

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA

NATHALIA TORRES PEREIRA

**CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DE SUBSTRATOS
EMPREGADOS NA PRODUÇÃO DE COGUMELOS *PSILOCYBE*
*CUBENSIS***

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PATO BRANCO

2020

NATHALIA TORRES PEREIRA

**CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DE SUBSTRATOS
EMPREGADOS NA PRODUÇÃO DE COGUMELOS *PSILOCYBE*
*CUBENSIS***

Trabalho de conclusão de curso, apresentado à Comissão de Diplomação do Curso de Bacharelado em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Pato Branco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientador: Prof. Dr. Larissa dos Santos Macedo Toniai

Coorientador: Prof. Dr. Tatiane Luiza Cadorin Oldoni

PATO BRANCO

2020

FOLHA DE APROVAÇÃO

O trabalho de diplomação intitulado CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DE SUBSTRATOS EMPREGADOS NA PRODUÇÃO DE COGUMELOS PSILOCYBE CUBENSIS foi considerado APROVADO de acordo com a ata da banca examinadora Processo N° 23064.041595/2020-66, documento N° 1805668 de 2020.

Fizeram parte da banca os professores:

Larissa Macedo dos Santos Tonial

Patrícia Teixeira Marques

Andressa Pilonetto

DEDICATÓRIA

A todas as energias evolutivas que me
guiaram até o presente momento.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, ser superior que comanda tudo ao nosso redor e nos da força para continuar seguindo. Agradeço ao meu querido irmão Clayton (in memoriam), cuja a presença foi essencial na minha vida.

À professora Larissa, não só pela orientação no trabalho, mas por todas as oportunidades, pela confiança e incentivo. Enfim, por estar presente durante minha formação, pela motivação de buscar sempre mais e permitir ter o contato com um objeto de estudo tão rico.

À professora Tatiane, co-orientadora, que acreditou e viabilizou uma parte do conhecimento para execução deste trabalho, pela disponibilidade e entusiasmo com a pesquisa.

Aos colegas de laboratório e da Central de Análises que ajudaram com sugestões e na utilização dos equipamentos.

Agradeço todos os dias, ao meu pai Carlos pelo exemplo de força e determinação e mãe Creusa pelos “puxões de orelha” e amor incondicional. Além de todo incentivo e assistência no que foi possível.

A todos os colegas de curso e amizades realizadas ao longo do percurso, com ênfase em três pessoas: Marcus, Matheus e Filipe Kalil por serem quem são, sou muito grata pela amizade sólida que construímos e por todos os momentos que estiveram do meu lado, além de tornarem esses anos muito melhores. A Bruna e Jaine que me acolheram em diversos momentos com muita empatia e carinho. A todas as garotas que tive o privilégio de conhecer e jogar futsal, além das amizades com Camila, Daryane, Gabriele, Isabella e Tatiany. À Isadora, amiga de longa data, que traz uma energia incrível, pelas conversas, momentos descontraídos e pelo cultivo da amizade.

Por ultimo e não menos importante agradeço a Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Pato Branco, pela qualidade de ensino e por todas as oportunidades de chegar até a formação.

Gratidão por todos que passaram em meu caminho e momentos inesquecíveis durante o período dessa Graduação.

EPÍGRAFE

“Nós não temos uma compreensão clara, lógica das razões por que certos eventos acontecem. Somos um ser que precisa construir ordem, dado que a realidade, olhada em si, não faz todo o sentido”.

(CORTELLA, A sorte segue a coragem!)

RESUMO

De modo geral, os cogumelos são utilizados a milhares de anos pela indústria alimentícia e farmacêutica. Dentre os diferentes tipos, existe uma classe chamada de cogumelos alucinógenos, os quais vêm sendo usados em rituais religiosos e por curandeiros, em países como Brasil, Guatemala e México. A primeira descrição de cunho científico desses fungos foi feita por Wasson em 1957, e mais tarde pesquisas relacionadas aos mesmos aumentaram. Visto o crescente interesse científico pelos cogumelos, neste trabalho realizou-se um estudo comparativo, empregando técnicas espectroscópicas acopladas a ferramentas estatísticas, dos substratos, esterco bovino e substrato caseiro, (PFTek-bolo) empregados no cultivo de cogumelo fimícola, *Psilocybe cubensis*, buscando avaliar sua composição. Na caracterização empregou-se a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), sendo que essas técnicas foram tratadas com o tratamento estatístico a análise de componentes principais (PCA). Os espectros de FTIR mostraram semelhanças qualitativas entre os substratos, contudo a partir da PCA foi possível determinar que as amostras de esterco e a PFtek-bolo, se diferem significativamente nas análises do FTIR e MEV, podendo deste modo proporcionar variações quanto ao desenvolvimento dos cogumelos.

Palavras-chave: *Psilocybe cubensis*, Solos, Espectroscopia, FTIR, MEV, PCA.

ABSTRACTS

In general, mushrooms have been used for thousands of years by the food and pharmaceutical industry. Among the different types, there is a class called hallucinogenic mushrooms, which have been used in religious rituals and by healers, in countries like Brazil, Guatemala and Mexico. The first scientific description of these fungi was made by Wasson in 1957, and later research related to them grew. In view of the growing scientific interest in mushrooms, a comparative study was carried out in this work, using spectroscopic techniques coupled with statistical tools, of the substrates, cattle ranch and homemade substrate (PFTek-bolo) used in the cultivation of fin mushroom, *Psilocybe cubensis*, seeking to evaluate its composition. In the characterization, infrared spectroscopy with Fourier transform (FTIR), Scanning Electron Microscopy (SEM) was used, and these techniques were treated with statistical analysis and principal component analysis (PCA). The FTIR spectra showed qualitative similarities between the substrates, however from the PCA it was possible to determine that the manure samples and the PFtek-bolo, differ significantly in the analyzes of the FTIR and SEM, thus being able to provide variations regarding the development of the mushrooms.

Keywords: *Psilocybe cubensis*, Soils, Spectroscopy, FTIR, SEM, PCA

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Designação das diferentes partes que compõe o cogumelo	13
Figura 2 - Síntese do triptofano	14
Figura 3 - Síntese da Psilocibina	16
Figura 4 - Metabolismo Psilocibina	17
Figura 5 - Comparação do potencial de dependência e proporcionalidade de segurança (dose ativa/ dose letal) de alguns compostos ativos.....	18
Figura 6 - Comparação entre microscópio óptico e microscópio eletrônico de varredura.....	23
Figura 7 - Injeção dos esporos do cogumelo no substrato	28
Figura 8 - Micelagem e Corpos Frutíferos Formados	28
Figura 9 – Espectros de FTIR das amostras de (a) amostras de esterco, coletadas em diferentes pontos da margem do rio e (b) PFTek-bolo	31
Figura 10 - Gráfico de PCA das amostras de esterco (■) e PFTek (●)	32
Figura 11 - Imagens das amostra com aproximações de 800 vezes, obtidas por MEV de PF1 (a) e (b), PF2 (c) e (d), Esterco 1 (e) e (f), Esterco 2 (g) e (h), Esterco 3 (i) e (j), Esterco 4 (k) e (l), Esterco 5 (m) e (n) obtidas pelo Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)	33
Figura 12 – Gráfico de PCA das imagens de MEV das amostras de PF1 e PF2	33
Figura 13 – Gráfico de PCA das imagens de MEV das imagens das amostras de esterco coleadas em diferentes pontos da margem do rio chopim	34

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	12
2.1 GERAL	12
2.2 ESPECÍFICOS	12
3 REFERENCIAL TEÓRICO	13
3.1 COGUMELO	13
3.2.1 Rota da Psilocibina na Formação do Cogumelo	15
3.2.2 Ação da Psilocibina no Organismo Humano	17
3.3 CULTIVO	19
3.3.1 Arroz	20
3.3.2 Vermiculita	21
3.3.3 Esterco.....	21
3.4 ANÁLISE DOS SUBSTRATOS.....	22
3.4.1 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier(FTIR) 22	
3.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	23
3.5 TRATAMENTOS ESTATÍSTICOS	24
3.5.1 Análise dos Componentes Principais (PCA)	24
3.6 APLICAÇÕES	24
4 MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1 COLETA DOS COGUMELOS	27
4.2 CULTIVO DOS COGUMELOS	27
4.3 CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO	29
4.3.1 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) 29	
4.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	29
4.4 TRATAMENTO ESTATÍSTICO	30

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
6 CONCLUSÃO.....	36
7 ORÇAMENTO	37
8 CRONOGRAMA.....	38
REFERÊNCIAS.....	39

1 INTRODUÇÃO

As plantas alucinógenas tem potencial ainda desconhecido pela sociedade científica, dentre estas há os cogumelos, os quais vêm sendo utilizados há milhares de anos em rituais religiosos, por curandeiros e de forma recreativa. Contudo, apesar da crescente utilização dos cogumelos com o passar dos anos, o número de trabalhos científicos sobre estes é pequeno.

Na atualidade vem sendo desenvolvidas pesquisas relacionando os alucinógenos a tratamentos psíquicos, estes buscam a melhoria na ansiedade, depressão, aplicados em pacientes em estado paliativo para melhoria de suas vidas, (Griffiths, 2016) além da aplicação em tratamentos em vícios induzidos por substâncias que causam dependência química.

A primeira descrição e isolamento do psicotrópico psilocibina, presente em muitas espécies de cogumelos, foi realizada em 1958 por Albert Hofmann. Nos anos 60, iniciaram-se pesquisas para tratamento de transtornos psíquicos com alucinógenos, mas devido à falta de estrutura da época não foi obtido um resultado conclusivo sobre o uso dessas substâncias em tratamentos psicológicos. Já na década de 70, o aumento no uso da psilocibina como forma recreativa fez com que fosse classificada como droga, a fim de evitar abusos na utilização. Nos anos 90, as pesquisas avançaram e iniciaram-se estudos com os alucinógenos em humanos. (Icaza & Mashour, 2013)

Os cogumelos são encontrados em diversos locais e os fungos têm potencial de se reproduzir quando encontram locais apropriados. Para que isso aconteça, se multiplicam de forma avançada, (L.G. Nicholas. & Omamé, 2006) isso traz questões que ainda não foram analisadas, como a reprodução dos cogumelos ocorre em diferentes tipos de solo.

Segundo Steven e colaboradores, o cultivo (dos fungos psilocibinos) em arroz integral e vermiculita é uma técnica acessível e garante as propriedades adequadas para a produção indoor. Isso ocorre devido ao metabolismo glicogênico -quebra da glicose- em que o arroz contribui além da interação com a vermiculita, cuja umidade agrega no desenvolvimento fúngico.

O Brasil, assim como muitos países em desenvolvimento, fica atrás nas pesquisas por razões pífias, como por exemplo, o preconceito em novas explorações e principalmente a falta de investimento em pesquisas, conseqüentemente, acaba

deixando restritas as novas descobertas para os países denominados de primeiro mundo.

Visto o crescente interesse pelos cogumelos, visando o grande potencial psicoativo dos alucinógenos e a deficiência de informações, foi realizado um estudo comparativo entre os substratos, esterco bovino e substrato caseiro, PFTek-bolos, empregados no cultivo de um cogumelo fimícola – *Psilocybe cubensis* -, por meio de técnicas espectroscópicas, acopladas a ferramentas estatísticas, visando caracterizar qualitativamente os substratos nos quais ocorrem o crescimento dos cogumelos.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Considerando as poucas informações sobre a produção dos cogumelos alucinógenos, tais como o *Psilocybe cubensis*, o presente trabalho visa caracterizar diferentes substratos empregados no seu cultivo por meio de técnicas espectroscópicas.

2.2 ESPECÍFICOS

1. Realizar a caracterização dos locais de cultivo e/ ou crescimento dos cogumelos;
2. Coletar amostras de substratos empregados no cultivo dos cogumelos;
3. Caracterizar os substratos empregados no cultivo do cogumelo *Psilocybe cubensis*, o esterco (in natura) e o PFTek-bolo por meio de técnicas espectroscópicas;
4. Avaliar os resultados por meio do emprego de ferramentas quimiométricas.

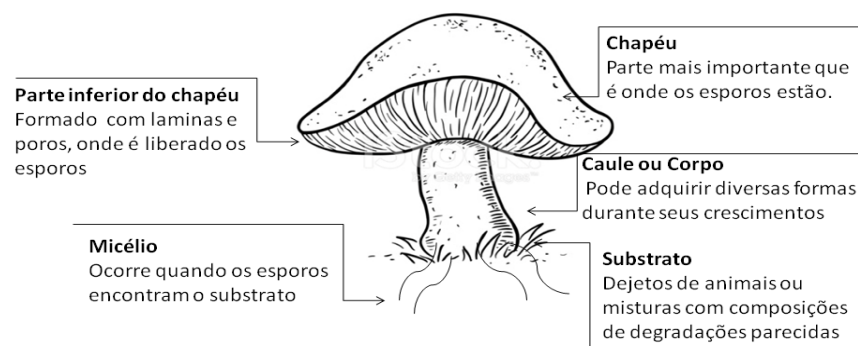
3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 COGUMELO

Os cogumelos pertencem ao reino Fungi e são classificados como heterotróficos. Podem ser unicelulares ou pluricelulares, de acordo com o número de células que possuem. Os *Psilocybe cubensis*, são pluricelulares e podem ser classificados também como Basidiomicetos, tendo cerca de 22.000 espécies espalhadas pelo mundo. (Maia & De Carvalho Junior, 2010; Terçaroli, Paleari, & Bagagli, 2010)

A forma de reprodução fúngica pode ser sexuada ou assexuada. No caso dos cogumelos *Psilocybe cubensis* a forma de reprodução é por esporulação sendo classificado como assexuada, ou seja, são capazes de se reproduzir sozinhos quando encontram um substrato compatível com suas necessidades. Porém, o ciclo de reprodução onde os corpos frutíferos geram os esporos, são feitos por meiose, assim os esporos geram as hifas haploides seguidas da geração de hifas diploide, onde ocorrerá por meiose, a produção de mais esporos. Esta alternância meiótica e fusão de hifas, se comportam como gametas, caracterizando o processo como assexuado. (Romano, n.d.)

Figura 1 – Designação das diferentes partes que compõe o cogumelo



Fonte: Adaptado de Fotolia

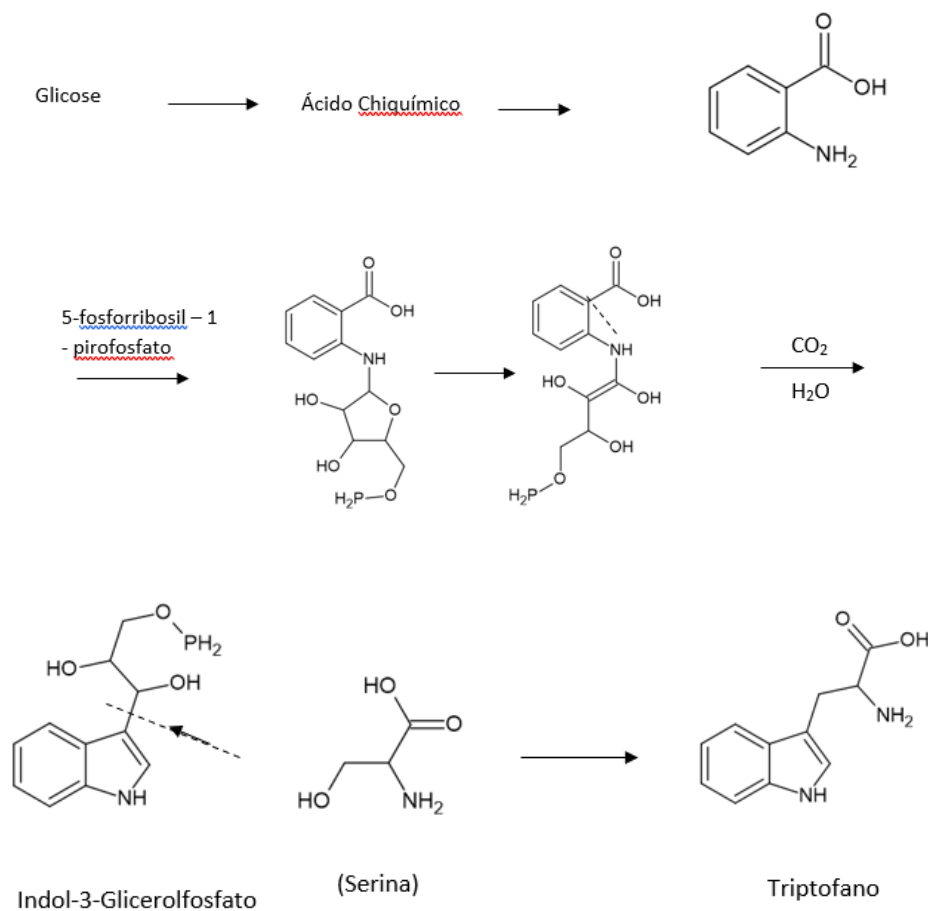
Os fungos possuem células eucarióticas de parede celular complexa e são principalmente formados de quitina, polissacarídeo com N-acetilglucosamina, sendo este o segundo polímero mais abundante na natureza, tendo a celulose como o primeiro. Para o desenvolvimento dos fungos requerer energia proveniente dos

carboidratos, cuja reserva energética é o glicogênio, a mesma que os animais necessitam. (Romano, n.d.)

O desenvolvimento de cogumelos, em um substrato sólido, é um processo fermentativo utiliza o ciclo de Calvin, iniciando com a fotossíntese, para a circulação do CO_2 nas células, etapa onde ocorre a quebra dos monossacarídeos, que se transformam em ácido pirúvico. Ao encontrar o Acetil Coenzima A, com o auxílio do ciclo de Krebs para a circulação da energia e formação dos aminoácidos alifáticos, o metabolismo secundário que é caracterizado pela rota do ácido Chiquimato, formam os aminoácidos aromáticos, como o triptofano que tem a função de formar os alcalóides. (Castro, 2019) (Ferreira, 2016) (Ishida, 2017)

A descrição da síntese do triptofano é demonstrada na figura 2, demonstrando a transformação da glicose até a molécula que formará a triptamina.

Figura 2 - Síntese do triptofano



O caminho da síntese do triptofano a partir da glicose ocorre com o ácido antranílico fornece o anel benzênico do núcleo indólico, a ribose os componentes C-2,3 e a serina a cadeia lateral de alanina. (Diniz, 1999)

3.2 PSILOCIBINA

Os estudos com plantas alucinógenas se expandiram bastante em meados do século XX, onde muitas espécies foram catalogadas e estudadas quimicamente com o isolamento de seus alcaloides (Nichols, 2004; Schultes et al., 2001)

Os cogumelos vêm sendo utilizados há milhares de anos, em países como Brasil, Guatemala e México, por curandeiros e em rituais religiosos. A primeira descrição científica destes fungos foi realizada em 1957 por Wasson, contudo somente a partir dos anos 80 é que ocorreu uma disseminação na cultura jovem de modo recreacional. (Stamets, 1996)

Existem diversos cogumelos que contém a psilocibina e a psilocina, o gênero mais propagado é a dos *Psilocybes* sendo reconhecidas 116 espécies, seguido do gênero *Gimnopilus* com 14 espécies, *Panaeolus* com 13 espécies, *Copelandia* com 12 espécies, *Hypholom*, *Pluteus* e *Inocybe* com 6 espécies cada, *Conocybe* e *Panaeolina* com 4 espécies cada, *Gerronema* com 2 espécies e *Agrocybe*, *Mycena* e *Galerina* com 1 espécie cada. (J A C Escobar & Roazzi, 2015)

No Brasil, os gêneros que apresentam psilocibina são os *Psilocybe*, *Panaeolus* e *Pluteus*, dentre esses formam um conjunto de 21 espécies. (Guzmán, G., Allen, J. W., & Gartz, 2000; Stijve, T., & Meijer, 1993)

A psilocibina apresenta fórmula molecular: $C_{12}H_{17}N_2O_4P$, é considerada um enteógeno, alterador da consciência. Essa molécula deriva do triptofano, que é um alcaloide da triptamina, muito parecido com a serotonina. (Passie, Seifert, Schneider, & Emrich, 2002)

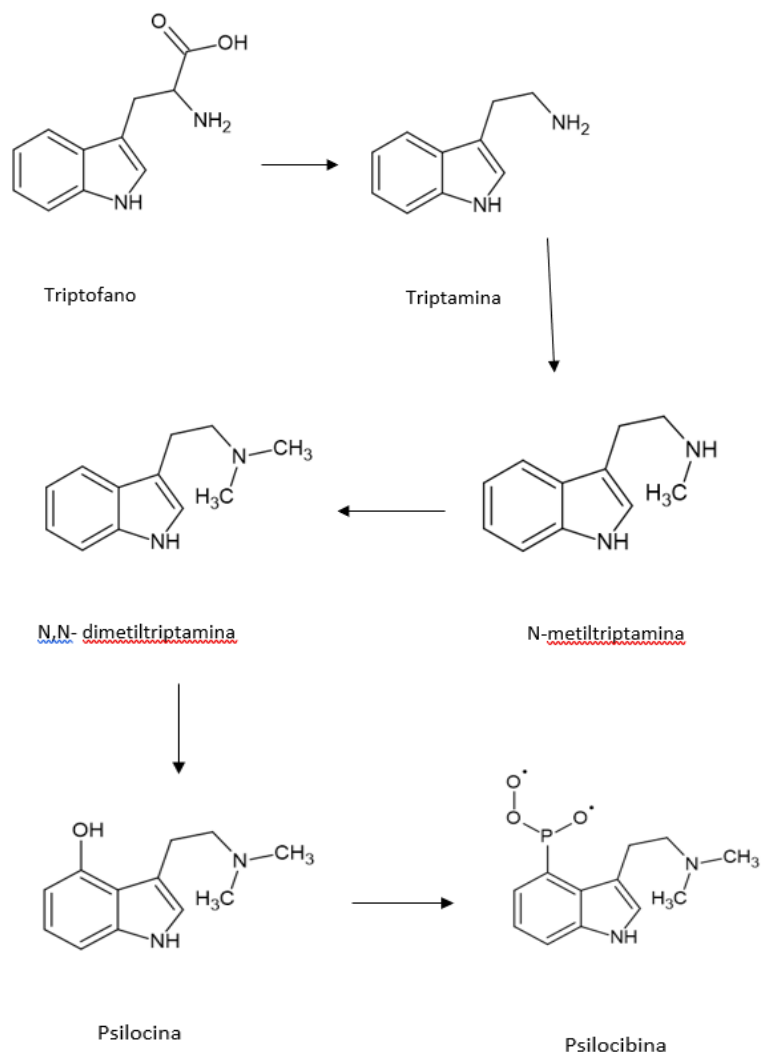
3.2.1 Rota da Psilocibina na Formação do Cogumelo

O triptofano é o fator responsável pela triptamina, originam diversas substâncias psicoativas, todas dotadas de algum grau alucinógeno. Sua estrutura é dada por alcaloides indólicos, característica muito comum dos alucinógenos encontrados na natureza, como o ácido lisérgico precursor do LSD e o Peyote que

tem como molécula ativa a mescalina (3,4,5-trimetoxifeniletilamina), este princípio ativo está nas mesmas classes das anfetaminas. (Rossato, et. al, 2009).

O modelo de síntese foi determinado por marcadores, como a psilocina-3H, a 4-hidroxitriptamina-14C, a N,N-dimetiltriptamina-14C-3H, o DL triptofano-3H e outros que marcam os indóis por troca ácida catalisada em água tritiada. Na Figura 3 observa-se a transformação do triptofano em psilocibina. (Diniz, 1999)

Figura 3 - Síntese da Psilocibina

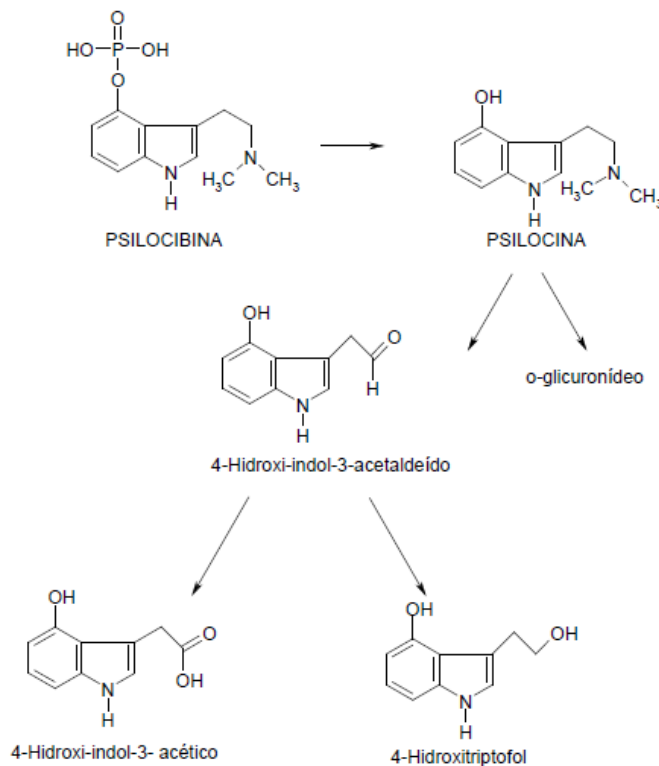


Fonte: Instituto Brasileiro de Estudos Homeopáticos

3.2.2 Ação da Psilocibina no Organismo Humano

A interação dos componentes indólicos no organismo humano tem um grau de toxicologia de acordo com a substância empregada. A psilocibina é rapidamente desfosforilada em psilocina na mucosa intestinal, por fosfatases alcalinas e esterases não especificadas. (Hasler et al., 2002). Considerando assim a psilocina como o fármaco e psilocibina o pró-fármaco. A psilocina passa por uma desmetilação, posteriormente é oxidada por enzimas como monoamino-oxidases e a aldeído desidrogenase, presentes no fígado. (Hasler et al., 1996). Passie e colaboradores, tratam o 4-HIA como intermédio metabólico do ácido 4-hidroxi-indol-3-acético (HIAA). Tem-se como excreção predominante a psilocina-O-glicuronídeo, conforme mostrado na figura 4. (Passie et. al, 2002)

Figura 4 - Metabolismo Psilocibina



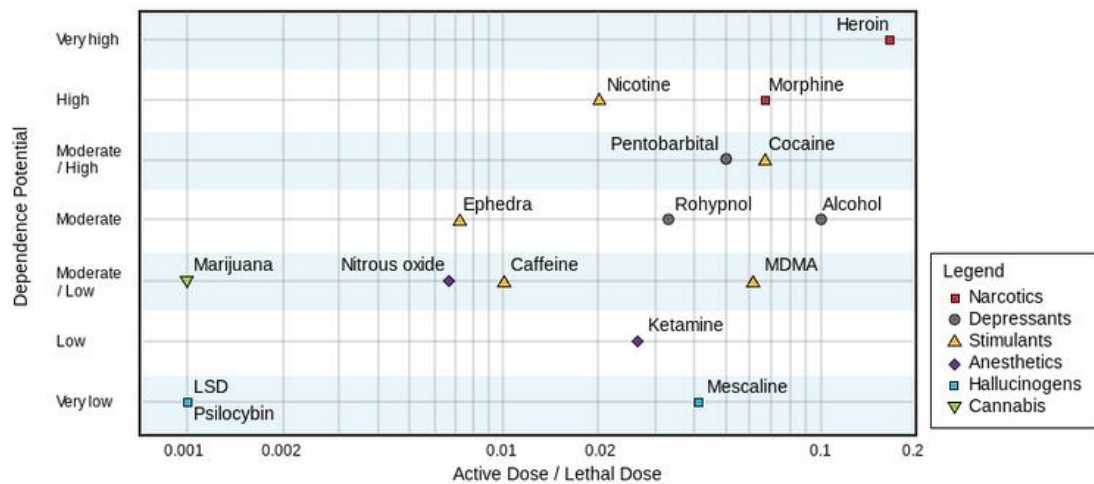
Fonte: Rossato, 2017

Segundo McKenna e Saavedra a toxicodinâmica trata a Psilocibina e Psilocina como compostos serotoninérgicos, tendo suas atividades predominantes sobre os receptores 5-HT₂ (McKenna e Saavedra, 1987). Observando a quantidade desses

receptores e suas localizações, há a presença em diversos locais e em ampla escala, distribuídos em todo sistema nervoso central e suas maiores densidades estão localizadas nos córtices, somatossensorial, pré-frontal e parietal (Sanders-bush & Mayer, 2006).

No ano de 2004 foi realizado um experimento com a psilocibina, que causou euforia, pois houve o aumento dos níveis de dopamina estriatal nos pacientes. Este resultado demonstrou que a administração desse alucinógeno, apenas em áreas corticais recebe um aumento dopaminérgico, já nas áreas como o núcleo *acumbens*, que faz uma parte da via de recompensas, envolvida no mecanismo de reforço, não sejam ativadas. Apesar de ativar os sistemas dopaminérgicos tal substância não produz dependência (Nichols, 2004). A Figura 5 representa os níveis de dependência relacionada a alguns alucinógenos.

Figura 5 - Comparação do potencial de dependência e proporcionalidade de segurança (dose ativa/dose letal) de alguns compostos ativos



Fonte: Fish, J.M., 2006

Os cogumelos, com conteúdo psilocibino tem efeitos similares com o LSD, tanto que seu potencial de dependência e segurança se configuram na mesma posição demonstrado na Figura 5, No entanto, efeitos são duzentas vezes menores em intensidade. As características dos sintomas na ingestão são: sinestesia, desorientação, labilidade emocional, comportamento inapropriado, relaxamento muscular, alucinações visuais (principalmente com alteração das cores), Dilatação da pupila, respiração rápida e taquicardia. (Berger & Guss, 2005).

Dentre os efeitos causados pela substância descrita há também a ocorrência de *flashbacks*, caracterizado por distúrbios da percepção, como formas geométricas, imagens coloridas, cores intensificadas, macropsia, micropsia e alucinações anos depois a utilização. Esses sintomas ainda não estão esclarecidos, mas são frequentemente relatados.

No estudo de caso realizado por Espiard et al. (2005), ao realizar a observação desses ocorridos, caracterizam esses episódios como induzidos por estresse ou outras substâncias, ditas como gatilhos e tem um tempo para que aconteça em aproximados cinco anos, depois da pausa na utilização. Não há uma descrição do mecanismo que cause esses efeitos. Outros estudos demonstram que o uso da maconha e outras drogas, podem ocasionar tais efeitos, funcionando como cofatores determinantes (Halpern & Pope, 2003). Vale lembrar que toda substância utilizada de forma excessiva tem seus efeitos colaterais, mesmo que tenha baixos índices de dependência.

Os cogumelos ditos como “mágicos” podem ser ingeridos secos ou frescos. Há descrições de consumo por meio de chás, ao leite, sopas, chocolate, omeletes e em mel. A camuflagem desses fungos é utilizada como forma de transporte e exportação. O mel serve como conservantes da potência dos cogumelos, sendo mais eficaz em relação a congelamentos e secagem, especificamente após a coleta. (Musshoff et al., 2000). Todavia, a quantificação da psilocibina e psilocina em amostras mistas, são dificultadas pelo isolamento dos componentes. (Bogusz et al., 1998)

Os sintomas que são sentidos após a ingestão dos cogumelos com psilocibina, ocorrem após 20 a 30 minutos por via oral (Berger e Guss, 2005), atingindo o pico máximo em até 2 horas, decaindo nas três ou quatro horas subsequentes (Halpern, 2004). Os efeitos tendem a durar por até 8 horas, até que todos os metabolitos sejam excretados. Alguns produtos do metabolismo, em pequenas quantidades, podem ser identificados em até uma semana após o uso.

3.3 CULTIVO

Cogumelos são encontrados em diferentes lugares, muitos são vistos em pastagens, próximos aos estrumes produzidos pelos animais. Além destes locais, é também observado o cultivo dos cogumelos em substratos pasteurizados, o que

segundo pesquisadores, traz benefícios no desenvolvimento do corpo frutífero, pois esse método tem uma menor chance de contaminação por outros microrganismos. (L.G. Nicholas. & Omamé, 2006)

Dois livros foram publicados nos anos 70 sobre o cultivo dos Psilocybes: *Psilocybin: Magic Mushroom Grower's Guide* escrito por O.T Oss e O.N Oeric's em 1976, e *Magic Mushroom Cultivation* escrito por Steven H. Pollock's.

No livro dos irmãos Dennis e Terence McKenna, que utilizam o pseudônimo O.T Oss e O.N Oeric's, fazendo referência a utilização do cultivo *indoor*, onde é realizado o cultivo em ambiente fechado com um controle de temperatura e humidade, sendo a reprodução assistida para os cogumelos *Psilocybe cubensis* cultivados a partir do esporo, é relatada a utilização de placas de Petri com meio de cultura em meio ágar, e há necessidade de esterilização do local e de todos os equipamentos utilizados para minimizar a contaminação. Após o crescimento do micélio na placa é necessária a retirada de uma parte e transferência para o bolo, simplificando deste modo o método de cultivo e visando menor contaminação. (O.T & O.N, 1976)

De acordo com as pesquisas de Pollock's, melhor potencialidade de crescimento dos Psilocybes são observadas nos substratos de grãos de cereais e arroz. Depois de dois anos de estudos Pollock's comprovou que o processo realizado em arroz apresenta maior potencial na obtenção de teores elevados de psilocibina. Este trabalho em seguida inspirou a metodologia de Robert McPherson originando o nome atual PFTek-bolos, por ser chamado de Professor Fanaticus (PF) e o tek e por ser uma técnica de bolos. (Steven H. Pollock, 1977; Thirdwave, 2019)

3.3.1 Arroz

O arroz é constituído de cerca de 90% em amido, sendo um carboidrato que tem uma disponibilidade grande de energia que está diretamente envolvida com a glicose, os outros 10% são constituído de minerais, vitaminas, fibras e proteínas. O arroz integral tem 74,12% em amido, já o arroz branco polido tem a disponibilidade de 87,58% de amido (Walter, 2008)

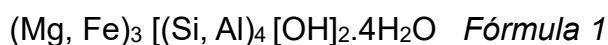
Considerando o teor de amido, tem se o arroz branco com maior teor, podendo ser utilizado no processo, porém haverá uma maior dificuldade na quebra do amido para a formação de outros conteúdos como o micélio. Assim sendo o mais

recomendável é a utilização do arroz integral para a produção dos cogumelos, que também irá favorecer com uma maior quantidade de minerais.

O conteúdo presente no arroz é um ótimo precursor para o desenvolvimento dos cogumelos, o seu consumo também será utilizado para a formação da triptamina envolvida no processo de ativação do princípio ativo, sendo um ótimo composto para o cultivo dos cogumelos *Psilocybe cubbensis*.

3.3.2 Vermiculita

A vermiculita, substrato empregado na produção de cogumelos, recebe esse nome, pois tem um comportamento semelhante ao dos vermes, deriva do latim vermiculus, pequeno verme, além de ter um comportamento de se expandir quando é aquecida. (UGARTE, SAMPAIO, & FRANÇA, 2008) Sua estrutura é formada de silicato hidratado de magnésio, alumínio e ferro (Fórmula 1).



A vermiculita (Fórmula 1) apresenta estrutura micáceo lamelar. As propriedades de superfície: área, porosidade e carga negativa, fazem desse material um bom adsorvente e carregador. Tem capacidade de troca iônica de 100 a 130 meq 100g⁻¹. Devido a todas essas propriedades, somando a elasticidade e a baixa densidade, a vermiculita também é utilizada na composição de outras matérias, tais como, embalagens de produtos industrializados. (UGARTE et al., 2008)

3.3.3 Esterco

As descobertas de Louis Pasteur em relação a microbiologia impulsionaram os estudos com a matéria orgânica. Entende-se por matéria orgânica tudo que seja fonte de carbono presente no solo como forma de resíduo. (Prestes, 2007).

No Brasil os cogumelos são frequentemente encontrados nos esterco bovinos que são considerados uma ótima fonte de carbono, seu conteúdo é variável, pois depende da espécie animal, da idade, da raça, da alimentação e distribuição do esterco em campo (Kiehl, 1985). Em estudo realizado por Marcio, 2007, caracterizou-se o esterco de uma vaca, com 83,2% de água, 14% de matéria orgânica, 0,3% de Nitrogênio, 0,17% de fosforo, 0,1% de potássio e 0,1% de cálcio (Prestes, 2007).

Considerando a quantidade de água livre disponível para que os microrganismos se proliferem e multipliquem é grande, comparando com outros materiais, como madeira que poderiam procriar esse fungo de forma eficiente. Toda via a quebra da celulose seria dificultada pelo tamanho e força de ligação envolvida nessa molécula. Assim o esterco terá uma maior facilidade para que o *Psilocybe* se desenvolva de forma efetiva.

A caracterização espectroscópica por FTIR têm sido frequentemente empregada na caracterização estrutural de solos (Santos et al., 2009), entre outros compostos como folhas de árvores frutíferas (Yoshida, Yokota, Foglio, Rodrigues, & Pinho, 2010). Contudo trabalhos envolvendo esta técnica espectroanalítica e os substratos empregados na produção de cogumelos ainda são restritos. Pereira e Tonial, 2018 compararam a composição do esterco (substrato natural) e do PFTek empregando FTIR, onde observaram qualitativamente os espectros de ambos os substratos são semelhantes.

3.4 ANÁLISE DOS SUBSTRATOS

3.4.1 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A FTIR é uma técnica de caracterização muito utilizada que permite a determinação e caracterização das propriedades químicas dos compostos, por meio de seus espectros de absorção. Neste, pode-se medir a energia absorvida (absorbância) ou energia transmitida (transmitância). (Pavia, 2010)

O espectrofotômetro trabalha com uma energia incidida, sendo está uma radiação na região do infravermelho do espectro eletromagnético. Esta região se estende dos 3×10^{11} até cerca de 4×10^{14} Hz, sendo subdividida em 3 regiões, o infravermelho próximo, sendo este a luz visível de 780 á 2500 nm, o infravermelho médio de 2500 á 50000 nm e o infravermelho distante de 50000 nm a 1mm (Lima, 2011).

Os dados espectrais são coletados simultaneamente em alta resolução com uma ampla faixa espectral, através da identificação de movimentos vibracionais das ligações moleculares. A transformada de Fourier traduz em espectros que podem ser

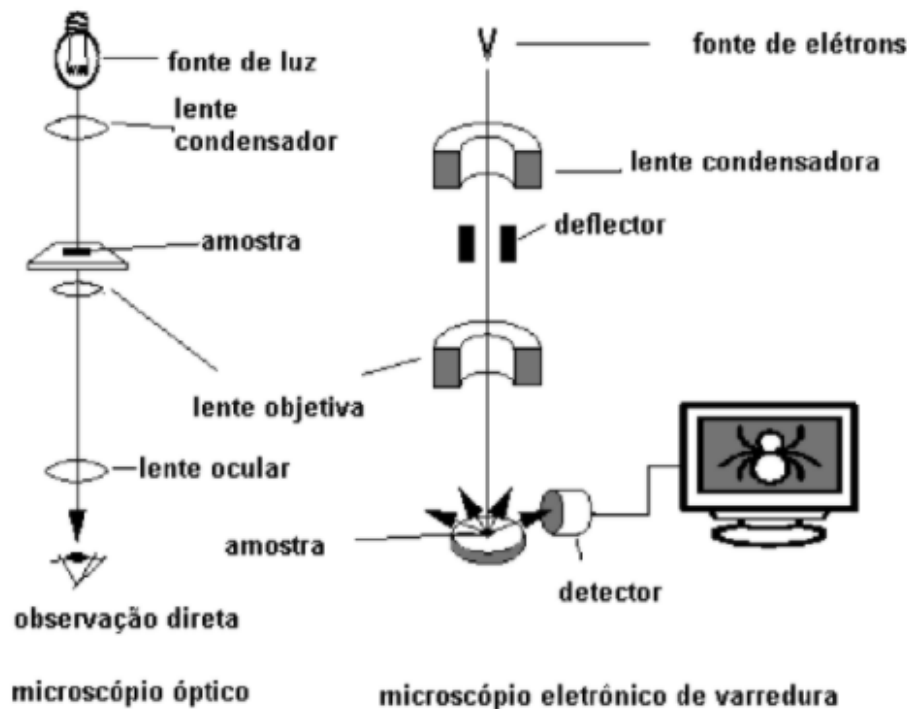
analisados e determinado os componentes presentes na amostra. (Thermofisher, 2020)

3.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A função principal dos microscópios é tornar visível o que o olho humano não tem capacidade de visualização instantânea, quando se trata de objetos muito pequenos. No microscópio óptico, utiliza-se de luz visível ou ultravioleta, os limites máximos de resolução dos microscópios são estabelecidos pelos efeitos de difração devido ao comprimento de onda da radiação incidente, sendo assim são limitados ao aumento de 2000 vezes. (Dedavid, 2007)

A MEV, não utiliza feixe de fótons, como nos microscópios ópticos, e sim um feixe de elétrons, o que permite solucionar problemas relacionados a fonte de luz branca. O que desencadeou a transformação dos microscópios foi a descoberta de De Broglie no ano de 1925, onde demonstrou o dualismo onda-partícula, que identifica a o comprimento de onda de um elétron é a função de sua energia (De Broglie, 1925).

Figura 6 - Comparação entre microscópio óptico e microscópio eletrônico de varredura



Fonte: Dedavid, 2007

Como resultado os aparelhos atuais tem aumento de 300.000 vezes ou mais, para a maior parte dos materiais sólidos. O feixe de elétrons focalizado varre a superfície da amostra, interagindo com o material, podendo fornecer rapidamente informações sobre a morfologia e composição química da amostra. (Afinko, 2020)

Vale ressaltar a aparência tridimensional das imagens amostrais, que permite a análise de pequenos aumentos e com grandes profundidades de foco, resultado direto da profundidade de campo, o que o torna extremamente útil, pois a imagem óptica é complementada pela imagem eletrônica. (Dedavid, 2007)

3.5 TRATAMENTOS ESTATÍSTICOS

3.5.1 Análise dos Componentes Principais (PCA)

A análise dos componentes principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*) é uma técnica multivariada, baseia-se em transformar conglomerado de variáveis primitivas em outro agrupamento de variáveis da mesma dimensão ditas como os componentes principais. (Oper, 2019)

As componentes principais são caracterizadas por propriedades importantes em cada amostra, o componente é uma combinação linear das variáveis originais, sendo independentes entre si, buscando reduzir e eliminar a sobreposição dos dados, retendo o máximo de informações em termos da variação total dos elementos. Utilizando da redistribuição da variação dos dados nos eixos originais, fazendo com que obtenha um conjunto de eixos ortogonais não relacionados. (Varella, 2008)

A análise se fundamenta com o agrupamento das variações, demonstrado pelas variâncias, utilizando do comportamento da população dentro do conjunto de características que definem o indivíduo. Um método estatístico linear que encontra os autovalores e autovetores da matriz algébrica de covariância de dados, podendo ser utilizada em tratamentos de imagens, pois irá reduzir o espaço de representação, promovendo uma compactação de energia pela PCA. Obtendo assim uma técnica objetiva, eficiente e rápida. (Vasconcelos, n.d.)

3.6 APLICAÇÕES

Na literatura há alguns trabalhos que avaliam os cogumelos. Nestes encontram-se, correlatos neurais do estado psicodélico como determinado por estudos de imagens por ressonância magnética funcional (fMRI) com psilocibina, para resistência ao tratamento de depressão: mecanismos medidos no cérebro por fMRI e Psicoterapia Assistida por Psicodélicos: Uma Desenvolvimento e Mudança de Paradigma na Pesquisa Psiquiátrica. (R. L. Carhart-Harris et al., 2012; R. L. Carhart-Harris et al., 2017; Schenberg, 2018)

Estudo realizado por Kraehenmann et. al. 2015, com 25 voluntários saudáveis, caracterizou a diminuição da reatividade da amígdala com a utilização da psilocibina. A amígdala é a estrutura chave nos circuitos de processamento de emoções serotoninérgicas, este trabalho comprovou a partir da avaliação dos níveis de oxigênio no sangue, utilizando imagens de ressonância magnética funcional que o processamento das emoções pode ser associado a um aumento de humor, sendo assim esse processo pode ser relevante para normalização da hiperatividade da amígdala e estados de humor negativo em pacientes com grande depressão. (Kraehenmann et. al. 2015)

Todos os trabalhos supracitados acreditam no potencial da psilocibina para o tratamento da depressão, entre outros. Segundo Harris et al. 2017, o fluxo sanguíneo cerebral e a conectividade funcional em estado de repouso, dependem do oxigênio. Esses testes foram feitos com ressonância magnética antes e depois da utilização da psilocibina, apresentando uma melhora no tratamento dos pacientes estudados. (Carhart-Harris et al., 2017)

No ano de 2015, Bogenschutz et. al., publicou sobre os psicodélicos clássicos para tratamento de vícios, os transtornos de dependência são muito comuns e tem consequências individuais e sociais devastadoras. No trabalho realizou-se uma pesquisa seletiva, levando em consideração interesse inovador em alucinógenos em usos clínicos, onde sugerem direções para pesquisas futuras. No estudo piloto os resultados recentes de tratamento assistido por psilocibina de dependência de nicotina e álcool tiveram resultados surpreendentemente positivos, porém tem a necessidade de ensaios controlados para avaliar a eficácia. (Bogenschutz et. al. 2015)

Pesquisa realizada em Recife-PE com 28 pessoas, em que foram submetidas a ingestão de uma pequena dose de cogumelo *Psilocybe cubensis*, visou explorar aspectos básicos de percepção visual e a percepção subjetiva de duração de tempo

através de tarefas simples e objetivas. Como resultado foi obtido que a percepção visual motora dos participantes não apresentou diferenças significativas quando comparado ao estado comum com o ampliado de consciência, e com o grupo de controle. (Escobar, 2008)

4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho realizou estudos com os substratos, PFTek-bolo e o esterco, empregados no cultivo do cogumelo *Psilocybe cubensis*.

4.1 COLETA DOS COGUMELOS

Os estudos com os substratos foram iniciados com a coleta do substrato natural (esterco), seguido da produção do PFTek. O substrato natural (esterco) foi coletado em uma área de pastagem as margens do Rio Chopim. O local foi escolhido devido à presença abundante do fungo, comprovando este local como habitat natural.

Esta etapa foi realizada em março de 2018, no início do Outono, em um período onde havia chuvas e em seguida sol, formando um ambiente propício para o crescimento dos cogumelos. Foram coletadas 5 amostras de substratos.

Após a coleta, os substratos foram congelados e liofilizados, por uma câmara de vácuo onde ocorre o aumento gradativo da temperatura, reduzindo a pressão transformando a água que estava em forma sólida direto para a fase gasosa, sem passar pela fase líquida obtendo uma secagem eficiente do material. Em seguida foram moídos por meio de maceração empregando almofariz e pistilo, e caracterizados por meio de técnicas espectroscópicas.

4.2 CULTIVO DOS COGUMELOS

Para o cultivo do cogumelo no PFTek foi realizado o preparo do substrato, composto por vermiculita e arroz integral, que foi produzido industrialmente a vermiculita, comprada via internet e o arroz adquirido no comércio local.

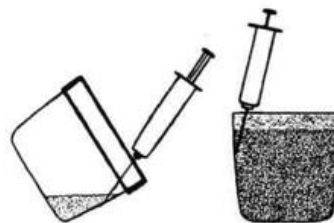
Esses foram manuseados cuidadosamente, para que haja um processo produtivo e eficiente do fungo, pois o substrato é o maior responsável pelos nutrientes necessários para a produção dos cogumelos. Os cuidados que devem ser tomados com o cultivo são desde a assepsia local até a esterilização dos substratos, para que isso ocorresse, foi preparado o substrato desejado e após esterilizá-lo com o emprego de autoclave.

No laboratório foi realizada a inoculação do fungo em fluxo laminar com ajuda de lâmpadas UV e circulação de ar. Mesmo com esta tecnologia ajudando na desinfecção, o processo deve sempre ser seguido de uma limpeza do ambiente com álcool antes do contato com os materiais já esterilizados, assim trazendo uma maior segurança para o cultivo.

Os esporos do *Psilocybe cubensis* saíram após a abertura de seus chapéus. Após esta abertura os esporos foram coletados em um papel alumínio, e assim replicado em outros locais, com condições de cultivo para o crescimento dos corpos frutíferos. Com isso pode-se formar uma colônia do cogumelo fazendo uma solução com água, preferencialmente destilada ou ultrapura, livre microrganismos que possam vir a atrapalhar o crescimento do fungo desejado.

Depois de toda higienização feita, os béqueres com os substratos esterilizados, a solução de esporos preparadas, a inoculação dos bolos foi iniciada. Introduzindo uma seringa sobre o substrato realizada a injeção do esporo espalhada pelo bolo.

Figura 7 - Injeção dos esporos do cogumelo no substrato



Fonte: Rafael Dieguez Fernandes – Unesp, minicurso: cultivo de cogumelos

Após a inoculação dos esporos, os potes foram lacrados e colocados em ambiente fechado, assim a micelagem se inicia. Este processo levou 30 dias para o recobrimento total do bolo com o fungo. Ao fim desta etapa os substratos condicionados foram retirados dos potes e passados para estufa, dois dias com a umidade alta e com uma temperatura entre 22°C e 25 °C se iniciou o nascimento dos corpos frutíferos.

Figura 8 - Micelagem e Corpos Frutíferos Formados



Fonte: Autoria Própria

Após o crescimento completo do fungo, realizou-se a coleta de duas amostras do material e foi liofilizado. Posteriormente o material foi macerado, para posterior análise da composição do substrato com o micélio do cogumelo.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO

Foram obtidos um total sete amostras de substratos, sendo cinco de esterco coletados em diferentes pontos da margem do rio Chopin e duas de PFTek, foram congeladas, liofilizadas, trituradas e peneiradas.

4.3.1 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A caracterização espectroscópica foi realizada empregando um espectrômetro, Spectrum 100 FTIR spectrometer da Perkin Elmer. Para obtenção dos espectros de FTIR foram preparadas pastilhas de KBr (150 mg de KBr:1,5 mg de amostra), empregando 64 varreduras no intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} com resolução espectral de 16 cm^{-1} .

4.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O microscópio eletrônico de varredura utilizado foi o de bancada, Hitachi, modelo TM3000, este MEV possui filamento de tungstênio, emite de 5 a 15kV. Contém uma fita de carbono e cobre para auxiliar na condução de elétrons nas amostras que não são condutoras, utilizou-se o programa TM3000 para a leitura visual das imagens proporcionadas pelas amostras e em escalas de 200 e 800 vezes.

4.4 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

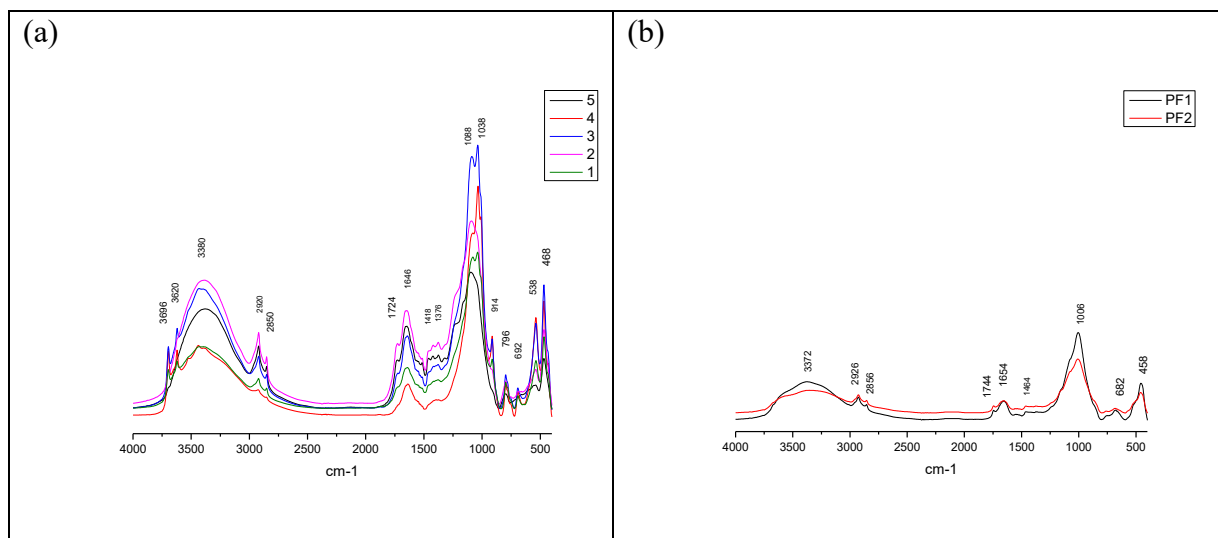
O tratamento estatístico foi realizado empregando o software Pirouette versão 4.0 (Infometrix, Seattle, Washington, USA). Neste foi realizada a PCA, visto que esta é uma importante ferramenta para a análise de dados multivariados. Os pré-tratamentos empregados foram, 1ª derivada e 2ª derivada, e estes foram centrados na média.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com a realização da coleta do substrato natural, realizou-se o primeiro contato com o objeto de estudo: a identificação dos fungos. Assim coletou-se os esporos dos cogumelos após a abertura de seus chapéus e com esses esporos cultivou-se os cogumelos no substrato PFTek.

Os espectros dos substratos, esterco e PFTek, empregados no cultivo do cogumelo *Psilocybe cubensis*, são mostrados na Figura 8.

Figura 9 – Espectros de FTIR das amostras de (a) amostras de esterco, coletadas em diferentes pontos da margem do rio e (b) PFTek-bolo



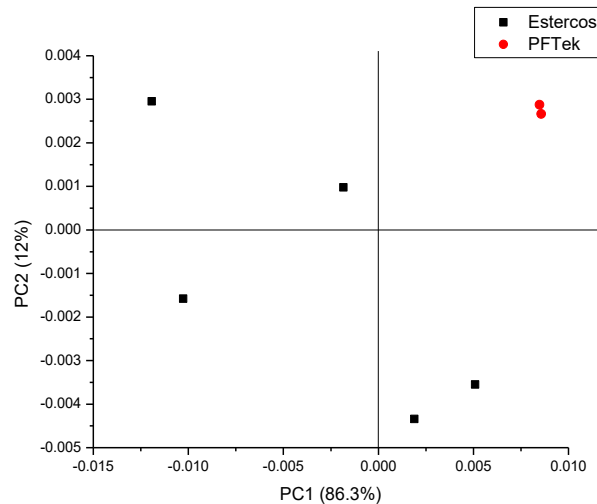
Fonte: Autoria própria (2019).

A partir dos espectros é possível visualizar as bandas de absorção e suas intensidades. De modo geral, observa-se características qualitativas similares entre as amostras de substrato de esterco (Figura 8a) e substrato de PFTek (Figura 8b), contudo há uma variação na intensidade de absorção.

Os substratos apresentaram sinais em 1464 e 1418 cm^{-1} característico de carbonatos, em 1654 e 1646 cm^{-1} os quais indicam estiramento C=C, em 1744 e 1724 cm^{-1} , indicando a presença de grupamentos ésteres e ácidos carboxílicos. Em 2856, 2850, 2926 e 2920 cm^{-1} característicos de C-H e em 3372 e 3380 cm^{-1} devido a presença de amins N-H (Solomos, 2009).

Aos dados espectrais aplicaram-se a PCA, sem pré-processamento (Figura 9) e os pré-processamentos 1ª derivada e 2ª derivada (dados não mostrados). Não houve variações significativas em função dos pré-processamentos empregados.

Figura 10 - Gráfico de PCA das amostras de esterco (■) e PFTek (●)



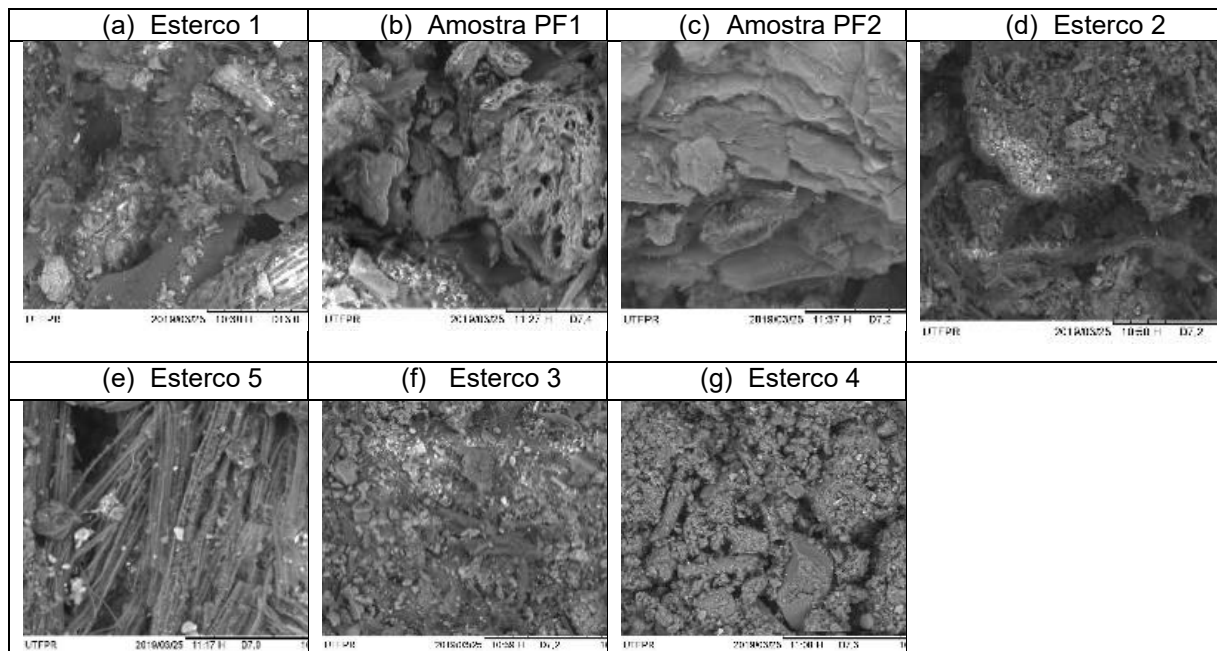
Fonte: Autoria própria (2019).

A partir da PCA sem pré-tratamento pode-se observar que a PC1 e a PC2 representam 98,3% dos dados, sendo PC1 (86,3%) e PC2 (12%). As amostras de PFTek se agrupam no canto superior direito, permitindo inferir que estas apresentam características espectroscópicas bastante diferentes das amostras de esterco. O esterco contém uma maior quantidade de matéria orgânica (MO), então apresentou mais bandas de absorção características de grupamentos orgânicos, além da distinção espectroscópica em alguns pontos característicos de grupos químicos. O sinal em 3696 e 3620 cm^{-1} , observado apenas no espectro de esterco, refere-se a álcoois e fenóis. A banda larga em torno de 3380 cm^{-1} refere-se estiramento O-H, com presença de carbono com tripla ligação, representando polissacarídeos naturais. (Ferreira, 2008) (Solomos, 2009) Já o PF é composto de arroz e argila, que tem menos MO (em relação ao esterco) e mais grupos silicatos, que são regiões mais difíceis de observar no espectro FT-IR (em relação a intensidade e quantidade dos grupamentos orgânicos).

As amostras de esterco não se agrupam, mostrando uma dispersão entre estas, o que permite inferir que há uma variação significativa entre os esterco em função do local de coleta.

As análises do MEV permitiram a obtenção das imagens mostradas na Figura 10.

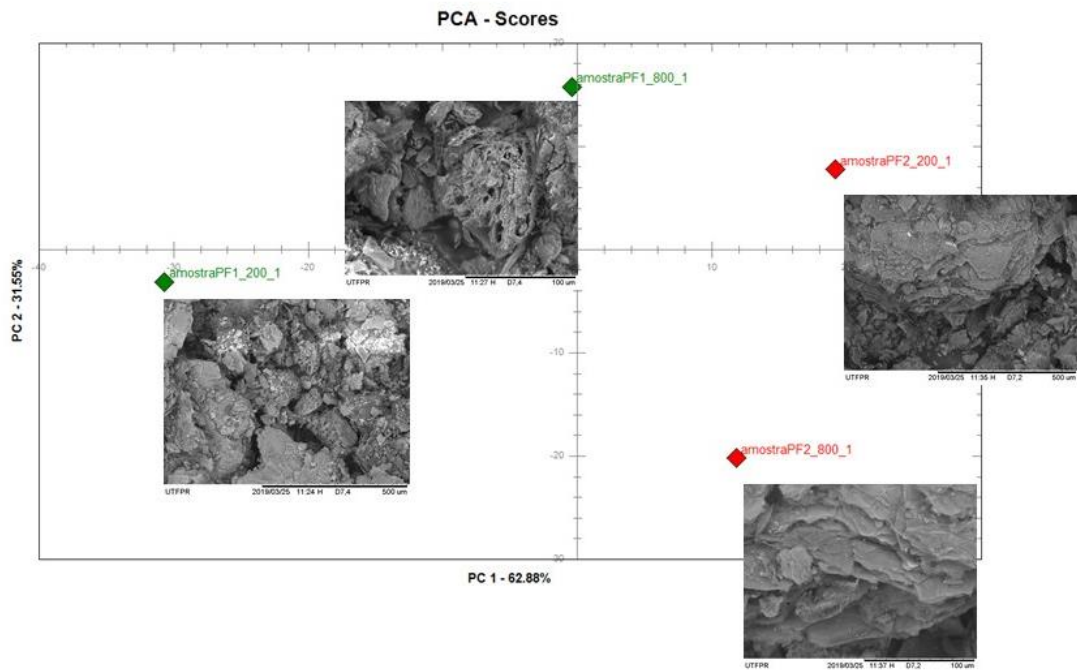
Figura 11 - Imagens das amostra com aproximações de 800 vezes, obtidas por MEV de PF1 (a) e (b), PF2 (c) e (d), Esterco 1 (e) e (f), Esterco 2 (g) e (h), Esterco 3 (i) e (j), Esterco 4 (k) e (l), Esterco 5 (m) e (n) obtidas pelo Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)



Fonte: Autoria própria (2019).

A morfologia complexa observada nas imagens de MEV (Figura 10) permite inferir sobre a variabilidade e complexidade das amostras estudadas.

Figura 12 – Gráfico de PCA das imagens de MEV das amostras de PF1 e PF2

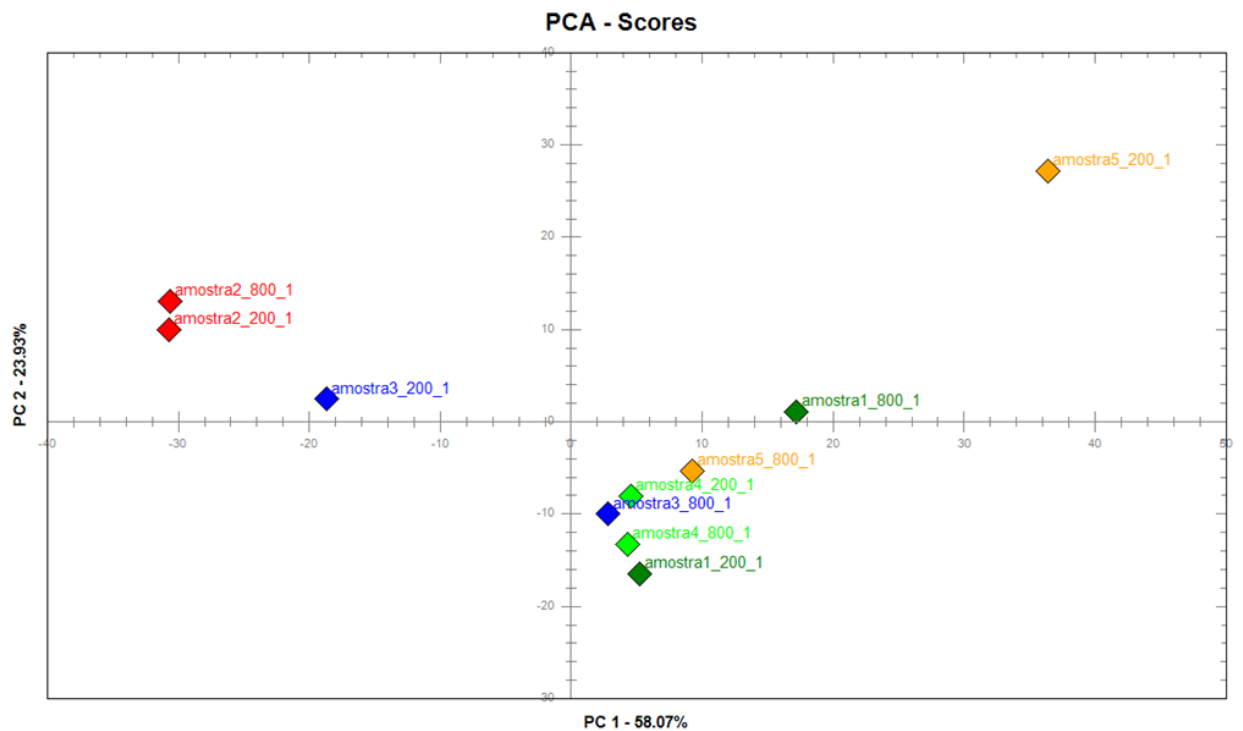


Fonte: Autoria própria (2019).

A diferença observada a partir da análise visual das imagens, mostrou-se significativa estatisticamente PCA. Contudo, como a composição dos substratos é a mesma, pode-se inferir que esta é então decorrente da textura do material, pois todas foram passadas pelo mesmo procedimento de tratamento e amostragem.

O esterco por ser uma amostra *in natura* apresenta maior variabilidade em quantidade de MO e composição química, não sendo possível o agrupamento das amostras em função do local de coleta e da resolução empregada no MEV.

Figura 13 – Gráfico de PCA das imagens de MEV das imagens das amostras de esterco coleadas em diferentes pontos da margem do rio chopim



Fonte: Autoria própria (2019).

A PCA mostrou 82% dos dados sendo a PC1 58,07% e a PC2 23,93%. Empregando a análise estatística há semelhança nas imagens, mas não segundo os critérios analisados, confirma que cada uma demonstra uma variação significativa em sua observação, tendo em vista o modo que elas estão sendo apresentadas.

6 CONCLUSÃO

Com esse trabalho pode-se concluir que as amostras de esterco e a PFtek-bolo tem semelhanças em algumas características físicas e químicas, pois as análises empregadas, FTIR e MEV, demonstram isso.

O esterco, por ser uma amostra natural, apresenta mais características químicas e demonstra maior intensidade das bandas de absorção e variação estatística. Com o tratamento estatístico da análise dos componentes principais observa-se o não agrupamento amostral, mas demonstra uma porcentagem elevada em semelhanças, isso se dá as características parecidas das duas amostras, tornando os dois substratos possíveis o crescimento do cogumelo.

Com análise detalhada dos dados vibracionais moleculares por meio dos espectros do FTIR é perceptível a semelhança amostral dos dois tipos de substratos, comprovando semelhanças com base nos modos vibracionais dos polissacarídeos glicosídicos para que ocorra a fermentação no substrato e o cogumelo da espécie *Psilocybe cubensis* se desenvolva de forma efetiva com todos os componentes químicos psicoativos que caracterizam a espécie.

Na análise do MEV não é observada semelhança visual entre as amostras, mas as análises estatísticas configuram semelhanças que podem ser descritas pelo tipo de material analisado, sua estrutura química molecular pode informar bem mais do que a que até mesmo o microscópio de varredura pode demonstrar por meio das imagens.

O estudo de substâncias alucinógenas é algo importante para a sociedade, os produtos produzidos por fungos, plantas e frutos, são de grande agregação para cura de doenças que afetam o psicológico e o físico dos seres humanos, possibilitam a reintegração de conhecimentos populares utilizado pelos antepassados e podendo ser utilizados na sociedade atual.

Portanto esse trabalho buscou informar as características de desenvolvimento necessárias para a replicação do cultivo dos cogumelos *Psilocybe cubensis* em diferente ambientes e substratos.

7 ORÇAMENTO

Para o desenvolvimento do projeto utilizou-se a vermiculita e arroz integral para a formação do substrato PFTek custando R\$ 100,00, materiais para estufa de cultivo R\$ 200,00, despesas com transporte para coleta das amostras do esterco R\$200,00, consumíveis para análise dos substratos R\$ 500,00.

DESCRIÇÃO ITEM	Custo
Consumíveis para análises	R\$ 500,00
Vermiculita e arroz integral para a formação do substrato PFTek	R\$ 100,00
Matérias para estufa de cultivo	R\$ 200,00
Despesas com transporte para a coleta dos esterco	R\$ 200,00
TOTAL	R\$ 1000,00

8 CRONOGRAMA

Cronograma de execução das tarefas, com a época de realização das atividades para implantação e conclusão do Trabalho de Conclusão de Curso.

Tabela 1 – Cronograma de execução das atividades de pesquisa referentes ao projeto de Trabalho de Conclusão de Curso UTFPR Câmpus Pato Branco, 2019.

Cronograma	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Possibilidade de realização do projeto		■	■	■								
Escrita do projeto				■	■	■						
Entrega do projeto escrito							■					
Defesa do projeto							■					
Elabora e envio para edital 1/2019 – PROREC/PROGRAD							■					
Coleta da amostra								■				
Cultivo								■	■			
Análise									■	■		
Escrita do projeto final								■	■	■	■	
Defesa final												■

■	Etapas já realizadas
■	Serão realizadas

REFERÊNCIAS

AFINKO SOLUÇÕES EM POLÍMEROS. **MEV: Entenda o que faz a Microscopia Eletrônica de Varredura**. Disponível em: <https://afinkopolimeros.com.br/o-que-e-microscopia-eletronica-mev/>. Acesso em: 24 nov. 2020.

BERGER, KJ.; GUSS, DA.; Micotoxins revisited: part I. **The Journal of Emergency Medicine**, 1:53-62, 2005.

BOGENSCHUTZ, Michael P.; JOHNSON, Matthew W.. Classic hallucinogens in the treatment of addictions. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, USA, v. 1, n. 64, p. 250-258, mar./2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2015.03.002>. Acesso em: 17 jul. 2019.

BOGUSZ, MJ.; MAIER, RD.; SCHAFER, AT.; ERKENS, M.; Honey with *Psilocybe* mushrooms: a revival of a very old preparation on the drug market? **International Journal on Legal Medicine**, 111: 147-150, 1998.

Carhart-Harris, R. L., Erritzoe, D., Williams, T., Stone, J. M., Reed, L. J., Colasanti, A., Nutt, D. J. (2012). Neural correlates of the psychedelic state as determined by fMRI studies with psilocybin. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 109(6), 2138–2143. <https://doi.org/10.1073/pnas.1119598109>

Carhart-Harris, Robin L., Roseman, L., Bolstridge, M., Demetriou, L., Pannekoek, J. N., Wall, M. B., Nutt, D. J. (2017). Psilocybin for treatment-resistant depression: FMRI-measured brain mechanisms. **Scientific Reports**, 7(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13282-7>

Christiansen, A. L., Rasmussen, K. E., & Tonnesen, F. (1981). Determination of psilocybin in *Psilocybe*. **Journal of Chromatography**, 210, 163–167.

CORTELLA, Mario Sergio. A sorte segue a coragem!: Oportunidades, competências e tempos de vida. 1. ed. São Paulo: Planeta, 2018. p. 20.

DEDAVID, Berenice Anina; GOMES, Carmem Isse; MACHADO, Giovanna. **Microscopia Eletrônica de Varredura: Aplicações e preparação de amostra**. 1. ed. Porto Alegre, RS: EDIPUCRS, 2007. p. 9-10.

DINIZ, O. G. L. USOS, BIOQUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA DO *PSILOCYBE* SPP.: Monografia para obtenção do Título de Especialista em Fitoterapia. **Instituto Brasileiro de Estudos Homeopáticos**, Rio de Janeiro, jun./1999.

EDISCIPLINAS. **Ecologia e Fisiologia dos Fungos**. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4145101/mod_resource/content/1/Ecologia%20Fisiologia%20e%20Metabolismo%20de%20Fungos.pdf. Acesso em: 11 jun. 2019.

EDISCIPLINAS. **Via do Ácido Chiquímico (Chiquimato)**. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/2027187/mod_resource/content/1/Via%20Chiquimato.pdf. Acesso em: 11 out. 2019.

Escobar, J A C, & Roazzi, A. (2015). **Substâncias Psicodélicas e Psilocibina**. 1–27. Retrieved from http://neip.info/novo/wp-content/uploads/2015/04/escobarroazzi_substncias.pdf

Escobar, José Arturo Costa. (2008). **Observação e exploração da percepção visual e do tempo em indivíduos sob o estado ampliado de consciência após o consumo de cogumelos “mágicos.”** Universidade Federal de Pernambuco.

FERREIRA, Ana Lucia; SILVEIRA, Edilson Sérgio. **Propriedades Vibracionais de Polissacarídeos Naturais**. 1. ed. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2008. p. 38-45.

Gartz, J. (1994). Extraction and analysis of indole derivatives from fungal biomass. **Journal of Basic Microbiology**, 34(1), 17–22. <https://doi.org/10.1002/jobm.3620340104>

GRIFFITHS, R. R. et al. Psilocybin produces substantial and sustained decreases in depression and anxiety in patients with life-threatening cancer: A randomized double-blind trial. **Journal of Psychopharmacology**, USD, v. 30, n. 12, p. 1181-1197, nov./2016. Disponível em: sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav. Acesso em: 22 set. 2019.

Guzmán, G., Allen, J. W., & Gartz, J. (2000). **A worldwide geographical distribution of neurotropic Fungi: a analysis and discussion**. 189–280.

HALPERN, JH.; Hallucinogens and dissociative agents naturally growing in the United States. **Pharmacology & Therapeutics**, 102: 131-138, 2004.

HALPERN, JH.; POPE, HGJ.; Hallucinogen persisting perception disorder: what do we know after fifty years? **Drug and Alcohol Dependence**, 69: 109-119, 2003.

Icaza, eduardo E., & Mashour, G. A. (2013). Altered States: Psychedelics and Anesthetics. **Anesthesiology**, 119(6), 1255–1260. <https://doi.org/10.1038/421686a>

KIEHL, E.J. **Fertilizantes orgânicos**. Piracicaba; Editora Agronômica Ceres Ltda, 1985. 492p.: il

KRAEHENMANN, R. et al. Psilocybin-Induced Decrease in Amygdala Reactivity Correlates with Enhanced Positive Mood in Healthy Volunteers. **Biological Psychiatry**, USA, v. 1, n. 78, p. 572-581, out./2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2014.04.010>. Acesso em: 22 set. 2019.

Kysilka, R., & Wurst, M. (1989). **A Novel Extraction Procedure for Psilocybin and Psilocin Determination in Mushroom Samples.** 327–328.

LIMA, Alexandre; BAKKER, Jan. Espectroscopia no infravermelho próximo para a monitorização da perfusão tecidual. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, São Paulo, v. 23, n. 3, p. 1, jul./2011. Disponível em: <https://bit.ly/2KC0tJP>. Acesso em: 20 nov. 2020.

L.G. Nicholas., & Omamé, K. (2006). **Psilocybin Mushroom Handbook** -Easy Indoor and Outdoor Cultivation (Newhart S., Ed.). Canadá: Quick American.

Maia, L. C., & De Carvalho Junior, A. A. (2010). **Introdução: Os fungos do Brasil** (Vol. 1). Retrieved from <http://books.scielo.org>.

MCKENNA, DJ.; SAAVEDRA, JM.; Autoradiography of LSD and 2,5-dimethoxyphenylisopropylamine psychotomimetics demonstrates regional, specific cross-displacement in the brain. **European Journal of Pharmacology**, 142: 347-358, 1987.

MUSSHOFF, F.; MADEA, B.; BEIKE, J.; Hallucinogenic mushrooms on the german market - simple instructions for examination and identification. **Forensic Science International**, 113: 389 - 395, 2000.

NICHOLS, DE.; Hallucinogens. **Pharmacology and Therapeutics**, 101: 131 - 181, 2004.

NPCT. **A Rota do Ácido Shiquimico e Sua Importância Para a Defesa Vegetal.** Disponível em: <https://bitly.com/VAI5x>. Acesso em: 11 out. 2019.

OPER. **Análise de Componentes Principais.** Disponível em: [https://operdata.com.br/blog/analise-de-componentes-principais/\(Componentes\)](https://operdata.com.br/blog/analise-de-componentes-principais/(Componentes)). Acesso em: 25 nov. 2020.

O.T, O., & O.N, O. (1976). **Psilocybin Magic Mushroom Grower's Guide.**

Passie, T., Seifert, J., Schneider, U., & Emrich, H. M. (2002). The pharmacology of psilocybin. **Addiction Biology**, 7(4), 357–364. <https://doi.org/10.1080/1355621021000005937>

Pavia, D.L. et al., **Introdução à Espectroscopia**, 4a ed. Cengage Learning, 2010

Pereira, N. T., & Tonial, L. M. S. (2018). **Caracterização espectroscópica de substrato empregados na produção de cogumelos Psilocybe Cubensis.** Pato Branco.

PRESTES, MT. **Efeitos de diferentes doses de esterco de gado, no**

desenvolvimento e no balanço nutricional de mudas de Angico (*Anadenanthera macrocarpa*). Dissertação de mestrado. Universidade de Brasília, Brasília/DF, p. 1-62, jul./2007.

Romano, L. M. (n.d.). **Biologia** (Vol. 3, pp. 18–25). Vol. 3, pp. 18–25.

ROSSATO, Luciana G.; CORTEZ, Vagner G.; LIMBERGER, Renata P.; Taxonomy and chemical aspects of the halucinogenic *Psilocybe wrightii* from southern Brazil. **Mycotaxon**, Porto Alegre, v. 108, n. 1, p. 223-229, abr./2009. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Luciana_Rossato/publication/230558455_Taxonomy_and_chemical_aspects_of_Psilocybe_wrightii_from_southern_Brazil/Taxonomy-and-chemical-aspects-of-Psilocybe-wrightii-from-southern-Brazil.pdf. Acesso em: 7 dez. 2017.

SANDERS-BUSH, E.; MAYER, SE.; Agonistas e Antagonistas dos receptores de 5-hidroxitriptamina (serotonina). In: BRUNTON, LL.; LAZO, JS.; PARKER, KL. (Ed). **Goodman e Gilman - As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 11 ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2006. p.266-303.

Santos, L. M. dos, Simões, M. L., Silva, W. T. L. da, Milori, D. M. B. P., Montes, C. R., Melfi, A. J., & Martin-Neto, L. (2009). Caracterização química e espectroscópica de solos irrigados com efluente de esgoto tratado. **Eclética Química**, 34(1), 39–44. <https://doi.org/10.1590/S0100-46702009000100006>

Schenberg, E. E. (2018). Psychedelic-assisted psychotherapy: A paradigm shift in psychiatric research and development. **Frontiers in Pharmacology**, 9(JUL), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00733>

SOLOMONS, Graham; FRYHLE, Craig B.. **Química orgânica**. 9 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2009. p. 74-75.

SOLOMONS, Graham; FRYHLE, Craig B.. **Química orgânica**. 9 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2009. p. 73.

Steven H. Pollock, M. D. (1977). **Magic Mushroom Cultivation**. Texas: Herbal Medicine Research Foudation.

Stijve, T., & Meijer, A. A. R. d. (Arquives of B. and T. (1993). Macromycetes from the state of Paraná, Brazil. 4. The psychoactive species. **Arquives of Biology and Technology**, 313–329.

Terçaroli, G. R., Paleari, L. M., & Bagagli, E. (2010). **O incrível mundo dos fungos**. Unesp.

THERMOFISHER. **Noções Básicas de Espectroscopia**. Disponível em: <https://www.thermofisher.com/br/en/home/industrial/spectroscopy-elemental-isotope->

analysis/spectroscopy-elemental-isotope-analysis-learning-center/molecular-spectroscopy-information/ftir-information/ftir-basics.html. Acesso em: 20 nov. 2020.

Thirdwave, T. (2019). **Cogumelos Psilocibinos em Crescimento**. Retrieved January 1, 2019, from <https://thethirdwave.co/psychedelics/shrooms/grow-psilocybin-mushrooms>

UGARTE, J. F. O., SAMPAIO, J. A., & FRANÇA, S. C. A. (2008). Vermiculita. *In Rochas e minerais industriais* (pp. 865–887).

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE. **Análise de Componentes Principais**. Disponível em: <http://www.ic.uff.br/~aconci/PCA-ACP.pdf>. Acesso em: 25 nov. 2020.

VARELLA, C. A. A. Análise Multivariada Aplicada as Ciências Agrárias: Análise de Componentes Principais. **Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, Seropédica, v. 1, n. 1, p. 1-12, dez./2008. Disponível em: <https://bityli.com/0Brz6>. Acesso em: 25 nov. 2020.

WALTER, Melissa; MARCHEZANII, Enio; AVILAI, L. A. D. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 4, p. 1184-1192, jul./2008.

Yoshida, P. A., Yokota, D., Foglio, M. A., Rodrigues, R. A. F., & Pinho, S. C. (2010). Liposomes incorporating essential oil of Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.): Characterization of aqueous dispersions and lyophilized formulations. **Journal of Microencapsulation**, 27(5), 416–425. <https://doi.org/10.3109/02652040903367327>.