

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIENCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS
BIOTECNOLOGIA

Carine Hachenhaar
Isabelle Moreira Souza Ferreira

**CARACTERIZAÇÃO DE FARINHA INDUSTRIAL RESIDUAL DE
MILHO ANTES E APÓS A BIOCONVERSÃO POR FUNGO *Pleurotus*
sajor-caju.**

Dourados/MS

2016

CARINE HACHENHAAR
ISABELLE MOREIRA SOUZA FERREIRA

**CARACTERIZAÇÃO DE FARINHA INDUSTRIAL RESIDUAL DE
MILHO ANTES E APÓS A BIOCONVERSÃO POR FUNGO *Pleurotus*
sajor-caju.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como parte das exigências para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia, no curso de Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal da Grande Dourados.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Fossa da Paz

Dourados/MS

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

H117c Hachenhaar, Carine

Caracterização de farinha residual industrial de milho antes e após a bioconversão pelo fungo *Pleurotus sajor-caju*. / Carine Hachenhaar, Isabelle Moreira Souza Ferreira -- Dourados: UFGD, 2016.

35f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Marcelo Fossa da Paz

TCC (Graduação em Biotecnologia) - Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados.

Inclui bibliografia

1. cogumelo comestível. 2. residuo agroindustrial. 3. zea mays.. I Isabelle Moreira Souza Ferreira II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

CARINE HACHENHAAR
ISABELLE MOREIRA SOUZA FERREIRA

**CARACTERIZAÇÃO DE FARINHA INDUSTRIAL RESIDUAL DE
MILHO ANTES E APÓS A BIOCONVERSÃO POR FUNGO *Pleurotus*
sajor-caju.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Universidade Federal da Grande Dourados com o
objetivo de obtenção do título de Bacharel em
Biotecnologia.

Aprovado em: 07/10/2016

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcelo Fossa da Paz (Orientador)

Prof.^a Dr.^a Gisele Jane de Jesus

Claudiomira Zardo Palacio Revello

Dourados/MS

2016

Dedicatória Carine:

A meu pai (in memoriam), minha irmã e
minha mãe que sempre acreditaram e
investiram em mim.

Dedicatória Isabelle:

À minha avó, que sempre me incentivou a amar os livros e me dedicar aos estudos.

SOBRE A AUTORA

Carine Hachenhaar nasceu em 15 de dezembro de 1994 em Dourados-MS, desde então reside no mesmo local com a mãe e irmã, o pai (in memoriam). Coursou parte do ensino fundamental e todo o ensino médio do Colégio Objetivo e ao terminar o terceiro ano em 2011, não tinha interesse em alguma área específica, mas a intenção era de cursar biomedicina em uma universidade particular da cidade, mas ao ser aprovada em Biotecnologia na Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) em 2012 os planos mudaram. A experiência em estudar no campus afastado da cidade não foi nada agradável no início, porém, o curso tomou dimensões em sua vida que a fizeram perceber que não se encaixaria em qualquer outra área. Católica e com grande apreço pela cozinha. Futuramente deseja ingressar em um mestrado para que então possa prestar concurso para Polícia Federal como Perita Criminal.

“Renda-se, como eu me rendi. Mergulhe no que você não conhece como eu mergulhei. Não se preocupe em entender, viver ultrapassa qualquer entendimento.”

Clarice Lispector

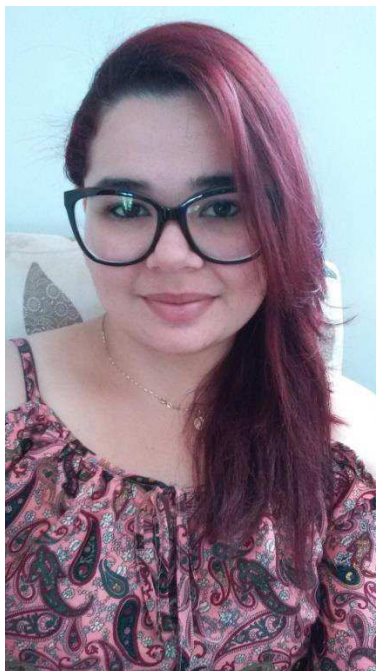


SOBRE A AUTORA

Isabelle M. Souza Ferreira nasceu em 21 de março de 1994, em Nova Andradina/MS, onde viveu e estudou até os 16 anos. Mudou-se para Dourados/MS em 2011 com a mãe e a irmã, onde reside até hoje. Ao finalizar o ensino médio não tinha certeza do curso de graduação que gostaria de cursar até que encontrou entre tantos outros oferecidos pela UFGD, a Biotecnologia. Pesquisou sobre o assunto, gostou e em 2012 foi aprovada por processo seletivo vestibular para o curso de Biotecnologia na Universidade Federal da Grande Dourados, o qual está finalizando no ano de 2016. Espírita kardecista, amante dos livros, pretende cursar uma pós-graduação *latu sensu*, em outro país se possível, e seguir carreira de perita criminal.

“Por bilhões de anos, os alados vagaram sozinhos, intocáveis no santuário infinito. E, quando o sexto dia terminou, Deus estava orgulhoso de seu trabalho. De todas as maravilhas, a espécie humana foi a que ele mais adorou: sua criação podia aprender, evoluir e amar.”

Filhos do Éden: Herdeiros de Atlântida – pág.13



AGRADECIMENTOS CARINE

Agradeço primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida, conduzindo meu caminho até aqui.

À minha mãe Elisabete. Seu cuidado e dedicação me deram, em alguns momentos, a esperança para continuar na faculdade.

A meu pai Bruno, que mesmo com sua ausência tenho a certeza de que não estou sozinha nessa caminhada.

À minha irmã Cristiane, que com muito carinho e apoio não mediu esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

Ao Gabriel Neto por estar ao meu lado e por cuidar de mim.

As minhas amigas que são meu porto seguro, a quem compartilho tantas alegrias e tristezas.

Agradeço aos técnicos e aos acadêmicos que nos ajudaram com as análises laboratoriais.

Agradeço também a todos os professores que me acompanharam durante a graduação.

À Prof.^a Gisele e à Claudiomira que aceitaram o convite e se disponibilizaram para serem nossa banca examinadora.

Agradeço em especial ao Prof. Marcelo Fossa da Paz, responsável pela realização deste trabalho.

E por fim, obrigada Isabelle M. Souza Ferreira pela parceria no desenvolvimento do nosso trabalho. Hoje estamos colhendo juntas os frutos do nosso empenho.

AGRADECIMENTOS ISABELLE

A Deus, pela inteligência que me proporcionou chegar até aqui, pela destreza e paciência na realização dos experimentos e pela sabedoria que me proporcionou superar as dificuldades.

A toda minha família, pelo apoio dado em cada minuto, principalmente nos difíceis e mais estressantes. Obrigada por acreditarem em mim.

À Ana Gabriela M. Bazilio e à Luanna Moura por cederem um espaço em seu apartamento para que eu pudesse estudar e finalizar este trabalho.

Aos amigos pela ajuda oferecida e por serem psicólogas em tantos momentos.

Ao Prof. Marcelo Fossa da Paz, pelo conhecimento compartilhado e ajuda na conclusão desta importante fase da minha vida.

À Claudiomira, pela ajuda fundamental para a execução e conclusão deste trabalho.

A todas as técnicas do bloco multidisciplinar da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, pela ajuda principalmente no período inicial do trabalho, disponibilizando os meios de cultura e alguns materiais que foram necessários durante a realização da parte experimental.

À Carine Hachenhaar, por não desistir da nossa parceria. Juntas, estamos colhendo os frutos de muito esforço e dedicação.

Obrigada também à Prof.^a Gisele e à Claudiomira que compõem a banca examinadora, por aceitarem fazer parte da conclusão desse período importante na vida de um jovem profissional.

“Mesmo desacreditado e ignorado por todos, não posso desistir, pois para mim, vencer é nunca desistir.”

Albert Einstein

LISTA DE ILUSTRAÇÕES e TABELAS

Figura 1. Sacos autoclaváveis contendo o substrato com e sem o cultivo do fungo <i>Pleurotus sajor-caju</i>	19
Figura 2. Amostras da análise de lipídios, mostrando a camada de gordura no fundo do tubo de ensaio.....	22
Figura 3. Amostra pós-digestão de proteínas apresentando coloração verde translúcido.....	23
Tabela 1. Resultado das análises Bromatológicas.....	25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AACC	American Association of Cereal Chemists
AAFCO	Associação Americana Oficial de Controle de Alimentos
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
BOD	Demanda Bioquímica de Oxigênio
EE	Extrato Etéreo
FAEN	Faculdade de Engenharias
FB	Fibra Bruta
FCA	Faculdade de Ciências Agrárias
FCBA	Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais
FDA	Fibra em Detergente Ácido
FDN	Fibra em Detergente Neutro
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
MS	Matéria Seca
N	Nitrogênio
N	Normalidade (0,1N)
NRC	Conselho Nacional de Pesquisas dos EUA
PB	Proteína Bruta
PDA	Potato Dextrose Ágar
UFGD	Universidade Federal da Grande Dourados
\bar{x}	Média aritmética

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES E TABELAS.....	10
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	11
ARTIGO: “Miceliação de <i>Pleurotus sajor-caju</i> em farinha industrial residual de milho como forma de suplementação para utilização na dieta de animais ruminantes”.....	14
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29
APÊNDICE 1	33

CARACTERIZAÇÃO DE FARINHA INDUSTRIAL RESIDUAL DE MILHO ANTES E APÓS A BIOCONVERSÃO POR FUNGO *Pleurotus sajor-caju*.

Hachenhaar, C. *; Ferreira, I.M.S. **; Paz, M.F.***

Resumo

Realizou-se o experimento objetivando caracterizar resíduo industrial antes e depois do cultivo do cogumelo comestível *Pleurotus sajor-caju*, que quando miceliado em substrato pode potencializar o valor nutritivo do mesmo e assim poder então relatar o potencial do fungo no quesito suplementação. Foram avaliadas duas composições do substrato: Com cultivo e sem cultivo, ambas avaliadas em triplicata para fibra bruta (FB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lipídios e proteína bruta (PB). O fungo *Pleurotus sajor-caju* após miceliado na farinha apresentou resultados para diminuição de lipídios e possível aumento da digestibilidade pela consequente diminuição de FDN (de 27% para 9%). Os experimentos foram realizados na Universidade Federal da Grande Dourados. Palavras-chave: cogumelo comestível, resíduo agroindustrial, *zea mays*.

*Acadêmica de Biotecnologia pela Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD); cari_hk@hotmail.com.

**Acadêmica de Biotecnologia pela Universidade Federal da Grande Dourados; isabelle.msouza.is@gmail.com.

***Doutor em Agronomia, área de Conc. Microbiologia Agrícola pela Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ); Mestre em Biotecnologia pela Universidade de São Paulo (USP); Graduado em Ciências Biológicas pela Universidade de Santo Amaro (UNISA); Docente na Universidade Federal da Grande Dourados, Rodovia Dourados – Itahum, Km12 – Cidade Universitária, Cx. Postal 533, CEP 79804-970; marcelopaz@ufgd.edu.br

***Caracterization of industrial residual corn flour before and after bioconversion by fungi
Pleurotus sajor-caju***

Abstract

The experiment was conducted in order to characterize industrial waste before and after the cultivation of edible mushroom sajor-caju, that when cultivated in an substrate can enhance the nutritional value of it and so can then report the fungus potential in the question supplementation. We evaluated two compositions of substrate: With cultivation and uncultivated, both evaluated in triplicate for crude fiber (CF), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), lipids and crude protein (CP). The fungus sajor-caju after miceliado in flour showed results for reduction of lipids and can increase the digestibility by the consequent reduction of NDF (27% to 9%). The experiments were conducted at the Federal University of Grande Dourados.

Keywords: edible mushroom, agroindustrial waste, zea mays.

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Pesquisa Nacional de Saneamento Básico, realizada em 2010 pelo IBGE (IBGE, 2010), o volume total de resíduos sólidos coletados no país todo era de 183.488 toneladas por dia. Já na pesquisa do IBGE de 2013 (IBGE, 2013) feita pela MUNIC (Pesquisa de Informações Básicas Municipais), cerca de 1/3 dos municípios brasileiros (33,5%, representando 1.868 municípios) possuíam Plano de Gestão Integrada de Resíduos Sólidos, nos termos estabelecidos no Plano Nacional de Resíduos Sólidos. O manejo adequado desses resíduos agroindustriais, independente de sua origem, era e é, ainda hoje fundamental para o equilíbrio do meio ambiente e seus recursos, como também, para a sobrevivência do ser humano. Os resultados das pesquisas do IBGE já mostravam isso em 2010 e 2013, os impactos provocados com o destino inadequado desses dejetos são vistos até hoje nos solos contaminados, nas doenças, entre outros. Além das formas de destinação correta dos resíduos, existem também formas de reaproveitamento daquilo que seria descartado.

Uma gama de indústrias já realizam esses processos, reutilizando água para limpeza, dejetos da produção como adubo, ou fonte de energia. Na empresa Donana Alimentos LTDA da cidade de Dourados-MS, os restos provenientes da produção que voltam dos supermercados com defeitos na embalagem, se tornaram ração para ruminantes. Uma mistura feita principalmente de farinha de milho e traços de milho em grão, farinha de mandioca,

farinha de trigo, amendoim, lentilha, canjica, grão de bico, tudo que se tornaria lixo, tornou-se ração animal e substrato para o cultivo do fungo *Pleurotus Sajor-caju*.

O reaproveitamento desses resíduos agroindustriais, que são fonte abundante de matéria orgânica, podem reduzir os custos tanto da produção de cogumelos como da criação de animais, diminuir os impactos ambientais que o descarte desses resíduos causaria no meio ambiente e, pode proporcionar ao produtor fontes de renda (VALADARES, 2014).

O milho, principal constituinte da farinha residual industrial usada neste trabalho, é um alimento de sabor apazível, com baixo teor de fibra bruta e maior quantidade de nutrientes digestíveis totais por kg, se comparado a outros alimentos utilizados na fabricação de rações (VALVERDE, 2001), por isso, um dos resíduos agroindustriais que pode ser utilizado na produção de cogumelos é a farinha ou farelo residual de milho. Porém, quando utilizado na alimentação de ruminantes pode não conter por si só os nutrientes necessários para o animal. E a solução vem com a biotecnologia que através de técnicas de cultivo de fungos em substratos diversos disponibiliza os nutrientes de forma que sejam mais facilmente absorvidos, melhorando a qualidade do alimento e a resposta do animal (VALADARES, 2014).

Sendo utilizada na alimentação de animais ruminantes, a farinha residual industrial precisa ter características de acordo com a Associação Americana Oficial de Controle de Alimentos (AAFCO) e o Conselho Nacional de Pesquisas dos EUA (NRC) (BARBOSA, 2004), que classifica como alimentos volumosos aqueles com teores de fibra bruta superior a 18% na matéria e baixo teor energético e como alimentos concentrados aqueles com alto teor de energia e menos de 18% de fibra bruta, podendo ainda ser divididos em concentrados energéticos (menos de 20% de proteína bruta na matéria seca) ou concentrados proteicos (mais de 20% de proteína bruta na matéria seca).

O gênero *Pleurotus*, da classe dos Basidiomicetos, abriga cerca de 40 espécies, sendo todas as espécies comestíveis, é conhecido como cogumelo ostra, devido à sua forma. No Brasil são também chamados de cogumelo caetetuba, cogumelo gigante ou fungi. Trata-se de espécies que ocorrem naturalmente em florestas temperadas, subtropicais e tropicais, decompondo madeira e outros resíduos vegetais (RAMPINELLI, 2009). Os cogumelos mais cultivados no Brasil são: *Agaricus bisporus* (Champignon de Paris), *Lentinula edodes* (Shiitake), *Agaricus blazei* (Cogumelo Piedade), *Pleurotus ostreatus* (Cogumelo Ostra), *Pleurotus sajor-caju* (Cogumelo Gigante) e *Pleurotus ostreatoroseus* (Cogumelo Salmon) (URBEN, 2008).

As espécies de *Pleurotus* chegaram no Brasil nos anos 70 com linhagens trazidas da Itália. Nos anos 80 o cultivo se intensificou, utilizando substrato enriquecido com farelos esterilizados em autoclaves e cultivados de forma totalmente climatizada (SOUZA, 2008). Apesar da intensificação, hoje a produção de cogumelos é ainda inexpressiva se comparada com outros países. O consumo de cogumelos por pessoa no Brasil é de apenas 288g/ano, contra 2 kg na França. É um alimento de alto valor nutricional, rico em proteínas, vitaminas, fibras, carboidratos, minerais e muitas propriedades farmacológicas e medicinais (EMBRAPA, 2015).

O uso da espécie *Pleurotus sajor-caju*, por exemplo, tem potencial para suplementar um substrato pobre em nutrientes e torná-lo adequado em valores nutricionais para ser usado como ração animal, além de aumentar a digestibilidade, uma vez que já foi parcialmente digerido pelo complexo lignocelulolítico do fungo (PATRABANSHI S, MADAN M, 1997).

Visando estes parâmetros, este trabalho teve como objetivo caracterizar a farinha residual industrial de milho vinda da empresa Donana Alimentos LTDA e submetê-la ao processo de bioconversão pelo cogumelo comestível *Pleurotus sajor-caju* esperando agregar mais valores nutricionais a mesma.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção do substrato e do Spawn (semente-inóculo) do fungo

Os experimentos foram desenvolvidos no laboratório de Biotecnologia Aplicada da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA), da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), MS. A linhagem de *Pleurotus sajor-caju* foi adquirida em forma de Spawn, em um saco de 1,5 kg do lote 146/16 oriundo da empresa Funghi & Flora, de Valinhos - SP. A farinha utilizada como substrato neste trabalho foi adquirida em embalagem de 50 kg, comprado da empresa “Donana Alimentos LTDA” na cidade de Dourados-MS. A farinha não teve nenhum tipo de acréscimo de compostos químicos para a correção da relação carbono/nitrogênio (C/N), considerou-se que a relação C/N mínima adequada para a manutenção do metabolismo do fungo relatada na literatura de 29:1 (URBEN, 2004).

2.2 Pré-cultivo e purificação do fungo Pleurotus sajor-caju.

Na etapa de cultivo e purificação da espécie *Pleurotus sajor-caju* utilizou-se 6 frascos de vidro (com capacidade para 540 g e medindo 28 cm de diâmetro) com 200g de arroz e 300 mL de água. Estes frascos com arroz e água foram esterilizados em autoclave a 121°C por 30 minutos e depois de frios, as cepas referência contidas no Spawn (semente-inóculo) foram inoculadas, utilizando alça de inoculação, aproximadamente 1 g de inóculo. Foram armazenadas em incubadoras do tipo BOD, a 25°C. Após um período de aproximadamente 30 dias ocorreu colonização completa do substrato no frasco de vidro. Dos seis vidros, apenas um não apresentava contaminação por bactérias e outros fungos, os cinco demais foram descartados. O cultivo se sucedeu em placas de Petri contendo 25 mL de meio PDA (potato-dextrose-ágar), e utilizou-se aproximadamente 1 g de inóculo do frasco de vidro. Foram incubadas em BOD a 25°C. Inicialmente 10 placas de Petri foram cultivadas, porém, sucessivas repicagens foram realizadas até que a cultura se tornasse pura.

2.3 Cultivo do fungo no resíduo pela técnica Jun-Cao modificada e correção de umidade.

A etapa seguinte foi transferir a farinha residual para 10 (dez) sacos plásticos autoclaváveis, nas medidas de 10 cm × 25 cm. Então, foi realizada a correção de umidade.

A cada 100 g de farinha foram usados 80 mL de água para que a linhagem tivesse suporte de umidade necessário para colonizar. Para a padronização da utilização dos 80 mL de água foram feitos pré-testes adicionando primeiramente 50 mL e a quantidade de água foi aumentada em 10 mL até que atingisse 80 mL. Foi então observado que o fungo tinha melhor colonização do substrato com essa quantidade de água, e esse valor foi utilizado como padrão. Desses 80 mL adicionadas, o fungo adsorveu 41,2 mL, medida analisada pelo teste de umidade feito em estufa. Das 100 g com 80 mL, amostras com cerca de 10 g foram colocadas em placas de Petri por 24 horas, pesagens antes e depois do período na estufa foram feitas, para relatar a quantidade de água que o fungo adsorveu. É imprescindível controlar a quantidade correta de umidade, pois em excesso pode comprometer as trocas gasosas e a falta pode resultar em desidratação do micélio.

Os sacos são identificados e fechados com “capuchão” (rolha de gaze preenchida com fibra hidrofóbica utilizada para permitir a aeração do material), em seguida, levados à esterilização em autoclave por 30 minutos a 121°C. Após a esterilização, cada saco com o substrato foi inoculado com o Spawn (semente-inóculo), purificado das placas de Petri do cogumelo *Pleurotus sajor-caju*, sob condições de assepsia em câmara de fluxo laminar e

armazenado em incubadora BOD a 25°C. Destes 10 sacos inoculados, apenas dois foram usados para o experimento (um miceliado e um sem cultivo), sendo os outros descartados devido à contaminação por bactérias e outros fungos. Após cerca de 30 dias, o saco autoclavável já estava completamente colonizado pelo fungo puro, o que pode ser observado na Figura 1. Como as análises bromatológicas realizadas dependem de parcerias com outros laboratórios, cada qual com horário marcado, o cultivo se estendeu por cerca de seis meses, até que todas as etapas de análises tivessem sido cumpridas.



Figura 1 - Sacos autoclaváveis contendo o substrato com e sem o cultivo, respectivamente, do fungo *Pleurotus sajor-caju*.

2.4 Análises bromatológicas

As análises bromatológicas foram realizadas em parceria com a Faculdade de Engenharias (FAEN) e Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Foram feitas análises para quantificação de fibra bruta (FB), fibra de detergente neutro (FDN), fibra de detergente ácido (FDA), lipídios e proteína bruta (PB). As análises foram conduzidas com as amostras em triplicata (sendo três amostras do saco miceliado e três amostras do saco sem cultivo) e foram identificadas como: com cultivo (1C 2C 3C) e sem cultivo (1S 2S 3S).

2.5 Análise de fibras

A análise de fibras foi realizada de acordo com a metodologia descrita pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1995) e pela American Association of

Cereal Chemists (AACC, 1975). Para a realização desta análise foram confeccionadas saquetas do tecido TNT (sacos extratores) medindo 4×4 cm. Os sacos foram colocados em solução de acetona durante 5 minutos, logo, foram colocados em estufa para secar a 105°C por 90 minutos, depois retirados e colocados no dessecador até alcançar a temperatura ambiente e por fim pesados individualmente. Em balança analítica foi pesado aproximadamente 0,5 a 1,0g de amostra e colocado no saquinho. As amostras foram distribuídas no aparelho de fibras, utilizando as bandejas necessárias. Colocou-se aproximadamente 2,0L de H_2SO_4 1,5% (v/v). Ligou-se o aparelho e ao atingir a temperatura de $98 \pm 1^{\circ}\text{C}$ cronometrou-se 30 minutos. Após os 30 minutos a solução ácida foi drenada. Adicionou-se aproximadamente 2,0L de água quente para retirar o resíduo da solução ácida e a água foi drenada em seguida. Colocou-se 2,0L da solução de NaOH 1,5% (p/v). As amostras foram aquecidas até ebulição (98°C) e cronometrou-se 30 minutos. A solução alcalina foi drenada. Lavou-se com água quente duas vezes para retirada dos resíduos da solução alcalina. Os sacos de tecido TNT contendo a amostra foram retirados e lavados com acetona. Deixou-se secar em temperatura ambiente. Colocou-se na estufa a 105°C por 24 horas. Pesou-se. Depois os sacos foram colocados nos cadinhos e levados à mufla para obtenção das cinzas. Pesou-se e foram realizados os cálculos a partir da fórmula:

$$\text{Fibra bruta}\% = \frac{(A - B)}{C} \times 100$$

A= massa do cadinho (massa do cadinho vazio+ massa da amostra) + resíduo (massa após a estufa)

B= massa do cadinho (massa do cadinho vazio+ massa da amostra) + cinza (pós-mufla)

C= massa da amostra (g)

2.6 Análise de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA)

Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram obtidos de acordo com o método descrito por Van Soest, (1963) e Van Soest (1967), respectivamente. A condução do experimento foi de forma que as amostras utilizadas para a realização de FDN foram reaproveitadas para realizar a análise de FDA. Os reagentes necessários para preparar um litro do detergente neutro pelo método de Van Soest (1963)

foram: um litro de água destilada; 30,0 g de sulfato de sódio; 18,61 g de EDTA; 6,81 g de borato de sódio hidratado; 4,56 g de fosfato ácido de sódio anidro e 10 mL de trietilenoglicol.

Para o preparo de um litro do detergente ácido pelo método de Van Soest (1967) foram utilizados: 20 g de brometo-cetil-trimetilamônio e 27,7 mL de ácido sulfúrico (96-98% de pureza). Para a determinação da FDN e da FDA pelo método convencional de Van Soest (1963, 1967), respectivamente, foram pesadas amostras de aproximadamente 0,5 g a 1,0 g e acondicionadas em sacos de tecido TNT nas medidas de 4 x 4 cm, em seguida, foram colocados nos discos provenientes do digestor de fibra da marca Marconi® (usado para digestão de fibras com sacos extratores, dessa forma evita o uso de vidrarias e não se faz necessário filtrar a amostra) foram adicionados 100 mL da solução detergente neutro para análise FDN. A solução contendo as amostras permaneceu em fervura durante 60 minutos a 100°C, depois da digestão as amostras foram lavadas com 20 mL de acetona e água aquecida, a fim de retirar os resíduos do detergente. Os sacos extratores foram acondicionados na estufa a 105°C por oito horas para obtenção do resíduo com peso constante. Ao final destes procedimentos os sacos foram para o dessecador até o momento da pesagem.

Após a pesagem, as amostras usadas na análise de FDN voltam para o aparelho digestor de fibra da marca Marconi® e então 100 mL de solução de detergente ácido foi adicionado para realização de FDA. O aparelho foi aquecido a 100°C e mantido a essa temperatura por 60 minutos, após essa etapa as amostras são retiradas e lavadas com 20 mL de acetona e água aquecida. Os sacos extratores são armazenados na estufa a 105°C por oito horas e então seguem para o dessecador até o momento da pesagem.

A próxima etapa são os cálculos a partir das fórmulas:

FDN:

$$\text{Fibra de detergente neutro} = \frac{\text{massa do saco após estufa} - \text{massa do saco vazio}}{\text{peso da amostra}} \times 100$$

FDA:

$$\text{Fibra de detergente ácido} = \frac{\text{massa do saco após estufa} - \text{massa do saco vazio}}{\text{massa da amostra inicial}} \times 100$$

2.7 Análise de lipídios

A análise de lipídeos foi feita de acordo com a técnica Bligh Dyer (VICENZI, R.). Pesou-se 3g de amostra em tubos de ensaio de 70 mL. Adicionou-se 10 mL de clorofórmio, 20 mL de metanol e 8 mL de água destilada. Tampou-se hermeticamente. Os tubos foram colocados na centrífuga por 30 minutos. Em seguida, adicionou-se 10 mL de clorofórmio e 10 mL da solução de sulfato de sódio 1,5% (p/v). Tampou-se e agitou-se vigorosamente por 2 minutos. Deixou-se separar as camadas de forma natural. A camada inferior foi pipetada para um tubo de 30 mL e a camada superior foi desprezada, como observado na Figura 2.



Figura 2 - Amostras da análise de lipídios, mostrando a camada de gordura no fundo do tubo de ensaio.

Mediu-se 5 mL do filtrado e transferiu-se para um cadinho previamente tarado e pesado. Colocou-se na estufa a 105°C por 24 horas. Pesou-se e foram realizados os cálculos:

$$\% \text{ de Lipídeos} = \frac{P \times 4}{G} \times 100$$

G= massa da amostra em gramas (o que foi pesado para a análise)

P= peso dos lipídeos (em gramas) contidos nos 5 mL.

2.8 Análise de proteínas

A análise de proteínas foi feita de acordo com a metodologia Kjeldahl (CECCHI, 1999; INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985; PARK, et al. 2006). Para a realização desta análise é necessário ter pré-preparado os seguintes reagentes: Mistura digestora – 2 g de

selenito de sódio, 4 g de sulfato de cobre, 21,4 g de sulfato de sódio, 200 mL de água destilada e 175 mL de ácido sulfúrico; Solução de NaOH 40% (p/v) – 150 g de NaOH e 200 mL de água destilada.; Solução indicadora – 0,25 g de verde de bromocresol, 0,25 g de vermelho de metila. Dissolvidos em 250 mL de álcool etílico; Solução receptora – 42 g/L de ácido bórico (solução aquosa), NaOH 40% (p/v), ácido sulfúrico 0,1 N. A análise é feita em 3 fases: digestão, destilação e titulação.

2.8.1 Digestão

A fase de digestão é feita no bloco digestório sob capela de exaustão. O bloco foi ligado a 100°C. Pesou-se 0,1g de amostra no tubo de digestão Kjeldahl e adicionou-se 7 mL da mistura digestora e colocou-se no bloco pré-aquecido. A temperatura foi aumentada em 50°C a cada 15 minutos até atingir 350-400°C. Foi feita digestão até que o conteúdo dos tubos estivesse translúcido, de cor verde, como pode ser observado na Figura 3.



Figura 3 - Amostra pós digestão de proteínas apresentando coloração verde translúcido.

Deixou-se esfriar os tubos e foi adicionado com cuidado 10 mL de água destilada.

2.8.2 Destilação

A fase de destilação é feita colocando-se o tubo já diluído no destilador, neutralizou-se com NaOH 40% (p/v). Ocorre o aparecimento de cor escura devido ao óxido de cobre

formado. Recolheu-se o destilado em erlenmeyer contendo a solução receptora (para tubo micro Kjeldahl contém 10 mL de ácido bórico com 2 gotas de indicador misto + 15/20 mL de NaOH 40% (p/v)). Recolheu-se 50 mL do destilado.

2.8.3 Titulação

Na fase de titulação o destilado foi titulado em bureta graduada, sob agitação usando ácido clorídrico 0,1 N até que o indicador altere a cor de verde para vermelho. Foram realizados os cálculos pela fórmula:

$$\% \text{ de Nitrogênio} = \frac{\text{mL(HCl)} \times \text{FC} \times \text{N(HCl)} \times 1,4}{\text{massa da amostra}}$$

mL(HCl)= volume de ácido gasto na titulação

FC = fator de correção do ácido

N(HCl)= normalidade do ácido

Fator de conversão= 4,38

$$\% \text{ de Proteínas} = \% \text{Nitrogênio} \times \text{Fator de conversão}$$

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos das análises bromatológicas de fibra bruta podem ser observados na Tabela 1. O substrato sem o cultivo pelo fungo *Pleurotus sajor-caju* possuía em média 16,4% de fibra bruta. A análise de fibra bruta para o substrato após a ação do fungo foi de em média 23%. Isso permite dizer que houve aumento de fibra bruta após a ação do fungo, mas como o próprio fungo tem fibras em sua constituição o aumento pode se tratar apenas da presença dele em meio ao substrato. Os testes estatísticos realizados mostraram que não houve significância estatística entre os dois tratamentos realizados, ou seja, as amostras com e sem cultivo pelo fungo não são diferentes estatisticamente.

Tabela 1. Resultado das análises bromatológicas (centesimais)

Amostras	Lipídeos (%)	Fibra Bruta (%)	FDN (%)	FDA (%)	Proteína (%)
SC	1,31a±0,23	16,40a±2,74	27,29a±7,27	0,82a±0,23	16,56a±5,15
CC	0,32b±0,10	23,00a±0,04	8,96b±4,01	1,85a±1,31	19,87a±1,19

Legenda: SC – Substrato sem cultivo. CC - Substrato miceliado. As porcentagens estão expressas com as médias dos resultados brutos e valores de desvio padrão estão representados pelos números precedidos pelo símbolo \pm .

Após a realização das análises, foi encontrado que o teor de fibra em detergente neutro caiu de 27,29%, em média, antes do cultivo de *Pleurotus sajor-caju* para 8,96% depois do cultivo, como mostra a Tabela 1. O teste de Tukey revelou que os tratamentos são significantes estatisticamente, então as amostras se diferem entre si, porém, o valor do desvio padrão foi de 7,27 para o tratamento sem cultivo e 4,01 para o tratamento com cultivo, o que significa que as amostras em triplicata tem variação entre si.

A digestibilidade de um alimento pode variar em função do próprio alimento, do animal e das condições de alimentação (MERTENS, 1987). De acordo com Santini et al. (1992), os coeficientes de digestibilidade aparente usados na avaliação dos alimentos podem ser influenciados por uma série de fatores, dentre estes, a relação volumoso/concentrado está entre os fatores mais importantes. A FDN é útil para prever a disponibilidade de energia porque está relacionada à digestibilidade e ao declínio da digestão lenta, que se associa a mudanças no processo dinâmico da passagem pelo trato gastrintestinal (MERTENS, 1982 citado por ARAÚJO et al. 1998). Portanto se a ingestão é limitada pela ocupação do espaço do trato digestivo, alimentos com alto teor de FDN terão sua ingestão restringida. Já em dietas com baixa proporção de FDN e ricas em energia, a exigência fisiológica do animal é o fator que limita a ingestão (MERTENS, 1983). A digestibilidade afeta essa relação, porque nesse caso o animal consome alimento para manter a ingestão constante de energia, enquanto que a ingestão de matéria seca (MS) diminui com o aumento da digestibilidade e o fator que determina a saciedade e controla a ingestão nesse caso é a densidade calórica da ração (VAN SOEST, 1994).

A ingestão e a digestibilidade podem estar positiva ou negativamente correlacionadas entre si, dependendo da qualidade da dieta (RESENDE, 1994). A correlação é negativa, quando se utiliza dietas de baixa qualidade, pois o volume ocupado pela fração de baixa digestibilidade reduz a ingestão de ração. O esvaziamento do trato gastrintestinal é dado pelo

aumento da taxa de passagem; assim, a ingestão é inversamente relacionada ao conteúdo de FDN da dieta. Quando o volume da dieta é o fator limitante, os animais não são capazes de consumir quantidades suficientes de MS para atender às suas necessidades energéticas, o que implica em queda na produção. A correlação é positiva, quando se trata de dietas de alta qualidade, em que a fração fibrosa é pequena e, provavelmente, não afeta a ingestão, que será controlada pelo requerimento energético do animal. Neste caso, a FDN é correlacionada positivamente à ingestão, pois, quando a FDN aumenta, reduz-se a digestibilidade e o animal necessita consumir mais para atender a seu requerimento de energia (ARAÚJO et al. 1998).

Relacionando os resultados com a literatura, a diminuição do teor de FDN pode ter aumentado a digestibilidade do substrato, fazendo com que o fator limitante da alimentação seja as necessidades fisiológicas do animal, ou seja, o animal irá consumir mais MS para suprir suas necessidades energéticas, conseqüentemente o produtor terá um ganho maior.

Já os valores de FDA, mostrados na Tabela 1, foram muito divergentes em cada triplicata, sendo encontrados os valores de 0,45%; 2,06% e 3,05% para as amostras 1C, 2C e 3C, respectivamente, e 0,66%; 0,99% e 13,09% para as amostras 1S, 2S e 3S, respectivamente, sendo as amostras sem cultivo as que apresentaram uma divergência mais significativa entre a primeira amostra e as demais, assim o dado mais divergente foi descartado. Esse resultado pode ter se devido a algum erro de manipulação.

FDA está contida no FDN porque representa as frações de celulose e lignina. A lignina é a fração não digerível da planta, que da resistência ao caule. Quanto maior o teor de FDA menor a qualidade e a digestibilidade da ração (RAMPINELLI, 2009).

Os resultados de quantificação de lipídeos, observados na Tabela 1, revelaram que antes do cultivo o farelo apresentou em média 1,31% de lipídios em sua constituição, nas 3 g usadas para a análise. Já depois do cultivo essa taxa caiu para 0,32% em média para as 3 g analisadas, ocasionando uma diminuição de 0,99%. Os lipídios compõem uma grande porção das dietas dos carnívoros, enquanto que em geral formam uma porção menor das dietas naturais dos herbívoros adultos (Ruminantes: 3 a 5% de extrato etéreo (EE) na matéria seca (MS)). Apesar disso, é possível que as espécies herbívoras possuam a capacidade de digerir e adsorver lipídios em quantidades consideravelmente mais elevadas do que as encontradas em suas dietas naturais e frequentemente lipídios suplementares são acrescentados às dietas de cavalos de corrida e vacas leiteiras de alta produção (CUNNINGHAM citado por MEDEIROS, 2015).

A adição de gordura na dieta de ruminantes não deve ultrapassar 6% da MS ingerida (60 g de lipídeos para cada kg de MS). O principal motivo seria uma influência negativa da gordura na degradabilidade da fibra (MEDEIROS et al. 2015).

Considerando os resultados obtidos e o que foi encontrado na literatura, a farinha residual de milho mesmo antes do cultivo já era pobre em lipídeos, com teor abaixo do que é considerado adequado para animais ruminantes, após o cultivo o teor reduziu ainda mais. A adição de uma fonte extra de lipídeos se faz necessária para que a farinha possa atender as necessidades do animal de forma adequada.

Em relação à PB (proteína bruta), observando a Tabela 1, foi revelado que o farelo antes de ser iniciada a colonização apresentava uma média de 16,56% de proteínas e após o crescimento do fungo aumentou para 19,87% em média, ou seja, houve um aumento de 3,31% durante o cultivo de *Pleurotus sajor-caju*, o que está relacionado provavelmente à produção de proteína microbiana durante o processo de crescimento micelial, na colonização do substrato (GONÇALVES et al. 2010).

Os ruminantes apresentam exigências proteicas mais simples que os suínos e aves porque as bactérias e outros microrganismos existentes no rúmen, no ceco e intestino grosso elaboram a partir das formas mais simples de nitrogênio, as proteínas que constituem suas células. Depois que esses microrganismos morrem e são digeridos, suas proteínas são aproveitadas pelo organismo do animal e proporcionam todos os aminoácidos essenciais, e por isso a qualidade das proteínas dos alimentos para ruminantes é considerada de menos importância. No entanto, os bezerros por não apresentarem o rúmen ainda desenvolvido necessitam receber proteínas de alta qualidade (OLIVEIRA, década provável 2010).

No cálculo de proteínas foi utilizado o fator de conversão 4,38 que é usado para não superestimar os valores da quantidade de nitrogênio disponível e assume que apenas 70% dos compostos nitrogenados disponíveis no cogumelo serão digeríveis ($0,70 \times 6,25 = 4,38$), já que o fator de conversão 6,25, se usado, irá assumir que as proteínas têm 16% de nitrogênio e todos os compostos são digeríveis (MILES e CHANG, 1997).

Furlani e Godoy (2007) descrevem espécies de cogumelos como sendo excelentes fontes de proteínas e alto valor nutritivo. Dentre as espécies, o *Pleurotus* spp. apresentou 22,22% de proteínas em base seca. Já Silva et al. (2007) encontraram valores variando de 17,1 - 28,0% em *Pleurotus sajor-caju* em base seca quando cultivado em feno de capim e bagaço de cana-de-açúcar suplementada com farelo de trigo.

Também foram encontrados valores de 18,4% de proteínas em *Pleurotus sajor-caju* e 16,9% em *Pleurotus ostreatus* cultivados em palha de bananeira e 13,0% para ambos quando cultivados em palha de arroz (BONATTI et al. 2004).

Segundo Castro et al. (2004), o *Pleurotus sajor-caju*, mostrou-se eficiente em reduzir as frações FDN e em aumentar o teor de proteína bruta do substrato de farinha residual de milho no cultivo deste fungo, atribuindo as alterações na fibra como sendo o resultado do metabolismo do fungo *P. sajor-caju*, que é capaz de solubilizar parte dos componentes da parede celular do resíduo.

Devido a estas características obtidas das análises podemos concluir que a farinha residual industrial antes do cultivo do fungo se enquadrava na categoria de alimento concentrado energético com teor de fibras brutas inferior a 18% e teor de proteína bruta inferior a 20% de acordo com os parâmetros oferecidos pela Associação Americana Oficial de Controle de Alimentos (AAFCO) o Conselho Nacional de Pesquisas dos EUA (NRC). Após a miceliação com *Pleurotus sajor-caju* a farinha insere-se na categoria de alimento volumoso com teor de fibra bruta superior a 18% também de acordo com os parâmetros oferecidos pela Associação Americana Oficial de Controle de Alimentos (AAFCO) e o Conselho Nacional de Pesquisas dos EUA (NRC).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após a completa colonização do fungo na farinha, obtiveram-se resultados satisfatórios para diminuição de FDN (18,28% a menos no teor de FDN) o que pode significar em aumento da digestibilidade do material. Ocorreu também aumento de proteína bruta (3,31% a mais no teor) e diminuição de lipídios que mesmo antes do cultivo tinha um teor abaixo do mínimo recomendado. A porcentagem de fibra bruta teve um aumento de 6,6%, o que pode ter se devido às fibras que o próprio fungo produz.

Esses resultados estão de acordo com a literatura consultada, sendo possível dizer que o fungo é capaz de aumentar o teor proteico e de acordo com Araújo et al (1998) aumentar digestibilidade do substrato onde é cultivado, tornando a farinha residual utilizada mais proteica e possivelmente mais digerível ao animal.

A classificação da farinha residual industrial de milho de acordo com a AAFCO e o NRC revela que a qualidade do substrato se modificou após a miceliação do *Pleurotus sajor-caju*, inserindo-a na categoria de alimento volumoso. Seria possível realizar estudos futuros

usando espécies diferentes de fungos do gênero *Pleurotus*, testando sua capacidade de bioconverter o substrato e crescer ainda mais proteínas ao mesmo.

Além de ração, a farinha residual também poderia ser testada como substrato para a produção de corpos de frutificação do fungo, produzindo assim os cogumelos e gerando uma renda extra ao produtor. Porém estudos futuros serão necessários para comprovar se o cogumelo tem condições de frutificar utilizando essa farinha residual como substrato e principal provedor de nutrientes ao fungo.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AACC. 1975. American Association of Cereal Chemists. Approved methods of the American Association of Cereal Chemists. St. Paul.
- AOAC. 1995. (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). Official methods of analysis. 16. ed., Washington.
- ARAÚJO, G.G.L.; SILVA, J.F.C.; FILHO, S.C.V.; CAMPOS, O.F.; CASTRO, A.C.G.; SIGNORETTI, R.D.; TURCO, S.H.N.; HENRIQUES, L.T. 1998. Consumo e digestibilidade total dos nutrientes de dietas contendo diferentes níveis de volumoso, em bezerros. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.27. n.2. p.345-354.
- BARBOSA, F.A. 2004. Alimentos na nutrição de bovinos. Disponível em: <http://www.agronomia.com.br/conteudo/artigos/artigos_nutricao_bovinos.htm>
- BEAUCHEMIN, K.A., KREUZER, M., O'MARA, F., McALLISTER, T.A. 2008 Nutritional management for enteric methane abatement: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**. ed.48(2). p.21–27. Disponível em: <<http://www.publish.csiro.au/paper/EA07199.htm>>
- BONATTI, M., KARNOPP, P., SOARES, H.M, FURLAN, S.A. 2004. Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. **Food Chemistry**.v. 88, p. 425 - 428.
- CASTRO, A.L.A.; PAIVA, P.C.A.; DIAS, E.S.; SANTOS, J. 2004. Avaliação das alterações bromatológicas e de degradabilidade do resíduo de lixadeira do Algodão após tratamento biológico com *Pleurotus sajor-caju*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.28, n.3, p.608-613, maio/jun.
- CECCHI, H.M. 1999. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. 2ª edição. 212p. Unicamp: Campinas.

EMBRAPA. 2015. Embrapa abre inscrições para o 47º Curso sobre cultivo de cogumelos comestíveis e medicinais. Brasília, DF. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/2657298/embrapa-abre-inscricoes-para-o-47-curso-sobre-cultivo-de-cogumelos-comestiveis-e-medicinais>>.

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

GERON, L.J.V.; CABRAL, L.S.; TRAUTMANN-MACHADO, R.J.; ZEOULA, L.M.; OLIVEIRA, E.B.; GARCIA, J.; GONÇALVES, M.R.; AGUIAR, R.P.S. 2014. Avaliação do teor de fibra em detergente neutro e ácido por meio de diferentes procedimentos aplicados às plantas forrageiras. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**.v. 35, n. 3, p. 1533-1542, maio/jun. Disponível em:

<<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/viewFile/13523/14556>>

GONCALVES, C.C.M.; PAIVA, P.C.A.; DIAS, E.S.; SIQUEIRA, F.G.; HENRIQUE, F. 2010. Avaliação do cultivo de *Pleurotus sajor-caju* (fries) sing. sobre o resíduo de algodão da indústria têxtil para a produção de cogumelos e para alimentação animal. **Ciênc. agrotec. [online]**. vol.34, n.1, pp. 220-225.

Disponívelem: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542010000100028>.

IBGE 2010. Atlas de saneamento 2011. Manejo de resíduos sólidos. Disponível em: <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv53096_cap9.pdf>

IBGE 2013. Perfil dos Municípios Brasileiros 2013. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Perfil_Municipios/2013/munic2013.pdf>

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. 1985. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. V.1: **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3ª edição. p.25-26. São Paulo. IMESP.

MEDEIROS, S. R., ALBERTIN, T. Z., MARINO, C. T. 2015. Lipídios na nutrição de ruminantes. **Repositório Alice Embrapa**. 14p. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1011217/1/NutricaoAnimalCAPITULO05.pdf>>

MEDEIROS, S.R. 2015. Uso de lipídios em dieta de ruminantes. **Informe técnico - Macal nutrição animal**. 6p. Campo Grande, MS. Disponível em: <<https://docs.ufpr.br/~freitasjaf/artigos/lipidios.pdf>>.

- MERTENS, D.R. 1987. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. **Journal of Dairy Science**. p. 64. p.1548-1558.
- MERTENS, D.R. 1982. Using neutral detergent fiber to formulate dairy rations. **In: Proc. Ga. Nut. Conf. For the feed industry**. p.116-26. Athens, UniversityGeorgia.
- MERTENS, D.R. 1983. Using neutral detergent fiber to formulate dairy rations and estimate the net energy content of feeds. **In: Cornell Nutr. Conf.** p.60-8. Cornell, USA.
- MILES, P.G.; CHANG, S.T. 1997. Biología de las setas: fundamentos básicos y acontecimientos actuales. Hong Kong. **World Scientific**. 133p.
- OLIVEIRA, R.M. 2010. As proteínas na alimentação animal. Universidade Federal de Lavras. **Departamento de Zootecnia**. Lavras, MG. Disponível em: <http://www.dzo.ufla.br/Roberto/proteinas_alimentacao_animal.pdf>
- PARK, KIL JIN, ANTONIO, GRAZIELLA COLATO, 2011. Análises de materiais biológicos. Unicamp. p.11. 2011.
- PATRABANSH S, MADAN M. 1997. Studies on cultivation, biological efficiency and chemical analysis of *Pleurotus sajor-caju* (FR.) Singer on different bio-wastes. **Acta Biotechnology**, 17(2):107-122.
- PIONEER. Análise Bromatológica. 2016. Disponível em:<www.pioneersementes.com.br/milho/silagem/analise-bromatologica>
- RAMPINELLI, J.R. 2009. Produção de *Pleurotus djamor* e avaliação de seu potencial nutricional. **Dissertação (mestrado)**. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Florianópolis, SC. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/92696/267122.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>.
- RESENDE, F.D. 1994. Efeito do nível de fibra em detergente neutro da ração sobre a ingestão alimentar de bovídeos de diferentes grupos raciais, em regime de confinamento. Universidade Federal de Viçosa. **Dissertação (Mestrado em Zootecnia)**. 60p. Viçosa, MG.
- SANTINI, F.J, BEVERLY, R.W, MOONEY, C.S. 1992. Dietary fiber and milk yield, mastication, digestion, and rate of passage in goats fed alfalfa hay. **Journal of Dairy Science**.v.75, p.209-219.
- SILVA, E.G., DIAS, E.S., SIQUEIRA, F.G., SCHWAN, R.F. 2007. Análise química de corpos de frutificação de *Pleurotus sajor-caju* cultivado em diferentes concentrações de nitrogênio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**.v. 27, n. 1, p. 72 - 76.

- SILVA, M.M. 2011. Cultivo de cogumelos comestíveis pela técnica Jun-Cao. **Monografia (pós-graduação em microbiologia)**. Universidade Federal de Minas Gerais. Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas. Belo Horizonte, MG. Disponível em: <http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/BUOS-99VHT3/cultivo_de_cogumelo_pela_tecnica_jun_cao.pdf?sequence=1>
- SOUZA, E. 2008. Problemas no cultivo de Pleurotus. In: **Anais do IV SICOG(4th International Symposium on mushrooms in Brazil)**. Caxias do Sul, RS. p. 28-34.
- URBEN, A.F. 2004. Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada. Brasília: **EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia**. 186p.
- URBEN, A.F. 2008. Técnica “juncao” no Brasil. In: **Anais do IV SICOG (4th Internacional Symposium on mushrooms in Brazil)**. Caxias do Sul, RG. p.69 -80.
- VALADARES, C.G. 2014. Farelo residual de milho com e sem enzima em dietas para frangos de corte. **Dissertação (mestrado)**. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Recife, PE. Disponível em: <http://www.pgz.ufrpe.br/sites/ww2.prppg.ufrpe.br/files/camila_guedes_valadares.pdf>
- VALVERDE, C. C. 2001. 250 maneiras de preparar rações balanceadas para frangos de corte. **Ed. Aprenda fácil**. Viçosa: UFV. 261p.
- VAN SOEST, P.J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2. ed. 476p. London: **Constock Publishing Associates**. USA.
- VICENZI, R. 2010. Química industrial de alimentos. UNIJUI. Disponível em: <<http://www.scribd.com/doc/7164422/Apostila-de-Analise-de-Alimentos>>. Acesso em: 29 de jan. de 2010.

APÊNDICE 1: Dados completos dos resultados das análises para fibras brutas, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, lipídeos e proteína bruta.

Resultados obtidos para Análises de fibras:

	FB	FDN	FDA
	13,54%	35,11%	13,10%
Sem cultivo	19%	20,79%	0,66%
	16,70%	25,81%	0,99%
\bar{x}	16,4%	27,23%	4,9%
	27,76%	4,65%	0,45%
Com cultivo	21,33%	9,65%	3,05%
	19,89%	12,59%	2,06%
\bar{x}	23%	8,95%	1,55%

Legenda: Tabela mostrando os resultados para fibra bruta (FB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) em triplicata para ambos os tratamentos. O símbolo “ \bar{x} ” representa a média aritmética dos resultados

Resultados obtidos para análise de lipídios pelo método Bligh Dyer:

	% de Lipídeo
	1,32%
Sem cultivo	1,53%
	1,08%
\bar{x}	1,31%
	0,44%
Com cultivo	0,24%
	0,29%
\bar{x}	0,32%

Legenda: Tabela mostrando resultados obtidos para cada triplicata, em ambos os tratamentos, na análise de lipídios pela técnica Bligh Dyer. O símbolo “ \bar{x} ” representa a média aritmética dos resultados.

Resultados da quantificação do teor de proteína bruta da farinha residual industrial:

	% de PB
	21,72%
Sem cultivo	16,55%
	11,43%
\bar{x}	16,56%
	18,87%
Com cultivo	21,19%
	19,57%
\bar{x}	19,87%

Legenda: Tabela mostrando os resultados para cada triplicata de ambos os tratamentos para análise de proteína bruta (PB). O símbolo “ \bar{x} ” representa a média aritmética dos resultados.