, hemicelulasas e xilanases (ALEXANDRINO *et al.*, 2007; COHEN *et al.*, 2002; RAMPINELLI, 2009;). Estes cogumelos são os mais cultivados em função da alta eficiência biológica e crescimento nos mais diversos substratos. Trata-se de uma boa opção para cultivo no Brasil, pois se adapta facilmente ao clima tropical (SILVA, 2002).

No Brasil são cultivados principalmente em bagaço da cana de açúcar após compostagem seguida de pausterização. No entanto, nem sempre há um fornecimento

constante de bagaço de cana, pela sua utilização nas usinas e como substrato para cultivo para outras espécies de cogumelos. Desta forma, a utilização de substratos alternativos para o cultivo de cogumelos comestíveis é imprescindível, priorizando os resíduos disponíveis nas diferentes regiões do país. Além de substituir os substratos tradicionais, pode-se baratear o processo de produção e conseqüentemente o custo do produto (DIAS, 2003).

Entre os *Pleurotus*, *P. albidus* ocorre na Argentina e já foi documentada no Brasil e no México, tem como característica, coloração clara, variando de creme a branco, e margem crenada. Há uma grande variação entre os espécimens, não só em coleções cultivadas em laboratório como também em exemplares coletados da natureza. (LECHNER & WRIGHT, 2004; LECHNER & ALBERTÓ, 2011). Tem grande potencial produtivo, estudos feitos por Lechner & Albertó (2011), mostram que foram obtidos basidiomas de boa qualidade em menor tempo por *P. albidus* quando comparado a outras espécies do mesmo gênero. (LECHNER & WRIGHT, 2004). *P. florida* é outra espécie extensamente cultivada no mundo, especialmente na Índia. Estudos mostram que *P. florida* apresentou 37,19% de proteínas e apenas 3,72% de lipídeos, em base seca (ROUT *et al.*, 2006). Além do potencial nutricional de *P. florida*, é comumente reportado seu potencial terapêutico, uma vez que já foram isoladas substâncias com atividade antitumoral e imunoestimuladoras (ROY *et al.*, 2009).

3.3 Gênero *Lentinus*

O gênero *Lentinus* Fr. (família Polyporaceae), ordem Agaricales está constituída por mais de 40 espécies, tem distribuição mundial, com ocorrência principalmente nas áreas tropicais e subtropicais (BARROS FILHO, 2009; PEREIRA e PUTZKE, 1989).

Algumas espécies deste gênero são comestíveis, havendo registros de consumo de certas espécies por indígenas amazônicos. Os Yanomami, habitantes da Amazônia brasileira, consomem as espécies *Lentinus crinitus* (L.) Fr., *L. velutinus* Fr., *L. glabratus* Mont., *L. cubensis* Berk. e *L. strigosus* (Schwein) Fr. Na Amazônia colombiana, o grupo indígena Uioto consome *L. strigosus*, *L. concavus* (Berk.), *L. crinitus*, e *L. scleropus* (Pres.) Fr. (VARGAS-ISLA & ISHIKAWA, 2008).

Dentre os cogumelos do gênero *Lentinus*, *L. edodes* (shitake) é o mais consumido devido seus aspectos terapêuticos e nutricionais. O Japão é o maior produtor de shitake do mundo, e o consumo deste fungo já é usual da população japonesa. No Brasil, o consumo de *L. edodes* vem aumentando, assim como o de outros fungos comestíveis, mas sua produção ainda é rudimentar, realizada principalmente por pequenos produtores oriundos da colônia asiática (MOURA, 2008).

3.4 Cogumelos comestíveis como veículo de nutrientes

Na atualidade, cogumelos comestíveis pelas características gastronômicas e propriedades medicinais, aliadas a vasta diversidade estão se revelando como excelentes veículos nutricionais para estudo e aplicação na fabricação de produtos alimentícios, essencialmente como ingrediente para enriquecimento de outros alimentos, contribuindo assim para melhoria da qualidade de vida do homem.

Em termos de alimentos, os cogumelos são consumidos *in natura*, como ingrediente, principalmente na forma de pó, devido o sabor típico. Este produto ainda pode ser associado a produtos formulados com farinhas (pão, macarrão) e em outros produtos para consumo em lanches (KIM *et al*, 2011).

Chockchaisawasdee *et al.* (2010) no estudo realizado para desenvolver uma alternativa para melhorar a qualidade nutricional da lingüiça de porco tailandesa fermentada, com foco na redução da gordura, utilizou um ingrediente saudável, o cogumelo ostra (*Pleurotus ostreatus*). Este estudo revelou o desenvolvimento de processo de produção alternativo viável, econômico e mais saudável para a salsicha tailandesa. O produto final formulado não só atende as normas de segurança microbiológica, como também o teor de gordura saturada foi reduzido significativamente. Assim, os autores ao final do processo obtiveram uma salsicha mais saudável em comparação ao produto tradicional.

Em outro trabalho realizado por Lemos (2009), o hambúrguer formulado com 12% de *A. brasiliensis* apresentou teor de proteína, carboidratos, fibra alimentar e cinzas superior aos hambúrgueres comerciais avaliados e o teor de lipídeos muito inferior. Com esses dados, o produto elaborado demonstrou ser uma alternativa mais saudável ao produto tradicional, pois além das propriedades nutricionais e gastronômicas, o cogumelo apresenta inúmeras propriedades medicinais.

Assim, investigação acerca da performance de cogumelos quando incorporado na forma desidratado em formulações de alimentos ainda está muito limitada. Provavelmente a indústria de alimentos não está sendo incentivada para desenvolver e fabricar produtos a base desses fungos ou contendo a biomassa micelial desidratada, apesar de seus benefícios funcionais a saúde. Portanto, torna-se essencial o acréscimo da aplicação dos cogumelos comestíveis em alimentos processados, beneficiando assim a indústria de alimentos, cultivadores de cogumelos, e os consumidores.

3.5 Abacaxi (*Ananas comosus*)

Abacaxis, ou ananás, são frutos pertencentes à família Bromeliaceae e ao gênero *Ananas* originários das Américas, amplamente distribuídos nos trópicos (GRANADA *et al.*, 2004). São frutos cilíndricos, com polpa de cor branca, amarela ou laranja-avermelhada, com peso médio de 1 Kg (GRANADA *et al.*, 2004; RODRIGUES, 2007).

Este continua sendo uma das principais frutas brasileiras, e está presente no mercado durante todo o ano. De fato, o Brasil é o maior produtor de abacaxi da América Latina. (BOTELHO *et al.*, 2002; OLIVEIRA *et al.*, 2005).

No ano de 2002, o abacaxi alcançou a posição de terceiro maior produtor mundial deste fruto, produzindo cerca de 2,8 milhões de toneladas. Dentre os maiores produtores nacionais estão os estados de Minas Gerais, Paraíba e Pará (GRANADA *et al.* 2004).

Quanto ao potencial nutricional, o abacaxi tem alto valor energético e nutricional, devido ao conteúdo de açúcares, apresenta também na composição vitaminas e taxas de gorduras inferiores a 0,5% (GRANADA *et al.*, 2004).

A tabela 1 demonstra a composição química do abacaxi, fruto rico em fibras alimentares solúveis e insolúveis, essenciais para o bom funcionamento do corpo. As fibras alimentares são componentes dos alimentos vegetais que não são hidrolisadas pelas enzimas do tubo digestivo e possuem diversas funções no organismo como: diminuição do tempo de trânsito intestinal dos alimentos, aumento da velocidade de absorção de glicose e diminuição dos níveis de colesterol sanguíneo (BOTELHO *et al.*, 2002).

Tabela 1. Composição química média do abacaxi.

Componentes	Quantidade (por 100g)
Glicídio	13,70 g
Proteínas	0,40g
Lipídios	0,20g
Cálcio	18,00 mg
Ferro	0,50 mg
Fósforo	8,00 mg
Fibras	0,95 mg
Niacina	0,82 mg
Ácido ascórbico	27,20 mg
Tiamina	80,00 mcg
Riboflavina	128,00 mc
Retinol	5,00 mcg
Calorias	52,00 Kcal

Fonte: GRANADA et al., 2004

Atualmente, as indústrias priorizam o investimento no processamento de frutos *in natura*, gerando uma grande quantidade de resíduos (LOUSADA JUNIOR *et al.*, 2006). Nas indústrias processadoras de abacaxi não é diferente, apenas uma pequena porcentagem do fruto é aproveitado, uma vez que sua porção comestível representa apenas 22, 5% a 35% do seu volume total. Cerca de 4,5 % corresponde à casca e 73% à sua parte vegetativa, resíduos que são descartados pelas indústrias (RODRIGUES, 2007; SILVA & ZAMBIAZI, 2008).

Pode-se caracterizar o abacaxi como um grande fornecedor de resíduos que possuem constituintes nutritivos adequados para serem utilizados na alimentação humana (MONTEIRO, 2009). Estes resíduos podem ser aproveitados como substratos para a produção de cogumelos comestíveis, diminuindo o impacto causado pelo descarte destes materiais e gerando produtos de valor agregado com um custo de produção extremamente baixo (AGUIAR *et al.*, 2011).

Dados de Gondim (2005) mostram que a casca do abacaxi apresenta nutrientes maiores do que em suas partes comestíveis, contendo grande quantidade de fibras alimentares, proteínas e até mesmo cálcio. A tabela 2 mostra a comparação entre as duas partes dessa fruta. Outras frutas analisadas apresentaram o mesmo comportamento, mostrando que os resíduos vegetais normalmente descartados podem e devem ser aproveitados na alimentação humana.

Tabela 2. Teor de nutrientes analisados da casca e da polpa de abacaxi

Parâmetro	100g de amostra <i>in natura</i> de abacaxi	
	Casca	Parte comestível
Umidade (g)	78,13	86,00
Cinzas (g)	1,03	0,40
Lipídeos (g)	0,55	0,00
Proteínas (g)	1,45	1,00
Fibras (g)	3,89	1,00
Carboidratos (g)	14,95	12,00
Calorias (Kcal)	70,55	48,00
Cálcio (mg)	76,44	22,00
Ferro (mg)	0,71	0,30
Sódio (mg)	62,63	<0,40
Magnésio (mg)	26,79	18,00
Zinco (mg)	0,45	0,30
Cobre (mg)	0,11	0,11
Potássio (mg)	285,87	131,00

Adaptado de GODIM *et al.*, 2005.

Os valores nutricionais da casca do abacaxi fazem dele um resíduo com grande potencial para ser utilizado como alimento funcional. A casca de abacaxi possui um baixo teor lipídico, possibilitando que este resíduo seja utilizado em dietas que visam perda de peso. A grande quantidade de fibras presente na casca também age regularizando as funções intestinais e prevenindo uma série de complicações fisiológicas decorrentes da falta de fibras no organismo como, por exemplo, obstipação intestinal, prisão de ventre, doenças cardiovasculares e câncer de intestino (GODIM *et al.*, 2005; RODRIGUES, 2007). Nos últimos anos, a casca do abacaxi vem sendo utilizada como mecanismo de enriquecimento alimentar, na forma de chás coados, geléias e mesmo na produção de barra de cereais (CARVALHO, 2009; MONTEIRO, 2009; SILVA, 2008).

3.6 Banana (*Musa sp.*)

Banana é um termo genérico para as frutas pertencentes à família Musaceae, gênero *Musa*, produzidas em grande quantidade nas regiões tropicais e subtropicais do globo (CHONG & NOOR AZIAH, 2008).

A banana é uma fruta rica em açúcares e sais minerais, principalmente potássio, cálcio, ferro e fósforo, e vitaminas A, B1, B2 e C, além de possuir alto valor nutritivo (BEZERRA ET AL., 2013; CHONG E NOOR AZIAH, 2008; SILVA ET AL., 2003; WANG ET AL., 2012). Por mais que seja um fruto pobre em proteínas e lipídeos, os teores desses parâmetros ainda são mais altos que os da maçã, pêra, cereja ou pêssego e, contém, ainda, carboidratos facilmente assimiláveis (FASOLIN, 2003).

Por ser uma fruta possível de ser produzida durante todo o ano, cultivável em diferentes ambientes, além do alto rendimento de frutos por hectare plantado, a presença da banana é marcante no mercado mundial. A cultura da banana além de auxiliar na manutenção e fertilidade do solo e apresenta um ciclo produtivo reduzido associado à facilidade de manejo (FIORAVANÇO, 2003; TEZUKA, 2009).

A Índia aparece como maior produtor mundial, com uma produção estimada em vinte e nove milhões de toneladas. China e Filipinas vêm em segundo e terceiro lugares, com uma produção de dez e nove milhões de toneladas, respectivamente (FAO, 2011). O Brasil é o quinto maior produtor de bananas do mundo, com uma produção de cerca de sete milhões de toneladas no ano de 2011 (FAO, 2011).

Estima-se que 20% a 25% das bananas produzidas no mundo todo sejam comercializadas na forma de fruta fresca, mas há um crescimento notável no surgimento de produtos processados oriundos de bananas, como bananas fritas, purê de bananas, sucos, geléias, doces, etc. (FIORAVANÇO, 2003; WANG ET AL., 2007).

Grande parte da cultura da banana é perdida durante a comercialização e durante o manuseio pós-colheita, isso ocorre pelo fato de ser uma fruta climatérica e na sua maioria ser consumida quando madura. Uma nova estratégia econômica é a obtenção de farinha de banana verde e sua incorporação em produtos inovadores (JUAREZ GARCIA ET AL., 2006; WANG ET AL., 2012).

3.7 Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*)

O cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) é uma fruta tipicamente amazônica sendo um dos frutos mais importantes da região que constitui a família Sterculiaceae, gênero *Theobroma* (COSTA ET AL., 2003; LANNES, 2003; SANTOS, 2010). O cupuaçuzeiro é uma fruteira com ocorrência espontânea nas áreas de mata do sul e noroeste da

Amazônia oriental brasileira, assim como no Maranhão e na região Amazônica de países vizinhos (FREIRE, 2009).

O fruto apresenta forma oval, casca marrom, dura e polpa branca amarelada (PORTE, 2010). Cada fruto contém cerca de 50 sementes envoltas em uma polpa mucilaginosa, com gosto ácido e aroma intenso (GENOVESE, 2009). Devido ao seu sabor forte, a polpa dos frutos é utilizada para fabricação de bebidas, sorvetes, licores, geleias, conservas e doces (SANTOS, 2010).

O peso dos frutos está em torno de um quilo, dependendo do tamanho, e possuem cerca de 40% de casca, 38,5% de polpa, 17,19% de semente e 2,5% de placenta. A cada 100g de cupuaçu estima-se que há em torno de 14,70 g de glicídios, 1,70 g de proteínas, 1,60 g de lipídeos 1.800 mcg de vitamina B1, 215 mcg de vitamina B2, 2,60 mg de ferro, 23 mg de cálcio, 26 mg de fósforo e 26,5 mg de vitamina C (FERREIRA, 2008).

Devido a apresentar excelentes características de aroma, sabor e textura, o cupuaçu vêm adquirindo grande aceitação no mercado internacional e dentre as frutas amazônicas é uma das que reúne melhor aproveitamento industrial.(FREIRE, 2009; MOREIRA, 2011; VRIESMAN ET AL., 2009). Além das características organolépticas do fruto, o fato de ser um fruto proveniente da região amazônica aumenta o interesse de outros países pelo seu consumo (LOPES, 2008).

O cupuaçu, como outras frutas tropicais, apresenta problemas na manipulação pós-colheita. A umidade e temperatura elevadas propiciam o aparecimento de bolores e rápida deterioração da fruta (OLIVEIRA, 2010). Estima-se que as perdas pós-colheita estejam em torno de 15 a 50% (MOREIRA, 2011).

4 METODOLOGIA

4.1 Cogumelo e cultivo em meio sólido

P. albidus DPUA 1692, *P. florida* DPUA 1534 e *L. citrinus* DPUA 1535 do acervo da Coleção DPUA, da Universidade Federal do Amazonas-UFAM foram cultivados em ágar Sabouraud adicionado de extrato de Levedura 0,5% [p/v

(SAB+YE)] por cinco dias, a 25 °C, na ausência de luz. As culturas estoque foram mantidas nas mesmas condições de cultivo, preparando-se subcultivos mensalmente.

4.2 Fermentação em meio líquido

4.2.1 Processamento e tratamento do substrato natural

O meio líquido foi formulado com polpa de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) e banana pacovi (*Musa* sp.), adquiridos no comércio local em Manaus-Amazonas. Após despulpamento manual da polpa do cupuaçu e do fatiamento da banana, ambos os substratos foram desidratados a 60 °C em estufa de ar forçada por aproximadamente 10 horas. Em seguida, os substratos foram triturados e armazenados em embalagens plásticas com tampa rosqueável devidamente higienizadas.

4.2.2 Preparação do meio de cultura líquido

O meio de cultura líquido para crescimento de *P. albidus*, *P. florida* e *L. citrinus* foi preparado conforme recomendações de Lacaz *et al.* (1984), utilizando-se polpa de banana pacovi e cupuaçu desidratado, meio A: [BC banana pacovi 9,95%(p/v) adicionado de cupuaçu 0,05% (p/v)], meio B: [BC banana 9,90% (p/v) e de cupuaçu 0,1% (p/v)] e meio C: [BC banana 9,80% (p/v) e de cupuaçu 0,2% (p/v)]. As misturas das polpas desidratadas foram adicionadas em 1000 mL de água destilada e submetidas a cocção por três minutos, em seguida o infuso foi filtrado em gaze, completando-se o volume a 1000mL com água destilada. O pH foi aferido a 6,0 com NaOH 1M. Em cada frasco de Erlenmeyer de 125 foi adicionado 50 mL de meio, seguindo a esterilização a 121°C por 12 minutos.

4.2.3 Determinação da influência do tamanho do inóculo

Dos cultivos de *P. albidus* DPUA 1692, *P. florida* DPUA 1534 e *L. citrinus* DPUA 1535 obtidos em ágar Sabouraud adicionado de extrato de Levedura 0,5% [p/v (SAB+YE)] foram retirados discos de micélio medindo 10 mm e inoculados em 50 mL de meio líquido BC (Extrato de banana pacovi-cupuaçu). Em Erlenmeyer de 125 mL foram inoculados 10, 15 e 20 discos de micélio medindo 10 mm de diâmetro. A fermentação foi conduzida a 25 °C, 150 rpm, por cinco dias. Ao término da fermentação a biomassa foi separada do sobrenadante por filtração, em crivo de chá de alumínio

(diâmetro = 75 mm). Para selecionar o volume do inóculo foi realizada a quantificação do volume de biomassa por desidratação a 100°C até peso constante. Nesta etapa foi utilizado um planejamento fatorial completo 2², com quatro repetições no ponto central, para avaliação dos seguintes parâmetros: tamanho do inóculo e concentração do substrato para selecionar a mistura de substrato e o volume do inóculo (Tabela 3).

Tabela 3. Matriz de planejamento fatorial completo 2²:avaliação tamanho do inóculo e concentração do substrato

Experimentos	Inóculo (Discos Miceliais)	Concentração Substrato (Polpa de Cupuaçu desidratada)
1	10	0,05
2	10	0,2
3	20	0,05
4	20	0,2
5 C	15	0,1
6 C	15	0,1
7 C	15	0,1
8 C	15	0,1

4.3 Fermentação Semi-Sólida

4.3.1 Preparo da casca de abacaxi para utilização como substrato

Para obtenção da casca de abacaxi, estes foram adquiridos em Novo Remanso, Município de Itacoatiara-Amazonas. Os frutos *in natura* foram pré-lavados com água potável para retiradas dos resíduos e escovados. Após pré-higienização foram imersos em água com hipoclorito de sódio 2,5% por 15 minutos. Após retirada do excesso de hipoclorito com água potável, os abacaxis foram descascados manualmente. A casca foi triturada em processador e desidratada a 60°C em estufa de ar forçada por aproximadamente 12 horas.

4.3.2 Inóculo

O inóculo e o meio selecionado no item 6.2.3 foi utilizado para produção de biomassa. A fermentação submersa foi separada do sobrenadante por filtração, em crivo de alumínio (diâmetro = 75 mm) e em seguida inoculada no substrato (casca de abacaxi triturada e umedecida).

4.3.3 Enriquecimento da casca do abacaxi desidratado

Para o enriquecimento do substrato, 100g de casca de abacaxi desidratada foi transferida para frascos de vidro com capacidade de 250g, com tampa rosqueável. As tampas foram furadas no centro, tamponadas com algodão cardado. Os frascos contendo substrato foram esterilizados a 121 °C por 60 minutos. Após o resfriamento, em cada frasco, a massa micelial de *P. albidus*, *P. florida* e *L. citrinus* recuperadas do meio líquido (item 6.3.2) foram inoculadas, superficialmente na de casca de abacaxi esterilizada. A fermentação foi conduzida a 25 °C até completa miceliação vertical do substrato com 70% de umidade. Em seguida o produto miceliado foi desintegrado e desidratado a 60°C em estufa de ar forçada. Para determinação da umidade ideal do substrato para crescimento de cada cogumelo, foram realizados cinco repetições dos cultivos, totalizando para cada espécie 10 cultivos.

4.4 Determinação da Composição físico-química dos frutos (banana e cupuaçu), da biomassa micelial, do substrato e do produto enriquecido com *P. albidus*, *P. florida* e *L. citrinus*

- **Umidade:** determinada por dessecação em estufa com circulação de ar a 105 °C (substrato para fermentação) e 40°C (substrato enriquecido com cogumelo) (método gravimétrico) até obtenção de peso constante A.O.A.C. (1997).
- **Proteína:** foi determinada pela concentração de nitrogênio (%) segundo o método micro *Kjeldahl* e aplicando o fator de conversão 6,26 para os substratos e 4,28 para os cogumelos por apresentarem componente nitrogenado não protéico (SILVA *et al.*, 2007).
- **Fibras totais:** A fibra bruta foi determinada através de digestão ácido-básica, segundo método de Weende estabelecido pela A.O.A.C (1997).
- **Cinzas (resíduo mineral fixo):** determinado por incineração do material em mufla a 550-660 °C até obtenção de peso constante A.O.A.C. (1997).
- **Lipídios:** obtido com misturas de solventes a frio segundo o método *Bligh and Dyer* (Bligh & Dyer, 1959).
- **Carboidratos totais:** estimados por diferença (100 – gramas totais de umidade, proteína, lipídios, cinzas e fibra alimentar) (LATINFOODS, 2002; NEPA, 2006).

- Energia: a energia total metabolizável, expressa em kilocalorias (kcal), foi calculada pelo fator de conversão de Atwater: (4 g proteína) + (4 g carboidratos totais) + (9 g de lipídeos), preconizados pelo Latinfoods (2002) e NEPA (2006).

4.5 Determinação de macro e micro minerais

A determinação dos minerais foi realizada conforme os métodos proposto pela Embrapa (2009). As amostras foram desidratadas em estufa de circulação de ar forçada a 40 °C, em seguida desidratadas e submetidas a digestão úmida $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ (3:1). O teor de fósforo foi determinado por Espectrofotometria com azul de molibdênio; cálcio, magnésio, potássio, cobre, ferro, manganês e zinco por espectrofotometria de absorção atômica (EAA). Todas as análises foram realizadas em triplicata. Os valores de macronutrientes (Ca, P, Mg, K) foram calculados em g.kg^{-1} e os dos micros (Fe, Cu, Mn e Zn) em mg.kg^{-1} .

4.6 Determinação de aminoácidos

A determinação dos teores de aminoácidos foi realizada por cromatografia líquida de alta performance (HPLC). As amostras passaram por hidrólise prévia com ácido clorídrico (HCl) 6N, seguida de derivação dos aminoácidos com fenilisotiocianato (PITC), e a separação dos derivativos feniltiocarbamilaminoácidos em coluna de fase reversa com detecção por UV a 254 nm. A quantificação foi feita por calibração interna multinível, com auxílio do ácido α -aminobutírico (AAAB) como padrão interno para aminoácidos totais (White et al., 1986). A determinação de triptofano foi realizada após hidrólise enzimática com pronase e reação colorimétrica com p-dimetil amino benzaldeído (DAB), segundo Spies (1967).

4.7 Determinação da qualidade microbiológica do substrato enriquecido

4.7.1 Preparo das amostras

De cada uma das amostras foram retirados, assepticamente, 25 g e homogeneizadas com 225 ml de água peptonada, por 2 minutos. A partir dessa solução

inicial foram realizadas uma série de diluições seriadas até 10^{-3} , em tubos de ensaio contendo 9 mL de água peptonada.

4.7.2 Determinação do Número Mais Provável (NMP.g⁻¹) de coliformes totais e termotolerantes

Alíquotas de 1 mL de cada diluição foram inoculadas em séries de três tubos contendo 9 mL de caldo Brila (Himedia®, Mumbai-India), com tubo de Duhran invertido (teste presuntivo). Os tubos foram incubados a 35 °C por 24-48 horas. A partir dos tubos com leitura positiva (formação de gás), foram realizados os testes confirmativos para coliformes totais em caldo Brila (Himedia®, Mumbai-India) a 35 °C por 24-48 horas e coliformes termotolerantes em caldo *Escherichia coli* (EC) (Himedia®, Mumbai-India) a 45°C por 24 horas. Os valores de NMP.g⁻¹ foram calculados de acordo com Silva et al. (2007).

4.7.3 Pesquisa de *Salmonella* sp

Alíquotas de 1 mL de cada diluição foram inoculadas em séries de três tubos contendo 9 mL de caldo Brila (Himedia®, Mumbai-India), com tubo de Duhran invertido (teste presuntivo). Os tubos foram incubados a 35 °C por 24-48 horas. A partir dos tubos com leitura positiva (formação de gás), foram realizados os testes confirmativos para coliformes totais em caldo Brila (Himedia®, Mumbai-India) a 35 °C por 24-48 horas. Permanecendo a formação de gás com auxílio de alça de platina foram inoculados em Ágar Verde Brilhante (VB) (Himedia®, Mumbai-India) a 35°C por 24 horas. As colônias suspeitas foram submetidas a testes bioquímicos (SILVA et al., 2007).

4.7.4 Quantificação de *Staphylococcus aureus* coagulase positiva

Das diluições 10^{-1} a 10^{-3} das amostras do basidioma, em triplicata, foram transferidos 1 mL para placas de Petri esterilizadas e a seguir, de maneira asséptica, foram vertidos 15 mL de Ágar Manitol Salgado, fundido e resfriado. Após a homogeneização e solidificação, as placas foram incubadas a 37°C por 24/48 horas. Após a incubação foram contadas as placas contendo colônias fermentadoras de manitol (coloração amarela).

Para a confirmação das colônias coagulase positiva, foram selecionadas 3 colônias típicas e 3 atípicas para o teste de coagulase e transferidas para tubos contendo 2 ml de Caldo Infusão Cérebro Coração (BHI) e mantidas a 37°C por 24 horas. Após esse período, transferiram alíquotas de 0,3 ml de Caldo BHI juntamente com 0,3 ml de plasma de coelho para tubos estéreis que foram incubados a 37°C por 6 horas. Foram considerados positivos os tubos com formação dos coágulos.

4.8 Análises estatísticas

Os resultados obtidos foram avaliados por Análise de Variância (ANOVA) e Teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Os resultados referentes ao planejamento fatorial foram analisados utilizando o software Statistica 7.0 (Statsoft, Inc, Tulsa, OK, USA).

CAPÍTULO 1

DESENVOLVIMENTO DE UM MEIO DE CULTURA LÍQUIDO UTILIZANDO POLPA DE BANANA E DE CUPUAÇU DESIDRATADAS PARA PRODUÇÃO DE BIOMASSA POR FUNGOS FILAMENTOSOS



Relatório Descritivo de Patente de Invenção

DESENVOLVIMENTO DE UM MEIO DE CULTURA LÍQUIDO UTILIZANDO POLPA DE BANANA E DE CUPUAÇU DESIDRATADAS PARA PRODUÇÃO DE BIOMASSA POR FUNGOS FILAMENTOSOS

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se a um processo de desenvolvimento de um meio de cultura complexo formulado com polpa de banana pacovi (*Musa sp.*) e de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) para cultivo pela tecnologia da fermentação submersa de fungos filamentosos, a exemplo de cogumelos comestíveis. A polpa da banana foi utilizada como fonte de nutrientes essencialmente de carbono e nitrogênio, compostos essenciais para o crescimento dos fungos.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

Banana (*Musa sp.*)

Banana é um termo genérico para as frutas pertencentes à família Musaceae, gênero *Musa*, produzidas extensivamente nas regiões tropicais e subtropicais do globo (Chong & Noor Aziah, 2008).

A banana é uma fruta de alto valor nutritivo, rica em açúcares e sais minerais, principalmente potássio, cálcio, ferro e fósforo, e vitaminas A, B1, B2 e C (Bezerra et al., 2013; Chong e Noor Aziah, 2008; Silva et al., 2003; Wang et al., 2012). Embora seja um fruto pobre em proteínas e lipídeos, os teores desses parâmetros são mais altos que os da maçã, pêra, cereja ou pêssego e, possui, ainda, carboidratos facilmente assimiláveis (Fasolin, 2003).

Independentemente da espécie é uma das frutas mais consumidas no mundo e, diferente da maioria das frutas tropicais, possui uma grande importância no cenário mundial, no que se refere a sua produção e comercialização (Fasolin et al., 2007; Fioravanço, 2003). Trata-se da quarta cultura mais importante depois do arroz, trigo e milho (Bezerra et al., 2013; Borges et al., 2009).

A presença marcante da banana no mercado mundial pode ser justificada por ser uma fruta possível de ser produzida durante todo o ano, cultivável em diferentes ambientes, além do alto rendimento de frutos por

hectare plantado. A cultura da banana auxilia na manutenção e fertilidade do solo e apresenta, ainda, um ciclo produtivo reduzido associado à facilidade de manejo (Fioravanço, 2003; Tezuka, 2009).

Em muitos países a produção de bananas tem elevada expressão econômica e um grande alcance social, sendo responsável por muitos empregos diretos e constituindo fonte de renda para grande número de pequenos agricultores e trabalhadores rurais, contribuindo adicionalmente no desenvolvimento sócio-econômico das áreas produtoras (Fioravanço, 2003; Tezuka, 2009).

Entre os países produtores de bananas destacam-se Índia, China e Filipinas. A Índia aparece como maior produtor mundial, com uma produção estimada em 29 milhões de toneladas. China e Filipinas vêm em segundo e terceiro lugares, com uma produção de dez e nove milhões de toneladas, respectivamente (FAO, 2011).

O Brasil é o quinto maior produtor de bananas do mundo, com uma produção de cerca de sete milhões de toneladas no ano de 2011 (FAO, 2011). A banana brasileira é cultivada em quase todos os estados, desde a faixa litorânea até os planaltos do interior, com uma área total cultivada de cerca de 500 mil hectares. Devido a fatores climáticos como temperatura e regime de chuvas, sua produção se concentra nos estados da Bahia, São Paulo, Santa Catarina, Pará e Minas Gerais, que detém 56% da produção nacional (Fasolin et al., 2007; Pontes, 2009; Tezuka, 2009). Embora não seja o maior produtor, o Brasil apresenta o maior consumo mundial *per capita* de bananas, com um consumo de cerca de 30 quilogramas por habitante ao ano (Fasolin et al., 2007; Silva e Ramos, 2009; Tezuka, 2009). A banana é a segunda fruta mais apreciada no país, sendo de extrema importância na alimentação brasileira, não só por seu alto valor nutritivo como também pelo seu baixo custo. Por ser um alimento de preço baixo é acessível a todas as camadas da população (Silva e Ramos, 2009).

No Amazonas, a bananicultura é praticada principalmente nas áreas de várzea. As variedades mais plantadas são “Prata”, “Maçã”, “São Tomé” e os plátanos “Pacovã” e “Pacovi” (Silva e Souza, 1999). Segundo dados do IBGE (2006), no Amazonas existem 10.872 estabelecimentos agropecuários com

mais de cinquenta pés de banana, com uma produção de cerca de 38.749 toneladas.

Estima-se que 20% a 25% das bananas produzidas no mundo todo sejam comercializadas na forma de fruta fresca. Embora a maioria das frutas também seja consumida fresca, há um crescimento notável no surgimento de produtos processados oriundos de bananas, como bananas fritas, purê de bananas, sucos, geléias, doces, etc. (Fioravanço, 2003; Wang et al., 2007).

Devido ao fato de ser uma fruta climatérica e na sua maioria ser consumida quando madura, grande parte da cultura da banana é perdida durante a comercialização e durante o manuseio pós-colheita. Uma nova estratégia econômica é a obtenção de farinha de banana verde e sua incorporação em produtos inovadores (Juarez Garcia et al., 2006; Wang et al., 2012).

Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*)

O cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) é uma fruta tipicamente amazônica e um dos frutos mais importantes da região que constitui a família Sterculiaceae, gênero *Theobroma* (Costa et al., 2003; Lannes, 2003; Santos, 2010). O cupuaçuzeiro é uma fruteira com ocorrência espontânea nas áreas de mata do sul e noroeste da Amazônia oriental brasileira, assim como no Maranhão e na região Amazônica de países vizinhos (Freire, 2009).

O fruto apresenta forma oval, casca marrom, dura e polpa branca amarelada (Porte, 2010). Cada fruto contém cerca de 50 sementes envoltas em uma polpa mucilagínosa, com gosto ácido e aroma intenso (Genovese, 2009). Devido ao seu sabor forte, a polpa dos frutos é utilizada para fabricação de bebidas, sorvetes, licores, geleias, conservas e doces (Santos, 2010). O peso dos frutos está em torno de um quilo, dependendo do tamanho, e possuem cerca de 40% de casca, 38,5% de polpa, 17,19% de semente e 2,5% de placenta. A cada 100g de cupuaçu estima-se que há em torno de 14,70 g de glicídios, 1,70 g de proteínas, 1,60 g de lipídeos 1.800 mcg de vitamina B1, 215 mcg de vitamina B2, 2,60 mg de ferro, 23 mg de cálcio, 26 mg de fósforo e 26,5 mg de vitamina C (Ferreira, 2008).

Dentre as frutas amazônicas, o cupuaçu é uma das que reúne melhor aproveitamento industrial, pois apresenta excelentes características de aroma, sabor e textura e vêm adquirindo grande aceitação no mercado internacional (Freire, 2009; Moreira, 2011; Vriesman et al., 2009). Além das características organolépticas do fruto, o fato de ser um fruto proveniente da região amazônica aumenta o interesse de outros países pelo seu consumo (Lopes, 2008).

Como outras frutas tropicais, o cupuaçu apresenta problemas na manipulação pós-colheita. A umidade e temperatura elevadas propiciam o aparecimento de bolores e rápida deterioração da fruta (Oliveira, 2010). Estima-se que as perdas pós-colheita estejam em torno de 15 a 50% (Moreira, 2011).

Cogumelos Comestíveis

Cogumelos são fungos saprófitos pertencentes à classe dos Basidiomycetes, que crescem nos mais diversos substratos e possuem um papel essencial na ciclagem de nutrientes (Carvalho et al., 2010). Existem aproximadamente 15000 espécies conhecidas e cerca de 2000 delas são comestíveis (Rai et al., 2005).

O consumo de cogumelos é uma prática antiga. No sudoeste asiático o cultivo de cogumelos data de 600 a.C, com a produção principal de *Auricularia auricularia*, fungo conhecido popularmente como orelha de pau. Na França, o consumo de cogumelos remonta desde o século XVII, sendo *Agaricus bisporus* (champignon-de-Paris), a principal espécie cultivada pelos franceses (Moda, 2008).

Vários trabalhos científicos vêm apontando as propriedades nutritivas e medicinais dos cogumelos e chamando atenção de pesquisadores e consumidores. Os cogumelos apresentam alto teor de proteínas e fibras alimentares e também são fontes de diversos minerais. Possuem um teor baixo de lipídeos e pode ser fonte de vitaminas, entre elas B1, B2, niacina, biotina e vitamina C (Godoy & Furlani, 2007). Além das características nutricionais, várias substâncias farmacológicas têm sido caracterizadas, exibindo atividades

antibióticas, antitumorais, antivirais e efeitos hipotensivos, hepatoprotetores e hematológicos (Rai, 2005).

Além da importância metabólica, os cogumelos possuem elevado potencial produtivo, uma vez que possuem um tempo de geração curto e crescem nos mais diversos substratos (Eira, 2004). Assim, a produção de cogumelos é uma alternativa extremamente eficiente para reciclagem de resíduos, produzindo alimentos de alto valor nutricional e reduzindo os impactos ambientais oriundo do descarte de materiais dispensáveis (Reffatti *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2007).

Gênero *Pleurotus*

Os basidiomicetes do gênero *Pleurotus* são cosmopolitas, comestíveis, encontrados naturalmente em florestas úmidas tropicais e subtropicais e possuem a habilidade de colonizar os mais diversos substratos (Pedra & Marino, 2006; Rivas, 2010). Esses macrofungos têm distribuição mundial e já foram documentados em áreas da mata atlântica brasileira e mesmo na região da Floresta Amazônica. Pertencem à família Agaricaceae Fr., ordem Agaricales, classe Basidiomycetes (Rivas *et al.*, 2010)

Pleurotus são os fungos causadores de podridão branca devido a colonização do substrato pelo seu micélio branco, capaz de degradar lignina e celulose. Para tanto, secretam um complexo de enzimas, incluindo peroxidases, lacases, celulases, hemicelulases (Alexandrino *et al.*, 2007; Rampinelli, 2009).

Entre os *Pleurotus*, *P. albidus*, ocorre na Argentina e já foi documentada no Brasil e no México, tem como característica, coloração clara, variando de creme a branco, e margem crenada (Lechner & Wright, 2004; Lechner & Albertó, 2011). Tem grande potencial produtivo, estudos feitos por Lechner & Albertó (2011), mostram que foram obtidos basidiomas de boa qualidade em menor tempo por *P. albidus* quando comparado a outras espécies do mesmo gênero. *P. florida* é outra espécie extensamente cultivada no mundo, especialmente na Índia. Estudos mostram que *P. florida* apresentou 37,19% de proteínas e apenas 3,72% de lipídeos, em base seca (Rout *et al.*, 2006). Além

do potencial nutricional de *P. florida*, é comumente reportado seu potencial terapêutico, uma vez que já foram isoladas substâncias com atividade antitumoral e imunoestimuladoras (Roy *et al.*, 2009).

Os cogumelos do gênero *Pleurotus* são os mais cultivados no mundo, pois além de colonizarem os mais diversos substratos, possuem um desenvolvimento rápido e eficiente, além de uma produção com baixo custo (Carvalho *et al.*, 2010).

Gênero Lentinus

O gênero *Lentinus* Fr. (família Lentinaceae), ordem Agaricales está constituída por mais de 40 espécies, tem distribuição mundial, com ocorrência principalmente nas áreas tropicais e subtropicais (Barros Filho, 2009).

Algumas espécies deste gênero são comestíveis, havendo registros de consumo de certas espécies por indígenas amazônicos. Os Yanomami, habitantes da Amazônia brasileira, consomem as espécies *Lentinus crinitus* (L.) Fr., *L. velutinus* Fr., *L. glabratus* Mont., *L. cubensis* Berk. e *L. strigosus* (Schwein) Fr. Na Amazônia colombiana, o grupo indígena Uíoto consome *L. strigosus*, *L. concavus* (Berk.), *L. crinitus*, e *L. scleropus* (Pres.) Fr. (Vargas-Isla & Ishikawa, 2008).

Dentre os cogumelos do gênero *Lentinus*, *L. edodes* (shitake) é o mais consumido devido seus aspectos terapêuticos e nutricionais. O Japão é o maior produtor de shitake do mundo, e o consumo deste fungo já é usual da população japonesa. No Brasil, o consumo de *L. edodes* vem aumentando, assim como o de outros fungos comestíveis, mas sua produção ainda é rudimentar, realizada principalmente por pequenos produtores oriundos da colônia asiática (Moura, 2008).

DETALHES DA INVENÇÃO

Preparação da cultura matriz dos cogumelos comestíveis

P. albidus DPUA 1692, *P. florida* DPUA 1534 e *L. citrinus* DPUA 1535 do acervo da Coleção DPUA, da Universidade Federal do Amazonas-UFAM.

Nas análises experimentais, essas espécies foram cultivadas em ágar Sabouraud adicionado de extrato de Levedura 0,5% [p/v (SAB+YE)] por cinco dias, a 25 °C, na ausência de luz. As culturas estoque foram mantidas nas mesmas condições de cultivo, preparando-se subcultivos mensalmente.

Processamento e tratamento da polpa de banana e de cupuaçu

A polpa de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) e banana pacovi (*Musa* sp.) foram adquiridos no comércio local em Manaus-Amazonas para preparação do meio líquido. Após despulpamento manual da polpa do cupuaçu e do fatiamento da banana, com cuidados assépticos, ambos os produtos foram desidratados a 60 °C em estufa de ar forçada por aproximadamente 10 horas. Em seguida, os substratos foram triturados e armazenados em embalagens plásticas com tampa rosqueável devidamente esterilizadas.

Preparação do meio de cultura líquido utilizando como substrato a polpa de banana e cupuaçu trituradas e desidratadas

O meio de cultura líquido para crescimento de *P. albidus*, *P. florida* e *L. citrinus* foi preparado conforme recomendações de Lacaz *et al.* (1984), utilizando-se polpa de banana pacovi e cupuaçu desidratado (0,05%, 0,1% e 0,2%), meio A: [CB banana pacovi 9,95%(p/v) adicionado de cupuaçu 0,05% (p/v)], meio B: [BC banana 9,90% (p/v) e de cupuaçu 0,1% (p/v)] e meio C: [BC banana 9,80% (p/v) e de cupuaçu 0,2% (p/v)]. As misturas das polpas desidratadas foram adicionadas em 1000 mL de água destilada e submetidas a cocção por três minutos, em seguida o infuso foi filtrado em gaze, completando-se o volume a 1000mL com água destilada. O pH foi aferido com NaOH 1M. Em cada frasco de Erlenmeyer de 125 foi adicionado 50 mL de meio, seguindo a esterilização a 121°C por 12 minutos.

Determinação da influência do tamanho do inóculo

Para avaliar a influência do tamanho do inóculo e da concentração da polpa desidratada na produção de biomassa, das culturas matrizes de *P. albidus* DPUA 1692, *P. florida* DPUA 1534 e *L. citrinus* DPUA 1535 foram

retirados discos de micélio medindo 10 mm para ser inoculado em 50 mL de meio líquido [(EBC) constituído de extrato de banana pacovi-cupuaçu 0,05%, 0,1% e 0,2%]. Em Erlenmeyer de 125 mL foram inoculados 10, 15 e 20 discos de micélio medindo 10 mm de diâmetro. A fermentação foi conduzida a 25 °C, 150 rpm, por cinco dias. Ao término da fermentação a biomassa foi separada do sobrenadante por filtração, em crivo de chá de alumínio (diâmetro = 75 mm). Para selecionar o volume do inóculo foi realizada a quantificação do volume de biomassa por desidratação a 100°C até peso constante. Nesta etapa foi utilizado um planejamento fatorial completo 2², com quatro repetições no ponto central, para avaliação dos seguintes parâmetros: tamanho do inóculo e concentração do substrato para selecionar a mistura de substrato e o volume do inóculo (Tabela 1).

Tabela 1. Matriz de planejamento fatorial completo 2²:avaliação tamanho do inóculo e concentração do substrato

Experimentos	Inóculo (Discos Miceliais)	Concentração Substrato (Polpa de Cupuaçu desidratada)
1	10	0,05
2	10	0,2
3	20	0,05
4	20	0,2
5 C	15	0,1
6 C	15	0,1
7 C	15	0,1
8 C	15	0,1

Determinação da composição centesimal da polpa da banana e cupuaçu desidratadas e da biomassa micelial

- Umidade: determinada por dessecação em estufa com circulação de ar a 105 °C (substrato para fermentação) e 40°C (substrato enriquecido com cogumelo) (método gravimétrico) até obtenção de peso constante A.O.A.C. (1997).
- Proteína: foi determinada pela concentração de nitrogênio (%) segundo o método micro *Kjeldahl* e aplicando o fator de conversão 6,26 para os substratos e 4,28 para os cogumelos por apresentarem componente nitrogenado não protéico (SILVA *et al.*, 1997).

- Cinzas (resíduo mineral fixo): determinado por incineração do material em mufla a 550-660 °C até obtenção de peso constante A.O.A.C. (1997).
- Lipídios: obtido com misturas de solventes a frio segundo o método *Bligh and Dyer* (A.O.A.C, 1997).
- Fibras totais: A fibra bruta foi determinada através de digestão ácido-básica, segundo método de Weende estabelecido pela A.O.A.C (1997).
- Carboidratos totais: estimados por diferença (100 – gramas totais de umidade, proteína, lipídios, cinzas e fibra alimentar) (LATINFOODS, 2002; NEPA, 2006).
- Energia: a energia total metabolizável, expressa em kilocalorias (kcal), foi calculada pelo fator de conversão de Atwater: (4 g proteína) + (4 g carboidratos totais) + (9 g de lipídeos), preconizados pelo Latinfoods (2002) e NEPA (2006).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados segundo análise de variância (ANOVA) ao nível de 95% de significância e os gráficos realizados utilizando-se o software “Statistica 8,0” (Statsoft, Inc., 2008, USA).

CARACTERÍSTICAS DO INVENTO

Os resultados apresentados nas figuras 1, 2 e 3 mostram que o meio líquido formulado com os constituintes da polpa da banana e do cupuaçu promoveram o crescimento e o desenvolvimento micelial dos cogumelos comestíveis avaliados (*P. albidus*, *P. florida* e *L. citrinus*). No gráfico de Pareto o eixo vertical mostra os efeitos e a interação entre as variáveis, volume de discos miceliais e concentração dos substratos. A linha em vermelho está sendo utilizada para revelar quais os efeitos são significativos estatisticamente. Sendo assim, as barras que se estendem além da linha correspondem aos efeitos estatisticamente significativos com um nível de 95% de significância.

Os gráficos mostram que os dois parâmetros analisados foram estatisticamente significantes em relação à produção de biomassa para todos os cogumelos avaliados, com a única exceção do parâmetro concentração do substrato para o cogumelo *P. albidus* (Figura 1). O efeito para o parâmetro discos de micélio foi o mais significativo para *P. albidus* e *P. florida*, sugerindo que o aumento do número de discos de micélio inoculados favoreceu a produção de biomassa,

enquanto que em *L. citrinus* o parâmetro concentração do substrato foi o mais significativo (Figura 3), indicando que a elevação da concentração dos dois substratos favoreceu a sua produção de biomassa.

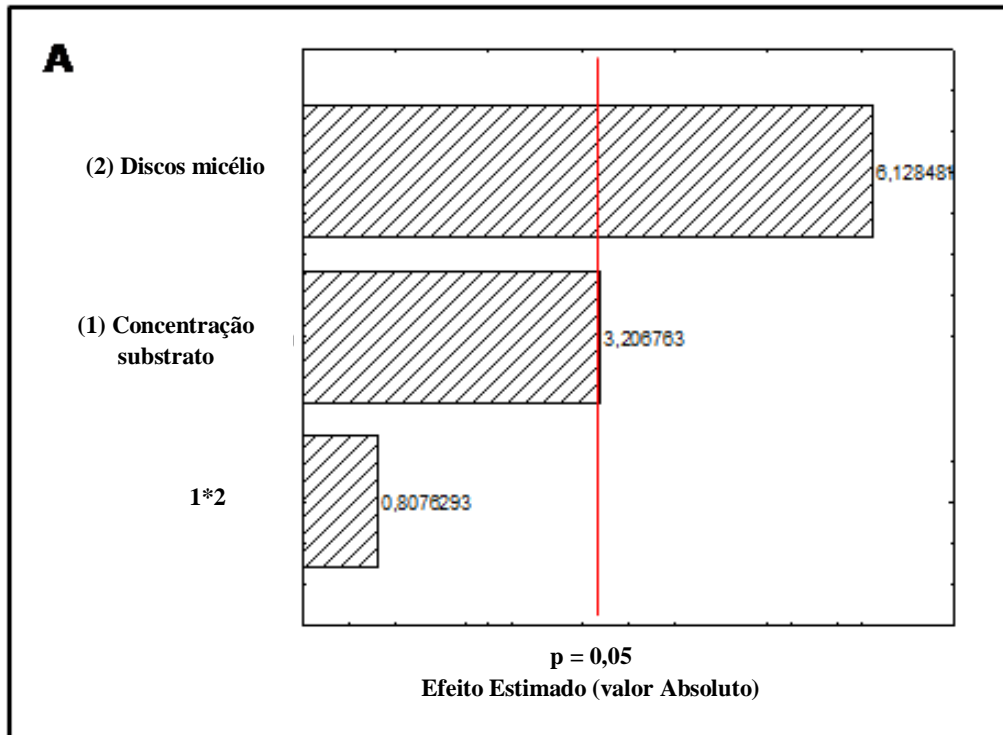


Figura 1. Gráfico de Pareto dos efeitos estimados em relação à produção de biomassa de *P. albidus*.

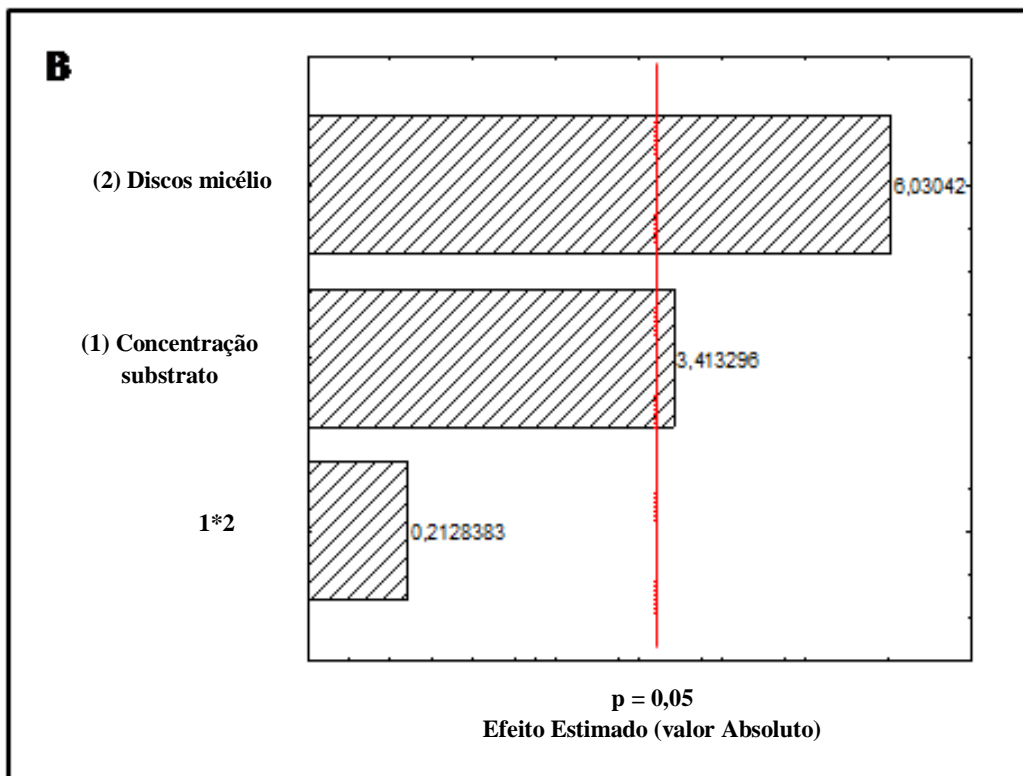


Figura 2. Gráfico de Pareto dos efeitos estimados em relação à atividade proteolítica de *P. florida*.

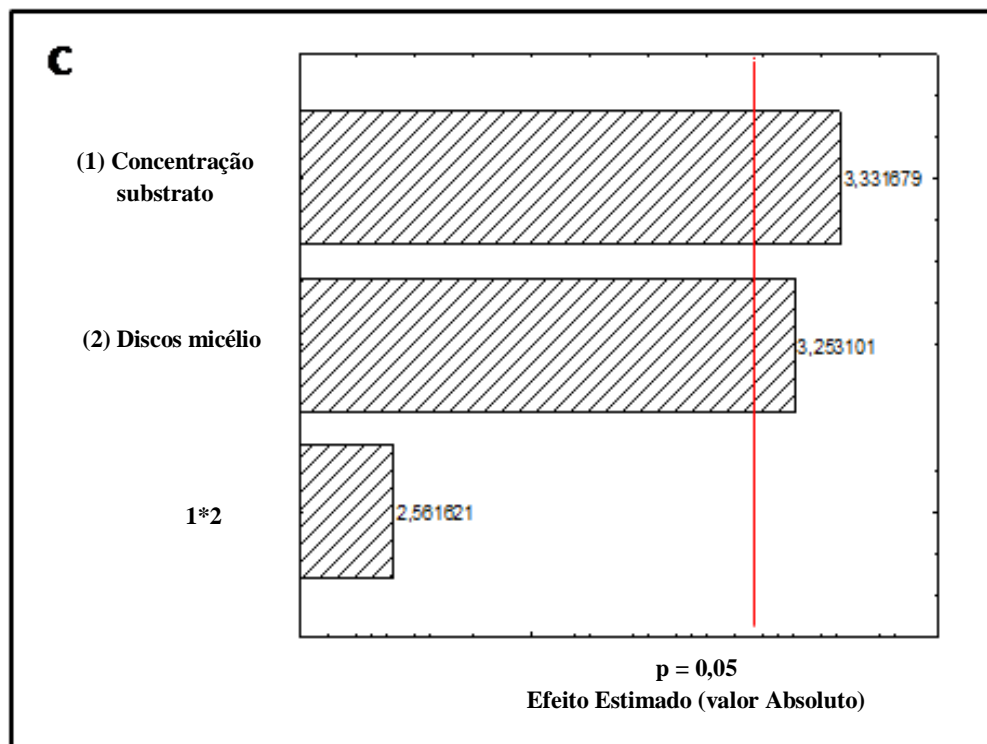


Figura 3. Gráfico de Pareto dos efeitos estimados em relação à produção de biomassa de *L. citrinus*.

Composição centesimal da polpa de banana e cupuaçu

Os resultados obtidos na análise centesimal das polpas podem ser observados na tabela 2. A amostra de polpa de cupuaçu apresentou o maior teor de umidade, 21,60 g em contraste com o valor de 8,54g encontrado para a polpa de banana. Esse alto valor pode ser devido à absorção de umidade do ambiente durante o acondicionamento das amostras. A polpa de cupuaçu possui um maior teor de cinzas, indicando que possui um maior conteúdo mineral que a polpa da banana. Ambas as amostras possuem baixos teores lipídicos, mas o menor valor, 0,13g, foi encontrado para a polpa de banana. O maior conteúdo de proteínas e fibras foi observado para a polpa de cupuaçu. Em contrapartida, a polpa de banana mostrou um grande conteúdo de carboidratos, constituindo uma boa fonte de carbono para o cultivo de fungos.

Tabela 2. Composição centesimal das polpas de banana e cupuaçu desidratadas

Parâmetro	100 g de amostra desidratada	
	Polpa de Cupuaçu	Polpa de Banana
Umidade (g)	21,60	8,54
Cinzas (g)	4,56	2,62
Lipídeos (g)	2,23	0,13
Proteínas (g)	7,28	5,11
Fibras (g)	11,79	2,18
Carboidratos (g)	52,53	81,42
Calorias (Kcal)	259,34	347, 25

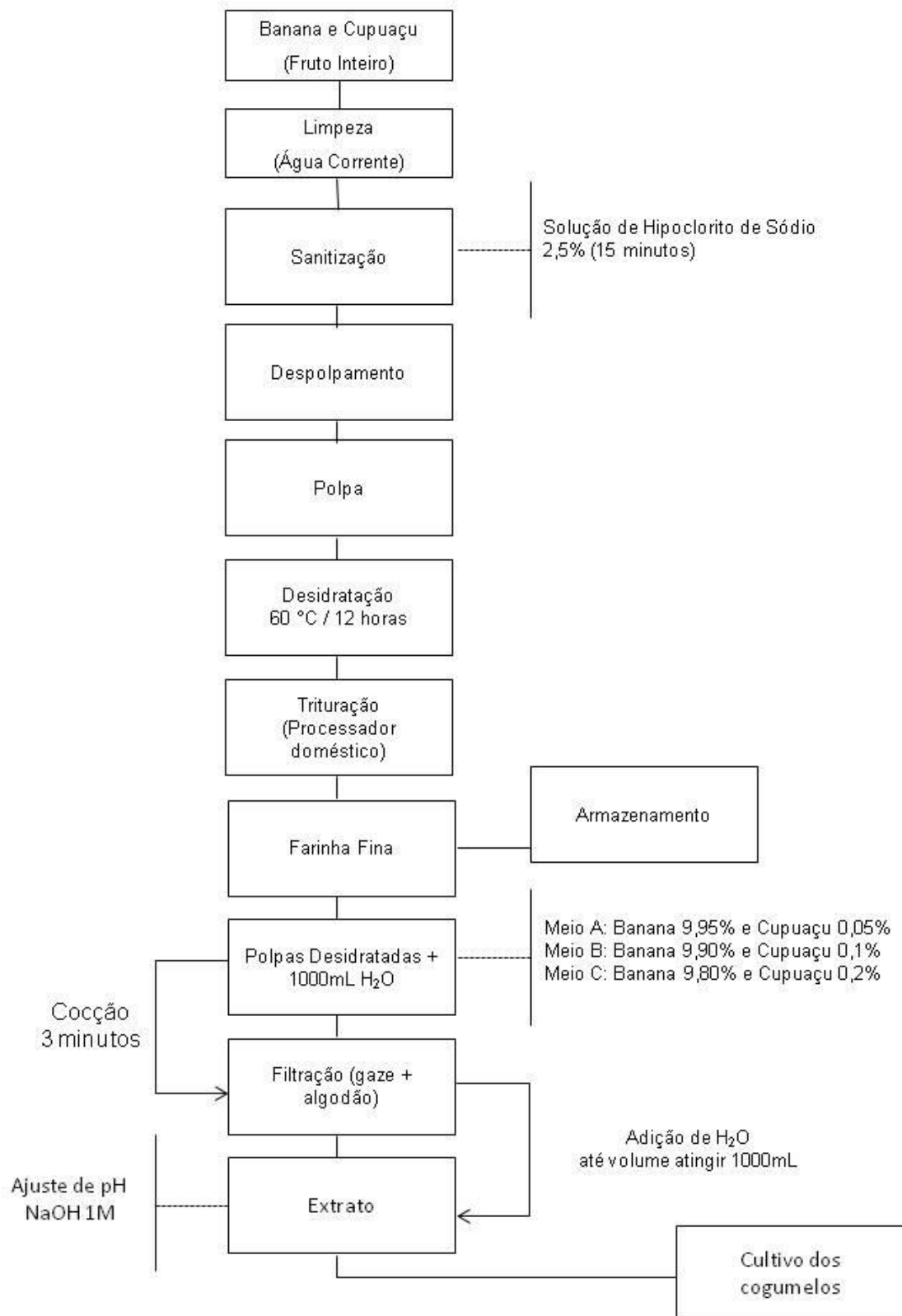
Os resultados da composição físico-química obtidos para a biomassa micelial desidratada dos três cogumelos cultivados no meio banana-cupuaçu estão representados na tabela 3. Dos três cogumelos cultivados, *P. florida* apresentou o maior teor de umidade 15,41g e o menor teor de fibras 13,64g. Quanto à quantidade de cinzas, *P. albidus* e *P. florida* mostraram valores similares, o menor valor foi o de *L. citrinus*, 5,89g. Todos os cogumelos apresentaram um baixo conteúdo lipídico, porém *P. florida* apresentou o menor valor dentre eles. O conteúdo protéico das biomassas, por sua vez, variou de 11 a 13g de proteína por 100g de amostra desidratada, sendo que o cogumelo com maior teor de proteínas foi *P. albidus*. Dentre as três amostras analisadas, *P. albidus* apresentou o maior teor de fibras, seguido de *L. citrinus* e *P. florida*.

A biomassa micelial de *L. citrinus* foi a que revelou os maiores teores de carboidratos e calorias. Os cogumelos cultivados no meio formulado a partir de banana e cupuaçu mostraram uma boa quantidade de proteína, fibras e carboidratos, além de baixo teores lipídicos, indicado que o meio elaborado teve potencial para o crescimento dos fungos avaliados.

Tabela 3. Composição centesimal da biomassa micelial desidratada de *P. albidus*, *P. florida* e *L. citrinus*

Parâmetro	100 g de amostra desidratada		
	Biomassa de <i>P. albidus</i>	Biomassa de <i>P. florida</i>	Biomassa de <i>L. citrinus</i>
Umidade (g)	13,87	15,41	11,77
Cinzas (g)	7,08	7,27	5,89
Lipídeos (g)	1,71	0,52	0,63
Proteínas (g)	13,43	12,10	11,03
Fibras (g)	16,39	13,64	15,94
Carboidratos (g)	47,51	51,04	54,74
Calorias (Kcal)	259,19	257,31	268,71

FLUXOGRAMA DO INVENTO



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alexandrino, A. M.; Faria, H. G.; Souza, C. G M.; Peralta, R. M. Aproveitamento do resíduo de laranja para a produção de enzimas lignocelulolíticas por *Pleurotus ostreatus* (Jack:Fr). *Ciência e Tecnologia de Alimentos.*, v. 27, n. 2, p. 364-368, 2007.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of AOAC International. 16 ed. Gaitheersburg: AOAC, 1997.

Barros Filho, B. A. Estudo químico do Basidiomiceto *Lentinus strigellus*. Tese (Doutorado em Química Orgânica). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

Bezerra, C. V.; Amanteb, E. R.; Oliveira, D. C.; Rodrigues, A. M. C.; Silva, L. H. M. Green banana (*Musa cavendishii*) flour obtained in spouted bed – Effect of drying on physico-chemical, functional and morphological characteristics of the starch. *Industrial Crops and Products*, v. 41, p. 241– 249, 2013.

Borges, M. A.; Pereira, J.; Lucena, E. M. P. Caracterização da farinha de banana verde. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 29, n. 2, p. 333-339, 2009.

Carvalho, C. S. M.; Sales-Campos, C.; Andrade, M. C. N. Mushrooms of the *Pleurotus* genus: a review of cultivation techniques. *Interciencia*, v. 35, n.3, 2010.

Chong, L. C.; Noor Aziah, A. A. Influence of partial substitution of wheat flour with banana (*Musa paradisiaca* var. *Awak*) flour on the physico – chemical and sensory characteristics of doughnuts. *International Food Research Journal*, v. 15, n. 2, p. 119-124, 2008.

Costa, M. C.; Maia, G. A.; Souza Filho, M. S. S.; Figueiredo, R. W.; Nassu, R. T.; Monteiro, J. C. S. Conservação de polpa de cupuaçu [*Theobroma grandiflorum* (Willd. Ex Spreng.) Schum] por métodos combinados. *Revista Brasileira de Fruticultura de Jaboticabal*, v. 25, n. 2, p. 213-215, 2003.

Eira, A. F.. In: *Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia*. Elisa Esposito e João Lucio de Azevedo. Caxias do sul: Educs, 510p., 2004.

FAO. FAOSTAT statistics database 2011. Agriculture. <http://faostat.fao.org/> Rome, Italy.

Fasolin, L. H.; Almeida, G. C.; Castanho, P. S.; Netto-Oliveira, E. R. Biscoitos produzidos com farinha de banana: avaliações química, física e sensorial. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, n.3, p. 524-529, 2007

Ferreira, G. M.; Guimarães, M. J. O. C.; Maia, M. C. A. E. Efeito da temperatura e taxa de cisalhamento nas propriedades de escoamento da polpa de cupuaçu (*T. grandiflorum* Schum) integral. *Revista Brasileira Fruticultura*, v. 30, n. 2, p.385-389, 2008.

Fioravanço, J. C. Mercado Mundial da banana: produção, comércio e participação brasileira. *Informações econômicas*, v. 33, n. 10, 2003.

Freire, M. T. A.; Petrus, R. R.; Freire, C. M. A.; Oliveira, C. A. F.; Felipe, A. M. P. F.; Gatti, J. B. Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de polpa de cupuaçu congelada (*Theobroma grandiflorum* Schum). *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 12, n. 1, p. 09-16, 2009.

Genovese, M.; Lannes, S. C. S. Comparison of total phenolic content and antiradical capacity of powders and “chocolates” from cocoa and cupuassu. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 29, n. 4, p. 810-814, 2009.

Godoy, H. T.; Furlani, R. P. Z. Valor nutricional de cogumelos comestíveis. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, n.1, p. 154-157, 2007.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo agripecuário 2006. <http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=am&tema=censoagro>

Juarez-Garcia, E.; Agama-Acevedo, E.; Sayago-Ayerdi, S. G.; Rodriguez-Ambriz, S. L.; Bello-Perez, L. A. Composition, digestibility and application in breadmaking of banana flour. *Plant Foods for Human Nutrition*, v. 61, p. 131–137, 2006.

Lacaz, C. S.; Porto, E.; Martins, J. E.C. *Micologia Médica: fungos, actinomicetos e algas de interesse médico*. Savier: São Paulo, 1984.

Lannes, S. C. S.; Medeiros, M. L. Processamento de achocolatado de cupuaçu por spray-dryer.

Latinfoods. Red Latinoamericana de Composición de Alimentos. 2002. Disponível em: <<http://www.inta.cl/latinfoods/>> Acesso em jul. 2011.

Lechner, B. E.; Albertó, E. Search for new naturally occurring strains of *Pleurotus* to improve yields. *P. albidus* as a novel proposed species for mushroom production. *Rev Iberoam Micol.*, 2011.

Lechner, B. E.; Wright, J. E. The genus *Pleurotus* in Argentina. *Mycologia*, v. 96, n.4, p. 845–858, 2004.

Lopes, A. S.; Pezoa-García, N. H.; Amaya-Farfán, J. Qualidade nutricional das proteínas de cupuaçu e de cacau. *Ciência Tecnologia de Alimentos*, v. 28, n. 2, p. 263-268, 2008.

Moda, E. M. Aumento da vida útil de cogumelos *Pleurotus sajor-caju in natura* com aplicação de radiação gama. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

Moreira, J. S. A.; Souza, M. L.; Araujo, S. E.; Silva, R. F. Estudo da estabilidade microbiológica e físico-química de polpa de cupuaçu desidratada em estufa. *Revista Caatinga*, v. 24, n. 2, p. 26-32, 2011.

Moura, P. L. C. Determinação de elementos essenciais e tóxicos em cogumelos comestíveis por análise por ativação com nêutrons. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

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

Oliveira, J. A. R.; Carvalho, A. V.; Moreira, D. K. T.; Martins, L. H. S. Elaboração e caracterização de estruturado obtido de polpa concentrada de cupuaçu. *Rev. Ci. Agra.* v.53, n.2, p.164-170, 2010.

Pedra, W.N.; Marino, R.H. Cultivo axênico de *Pleurotus* spp. em serragem de casca de coco (*Cocos nucifera* Linn.) suplementada com farelo de arroz e/ou de trigo. *Arq. Inst. Biol.*, v.73, n.2, p.219-225, 2006.

Pontes, S. F. O. Processamento e qualidade de banana da terra (*Musa sapientum*) desidratada. Dissertação de mestrado, Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Itapetinga, 2009.

Porte, A.; Rezende, C. M. ; Antunes, O. A. C.; Maia, L. H. Redução de aminoácidos em polpas de bacuri (*Platonia insignis* Mart), cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Wild ex-Spreng Schum) e murici (*Byrsonima crassifolia* L.) processado (aquecido e alcalinizado). *Acta Amazonica*, v. 40, n. 3, 2010.

Rai, M.; Tidke, G.; Wasser, S. P. Therapeutic potential of mushroom. *Natural product radiance*, v. 4, n. 4, p. 246-257, 2005.

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

Reffatti, P. F.; Lorenzetti, E.; Rodrigues, M. B. Caracterização de resíduos de erva-mate – para produção axênica de cogumelos. *Synergismus scyentifica UTFPR*, v.01,p. 1-778. 2006.

Rivas, P. M. S.; Pereira Filho, A. A.; Santos, F. A.S.; Rosa, I. G. Avaliação de substratos pectocelulósicos para o cultivo de cogumelos comestíveis do gênero *Pleurotus* sp. (Agaricales). *Cad. Pesq.*, v. 17, n. 3, 2010.

Rout, D.; Mondal, S.; Chakraborty, I.; Islam, S. S. The structure of a polysaccharide from Fraction-II of an edible mushroom, *Pleurotus florida*. *Carbohydrate Research*, v. 314, p.995-1002, 2006.

Roy, S. K.; Das, D.; Mondal, S.; Maiti, D.; Bhunia, B.; Maiti, T. K.; Islam, S.S. Structural studies of an immunoenhancing water-soluble glucan isolated from hot water extract of an edible mushroom, *Pleurotus florida*, cultivar Assam Florida. *Carbohydrate Research*, v.. 344, p. 2596–2601, 2009.

Santos, G. M.; Maia, G. A.; Sousa, P. H. M.; Figueiredo, R. W.; Costa, J. M. C.; Fonseca, A. V. V. Atividade antioxidante e correlações com componentes bioativos de produtos comerciais de cupuaçu. *Ciência Rural*, v. 40, n.7, 2010.

Silva, E. G.; Dias, E. S.; Siqueira, F. G.; Schwan, R. F. Chemical analysis of fructification bodies of *Pleurotus sajor-caju* cultivated in several nitrogen concentrations. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.27, n.1, 2007.

Silva, F. D.; Mata, M. E. E. M. C.; Duarte, M. E. M.; Souza, J. A.; Silva, Y. C. Desidratação osmótica de banana da terra (*Musa sapientum*): aplicação de modelos matemáticos. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, n.1, p.69-76, 2003.

Silva, M. B. L.; Ramos, A. M. Composição química, textura e aceitação sensorial de doces em massa elaborados com polpa de banana e banana integral. *Rev. Ceres. Viçosa*, v. 56, n.5, p. 551-554, 2009.

Silva, S. E. L.; Souza, A. G. C. Avaliação de cultivares de bananeiras nas condições edafoclimáticas de Manaus – AM. Embrapa Amazônia Ocidental. Boletim de pesquisa, 1999.

Silva, N.; Junqueira, V.C.A.; Silveira, N.F.A. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo-SP: Editora Livraria Varela, 317 p., 1997.

Tezuka, E. S. Um modelo de visão computacional para identificação do estágio de maturação e injúrias no pós-colheita de bananas (*Musa sapientum*). Dissertação de Mestrado, Programa de Pós Graduação em Ciência da Computação. Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, 2009.

Vargas-Isla, R.; Ishikawa, N. K. Optimal conditions of in vitro mycelia growth of *Lentinus strigosus*, an edible mushroom isolated in the Brazilian Amazon. *Mycoscience*, v. 49, p. 215-219, 2008.

Vriesman, L. C.; Silveira, J. L. M.; Petkowicz, C. L. O. Chemical and rheological properties of a starch-rich fraction from the pulp of the fruit cupuassu (*Theobroma grandiflorum*). *Materials Science and Engineering*, p. 651–656, 2009.

Wang, J.; Li, Y. Z.; Chen, R. R.; Bao, J. Y.; Yang, G. M. Comparison of volatiles of banana powder dehydrated by vacuum belt drying, freeze-drying and air-drying. *Food chemistry*, v. 104, p. 1516-1521, 2007.

Wang, Y.; Zhang, M.; Mujumdar, A. S. Influence of green banana flour substitution cassava starch on the nutrition, color, texture and sensory quality in two types of snacks. *Food Science and Technology*, v. 47, p. 175-182, 2012.

CAPÍTULO 2

CARACTERÍSTICA NUTRICIONAL DE BIOPRODUTO A BASE DE CASCA DE ABACAXI ENRIQUECIDA COM COGUMELO COMESTÍVEL

International Journal of Medicinal Mushrooms

Característica nutricional de bioproduto a base de casca de abacaxi enriquecido com cogumelo comestível

Raiane Áila Teixeira Souza^{1*}, Tamiris Rio Branco da Fonseca², Raimundo Felipe da Cruz Filho³, Maria Francisca Simas Teixeira⁴

*Endereço de correspondência: Universidade Federal do Amazonas, Instituto de Ciências Biológicas, Laboratório de Micologia, Manaus, Amazonas; Tel: 55 (92) 3305-4284; mteixeira@ufam.edu.br

¹ Pós Graduação em Biotecnologia, Mestrado, Universidade Federal do Amazonas, raiane.aila@hotmail.com

² Pós Graduação em Biotecnologia, Mestrado Universidade Federal do Amazonas, tamis_f@hotmail.com

³ Pós Graduação em Biotecnologia, Doutorado, Universidade Federal do Amazonas, rfilho.felipe@gmail.com

⁴ Pesquisadora Universidade Federal do Amazonas, Coleção de Cultura DPUA-UFAM, mteixeira@ufam.edu.br

Resumo

Foram analisadas a composição centesimal, teor de macro e micro minerais e teor de aminoácidos da casca do abacaxi enriquecida com os cogumelos comestíveis *Pleurotus albidus*, *Pleurotus florida* e *Lentinus citrinus*. A fermentação semi-sólida foi conduzida a 25 °C até completa miceliação do substrato. O crescimento dos fungos no substrato ocasionou o aumento do teor de proteínas e minerais e a redução do conteúdo de carboidratos. A casca enriquecida com o micélio dos cogumelos apresentou altos valores de potássio (15-17g.kg⁻¹), fósforo (1,42-1,74 g.kg⁻¹), magnésio (0,82-0,91 g.kg⁻¹), ferro (249-279 mg.kg⁻¹) e manganês (57-63 mg.kg⁻¹). Todos os aminoácidos essenciais foram encontrados na casca tratada com os cogumelos e nenhuma contaminação foi observada. Este estudo mostra que *P. albidus*, *P. florida* e *L. citrinus* possui um grande potencial para melhorar o valor nutritivo da casca do abacaxi.

Palavras – chave: *Pleurotus*, *Lentinus*, fermentação semi-sólida, composição centesimal

I. Introdução

Os cogumelos apresentam alto teor de proteínas cujo valor pode ser maior do que em diversas frutas e legume. Também são fontes de fibras, minerais, apresentam um teor baixo de lipídeos, além de vitaminas B1, B2, niacina, biotina e vitamina C^{7,10}.

Dentre os cogumelos comestíveis, representantes do gênero *Pleurotus* são cosmopolitas, encontrados naturalmente em florestas úmidas tropicais e subtropicais. As espécies possuem habilidade de colonizar os mais diversos substratos por serem decompositores primários. Além das características nutricionais, várias substâncias produzidas por *Pleurotus* têm sido caracterizadas, exibindo atividades antibióticas, antitumorais, antivirais e efeitos hipotensivos, hepatoprotetores e hematológicos^{23,26}.

Assim como os *Pleurotus*, os basidiomicetes do gênero *Lentinus*,

podem ser encontrados principalmente em florestas tropicais e subtropicais e seu consumo vêm crescendo mundialmente devido seu potencial nutricional e terapêutico¹⁵. Apenas poucas espécies de *Lentinus* são cultivadas, sendo *Lentinus edodes* a principal delas⁵.

A produção de cogumelos é uma alternativa extremamente eficiente para reciclagem de resíduos, produzindo alimentos de alto valor nutricional e reduzindo os impactos ambientais oriundo do descarte de materiais dispensáveis^{7,24,29,30}.

Resíduos que pode ser podem ser aproveitados no cultivo de cogumelos comestíveis são os resultantes do processamento do abacaxi, uma das tecnologias que produz 15,4 toneladas de soqueira seca e a casca resultante da prensagem para obtenção de calda. O potencial relevante desses resíduos está associado a

presença de altos teores de amido e proteína e fontes de carbono (sacarose, glicose e frutose)^{18,20}.

A casca do abacaxi apresenta conteúdo nutricional superior ao das partes comestíveis, entre outros, tem destaque o alto teor de fibras alimentares, proteínas e até mesmo cálcio. Nas indústrias processadoras de abacaxi apenas uma pequena porcentagem da infrutencência é

utilizada, uma vez que a parte comestível representa cerca de 22,5% do seu volume^{25,27}.

Deste modo, este estudo tem como objetivo utilizar a casca de abacaxi para o cultivo de três espécies de cogumelos comestíveis *Pleurotus albidus*, *Pleurotus florida* e *Lentinus citrinus* para a obtenção de um produto enriquecido com possibilidade de uso como suplemento alimentar.

na ausência de luz para obtenção das culturas matrizes.

II. Material e Métodos

A. Microrganismo e manutenção

Pleurotus albidus DPUA 1692, *Pleurotus florida* DPUA 1534 e *Lentinus citrinus* DPUA 1535 do acervo da Coleção DPUA, da Universidade Federal do Amazonas-UFAM foram cultivados em ágar Sabouraud adicionado de extrato de Levedura 0,5% [p/v (SAB+YE)] por cinco dias, a 25 °C,

B. Preparo do substrato

Os abacaxis *in natura* foram pré-lavados com água potável e imersos em água com hipoclorito de sódio 2,5% por 15 minutos. Após retirada do excesso de hipoclorito com água potável, os abacaxis foram descascados manualmente. A casca foi triturada em processador de alimentos e desidratada

a 60°C em estufa de ar forçada por aproximadamente 12 horas. À casca de abacaxi desidratada foi adicionado água suficiente para obtenção de 70% de umidade e o pH foi aferido para 6,0. Do resíduo desidratado foi retirado 300g e acondicionados em frascos de vidro com capacidade de 250g com tampas rosqueável. Na tampa de cada vidro foi feito um furo central para tamponamento com algodão cardado. Os frascos contendo o substrato foram esterilizados a 121 °C por 60 minutos por duas vezes, com intervalo de 24 horas entre as esterilizações.

C. Preparo do inóculo

Das culturas matrizes de *P. albidus* DPUA 1692, *P. florida* DPUA 1534 e *L. citrinus* DPUA 1535 foram retirados 20 discos de micélio medindo 10 mm e inoculados em 50 mL de meio líquido BC (Extrato de banana 9,8% e cupuaçu 0,2%). A fermentação foi

conduzida a 25 °C, 150 rpm, por cinco dias. Ao término da fermentação a biomassa foi separada do sobrenadante por filtração, em crivo de chá de alumínio (diâmetro = 75 mm) para posterior inoculação no substrato.

D. Fermentação semi-sólida

Em cada frasco, a massa micelial de *P. albidus*, *P. florida* e *L. citrinus* recuperadas do meio líquido foram inoculadas, superficialmente na de casca de abacaxi esterilizada. A fermentação foi conduzida a 25 °C até completa miceliação vertical do substrato com 70% de umidade. Em seguida o produto miceliado foi desintegrado e desidratado a 40°C em estufa de ar forçada.

E. Determinação da composição centesimal

A casca do abacaxi e a casca enriquecida com os cogumelos foram

submetidas à determinação de umidade, lipídeos, proteína, cinzas e carboidratos. A umidade foi determinada por dessecação em estufa com circulação de ar a 105 °C (substrato para fermentação) e 40°C (substrato enriquecido com cogumelo) (método gravimétrico) até obtenção de peso constante segundo A.O.A.C¹. A determinação da fração protéica foi realizada pela segundo o método micro *Kjeldahl*, aplicando o fator de conversão 6,25 para os substratos e 4,28 para os cogumelos por apresentarem componente nitrogenado não protéico²⁹. A quantificação de lipídios foi obtida com misturas de solventes a frio segundo o método *Bligh and Dyer*. As cinzas (resíduo mineral fixo) foram determinadas por incineração do material em mufla a 550-660 °C até obtenção de peso constante conforme A.O.A.C. ¹. A fibra bruta foi determinada através de digestão ácido-básica, segundo método de Weende estabelecido pela A.O.A.C ¹. Os

carboidratos totais foram estimados por diferença e a energia total metabolizável foi calculada pelo fator de conversão de Atwater, ambos preconizados por Latinfoods¹³e NEPA²¹.

F. Determinação de macro e micro minerais

A determinação dos minerais foi realizada conforme os métodos propostos pela Embrapa⁹. As amostras foram desidratadas em estufa de circulação de ar forçada a 40 °C, em seguida desidratadas e submetidas a digestão úmida HNO₃ + HCl O₄ (3:1). O teor de fósforo foi determinado por Espectrofotometria com azul de molibdênio; cálcio, magnésio, potássio, sódio cobre, ferro, manganês e zinco por espectrofotometria de absorção atômica (EAA). Todas as análises foram realizadas em triplicata. Os valores de macronutrientes (Ca, P, Mg, K) foram

calculados em g.kg^{-1} e os dos micros (Na, Fe, Cu, Mn e Zn) em mg.kg^{-1} .

G. Doseamento de aminoácidos e triptofano

A determinação dos teores de aminoácidos foi realizada por cromatografia líquida de alta performance (HPLC). As amostras passaram por hidrolisação prévia com ácido clorídrico (HCl) 6N, seguida de derivação dos aminoácidos com fenilisotiocianato (PITC), e a separação dos derivativos feniltiocarbamilaminoácidos em coluna de fase reversa com detecção por UV a 254 nm. A quantificação foi feita por calibração interna multinível, com auxílio do ácido α -aminobutírico (AAAB) como padrão interno para aminoácidos totais³³. A determinação de triptofano foi realizada após hidrólise enzimática com pronase e reação colorimétrica com p-dimetil amino

benzaldeído (DAB), segundo Spies³¹. A classificação em aminoácidos essenciais e não essenciais foi determinada segundo Bender et al⁴.

H. Determinação da qualidade microbiológica

A análise microbiológica foi realizada baseada na determinação do número mais provável de bactérias dos grupos: coliforme totais, coliformes de origem fecal ou *Escherichia coli*, estafilococos coagulase positiva (NMP/g) e pesquisa de *Salmonella*, de acordo com a metodologia preconizada pela RDC n°12 da ANVISA²⁹.

Para contagem de bolores e leveduras foi utilizado o método de semeadura direta na superfície de ágar Rosa Bengala acrescido de 0,01% de clorafenicol²⁹.

III. Resultados e Discussão

A. Composição centesimal

Os resultados da composição centesimal da casca de abacaxi e do substrato miceliado com os três cogumelos estão demonstrados na tabela 1. Das quatro amostras analisadas, a casca de abacaxi foi a que apresentou maior média ($9,93 \pm 0,10$), enquanto que este mesmo parâmetro para as amostras contendo a massa micelial dos cogumelos comestíveis variou em média de $4,10 \pm 0,11$ a $5,42 \pm 0,10$. O teor de lipídeos não mostrou grande variação, a maior quantidade foi determinada na casca de abacaxi enriquecida com *L. citrinus*. O conteúdo de cinzas foi aumentado expressivamente após a colonização do substrato pelos cogumelos, com valores variando de 5 a 6 gramas.

O aumento na quantidade de cinzas foi verificado por diversos autores. Okano et al.²² observaram que a quantidade de cinzas aumentou de

38g/kg para 74g/kg no cultivo de *Pleurotus eryngii* em cana de açúcar. Adicionalmente, Silva et al.³⁰ reportaram um aumento nos três substratos miceliados com *Pleurotus pulmonarius* e Zhang et al.³⁵ relataram um aumento de 18,26g/100g para 28,13 g/100g no cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em palha de arroz e palha de trigo.

Os dados apresentados também revelam que houve aumento no conteúdo de proteínas no substrato miceliado pelos três cogumelos avaliados. Esse aumento provavelmente aconteceu devido à produção de proteína fúngica durante o processo de crescimento micelial e indica a capacidade dos cogumelos de contribuírem com um depósito de proteínas no resíduo. O substrato colonizado por *Pleurotus florida* apresentou o maior conteúdo protéico, com um aumento em torno de 30% em relação à casca não miceliada. Já os substratos contendo biomassa de *P.*

albidus e *L. citrinus* exibiram um aumento de 7,8% e 2,5%, respectivamente. Tuyen et al.³² também identificaram teor significativo de proteínas em palha de milho, palha de arroz, folha de palmeira oleífera e bagaço de cana de açúcar, nos cultivos de *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus* e *Lentinus edodes*. Gonçalves et al.,¹¹ encontraram percentuais

inferiores ao observado neste estudo, com um aumento de 11 a 19% na quantidade de proteínas em diferentes substratos colonizados por *Pleurotus sajor-caju*. O mesmo comportamento foi verificado por Alborés et al.² no cultivo de *Pleurotus* spp. em bagaço de cana de açúcar e palha de arroz e Morais et al.¹⁹ no cultivo de *Lentinus edodes* em resíduos lignocelulósicos.

Tabela 1. Média da composição centesimal do substrato antes da miceliação e do substrato miceliado por cogumelos comestíveis (*P. albidus*, *P. florida*, *L. citrinus*).

Parâmetro	100 g de amostra desidratada			
	Casca de Abacaxi	Casca enriquecida com <i>P. albidus</i>	Casca enriquecida com <i>P. florida</i>	Casca enriquecida com <i>L. citrinus</i>
Umidade (%)	9,93 ± 0,10	5,42 ± 0,10	4,10 ± 0,11	4,22 ± 0,06
Cinzas (g)	3,45 ± 0,11	5,27 ± 0,99	5,77 ± 0,05	6,01 ± 0,02
Lipídeos (g)	1,47 ± 0,03	1,39 ± 0,27	1,32 ± 0,15	1,86 ± 0,01
Proteínas (g)	7,99 ± 0,49	8,61 ± 0,52	10,40 ± 0,55	8,19 ± 0,50
Fibras (g)	9,20 ± 0,35	14,20 ± 0,20	14,40 ± 0,46	14,00 ± 0,60
Carboidratos (g)	67,96	64,92	64,64	65,43
Calorias (Kcal)	317,01	306,58	310,32	312,38

Em relação às fibras, nota-se um aumento após a miceliação do substrato. Gonçalves et al.¹¹ apresentaram um

comportamento semelhante, em que há um aumento do conteúdo de fibras no substrato colonizado. Estes resultados

podem ser explicados devido a produção de diferentes enzimas durante as fases vegetativas e reprodutivas dos cogumelos. De acordo com Belewu³ as enzimas responsáveis pela degradação da celulose são secretadas na fase reprodutiva. Deste modo, não houve redução expressiva no conteúdo de fibras na casca de abacaxi colonizada por *P. albidus*, *P. florida* e *L. citrinus*, uma vez que os fungos não atingiram a fase reprodutiva. Ainda no trabalho de Gonçalves et al.¹¹ podemos observar que os teores de fibra diminuem após produção e colheita dos cogumelos. O teor de carboidratos do substrato diminuiu com a adição do micélio fúngico nos três casos avaliados. Este resultado está associado ao hábito heterotrófico dos fungos, que consomem fontes de carbono para suprir as exigências nutricionais para promover o crescimento apical do micélio. Vieira et al.³⁴ obtiveram 67,16g, valor próximo aos encontrados neste

estudo no bagaço de uva miceliado com *Pleurotus* spp.

B. Teores de minerais

Todos os minerais tiveram seus valores aumentados após a miceliação do substrato pelos cogumelos (Tabela 2). Dentre os macronutrientes, potássio foi o que apresentou os maiores valores em todas as amostras avaliadas, variando de 15 a 17g, seguido de cálcio, fósforo e magnésio. Entre os micronutrientes, ferro foi o de maior conteúdo, seguido de manganês. Medina et al.¹⁷, Lee et al.¹⁴ e Silva et al.³⁰ também observaram um aumento na concentração de minerais nos substratos pós-cultivo. Lee et al.¹⁴, apresenta valores de potássio e zinco próximos aos encontrados neste trabalho, 10,44 g/kg e 29 mg/kg, respectivamente. Os valores de fósforo, potássio, cobre e manganês deste

estudo foram maiores aos encontrados por Medina et al.¹⁷.

Tabela 2. Concentração de minerais no substrato antes da miceliação e no substrato miceliado

Substratos	Macronutrientes (g.kg-1)				Micronutrientes (mg.)kg-1			
	P	K	Ca	Mg	Cu	Fe	Mn	Zn
Casca de Abacaxi	1,22	15,16	2,81	0,57	1,47	28,41	24,58	9,03
Casca de Abacaxi + <i>P. albidus</i>	1,51	16,77	3,95	0,83	10,2	279,31	59,49	22,13
Casca de Abacaxi + <i>P. florida</i>	1,74	16,91	4,39	0,91	10,04	255,78	63,95	21,09
Casca de Abacaxi + <i>L. citrinus</i>	1,42	16,01	3,76	0,82	9,14	249,84	57,71	20,87

Tabela 3. Perfil aminoacídico do substrato antes da miceliação e do substrato miceliado por cogumelos comestíveis (*P. albidus*, *P. florida*, *L. citrinus*).

Aminoácido	g/100 g			
	Casca de Abacaxi	Casca enriquecida com <i>P. albidus</i>	Casca enriquecida com <i>P. florida</i>	Casca enriquecida com <i>L. citrinus</i>
<i>Aminoácido essenciais</i>				
Treonina	0,16	0,18	0,17	0,17
Valina	0,23	0,23	0,20	0,20
Metionina	0,05	0,05	0,05	0,05
Isoleucina	0,11	0,13	0,12	0,12
Leucina	0,13	0,18	0,18	0,16
Fenilalanina	0,09	0,29	0,20	0,22
Lisina	0,22	0,07	0,07	0,06
Triptofano	0,10	0,12	0,09	0,11
<i>Aminoácidos não – essenciais</i>				
Aspartato	1,14	0,46	0,37	0,38
Glutamato	0,64	0,48	0,41	0,42
Serina	0,33	0,30	0,25	0,25
Glicina	0,26	0,24	0,22	0,23
Histidina	0,07	0,03	0,03	0,03
Arginina	0,28	0,10	0,13	0,11
Alanina	0,22	0,30	0,29	0,29
Prolina	0,08	0,10	0,15	0,13
Tirosina	0,09	0,10	0,10	0,11
Cisteína	0,01	0,01	0,01	0,01
Total aminoácidos	4,219	3,382	3,029	3,039

C. Teores de aminoácidos

A tabela 3 mostra os teores de aminoácidos essenciais e não essenciais encontrados nas amostras analisadas.

Podemos observar que as amostras possuem todos os aminoácidos, sejam eles essenciais ou não-essenciais. Entre os essenciais, o mais abundante foi a fenilalanina no produto enriquecido. Os resultados mostraram que a adição do micélio dos cogumelos aumentou expressivamente a quantidade de fenilalanina, que passou de 0,09g/100g na casca do abacaxi para cerca de 0,20g/100g nos produtos enriquecidos.

Entre os aminoácidos não-essenciais, aspartato e glutamato foram encontrados em maior quantidade. Hadar e Cohen-Arazi¹² encontraram em seu trabalho altos níveis de aspartato, cisteína, além dos essenciais fenilalanina e leucina na massa micelial de *Pleurotus ostreatus*, enquanto que

Manu-Tawiah e Martin¹⁶, observaram alta concentração de lisina e leucina para o mesmo cogumelo.

Manu-Tawiah e Martin¹⁶ e Chahal (1989) reportaram deficiência em metionina no micélio de *P. ostreatus* e *P. sajor-caju*. No presente estudo, foram observados baixos valores não somente de metionina, como também de histidina e cisteína.

D. Análise microbiológica

Os resultados das análises microbiológicas estão demonstrados na tabela 4. Todas as amostras apresentaram resultados positivos para coliformes a 37°C, contudo nenhuma delas apresentou coliformes termotolerantes (45°C). A ausência para *E. coli* também foi observada. A RDC n°12/2001 preconiza para amostras de cogumelos uma quantidade máxima de 10³ coliformes termotolerantes, 10² estafilococos coagulase positiva e

ausência de *Salmonella* sp. Todos os demais parâmetros avaliados obtiveram resultados negativos, indicando que as

amostras estão dentro dos padrões estabelecidos pelo regulamento técnico RDC n° 12/2001.

Tabela 4. Controle de qualidade microbiológica na casca de abacaxi não miceliada e no substrato miceliado

Amostra	Bolores e Leveduras (UFC)	<i>Salmonella</i> sp/25ml (P/A*)	Coliformes totais 37° C (NMP/g)	<i>E. coli</i> ou coliformes termotolerantes (NMP/g)	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (NMP/g)	<i>Bacillus cereus</i> (NMP/g)
Casca de Abacaxi	Ausente	Ausente	4	Ausente	Ausente	Ausente
Casca de Abacaxi + <i>P. albidus</i>	Ausente	Ausente	4	Ausência	Ausente	Ausente
Casca de Abacaxi + <i>P. florida</i>	Ausente	Ausente	4	Ausência	Ausente	Ausente
Casca de Abacaxi + <i>L. citrinus</i>	Ausente	Ausente	4	Ausência	Ausente	Ausente

* P/A: Presença/Ausência

IV. Conclusão

A partir dos resultados apresentados, conclui-se que a biotransformação da casca do abacaxi e o enriquecimento com biomassa de *Pleurotus albidus*, *Pleurotus florida* e *Lentinus citrinus* melhora a qualidade nutricional deste resíduo, proporcionando a obtenção de um produto que pode ser incorporado na dieta humana. Portanto, a utilização da casca de abacaxi enriquecida com a massa micelial dos cogumelos

comestíveis poderá contribuir com uma fonte alternativa alimentícia, nutricionalmente viável e disponível.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer à Universidade Federal do Amazonas e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio a este estudo.

REFERÊNCIAS

1. AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods

- of analysis of AOAC International. 16 ed. Gaitheersburg: AOAC, 1997.
2. Alborés, S.; Pianzola, M. J.; Soubes, M.; Cerdeiras, M. P. Biodegradation of agroindustrial wastes by *Pleurotus* spp for its use as ruminant feed. *Electronic Journal of Biotechnology*, v. 9, n. 3, p. 215-220, 2006.
 3. Belewu, M. A.; Belewu, K. Y. Cultivation of mushrooms (*Volvariella volvacea*) on banana leaves. *African Journal of Biotechnology*, v. 4, n. 12, p.1401-1403, 2005.
 4. Bender, A. E. Dicionário de nutrição e tecnologia de alimentos. 4. ed. Tradução: Dr. Paulo Augusto Neves, Dra. Rosa Sirota e Dr. Raymundo Soares de Azevedo Neto. São Paulo: Editora Roca Ltda, 212p., 2004.
 5. Bisen, P. S.; Baghel, R. K.; Sanodiya, B. S.; Thakur, G. S.; Prasad, G. B. K. S. *Lentinus edodes*: A Macrofungus with Pharmacological Activities. *Current Medicinal Chemistry*, v. 17, p. 2419-2430, 2010.
 6. Chahal, D.S. Production of protein-rich mycelial biomass of a mushroom, *Pleurotus sajor-caju*, on carn stover. *J. Ferment. Bioeng*, n.68, p.334-338, 1989.
 7. Dias, E. S.; Koshikumo, É. M. S.; Schwan, R. F.; Silva, R. Cultivo do cogumelo *Pleurotus sajor-caju* em diferentes resíduos agrícolas. *Ciênc. agrotec.*, Lavras, v. 27, n.6, p.1363-1369, 2003.
 8. Eira, A. F.. In: Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia. Elisa Esposito e João Lucio de Azevedo. Caxias do sul: EducS, 510p., 2004.
 9. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2.ed. Brasília-DF, Informação Tecnológica, 2009. 628p.
 10. Furlani, R. P Z.; Godoy, H.T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis: uma revisão. *Rev Inst Adolfo Lutz*, v. 64, n. 2, p. 149-154, 2005.
 11. Gonçalves, C. C. M.; Paiva, P. C. A.; Dias, E. S.; Siqueira, F. G.; Henrique, F. Avaliação do cultivo de *Pleurotus sajor-caju* (Fries) Sing. sobre o resíduo de algodão da indústria têxtil para a produção de cogumelos e para a alimentação animal. *Ciência Agrotécnica*, v. 34, n.1, p.220-225, 2010.
 12. Hadar, W; Cohen- Arazi; E. Chemical composition of the edible mushroom *Pleutorus ostreatus* produced by fermentation. *Appl. Environ. Microbiol*, n.51, p.1352-1354, 1986.
 13. Latinfoods. Red Latinoamericana de Composición de Alimentos. 2002. Disponível em: <<http://www.inta.cl/latinfoods/>> Acesso em jul. 2011.
 14. Lee, C.; Park, J.; Kim, B.; Kim, S.; Ro, H. Determination of mineral components in the cultivation substrates of edible mushrooms and their uptake into fruiting bodies. *Mycobiology*, v. 37, n. 2, p. 109-113, 2009.

15. Manjunathan, J.; Kaviyarasan, V. Biotechnological Applications of *Lentinus tuberregium* (Fr.); A South Indian Edible Mushroom. EJBS, v. 4, n. 1, p.28-31, 2010.
16. Manu-Tawiah, W; Martin, A.M. Chemical composition of *Pleurotus ostreatus* mycelial biomass. Food Microbiol, n.4, p.303-310, 1987.
17. Medina, E.; Paredes, C.; Pérez-Murcia, M. D.; Bustamante, M. A.; Moral, R. Spent mushroom substrates as component of growing media for germination and growth of horticultural plants. Bioresource Technology, v. 100, p. 4227-4232, 2009.
18. Monteiro, B. A. Valor nutricional de partes convencionais e não convencionais de frutas e hortaliças. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.
19. Morais. M. H.; Ramos, A. C.; Matos, N.; Santos Oliveira, E. J. Production of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) on lignocellulosic residues. Food Science and Technology International, v. 6, n. 2, p.123-128, 2000.
20. Naves, R.V. Cultura do abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merrill). Fruticultura. Programa de Pós Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2004.
21. NEPA . Tabela de Composição de Alimentos. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação.UNICAMP. Campinas, Brasil. 105 pp, 2006
22. Okano, K.; Fukui, S.; Kitao, R.; Usagawa, T. Effects of culture length of *Pleurotus eryngii* grown on sugarcane bagasse on *in vitro* digestibility and chemical composition. Animal Feed Science and Technology, v. 136, p.240-247, 2007.
23. Rai, M.; Tidke, G.; Wasser, S. P. Therapeutic Potential of Mushrooms. Natural Products Radiance, v. 4, n. 4, p. 246-257, 2005
24. Reffatti, P. F.; Lorenzetti, E.; Rodrigues, M. B. Caracterização de resíduos de erva-mate – para produção axênica de cogumelos. Synergismus científica UTFPR, Pato Branco, 01 (1,2,3,4) : 1-778. 2006.
25. Rodrigues, M. V.; Saraiva, F. Z. Elaboração de produto alimentício através da farinha da casca e miolo do abacaxi. Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Nutrição) - Faculdade Assis Gurgacz, Cascavel, 2007.
26. Roy, S. K.; Das, D.; Mondal, S.; Maiti, D.; Bhunia, B.; Maiti, T. K.; Islam, S.S. Structural studies of an immunoenhancing water-soluble glucan isolated from hot water extract of an edible mushroom, *Pleurotus florida*, cultivar Assam Florida. Carbohydrate Research, v.. 344, p. 2596–2601, 2009.
27. Silva, A. F. R.; Zambiasi, R. C. Aceitabilidade de geléias convencionais e *light* de abacaxi obtidas de resíduos da

- agroindústria. B.CEPPA, v. 26, n. 1, p. 1-8, 2008.
28. Silva, N.; Junqueira, V.C.A.; Silveira, N.F.A. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo-SP: Editora Livraria Varela, 552 p., 2007
29. Silva, E. G.; Dias, E. S.; Siqueira, F. G.; Schwan, R. F. Chemical analysis of fructification bodies of *Pleurotus sajor-caju* cultivated in several nitrogen concentrations. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v.27, n.1, 2007.
30. Silva, S. O.; Costa, S. M. G.; Clemente, E. Chemical composition of *Pleurotus pulmonarius*(Fr.) Quél., substrates and residue after cultivation. *Braz. arch. biol. technol.*, v. 45, n.4, 2002.
31. Spies, J. R. Determination of tryptophan in proteins. *Analytical Chemistry*, 39:(12)-1412-1415, 1967.
32. Tuyen, D. V.; Phuong, H. N.; Cone, J. W.; Baars, J. J. P.; Sonnenberg, A. S. M.; Hendriks, W. H. Effect of fungal treatments of fibrous agricultural by-products on chemical composition and *in vitro* rumen fermentation and methane production. *Bioresour. Technology*, v. 128, p.256-263, 2013.
33. White, J.A.; Hart, R.J.; Fry, J.C. An Evaluation Of The Waters Pico-Tag System For The Amino-Acid-Analysis Of Food Materials. *Journal Of Automatic Chemistry* 8 (4): 170-177 Oct-Dec 1986
34. Vieira, E.; Paz, M. F.; Giovanni, R. N. Cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em bagaço de uva pela técnica Jun-cao. XVI Simpósio Nacional de Bioprocessos, SINAFERM, 2007.
35. Zhang, R.; Li, X.; Fadel, J. G. Oyster mushroom cultivation with rice and wheat straw. *Bioresour. Technology*, v. 82, p.277-284, 2002.

CONCLUSÕES

Com os resultados deste estudo conclui-se que:

- Nas condições de fermentação submersa, o tamanho do inóculo e a concentração do meio influenciam na produção de biomassa;
- Quanto maior o tamanho do inóculo maior a produção de biomassa;
- O aumento da concentração de cupuaçu e diminuição da concentração de banana no meio de cultivo favoreceram a produção de biomassa ;
- Nas condições de fermentação semi-sólida, com o acréscimo da massa micelial de *P. albidus*, *P. florida* e *L. citrinus* na casca de abacaxi aumenta o teor de proteínas e minerais e reduz a quantidade de fibras e carboidratos.
- O produto final enriquecido com a biomassa dos cogumelos *P. albidus*, *P. florida* e *L. citrinus* apresenta todos os aminoácidos essenciais e não essenciais;

REFERÊNCIAS

AGUIAR , L. V. B; SALES CAMPOS, C.;CARVALHO, C. S. M.; MINHON, M. T. A.; ANDRADE, M. C. N. Desenvolvimento micelial de *Lentinula edodes* em meios de cultivo à base de diferentes substratos orgânicos . **Interciencia**, v. 36, n. 3, p. 205-210, 2011.

ALEXANDRINO, A. M.; FARIA, H. G.; SOUZA, C. G M.; PERALTA, R. M. Aproveitamento do resíduo de laranja para a produção de enzimas lignocelulolíticas por *Pleurotus ostreatus* (Jack:Fr). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 27, n. 2, p. 364-368, 2007.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of AOAC International. 16 ed. Gaithersburg: AOAC, 1997.

BARROS FILHO, B. A. **Estudo químico do Basidiomiceto *Lentinus strigellus***. Tese (Doutorado em Química Orgânica). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

BEZERRA, C. V.; AMANTEB, E. R.; OLIVEIRA, D. C.; RODRIGUES, A. M. C.; SILVA, L. H. M. Green banana (*Musa cavendishii*) flour obtained in spouted bed – Effect of drying on physico-chemical, functional and morphological characteristics of the starch. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 241– 249, 2013.

BOTELHO, L.; CONCEIÇÃO, A.; CARVALHO, V. I. **Caracterização de fibras alimentares da casca do cilindro central do abacaxi “smooth cayene”**. *Ciênc. agrotec.*, v.26, n.2, p.362-367, 2002.

BLIGH, E. C.; DYER, W. J. A Rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal Biochemistry Physiology**, Ottawa, v. 37, n. 8, p. 911-917, ago. 1959.

CARVALHO, C. S. M.; SALES-CAMPOS, C.; ANDRADE, M. C. N. Mushrooms of the *Pleurotus* genus: a review of cultivation techniques. **Interciencia**, v. 35, n.3, 2010.

CARVALHO, M. G. **Barras de cereais com amêndoas de chicha, sapucaia e castanha-do-gurguéia, complementadas com casca de abacaxi**. Dissertação

(Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

CHOCKCHAISAWASDEE, S.; NAMJAIDEE, S.; POCHANA, S.; STATHOPOULOS, C. E. Development of fermented oyster-mushroom sausage. **Asian Journal of Food and Agro-Industry**, v. 3, n. 1, p-35-43, 2010.

CHONG, L. C.; NOOR AZIAH, A. A. Influence of partial substitution of wheat flour with banana (*Musa paradisiaca* var. *Awak*) flour on the physico – chemical and sensory characteristics of doughnuts. **International Food Research Journal**, v. 15, n. 2, p. 119-124, 2008.

COHEN, R.; PERSKY, L.; HADAR, Y. Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 58, p. 582–594, 2002.

COSTA, M. C.; MAIA, G. A.; SOUZA FILHO, M. S. S.; FIGUEIREDO, R. W.; NASSU, R. T.; MONTEIRO, J. C. S. Conservação de polpa de cupuaçu [*Theobroma grandiflorum* (Willd. Ex Spreng.) Schum] por métodos combinados. **Revista Brasileira de Fruticultura de Jaboticabal**, v. 25, n. 2, p. 213-215, 2003.

DIAS, E. S.; KOSHIKUMO, É. M. S.; SCHWAN, R. F.; SILVA, R. Cultivo do cogumelo *Pleurotus sajor-caju* em diferentes resíduos agrícolas. **Ciênc. agrotec., Lavras**, v. 27, n.6, p.1363-1369, 2003.

EIRA, A. F.. In: **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Elisa Esposito e João Lucio de Azevedo. Caxias do sul: Educs, 510p., 2004.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2.ed. Brasília-DF, Informação Tecnológica, 2009. 628p.

FAO. FAOSTAT statistics database 2011. Agriculture. <http://faostat.fao.org/> Rome, Italy.

FASOLIN, L. H.; ALMEIDA, G. C.; CASTANHO, P. S.; NETTO-OLIVEIRA, E. R. Biscoitos produzidos com farinha de banana: avaliações química, física e sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n.3, p. 524-529, 2003.

FERREIRA, G. M.; GUIMARÃES, M. J. O. C.; MAIA, M. C. A. E. Efeito da temperatura e taxa de cisalhamento nas propriedades de escoamento da polpa de cupuaçu (*T. grandiflorum* Schum) integral. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 30, n. 2, p.385-389, 2008.

FINIMUNDY, T.C.; GAMBATO, G.; FONTANA, R.; CAMASSOLA, M.; SALVADOR, M.; MOURA, S.; HESS, J.; HENRIQUES, J. A. P.; DILLON, A. J. P.; ROESCH-ELY, M. Aqueous extracts of *Lentinula edodes* and *Pleurotus sajor-caju* exhibit high antioxidant capability and promising in vitro antitumor activity. **Nutrition Research**, v. 33, p. 76-84, 2013.

FIORAVANÇO, J. C. Mercado Mundial da banana: produção, comércio e participação brasileira. **Informações econômicas**, v. 33, n. 10, 2003.

FREIRE, M. T. A.; PETRUS, R. R.; FREIRE, C. M. A.; OLIVEIRA, C. A. F.; FELIPE, A. M. P. F.; GATTI, J. B. Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de polpa de cupuaçu congelada (*Theobroma grandiflorum* Schum). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n. 1, p. 09-16, 2009.

FURLANI, R. P Z.; GODOY, H.T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis: uma revisão. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 64, n. 2, p. 149-154, 2005.

GENOVESE, M.; LANNES, S. C. S. Comparison of total phenolic content and antiradical capacity of powders and “chocolates” from cocoa and cupuassu. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 4, p. 810-814, 2009.

GRANADA, G. G.; ZAMBAZI, R. C.; MENDONÇA, C. R. B. Abacaxi: produção, mercado e subprodutos. **B. CEPPA, Curitiba**, v. 22, n. 2, p. 405-422, 2004.

GODOY, H. T; FURLANI, R. P. Z. Valor nutricional de cogumelos comestíveis. **Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas**, v. 27, n.1, p. 154-157, 2007.

GONDIM, J. A. M.; MOURA, M. F. V.; DANTAS, A. S.; MEDEIROS, R. L. S.; SANTOS, K. M. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas**, v. 25, n. 4, p. 825-827, 2005.

JUAREZ-GARCIA, E.; AGAMA-ACEVEDO, E.; SAYAGO-AYERDI, S. G.; RODRIGUEZ-AMBRIZ, S. L.; BELLO-PEREZ, L. A. Composition, digestibility and application in breadmaking of banana flour. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 61, p. 131–137, 2006.

KIM, J.; LEE, S. M.; BAE, I. Y.; PARK, H.; LEE, H.G.; LEE, S. (1–3)(1–6)- β -Glucan-enriched materials from *Lentinus edodes* mushroom as a high-fibre and low-calorie flour substitute for baked foods. **J Sci Food Agric**, v. 91, p. 1915–1919, 2011.

KULSHRESHTHA, S.; MATHUR, N.; BHATNAGAR, P.; KULSHRESHTHA, S. Cultivation of *Pleurotus citrinopileatus* on handmade paper and cardboard industrial wastes. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 340-346, 2013.

LACAZ, C. S.; PORTO, E.; MARTINS, J. E.C. **Micologia Médica: fungos, actinomicetos e algas de interesse médico**. Savier: São Paulo, 1984.

LANNES, S. C. S.; MEDEIROS, M. L. Processamento de achocolatado de cupuaçu por spray-dryer. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, n. 1, 2003.

LATINFOODS. Red Latinoamericana de Composición de Alimentos. 2002. Disponível em: <<http://www.inta.cl/latinfoods/>> Acesso em jul. 2011.

LECHNER, B. E.; ALBERTÓ, E. Search for new naturally occurring strains of *Pleurotus* to improve yields. *P. albidus* as a novel proposed species for mushroom production. **Rev Iberoam Micol**. 2011.

LECHNER, B. E.; WRIGHT, J. E. The genus *Pleurotus* in Argentina. **Mycologia**, v. 96, n.4, p. 845–858, 2004.

LEMOS, F. M. R. **Elaboração e caracterização de produto análogo a hambúrguer de cogumelo *Agaricus brasiliensis***. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

LOPES, A. S.; PEZOA-GARCÍA, N. H.; AMAYA-FARFÁN, J. Qualidade nutricional das proteínas de cupuaçu e de cacau. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 2, p. 263-268, 2008.

LOSS, E. M. **Aproveitamento de resíduos da cadeia produtiva do milho para cultivo de cogumelos comestíveis**. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologias de Alimentos). Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2009.

LOUSADA JÚNIOR, J. E.; COSTA, J. M. C.; NEIVA, J. N. M.; RODRIGUEZ, N. M. Caracterização físico-química de subprodutos obtidos do processamento de frutas tropicais visando seu aproveitamento na alimentação animal. **Revista Ciência Agronômica**, v.37, n.1, p.70-76, 2006.

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

MODA, E. M. **Aumento da vida útil de cogumelos *Pleurotus sajor-caju in natura* com aplicação de radiação gama**. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

MONTEIRO, C. S.; KALLUF, V.; PENTEADO, P.T.; WASZCZYNSKYJ, N.; FREITAS, R.; STERTZ, S. C. Caracterização química do cogumelo *Agaricus blazei murrii*. **Visão Acadêmica**, Curitiba. 2005.

MONTEIRO, B. A. **Valor nutricional de partes convencionais e não convencionais de frutas e hortaliças**. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.

MOREIRA, J. S. A.; SOUZA, M. L.; ARAUJO, S. E.; SILVA, R. F. Estudo da estabilidade microbiológica e físico-química de polpa de cupuaçu desidratada em estufa. **Revista Caatinga**, v. 24, n. 2, p. 26-32, 2011.

MOURA, P. L. C. **Determinação de elementos essenciais e tóxicos em cogumelos comestíveis por análise por ativação com nêutrons**. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

OLIVEIRA, J. A. R.; CARVALHO, A. V.; MOREIRA, D. K. T.; MARTINS, L. H. S. Elaboração e caracterização de estruturado obtido de polpa concentrada de cupuaçu. **Rev. Ci. Agra.** v.53, n.2, p.164-170, 2010.

OLIVEIRA, M. M.; CAMPOS, A. R. N.; GOMES, J. P.; SILVA, F. L. H. Isotermas da sorção de resíduo agroindustrial da casca do abacaxi (*Ananas comosus* L. Mer). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.9, n.4, p.565-569, 2005

PEDRA, W.N.; MARINO, R.H. Cultivo axênico de *Pleurotus* spp. em serragem de casca de coco (*Cocos nucifera* Linn.) suplementada com farelo de arroz e/ou de trigo. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.73, n.2, p.219-225, 2006.

PEREIRA, A. B.; PUTZKE, J. Famílias e Gêneros de Fungos Agaricales (cogumelos) no Rio Grande do Sul. **Livraria e Editora da FISC**, 1989.

PORTE, A.; REZENDE, C. M. ; ANTUNES, O. A. C.; MAIA, L. H. Redução de aminoácidos em polpas de bacuri (*Platonia insignis* Mart), cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Wild ex-Spreng Schum) e murici (*Byrsonima crassifolia* L.) processado (aquecido e alcalinizado). **Acta Amazonica**, v. 40, n. 3, 2010.

RAI, M.; TIDKE, G.; WASSER, S. P. Therapeutic Potential of Mushrooms. **Natural Products Radiance**, v. 4, n. 4, p. 246-257, 2005

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

REFFATTI, P. F.; LORENZETTI, E.; RODRIGUES, M. B. Caracterização de resíduos de erva-mate – para produção axênica de cogumelos. **Synergismus scyentifica UTFPR**, Pato Branco, 01 (1,2,3,4) : 1-778. 2006.

RIVAS, P. M. S.; PEREIRA FILHO, A. A.; SANTOS, F. A.S.; ROSA, I. G. Avaliação de substratos pectocelulósicos para o cultivo de cogumelos comestíveis do gênero *Pleurotus* sp. (Agaricales). **Cad. Pesq.**, v. 17, n. 3, 2010.

RODRIGUES, M. V.; SARAIVA, F. Z. **Elaboração de produto alimentício através da farinha da casca e miolo do abacaxi.** Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Nutrição) - Faculdade Assis Gurgacz, Cascavel, 2007.

ROUT, D.; MONDAL, S.; CHAKRABORTY, I.; ISLAM, S. S. The structure of a polysaccharide from Fraction-II of an edible mushroom, *Pleurotus florida*. **Carbohydrate Research**, v. 314, p.995-1002, 2006.

ROY, S. K.; DAS, D.; MONDAL, S.; MAITI, D.; BHUNIA, B.; MAITI, T. K.; ISLAM, S.S. Structural studies of an immunoenhancing water-soluble glucan isolated from hot water extract of an edible mushroom, *Pleurotus florida*, cultivar Assam Florida. **Carbohydrate Research**, v.. 344, p. 2596–2601, 2009.

SILVA, M. M. Cultivo de cogumelos comestíveis pela técnica Jun-Cao. **Dissertação de Mestrado.** Programa de Pós Graduação em Microbiologia. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

SANTOS, G. M.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; FIGUEIREDO, R. W.; COSTA, J. M. C.; FONSECA, A. V. V. Atividade antioxidante e correlações com componentes bioativos de produtos comerciais de cupuaçu. **Ciência Rural**, v. 40, n.7, 2010.

SILVA, A. F. R.; ZAMBIAZI, R. C. Aceitabilidade de geléias convencional e *light* de abacaxi obtidas de resíduos da agroindústria. **B.CEPPA**, v. 26, n. 1, p. 1-8, 2008.

SILVA, E. G.; DIAS, E. S.; SIQUEIRA, F. G.; SCHWAN, R. F. Chemical analysis of fructification bodies of *Pleurotus sajor-caju* cultivated in several nitrogen concentrations. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.27, n.1, 2007.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo-SP: Editora Livraria Varela, 552 p., 2007

SILVA, F. D.; MATA, M. E. E. M. C.; DUARTE, M. E. M.; SOUZA, J. A.; SILVA, Y. C. Desidratação osmótica de banana da terra (*Musa sapientum*): aplicação de modelos matemáticos. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, n.1, p.69-76, 2003.

SILVA, S. O.; COSTA, S. M. G.; CLEMENTE, E. Chemical composition of *Pleurotus pulmonarius*(Fr.) Quél., substrates and residue after cultivation. **Braz. arch. biol. technol.**, v. 45, n.4, 2002.

SPIES, J. R. Determination of tryptophan in proteins. **Analytical Chemistry**, v. 39, n.12, p.1412-1415, 1967.

TEZUKA, E. S. Um modelo de visão computacional para identificação do estágio de maturação e injúrias no pós-colheita de bananas (*Musa sapientum*). **Dissertação de Mestrado**, Programa de Pós Graduação em Ciência da Computação. Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, 2009.

VARGAS-ISLA, R.; ISHIKAWA, N. K. Optimal conditions of in vitro mycelia growth of *Lentinus strigosus*, an edible mushroom isolated in the Brazilian Amazon. **Mycoscience**, v. 49, p. 215-219, 2008.

VRIESMAN, L. C.; SILVEIRA, J. L. M.; PETKOWICZ, C. L. O. Chemical and rheological properties of a starch-rich fraction from the pulp of the fruit cupuassu (*Theobroma grandiflorum*). **Materials Science and Engineering**, p. 651–656, 2009.

WANG, J.; LI, Y. Z.; CHEN, R. R.; BAO, J. Y.; YANG, G. M. Comparison of volatiles of banana powder dehydrated by vacuum belt drying, freeze-drying and air-drying. **Food chemistry**, v. 104, p. 1516-1521, 2007.

WANG, Y.; ZHANG, M.; MUJUMDAR, A. S. Influence of green banana flour substitution cassava starch on the nutrition, color, texture and sensory quality in two types of snacks. **Food Science and Technology**, v. 47, p. 175-182, 2012.

WHITE ,J.A, HART, R.J, FRY, J.C. An Evaluation Of The Waters Pico-Tag System For The Amino-Acid-Analysis Of Food Materials. **Journal Of Automatic Chemistry**, v. 8, v. 4, p.170-177, 1986.

YANG, Z., XU, J., FU, Q., FU, X., SHU, T., BI, Y., & SONG, B., Antitumor activity of a polysaccharide from *Pleurotuseryngii* on mice bearing renal cancer, **Carbohydrate Polymers (2013)**, <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.03.024>