

Bioconversão de coprodutos agroindustriais utilizando fungos *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju* para alimentação de ruminantes

Bioconversion of agro-industrial co-products using Pleurotus ostreatus and Pleurotus sajor-caju fungi for ruminant feeding

Phaena Moraes Faria ^{*}

Rozanna Marques Muzzi 

Rafael H. de Tonissi e Buschinell de Goes 

Maria Gizelma de Menezes Gressler 

Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, MS, Brasil

*Correspondência: phaenafaria@ufgd.edu.br

Submetido: 27 jan 2022 | Aprovado: 10 out 2022

DOI: <http://dx.doi.org/10.7213/acad.2022.20008>

Rev. Acad. Ciênc. Anim. 2022;20:e20008

Resumo

O uso de coprodutos para a alimentação de ruminantes, aliado a biotecnologias, apresenta-se como solução para entraves ambientais, sociais e econômicos. Objetivou-se com este trabalho avaliar o enriquecimento nutricional de coprodutos agroindustriais (torta de nabo forrageiro, TN; farelo de soja, FS; e bagaço-de-cana-de açúcar, BC), bioconvertidos por fungos *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju*, na alimentação de ruminantes. Foram realizadas análises de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, cinzas e digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS) antes e após a bioconversão dos alimentos pelos fungos *P. ostreatus* e *P. sajor-caju*. Foram utilizados os três substratos nas seguintes proporções: 100% e nas associações TN+FS (50:50),

TN+BC (70:30), TN+FS (70:30) e TN+FS+BC (40:40:20). A bioconversão alterou os teores de proteína bruta, cinzas e DIVMS dos coprodutos utilizados, proporcionando um enriquecimento nutricional desses substratos para serem utilizados na alimentação de ruminantes. Os teores de celulose e hemicelulose não foram reduzidos na maioria dos substratos avaliados, no entanto houve diminuição dos níveis de extrato etéreo e lignina. Os resultados obtidos nesse estudo demonstram que tratamentos biotecnológicos de coprodutos agroindustriais por fungos se tornam uma solução ambientalmente correta devido ao reaproveitamento, transformando-os em produtos com maior valor agregado para a alimentação de ruminantes.

Palavras-chave: Alimentação de ruminantes. Fungos. Bioconversão. Coprodutos agroindustriais.

Abstract

The use of co-products for feeding ruminants, combined with biotechnologies, presents itself as a solution to environmental, social and economic obstacles. The objective of this work was to evaluate the nutritional enrichment of agro-industrial by-products (radish cake,

TN; soybean meal, FS; and sugarcane bagasse, BC), bioconverted by *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* fungi in ruminant feeding. Dry matter, crude protein, ether extract, ash and in vitro digestibility of dry matter (IVDDM) analyzes were performed before and after food bioconversion by the fungi *P. ostreatus* and *P. sajor-caju*. The substrates were used in the following proportions: 100% and in the associations TN+FS (50:50), TN+BC (70:30), TN+FS (70:30), and TN+FS+BC (40:40:20). The bioconversion altered the ash, crude protein contents and IVDDM of the co-products used, providing a nutritional enrichment of these substrates to be used in ruminant feed. The cellulose and hemicellulose contents were not reduced in most of the evaluated substrates, however there was a decrease in the levels of ether extract and lignin. The results obtained in this study showed that biotechnological treatments of agroindustrial by-products by fungi become an environmentally correct solution, due to reuse, transforming them into products with greater added value for feeding ruminants.

Keywords: Ruminant nutrition. Fungi. Bioconversion. Byproducts.

Introdução

A indústria de processamento de alimentos produz coprodutos que possuem potencial para uso na alimentação animal. O beneficiamento agroindustrial produz resíduos e coprodutos que contribuem anualmente, com aproximadamente 2,9 e 0,6 trilhões de Mcal de energia metabolizável. Se totalmente convertidos em produtos de origem animal, podem contribuir, por ruminantes, com 750 bilhões de litros de leite ou 4,5 milhões de toneladas de carne (Lima, 2005).

Normalmente esses coprodutos apresentam valores nutricionais limitados, apresentando baixos níveis de proteínas e aminoácidos disponíveis, e elevados níveis de lignina e presença de fatores antinutricionais. As biotecnologias para enriquecimento nutricional destes coprodutos, através do uso de processos microbiológicos aplicados em materiais ligninocelulósicos (Gupta et al., 2013; Soccol et al., 2017; Vu et al., 2020), podem gerar

produtos que não competem com a alimentação humana. Os fungos formadores de cogumelos, como o *Pleurotus* sp., formam um grupo altamente degradativo que atua sobre esses constituintes mais resistentes, i.e., celulose, hemicelulose e lignina (Menezes e Barreto, 2015; Hiscox et al., 2018), desagregando esta estrutura e tornando o coproduto mais digestível (Sadh et al., 2018).

O crescimento dos fungos filamentosos é uma combinação da extensão apical das hifas associada à geração de novas hifas por ramificação do micélio, que permite penetração, favorecendo a colonização do substrato sólido e utilização dos nutrientes disponíveis. Além disso, as enzimas hidrolíticas permitem uma fermentação submersa, aumentando a acessibilidade de todos os nutrientes disponíveis nas partículas (Raimbault, 1998).

Com base neste contexto, objetivou-se com este trabalho avaliar a bioconversão pelos fungos *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju* sobre três coprodutos agroindustriais: torta de nabo forrageiro (TN), bagaço-de-cana-de açúcar (BC), farelo de soja (FS) e suas associações sobre a composição químico-bromatológica e a digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS), visando assim a utilização na alimentação de animais ruminantes.

Material e métodos

O estudo foi realizado na Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados, no Mato Grosso do Sul, em delineamento inteiramente ao acaso. A bioconversão dos fungos foi feita no laboratório de fitopatologia e a análise centesimal das amostras antes e após a bioconversão foi realizada no laboratório de nutrição animal.

Foram utilizados três coprodutos (5 mm): FS (DSM Tortuga, Campo Grande, MS), BC (Usina São Fernando Açúcar e Álcool, Dourados, MS) e TN (Assentamento Itamarati, Ponta Porã, MS). Os tratamentos consistiram em diferentes proporções dos coprodutos utilizados: 100% FS (FS100); 100% BC (BC100); 100% TN (TN100); 50% TN + 50% FS (TN50+FS50); 70% TN + 30% BC (TN70+BC30); 70% TN + 30% FS (TN70+FS30); e 40% TN + 40% FS + 20% BC (TN40+FS40+BC20). A bioconversão foi realizada pelos fungos *P. ostreatus* e *P. sajor-caju*.

Para a determinação da granulometria das amostras, seguiu-se a metodologia descrita por Vasconcelos et al. (2019): foram pesados 50 gramas de cada coproduto utilizado e suas associações, os quais foram adicionados em agitador de peneiras (modelo FTI DIG MEC, série 9-7, Bertel Indústria Metalúrgica, Caieiras, SP), com peneiras Tyler/Mesh 16, 32, 60, 115 e fundo (abertura de 1 mm, 0,5 mm, 250 µm, 125 µm e fundo < 125 µm, respectivamente). O agitador foi programado para velocidade 5, por 10 minutos. A distribuição granulométrica foi determinada pela média de três determinações, conforme sugerido por Vasconcelos et al. (2005). A percentagem de cada amostra foi obtida pesando o material de cada peneira e então calculada a proporção do total do peso inicial.

Os substratos foram avaliados quanto aos teores de matéria seca (MS) (#934.01), proteína bruta (PB) (#920.87, Nx6,25); cinzas (CZ) (#924.05; AOAC, 1990), extrato etéreo (EE) (#920.39) e fibra bruta (FB) (#962.09). Os teores de fibra em detergente ácido (FDA) foram determinados conforme descrito por Van Soest e Robertson (1985). As análises de fibra em detergente neutro (FDN) foram realizadas de acordo com Mertens (2002), com algumas adaptações, utilizando-se autoclave e sem sulfito de sódio. Realizou-se a análise de celulose de acordo com Goering e Van Soest (1970), que utiliza a determinação por hidrólise ácida (ácido sulfúrico a 72%). A partir do valor da celulose, realizou-se o cálculo para determinar o teor de lignina. Os teores de hemicelulose (HCEL) foram determinados conforme $HCEL = FDN - FDA$.

A determinação do pH, realizada seguindo as recomendações do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), deu-se a partir da submissão de 10 g de cada substrato a 100 ml de água destilada em um béquer, o qual foi mantido em agitação constante (agitador magnético TMA, Modelo 10C) até que as partículas ficassem uniformemente suspensas. Posteriormente as amostras foram filtradas em papel filtro (80 g) e, com o uso de peagêmetro digital (Quimis, Modelo Q400AS-2019), obteve-se os valores de pH.

Para a avaliação da umidade foram hidratados 30 g de cada substrato com 140 ml de água destilada por 12 horas. Para a análise do teor de água absorvida pelas blendas (associações), retirou-se aproximadamente 0,5 g de cada amostra, que foi transportado para estufa de secagem, com temperatura de 105 °C por 4 horas, em seguida

colocado em dessecador até temperatura ambiente e, então, pesado. Esse procedimento repetiu-se a cada meia hora até observar-se peso constante. O percentual da umidade resultou da proporção do peso final sob o peso inicial corrigindo para a base seca, seguindo a equação: % umidade = massa da amostra após estufa/massa inicial da amostra.

A bioconversão por fungos basidiomicetos dos substratos avaliados foi realizada seguindo a metodologia descrita por Paz et al. (2013). Os microrganismos utilizados como cultura inicial (inóculo) foram *P. ostreatus* (linhagem/ lote 146/16) e *P. sajor-caju* (linhagem/ lote 147/16), adquiridos na forma de *Spawn* (inoculantes de fungos produzidos em meios estéreis utilizando grãos de cereais), da Empresa Funghi e Flora, localizada em Valinhos, São Paulo.

A DIVMS foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Tilley e Terry (1963) e modificada por Holden (1999), utilizando-se rúmen artificial (Tecnal®, Piracicaba, Brasil). Os substratos foram pesados (0,5 g) e colocados em saquinhos de TNT (5,0 × 5,0 cm TNT 100 g/cm²), conforme recomendações de Casali et al. (2009). Os substratos foram adicionados nos jarros contendo 1,600 ml de solução tampão e 400 ml de inóculo ruminal. Os jarros permaneceram a 39 °C por 48h em agitação contínua. Após 48 horas, a incubação foi interrompida, iniciando-se o segundo estágio, onde 40 ml de ácido clorídrico (HCl - 6 N) e 8 g de pepsina (Sigma 1: 10.000) foram adicionados em cada jarro. A incubação foi continuada por mais 24h, mantendo-se a temperatura de 39 °C. Após esse intervalo, os jarros foram drenados e os saquinhos foram secos em estufa de ventilação (55 °C por 12h), estufa de secagem (105 °C por 24 h) e posteriormente pesados. A DIVMS foi calculada usando-se os resíduos obtidos após a incubação.

Análise estatística

Os dados foram submetidos às análises de normalidade e homogeneidade e, posteriormente, à análise de variância e teste "F". As médias foram comparadas em função dos inóculos avaliados (*P. sajor-caju*, *P. ostreatus*) em comparação ao controle, que não recebeu inoculação, e submetidas ao teste Tukey a 5% de significância, com auxílio do programa estatístico SISVAR®.

Resultados e discussão

O tamanho da partícula como propriedade física (Tabela 1) é essencial para a atividade enzimática dos fungos, além da sua natureza cristalina, porosidade e área de superfície do substrato (Pandey, 2003). Mantovani et al. (2012) destacaram que para o fungo *P. ostreatus* o crescimento micelial foi maior, com elevada capacidade de retenção de oxigênio do meio de cultivo, para granulometrias variando entre 1,7 e 5,0 mm, e redução do tamanho de partículas relacionado ao aumento da área de contato entre o micélio e o substrato.

Ocorreu crescimento micelial e degradação do material em todos os substratos avaliados. A granulometria das amostras foi avaliada em porcentagem, conforme retenção em diferentes porosidades (Tabela 1). A maior parte percentual ficou retida nas peneiras 16 e 32 (1,0 e 0,5 mm), estas compostas por TN, FS e suas blendas. Já o BC e o TN+BC ficaram retidos nas peneiras de abertura 32 e 60, o que levou a menores crescimentos miceliais.

Para que ocorra maior crescimento micelial e degradação do substrato, um dos fatores mais importantes é a capacidade de retenção de oxigênio do meio de cultivo, e substratos com tamanho de partículas maiores favorecem essa retenção (Membrillo et al., 2008; Mantovani et al., 2012), o que foi apresentado para FS e TN. Por outro lado, para que ocorra produção das enzimas ligninolíticas pelos fungos, é importante a redução do tamanho de

partículas com o aumento da área de contato entre o micélio e o substrato (Reddy et al., 2003; Membrillo et al., 2008).

Mantovani et al. (2012) avaliaram como substrato o farelo de soja, farelo de trigo, farelo de arroz, grãos de milho e sabugo de milho, que foram separados em função da granulometria e analisados quanto à relação carbono/nitrogênio com a presença do fungo *P. Ostreatus*, e demonstraram que a retenção de oxigênio do meio de cultivo, devido à redução do tamanho de partículas, foi o fator mais importante para o crescimento micelial. Membrillo et al. (2008) demonstraram que em granulometria de 0,92 mm, o BC apresentou 86% de degradação para a fração celulose e 39% para a granulometria de 2,9 mm. Para a alimentação animal, o teor de lignina do substrato deve ser reduzido sem comprometer a quantidade de celulose.

Os valores iniciais de pH variaram de 5,8 a 6,2 entre todos os substratos. Todos os substratos estudados apresentaram pH dentro do recomendado para miceliação, que varia entre 5,5 e 6,5 (Gómez e Andrade, 2008; Sardar et al., 2017), indicando que os mesmos estavam adequados para o desenvolvimento fúngico. Fungos basidiomicetos possuem uma característica autorreguladora de pH, com tendência a estabilizarem-se no pH ótimo para seu crescimento, independentemente do valor de pH inicial (Furlan et al., 2000).

Tabela 1 - Granulometria das amostras em porcentagem, de acordo com a aberturas das peneiras

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

Nota: BC = bagaço-de-cana; FS = farelo de soja; TN = torta de nabo forrageiro. Tamanho da abertura das peneiras Tyler/Mesh: 16 (1 mm), 32 (0,5 mm), 60 (250 µm), 115 (0,125 µm) e fundo (< 125 µm).

A umidade é um parâmetro físico importante para a formação de biomassa micelial e produção de enzimas extracelulares. A umidade do meio é necessária para a utilização dos açúcares, transformando o ambiente de crescimento do fungo (Wisniewski et al., 2010). Um alto teor de umidade pode levar à contaminação por microrganismos e diminuir a porosidade, a difusão de oxigênio e a eliminação de dióxido de carbono. Por outro lado, um baixo teor de umidade proporciona um menor crescimento (Dalsenter, 2005).

Os valores de umidade apresentados pelos substratos variaram de 57 a 88% (Tabela 2), ocorrendo crescimento micelial em todas as amostras. Cada substrato teve uma capacidade de retenção de água diferente e o cuidado com sua adição é na observância da consistência final da amostra, que deve ter aspecto grumoso (Breyer et al., 2007). A umidade é um parâmetro físico importante para a formação de biomassa micelial e produção de enzimas extracelulares. A umidade do meio é necessária para a utilização dos açúcares, transformando o ambiente de crescimento do fungo (Wisniewski et al., 2010). Singhania et al. (2009) demonstraram que fungos basidiomicetos precisam de menor umidade e que o crescimento fúngico ocorre com 40 a 60% de umidade. Castro e Pereira (2010) afirmam que a produção de enzimas em resíduos ligninocelulósicos varia de 30 a 85%.

Os fungos *P. ostreatus* e *P. sajor-caju* cresceram de maneira uniforme em todas os substratos testados. Os crescimentos foram muito similares, com exceção do BC 100% para ambos os fungos, em que o crescimento ocorreu de forma cotonosa e mais superficial devido ao seu baixo valor nutricional; no entanto, após os 30 dias da colonização, os fungos colonizaram por completo os substratos.

Os resultados obtidos pela bioconversão proporcionaram melhora na composição químico-bromatológica, elevando os teores de PB, CZ e DIVMS (Tabelas 3 a 6). No entanto os teores de EE e lignina foram reduzidos, e os teores de celulose e hemicelulose apresentaram semelhança antes e após a inoculação para todos os substratos.

Os valores de PB apresentaram efeito para tipo de substrato ($p < 0,05$), com os teores de N tendo apresentado aumento para FS100 e TN70+FS30 em ambos os fungos avaliados; no entanto, os substratos TN100, FS50+TN50, TN70+BC30, TN40+FS40+BC20 apresentaram os maiores teores com a inoculação de *P. sajor-caju*. Para BC 100, a inoculação não diferiu do

controle possivelmente pelo substrato ser de baixo valor nutritivo com pequenos teores de nitrogênio. Desta forma, o crescimento apresentado pelos fungos foi de forma cotonosa (micélio semelhante ao algodão) fracamente adensado. A presença de PB fornece nitrogênio orgânico para a multiplicação celular (Wisniewski et al., 2010), o que para este substrato parece ser insuficiente.

Tabela 2 - Percentual de umidade das amostras de substrato determinado após procedimento de hidratação

Substrato	Umidade (%)
100% BC	86
100% FS	57
100% TN	72
TN+FS 50/50	66
TN+BC 70/307	65
TN+FS 70/30	66
TN+FS+BC 40/40/20	76

Nota: BC = bagaço-de-cana; FS = farelo de soja; TN = torta de nabo forrageiro.

O aumento dos teores de PB nos outros substratos pode ser atribuído à adição de proteína fúngica oriunda da miceliação (Nasehi et al., 2016). Esse aumento é decorrente da hidrólise de carboidratos e de seu subsequente uso como fonte de energia para a síntese de biomassa fúngica rica em nitrogênio (Akinfemi et al., 2010). Além disso, a captura do excesso de nitrogênio durante o crescimento micelial contribui para o aumento dos teores de PB (Sallam et al., 2007). De forma geral os substratos apresentaram crescimento micelial abundante e muito adensado, decorrente de elevados valores proteicos.

Os valores de EE não apresentaram diferença para a inoculação de ambos os fungos para FS100 e BC100. Já para os substratos FS50+TN50, TN40+FS40+BC20, TN70+BC30, TN70+FS30, os teores apresentaram redução significativa ($p < 0,05$) para a inoculação de ambos os fungos. A inoculação de *P. Sajor-caju* apresentou maior redução nos teores lipídicos dos substratos. Os fungos *Pleurotus* sp. podem remover efetivamente substâncias lipofílicas a partir de substratos ligninocelulósicos (Gutiérrez et al., 2004), podendo utilizá-los como fonte energética para seu desenvolvimento, o que justifica a redução dos teores de EE encontrados.

Tabela 3 - Valores médios de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e cinzas (%MS) de substratos de farelo de soja (FS), torta de nabo forrageiro (NF) e bagaço-de-cana (BC) miceliados com os fungos *Pleurotus sajor-caju* (PSC) e *Pleurotus ostreatus* (PO)

Componente	Inóculo	FS100	NF100	BC100
Matéria seca	Controle	92,80 ± 0,06 ^B	93,72 ± 0,29 ^B	93,24 ± 0,52 ^C
	PSC	94,78 ± 0,15 ^A	94,67 ± 0,30 ^A	94,59 ± 0,30 ^B
	PO	94,41 ± 0,10 ^A	94,74 ± 0,09 ^A	95,22 ± 0,26 ^A
Proteína bruta	Controle	43,53 ± 0,98 ^C	60,41 ± 1,47 ^B	4,12 ± 0,17 ^A
	PSC	52,46 ± 0,49 ^A	64,46 ± 0,80 ^A	6,34 ± 0,18 ^A
	PO	47,45 ± 0,70 ^B	57,80 ± 0,70 ^B	5,92 ± 0,41 ^A
Extrato etéreo	Controle	5,03 ± 0,27 ^A	15,93 ± 0,27 ^A	0,91 ± 0,28 ^A
	PSC	4,21 ± 0,51 ^A	10,00 ± 0,02 ^B	0,79 ± 0,17 ^A
	PO	4,22 ± 0,29 ^A	9,16 ± 0,14 ^B	0,69 ± 0,14 ^A
Cinzas	Controle	5,90 ± 0,15 ^C	5,78 ± 0,15 ^C	3,11 ± 0,30 ^A
	PSC	8,50 ± 0,37 ^A	6,59 ± 0,03 ^B	3,09 ± 0,06 ^A
	PO	7,86 ± 0,06 ^B	7,05 ± 0,08 ^A	2,67 ± 0,12 ^B

Nota: Dados apresentados como média dos valores ± desvio padrão em base seca. Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os inóculos para uma mesma formulação.

Tabela 4 - Valores médios de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e cinzas (%MS) das associações dos substratos de farelo de soja (FS), torta de nabo forrageiro (NF) e bagaço-de-cana (BC) miceliados com os fungos *Pleurotus sajor-caju* (PSC) e *Pleurotus ostreatus* (PO)

Componente	Inóculo	FS50+NF50	NF70+BC30	NF70+FS30	NF40+FS40+BC20
Matéria seca	Controle	93,60 ± 0,60 ^B	93,82 ± 0,44 ^B	93,68 ± 0,05 ^B	93,66 ± 0,16 ^B
	PSC	93,90 ± 0,15A ^B	92,59 ± 0,15 ^C	93,48 ± 0,23 ^B	93,15 ± 0,19 ^B
	PO	94,38 ± 0,21 ^A	94,64 ± 0,07 ^A	94,57 ± 0,07 ^A	94,55 ± 0,02 ^A
Proteína bruta	Controle	53,45 ± 2,34 ^B	41,52 ± 3,26 ^B	51,01 ± 1,39 ^B	41,57 ± 0,34 ^B
	PSC	56,70 ± 0,85 ^A	45,74 ± 1,07 ^A	56,21 ± 1,05 ^A	47,20 ± 1,48 ^A
	PO	55,91 ± 1,52 ^{AB}	43,69 ± 1,34 ^{AB}	55,55 ± 0,90 ^A	44,45 ± 0,32 ^{AB}
Extrato etéreo	Controle	10,56 ± 0,09 ^A	5,41 ± 0,89 ^A	9,01 ± 0,02 ^A	7,83 ± 0,02 ^A
	PSC	6,77 ± 0,12 ^B	2,34 ± 0,01 ^C	5,07 ± 0,29 ^C	4,57 ± 0,21 ^B
	PO	6,38 ± 0,37 ^B	3,59 ± 0,21 ^B	6,50 ± 0,21 ^B	5,00 ± 0,01 ^B
Cinzas	Controle	5,87 ± 0,16 ^C	5,32 ± 0,46 ^C	5,96 ± 0,04 ^C	5,40 ± 0,06 ^C
	PSC	7,99 ± 0,12 ^A	7,24 ± 0,15 ^A	8,04 ± 0,06 ^A	7,95 ± 0,03 ^A
	PO	7,45 ± 0,13 ^B	6,30 ± 0,10 ^B	7,32 ± 0,11 ^B	6,75 ± 0,09 ^B

Nota: Dados apresentados como média dos valores ± desvio padrão em base seca. Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os inóculos para uma mesma formulação.

Os teores de CZ, ou matéria mineral, apresentaram aumento significativo em todos os substratos avaliados, com exceção do BC100. O *P. Sajor-caju* melhorou os teores de CZ nos seguintes substratos: FS100, FS50+TN50, TN70+BC30, TN70+FS30, TN40+FS40+BC20. Já para o TN100, a inoculação do fungo *P. ostreatus* obteve destaque. O resultado da bioconversão gerou aumento na quantidade de matéria mineral e os minerais obtidos pelos ruminantes são em sua totalidade inerentes da ingestão de alimentos, visto que os mesmos não sintetizam elementos minerais (Mendonça Jr et al., 2011) e que estes nem sempre são encontrados em

quantidades desejáveis nos alimentos, não sendo suficientes para a máxima resposta animal, havendo a necessidade de suplementação para compensar essa deficiência (Peixoto et al., 2005).

Ao estudar a bioconversão do *P. ostreatus* em farelo de algodão, Fiorin (2016) verificou aumento no teor proteico e diminuição do teor lipídico, semelhante ao obtido neste trabalho. Já Vasconcelos et al. (2019), ao avaliarem o enriquecimento nutricional de resíduos de extração de óleo de soja, nabo forrageiro, gergelim branco e ogaço de cana-de-açúcar através da bioconversão com o fungo *P. oestreatus*, encontraram elevação dos teores de PB.

Tabela 5 - Teores dos componentes dos substratos farelo de soja (FS), torta de nabo forrageiro (TN) e bagaço-de-cana (BC) miceliados com os fungos *Pleurotus sajor-caju* (PSC) e *Pleurotus ostreatus* (PO)

Componente	Inóculo	FS100	TN100	BC100
Fibra bruta	Controle	10,05 ± 0,29 ^A	2,61 ± 0,92 ^A	42,76 ± 0,46 ^A
	PSC	5,75 ± 0,17 ^B	3,21 ± 0,63 ^A	41,79 ± 0,34 ^A
	PO	5,95 ± 0,9 ^B	3,59 ± 0,77 ^A	41,12 ± 0,58 ^A
FDN	Controle	24,81 ± 1,39 ^A	16,59 ± 1,44 ^B	95,11 ± 1,08 ^A
	PSC	21,70 ± 0,80 ^A	21,15 ± 1,43 ^A	91,85 ± 0,51 ^A
	PO	22,09 ± 2,23 ^A	20,09 ± 1,63 ^{AB}	92,77 ± 0,23 ^A
FDA	Controle	10,95 ± 0,62 ^A	9,56 ± 0,82 ^A	61,00 ± 1,02 ^A
	PSC	9,04 ± 0,28 ^A	10,79 ± 0,54 ^A	58,92 ± 0,80 ^{AB}
	PO	6,47 ± 1,33 ^B	10,18 ± 0,77 ^A	58,50 ± 1,23 ^B
Celulose	Controle	5,09 ± 0,19 ^A	4,26 ± 0,52 ^B	44,66 ± 0,40 ^A
	PSC	5,34 ± 0,07 ^A	6,23 ± 0,70 ^A	42,96 ± 0,72 ^B
	PO	5,02 ± 0,70 ^A	5,92 ± 0,68 ^A	43,02 ± 0,73 ^B
Hemicelulose	Controle	13,86 ± 1,49 ^{AB}	7,03 ± 0,88 ^B	34,11 ± 0,15 ^A
	PSC	12,65 ± 0,84 ^A	10,36 ± 0,93 ^A	32,93 ± 0,82 ^A
	PO	15,62 ± 1,31 ^B	9,91 ± 0,86 ^A	34,27 ± 1,04 ^A
Lignina	Controle	3,83 ± 0,01 ^A	3,81 ± 0,15 ^A	14,79 ± 0,00 ^A
	PSC	2,71 ± 0,14 ^B	3,52 ± 0,05 ^A	13,40 ± 0,00 ^B
	PO	2,21 ± 0,01 ^B	3,91 ± 0,01 ^A	13,89 ± 0,18 ^B
DIVMS	Controle	92,48 ± 1,27 ^B	68,41 ± 0,45 ^A	46,81 ± 0,13 ^B
	PSC	95,98 ± 0,02 ^A	70,17 ± 0,17 ^A	49,10 ± 0,11 ^A
	PO	96,40 ± 0,61 ^A	70,24 ± 0,14 ^A	48,99 ± 0,01 ^A

Nota: Dados apresentados como média dos valores ± desvio padrão em base seca. Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os inóculos para uma mesma formulação. Aplicou-se o Teste de Tukey (p < 0,05). FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido (FDA); DIVMS = digestibilidade in vitro da matéria seca

Tabela 6 - Teores dos componentes das associações dos substratos farelo de soja (FS), torta de nabo forrageiro (TN) e bagaço-de-cana (BC) miceliados com os fungos *Pleurotus sajor-caju* (PSC) e *Pleurotus ostreatus* (PO)

Componente	Inóculo	FS+TN (50:50)	TN+BC (70:30)	TN+FS (70:30)	TN+FS+BC (40:40:20)
Fibra bruta	Controle	6,18 ± 0,43 ^A	16,91 ± 1,34 ^A	4,53 ± 0,89 ^A	14,93 ± 0,39 ^A
	PSC	4,16 ± 0,51 ^B	19,50 ± 0,69 ^A	4,38 ± 1,33 ^A	12,88 ± 0,82 ^A
	PO	4,20 ± 1,99 ^B	17,03 ± 1,28 ^A	4,02 ± 0,07 ^A	12,57 ± 0,38 ^A
FDN	Controle	18,64 ± 0,99 ^A	41,76 ± 4,24 ^B	19,42 ± 1,74 ^A	33,47 ± 2,81 ^A
	PSC	21,19 ± 0,79 ^A	46,46 ± 0,58 ^A	19,30 ± 0,43 ^A	37,12 ± 0,40 ^A
	PO	21,08 ± 0,39 ^A	43,33 ± 0,69 ^{AB}	19,61 ± 1,76 ^A	34,25 ± 0,94 ^A
FDA	Controle	9,42 ± 0,40 ^A	26,69 ± 2,40 ^B	9,53 ± 0,50 ^A	19,51 ± 2,15 ^B
	PSC	9,50 ± 0,09 ^A	29,68 ± 0,71 ^A	9,10 ± 0,41 ^A	22,10 ± 0,48 ^A
	PO	7,26 ± 0,22 ^A	25,35 ± 0,34 ^B	8,87 ± 1,46 ^A	18,47 ± 0,29 ^B
Celulose	Controle	4,85 ± 0,14 ^A	16,47 ± 0,70 ^{AB}	5,25 ± 0,56 ^A	11,31 ± 1,62 ^B
	PSC	5,12 ± 0,06 ^A	17,07 ± 0,18 ^A	4,37 ± 0,11 ^A	12,9 ± 0,34 ^A
	PO	4,22 ± 0,40 ^A	15,33 ± 0,33 ^B	4,91 ± 0,52 ^A	11,21 ± 0,42 ^B
Hemicelulose	Controle	9,21 ± 0,61 ^B	15,08 ± 1,86 ^B	9,90 ± 1,33 ^A	13,96 ± 0,83 ^A
	PSC	11,69 ± 0,75 ^A	16,78 ± 1,17 ^{AB}	10,20 ± 0,04 ^A	15,02 ± 0,81 ^A
	PO	13,82 ± 0,19 ^A	17,98 ± 0,81 ^A	10,74 ± 0,79 ^A	15,78 ± 1,04 ^A
Lignina	Controle	3,75 ± 0,16 ^A	8,76 ± 0,24 ^A	4,75 ± 0,40 ^A	6,92 ± 0,68 ^A
	PSC	3,23 ± 0,02 ^A	8,02 ± 0,00 ^B	3,03 ± 0,16 ^B	6,06 ± 0,05 ^B
	PO	2,42 ± 0,15 ^B	7,63 ± 0,38 ^B	3,52 ± 0,21 ^B	5,74 ± 0,04 ^B
DIVMS	Controle	71,81 ± 0,05 ^B	53,61 ± 0,61 ^B	74,79 ± 0,64 ^B	63,11 ± 0,78 ^B
	PSC	79,18 ± 0,40 ^A	70,16 ± 0,03 ^A	79,03 ± 0,69 ^A	71,19 ± 0,74 ^A
	PO	78,88 ± 0,10 ^A	70,12 ± 0,21 ^A	78,31 ± 1,03 ^A	72,08 ± 0,75 ^A

Nota: Dados apresentados como média dos valores ± desvio padrão em base seca. Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os inóculos para uma mesma formulação. Aplicou-se o Teste de Tukey ($p < 0,05$). FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido (FDA); DIVMS = digestibilidade in vitro da matéria seca

Os teores de FB, FDN e FDA não apresentaram efeito para a bioconversão no que se diz respeito à diminuição de seus teores, com exceção do FS100 e FS50+TN50, onde ocorreu diminuição de FB em ambos os fungos e de FDA para *P. ostreatus*. A TN (38%PB) e o FS (45%PB) são fontes de proteína com baixos teores de FDA (19%) e de FDN (16%) (Goes et al., 2021), diferentes do BC, que é considerado um alimento volumoso, com elevados teores de FDN (85,2%) e baixo teor de PB (2,14%), o que dificulta o crescimento micelial, sendo este pouco adensado e de forma mais superficial, não apresentando diminuição do complexo fibroso.

O crescimento filamentosos dos fungos é uma combinação da extensão apical das hifas associada à geração de novas hifas por ramificação do micélio,

permitindo maior penetração sobre o substrato e aumentando a disponibilidade dos nutrientes para a alimentação animal. Além disso, as enzimas hidrolíticas possuem ação mais eficiente, permitindo adentrar no substrato e aumentando a acessibilidade de todos os nutrientes disponíveis nas partículas (Raimbault, 1998). Essas enzimas auxiliam na degradação de produtos como a celulose e o amido (Pelczar Jr et al., 1996).

Neste trabalho os teores de celulose dos substratos FS100, FS50+TN50 e TN70+FS30 não apresentaram diferença estatística ($p > 0,005$). Para BC100, houve redução dos teores de celulose e os substratos TN100, TN70+BC30 e TN40+FS40+BC20 apresentaram leve aumento em pelo menos um dos fungos. A inoculação não alterou os teores de

hemicelulose, mas reduziu os teores de lignina para ambos os fungos nos substratos FS100, BC100, TN70+FS30 e TN40+FS40+BC20. Houve, no entanto, aumento para TN100, FS50+TN50 e, com *P. ostreatus*, para TN70+BC30 (Tabelas 5 e 6). Já para FS50+TN50, a inoculação com *P. ostreatus* apresentou redução, o que não ocorreu para a inoculação de *P. sajor-caju* para os substratos TN100 e FS50+TN50.

A variação nos teores de aumento de celulose e hemicelulose pode ser explicada pelo fato de os métodos de análise para quantificar os componentes da parede celular vegetal serem incapazes de discriminar a celulose presente na quitina e d-glucana (principais componentes da parede celular do *Pleurotus* sp.) daquela presente na parede celular vegetal (Van Soest et al., 1991). Já o não consumo de celulose e hemicelulose se deve ao fato do ataque limitado à celulose por espécies de *Pleurotus* sp. (Cohen et al., 2002; Alemawor et al., 2009), onde ocorre preferencialmente a degradação da lignina à celulose (Locci et al., 2008), demonstrado inclusive no presente estudo.

A celulose é uma fonte de carbono para os fungos, sendo convertida por fermentação em água e gás carbônico por meio de um sistema enzimático hidrolítico que degrada polissacarídeos da parede celular vegetal (Sánchez, 2009; Wisniewski, 2010). Quando se fala em alimentação animal, o teor de lignina deve ser reduzido sem comprometer a quantidade de celulose (Membrillo et al., 2008), já que a celulose e a hemicelulose representam a maior fonte potencial de energia para os animais herbívoros após a degradação pelos complexos enzimáticos de microrganismos ruminantes (Valadares Filho e Pina, 2011).

A bioconversão na maioria dos substratos fez a quebra da lignina, levando à sua diminuição. Trata-se de um aspecto positivo, pois assim aumenta-se a biodisponibilidade de carbono para os microrganismos, aumentando também a digestibilidade do alimento. No caso do TN100, por ser um alimento concentrado proteico com baixa quantidade de fibra bruta e elevada concentração de nitrogênio, ocorreu repressão da degradação da lignina, devido às altas concentrações de nitrogênio que inibem a síntese de enzimas ligninolíticas (Silva et al., 2005). A degradação da lignina é um processo oxidativo e o oxigênio exerce efeitos significativos sobre a síntese de enzimas, que a quebram (Azimi et al., 2020). O substrato de TN100 é rico em gordura

e umidade, o que pode ter diminuído a tensão de oxigênio do meio.

A alteração dos valores de celulose, hemicelulose e lignina proporcionaram melhora nos coeficientes de digestibilidade in vitro na matéria seca (Tabelas 5 e 6) dos substratos avaliados, independente dos fungos inoculados. A digestibilidade de um substrato ligninocelulósico está inversamente relacionada à concentração de lignina (Okano et al., 2006). Nesse contexto, a bioconversão associada à alteração dos compostos fibrosos, por ação das enzimas fúngicas, proporciona elevação de sua digestibilidade.

Conclusão

A bioconversão dos coprodutos de agroindústria com *P. ostreatus* e *P. sajor-caju* altera os teores de proteína bruta, celulose, hemicelulose e lignina, e proporcionam aumento na degradabilidade in vitro da matéria seca dos substratos utilizados, tornando-se uma alternativa viável para a alimentação de ruminantes.

Referências

- Akinfemi A, Adu OA, Doherty F. Conversion of sorghum stover into animal feed with white-rot fungi: *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus pulmonarius*. *Afr J Biotechnol*. 2010;9(11):1706-12.
- Alemawor F, Dzogbefia VP, Oddoye EOK, Oldham JH. Effect of *Pleurotus ostreatus* fermentation on cocoa pod husk composition: influence of fermentation period and Mn2+ supplementation on the fermentation process. *Afr J Biotechnol*. 2009;8(9):1950-8.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 18 ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists; 2006.
- Azimi Y, Bahmani M, Jafari A, Bakhtyari HRR. Anatomical, chemical and mechanical characteristics of beech wood degraded by two *Pleurotus* species. *Drvna Industrija*. 2020;7(1):47-53.
- Breyer CA, Paz MF, Giovanni RN. Cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em bagaço de maçã pela técnica Jun-Cao. In: XVI Simpósio Nacional de Bioprocessos; 29 jul - 1 ago 2007; Curitiba, PR. Curitiba: Anais Sinaferm; 2007.

- Casali AO, Detmann E, Valadares Filho SC, Pereira JC, Cunha M, et al. Estimação de teores de componentes fibrosos em alimentos para ruminantes em sacos de diferentes tecidos. R Bras Zootec. 2009;38(1):130-8.
- Castro AM, Pereira Jr N. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. Quim Nova. 2010;33(1):181-8.
- Cohen R, Persky L, Hadar Y. Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. Appl Microbiol Biotechnol. 2002;58(5):582-94.
- Dalsenter FDH. Efeito da temperatura na cinética de crescimento de *Rhizopus oryzae* em cultivo no estado sólido [tese]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2005. 123 p.
- Fiorin PFS. Bio-conversão do caroço de algodão em farelo visando a melhoria nutricional através do cultivo de *Pleurotus ostreatus* pela metodologia jun-cao modificada para a produção de uma ração bovina com maior porcentagem nutritiva [monografia]. Dourados: Universidade Federal da Grande Dourados; 2016. 46 p.
- Goering HK, Van Soest PJ. Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). Agriculture Handbook No. 379. Washington, DC: USDA; 1970.
- Goes RHTB, Souza KA, Osmari MP, Cardoso TJL, Oliveira RT, Silva NG, et al. Potential degradation and colonization time of ruminal microorganisms on the particles of different oilseeds-crushed, and its chemical composition. Biosci J. 2021;37:e37001.
- Gómez JPG, Andrade JLC. Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos sólidos ligninocelulósicos de diferente procedencia. Nova Publ Cient. 2008;6(10):126-40.
- Gupta A, Sharma S, Saha S, Walia S. Yield and nutritional content of *Pleurotus sajor caju* on wheat straw supplemented with raw and detoxified mahua cake. Food Chem. 2013;141(4):4231-9.
- Gutiérrez A, Del Río JC, Martínez AT. Chemical analysis and biological removal of wood lipids forming pitch deposits in paper pulp manufacturing. In: Spencer JFT, Spencer ALR, editores. Environmental microbiology: methods in biotechnology. Totowa, NJ: Ed. Humana Press; 2004. p. 189-202.
- Hiscox J, O'Leary J, Boddy L. Fungus wars: basidiomycete battles in wood decay. Stud Mycol. 2018;89:117-24.
- Holden LA. Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for ten feeds. J Dairy Sci. 1999;82:1791-4.
- Instituto Adolfo Lutz - IAL. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4 ed. São Paulo: IAL; 2008. 1020 p.
- Lima MLM. Uso de subprodutos da agroindústria na alimentação de bovinos. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia; 25-28 jul 2005; Goiânia, GO. Goiânia: Universidade Federal de Goiás; 2005. P. 322-9.
- Locci E, Laconi S, Pompei R, Scano P, Lai A, Marincola FC. Wheat bran biodegradation by *Pleurotus ostreatus*: a solid-state carbon-13 NMR study. Bioresour Technol. 2008;99(10):4279-84.
- Mantovani TRA, Meirelles LDP, Valle JS, Linde GA, Colauto NB. Formulação de substratos na produção de biomassa micelial e de lacase de *Pleurotus ostreatus*. Semin Cienc Agrar. 2012;33(5):1681-91.
- Membrillo I, Sánchez C, Meneses M, Favela E, Loera O. Effect of substrate particle size and additional nitrogen source on production of lignocellulolytic enzymes by *Pleurotus ostreatus* strains. Bioresour Technol. 2008;99(16):7842-7.
- Mendonça Jr AF, Braga AP, Rodrigues APMS, Sales LEM, Mesquita HC. Minerais: importância de uso na dieta de ruminantes. Agropec Cient Semi-Árido. 2011;7(1):1-13.
- Menezes CR, Barreto AR. Biodegradação de resíduos lignocelulósicos por fungos basidiomicetos: Caracterização dos resíduos e estudo do complexo enzimático fúngico. Rev Eletr Gestao Educ Tecnol Ambiental. 2015;19(2):1365-91.
- Mertens DR. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. J AOAC Int. 2002;85(6):1217-40.
- Nasehi M, Torbatinejad N, Zerehdaran S, Safaei A. Effect of solid-state fermentation by oyster mushroom (*Pleurotus florida*) on nutritive value of some agro by-products. J Appl Anim Res. 2017;45(1):221-6.
- Okano K, Iida Y, Samsuri M, Prasetya B, Usagawa T, Watanabe T. Comparison of in vitro digestibility and chemical composition between sugarcane bagasse treated by four white rot fungi. Anim Sci J. 2006;77(3):308-13.

- Pandey A. Solid-state fermentation. *Biochem Eng J.* 2003;13(2-3):81-4.
- Paz MF, Demenjour PLMM, Cardoso JCP, Leite RSR. Cultivation of edible mushroom *Hiboukitaki* in caja bagasse by in Jun-Cao technique. *J Biotec Biodivers.* 2013;4(2):146-52.
- Peixoto PV, Malafaia P, Barbosa JD, Tokarnia CH. Princípios de suplementação mineral em ruminantes. *Pesq Vet Bras.* 2005;25(3):195-200.
- Pelczar Jr MJ, Chan ECS, Krieg NR. *Microbiologia: conceitos e aplicações.* São Paulo: Makron Books; 1996.
- Raimbault M. General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. *Electron J Biotechnol.* 1998;1(3):1-15.
- Reddy GV, Babu PR, Komaraiah P, Roy KRRM, Kothari IL. Utilization of banana waste for the production of lignolytic and cellulolytic enzymes by solid substrate fermentation using two *Pleurotus* species (*P. ostreatus* and *P. sajor-caju*). *Process Biochem.* 2003;38(10):1457-62.
- Sadh PK, Duhan S, Duhan JS. Agro-industrial wastes and their utilization using solid state fermentation: a review. *Bioresour Bioprocess.* 2018;5:1.
- Sallam SMA, Nasser MEA, El-Waziry AM, Bueno FCS, Abdallah AL. Use of yam in vitro rumen gas production technique to evaluate some ruminant feedstuffs. *J Appl Sci Res.* 2007;3:34-41.
- Sánchez C. Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnol Adv.* 2009;27(2):185-94.
- Furlan SA, Mendonça MM, Gern RMM, Santos VMCS, Araújo RP. Influência da suplementação da palha de arroz na produção de *Pleurotus sajor-caju*. *Rev Sau Ambiente.* 2000;1(1):60-3.
- Sardar H, Ali MA, Anjum MA, Nawaz F, Hussain S, Naz S, et al. Agro-industrial residues influence mineral elements accumulation and nutritional composition of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*). *Sci Hortic.* 2017;225:327-34.
- Silva EM, Machuca A, Milagres AM. Effect of cereal brans on *Lentinula edodes* growth and enzyme activities during cultivation on forestry waste. *Lett Appl Microbiol.* 2005;40(4):283-8.
- Singhania RR, Patel AK, Soccol CR, Pandey A. Recent advances in solid-state fermentation. *Biochem Eng J.* 2009;44(1):13-8.
- Soccol CR, Costa ESF, Letti LAJ, Karp SG, Woiciechowski AL, Vandenberghe LPS. Recent developments and innovations in solid state fermentation. *Biotechnol Res Innov.* 2017;1(1):52-71.
- Tilley JMA, Terry RA. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Grass Forage Sci.* 1963;18(2):104-11.
- Valadares Filho SC, Pina DS. Fermentação ruminal. In: Berchielli TT, Pires AV, Oliveira SG. *Nutrição de ruminantes.* Jaboticabal: Funep; 2011. p. 161-89.
- Van Soest PJ, Robertson JB. *Analysis of forages and fibrous foods.* Ithaca: Cornell University; 1985. 202 p.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci.* 1991;74(10):3583-97.
- Vasconcelos EAF, Barbosa RM, Medeiros MGF, Moura TFAL. Influência do processo extrativo, solvente e tamanho da partícula do material vegetal no teor de sólidos da solução extrativa da *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Rev Fitos.* 2005;1(1):74-9.
- Vasconcelos MS, Muzzi RM, Velilha Jr CM, Silva MA, Góes RHTB, Paz MF. Bioconversão dos farelos de soja, nabo forrageiro, gergelim branco e bagaço de cana-de-açúcar, com o fungo *Pleurotus Ostreatus*. In: Congresso Brasileiro de Química; 5-8 nov 2019; João Pessoa, PB. João pessoa: CBQ; 2019.
- Vu HP, Nguyen LN, Vu MT, Johir MAH, McLaughlan R, Nghiem LD. A comprehensive review on the framework to valorise lignocellulosic biomass as biorefinery feedstocks. *Sci Total Environ.* 2020;743:140630.
- Wisniewski AC, Almeida MAL, Palma MB, Tavares LBB. Produção de enzimas amilolíticas por *Macrocybe titans* em resíduo do processamento de cerveja. *R Bras Bioci.* 2010;8(3):285-93.