



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE
TECNOLOGIA, INFRAESTRUTURA
E TERRITÓRIO**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
INTERDISCIPLINAR EM ENERGIA E
SUSTENTABILIDADE**

**PRODUÇÃO DE COGUMELO *Pleurotus ostreatus* EM GRAMÍNEAS COMO PRÉ-
TRATAMENTO PARA OBTENÇÃO DE BIOGÁS**

EMILENE DE CARVALHO LOURENÇO

Foz do Iguaçu
2025



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE
TECNOLOGIA, INFRAESTRUTURA
E TERRITÓRIO**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
INTERDISCIPLINAR EM ENERGIA E
SUSTENTABILIDADE**

**PRODUÇÃO DE COGUMELO *Pleurotus ostreatus* EM GRAMÍNEAS COMO PRÉ-
TRATAMENTO PARA OBTENÇÃO DE BIOGÁS**

EMILENE DE CARVALHO LOURENÇO

Tese de Doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação Interdisciplinar em Energia e Sustentabilidade do Instituto Latino-Americano de Tecnologia, Infraestrutura e Território da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Energia e Sustentabilidade.

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Regina Becker
Co-orientadora: Profa. Dra. Aline Theodoro Toci

Foz do Iguaçu
2025

Catálogo elaborado pelo Setor de Tratamento da Informação
Catálogo de Publicação na Fonte. UNILA - BIBLIOTECA LATINO-AMERICANA - CENTRAL

L892p

Lourenço, Emilene de Carvalho.

Produção de cogumelo *Pleurotus ostreatus* em gramíneas como pré-tratamento para obtenção de biogás / Emilene de Carvalho Lourenço. - Foz do Iguaçu, 2025.

124 fls.: il.

Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Instituto Latino-Americano de Tecnologia, Infraestrutura e Território, Programa de Pós-Graduação Interdisciplinar em Energia e Sustentabilidade.

Orientador: Márcia Regina Becker; Aline Theodoro Toci.


1. Cogumelos comestíveis. 2. Metano. 3. Biogás. I. Toci, Márcia Regina Becker. II. Theodoro, Aline. III. Título.

CDU 582.28:620.952


PRODUÇÃO DE COGUMELO *Pleurotus ostreatus* EM GRAMÍNEAS COMO PRÉ-TRATAMENTO PARA OBTENÇÃO DE BIOGÁS

Tese de Doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação Interdisciplinar em Energia e Sustentabilidade do Instituto Latino-Americano de Tecnologia, Infraestrutura e Território da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Energia e Sustentabilidade.


BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **MARCIA REGINA BECKER**
Data: 30/06/2025 18:59:30-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Regina Becker

UNIIA
Documento assinado digitalmente
 **ALINE THEODORO TOCI**
Data: 07/07/2025 14:26:16-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Co-orientadora: Profa. Dra. Aline Theodoro Toci

UNILA
Documento assinado digitalmente
 **MICHEL RODRIGO ZAMBRANO PASSARINI**
Data: 01/07/2025 11:05:08-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Prof. Dr. Michel Rodrigo Zambrano Passarini

UNILA
Documento assinado digitalmente
 **ADRIANA ZEMIANI CHALLIOL**
Data: 01/07/2025 15:12:55-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Adriana Zemiani Challiol

UNIIA
Documento assinado digitalmente
 **VIRIDIANA SANTANA FERREIRA LEITAO**
Data: 03/07/2025 15:11:21-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Viridiana Santana Ferreira Leitão

UFRJ
Documento assinado digitalmente
 **GABRIELA BONASSA**
Data: 05/07/2025 08:26:22-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Gabriela Bonassa
Ivri/Eren Biogás Brasil

Foz do Iguaçu, 24 de fevereiro de 2025.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar forças para superar mais essa etapa importante da minha vida, me consolar nos momentos difíceis e ser meu porto seguro nas horas de preocupação.

À minha família pelo carinho, apoio e incentivo. Em especial aos meus irmãos Charles Willian Lourenço e Luana de Carvalho Lourenço, que sempre foram uma fonte de inspiração, e à minha mãe Juliana de Carvalho Lourenço por sempre me apresentar em suas orações.

A todos meus amigos, que me apoiaram e me incentivaram nessa longa caminhada, em especial à Franciele Natividade Luiz, que foi minha fiel escudeira em muitas batalhas, e que inclusive trilhou esse caminho do doutorado comigo.

Ao meu esposo Darlan Preve pelo apoio, companheirismo e paciência durante todo o tempo empenhado nesta pesquisa.

Ao senhor Bruno Vieira da Cogumelos Fungitake pela atenção e disponibilização de inóculo fúngico para a realização dos experimentos.

À minha orientadora, Márcia Regina Becker e à minha co-orientadora Aline Theodoro Toci pelo apoio, incentivo e comprometimento que foram fundamentais para que eu superasse os desafios e concluísse esta jornada.

Aos técnicos dos laboratórios da UNILA, em especial à Paula dos Santos e ao Wagner Ferreira pela disponibilidade e suporte técnico quando necessário.

Ao LEIMAA - Laboratório de Estudos Interdisciplinares do Meio Ambiente e Alimentos e seus integrantes pelo apoio e estrutura oferecida aos experimentos realizados.

Ao Laboratório do Centro Internacional de Energias Renováveis - CIBiogás, pela doação do inóculo, empréstimo de materiais e equipamentos para o desenvolvimento dessa pesquisa e pelo apoio técnico dos profissionais a ele vinculado.

À UNILA pela oportunidade de poder ser doutora em Energia e Sustentabilidade e poder desenvolver pesquisa em resíduos que é uma das minhas paixões.

Lourenço, Emilene de Carvalho. Produção de cogumelo *Pleurotus ostreatus* em gramíneas como pré-tratamento para obtenção de biogás. 2025. 124 f. Tese de doutorado em Energia e Sustentabilidade – Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu.

RESUMO

Gramíneas de podas representam uma valiosa biomassa lignocelulósica, que pode ser utilizada na produção de cogumelos comestíveis e de biogás. A Digestão Anaeróbia (DA) é responsável pela obtenção de biogás e o uso de pré-tratamentos podem aumentar a sua eficiência. O pré-tratamento é uma opção para sanar as barreiras tecnológicas encontradas atualmente, como a baixa degradabilidade de materiais ricos em lignina e a possibilidade de formação de camada de sobrenadante nos biodigestores. Fungos comestíveis, especialmente do gênero *Pleurotus*, desempenham um papel crucial na degradação da biomassa lignocelulósica e podem ser utilizados como pré-tratamento biológico na DA. O presente estudo, inicialmente, teve por finalidade avaliar a sequência do cultivo de cogumelos comestíveis da espécie *Pleurotus ostreatus* em gramíneas das espécies *Zoysia japonica* (esmeralda) e *Axonopus compressus* (São Carlos), com posterior produção de biogás nos resíduos pós-cultivo. Para tal, as gramíneas foram destinadas ao preparo de substratos e submetidas à inoculação pelo fungo *Pleurotus ostreatus*. Foi avaliada de forma sequencial a produção de cogumelos e a produção de biogás nos resíduos pós-cultivo por meios de ensaios de Potencial Bioquímico de Metano (PBM). No cultivo foram avaliados dois tamanhos de fragmentos na confecção dos substratos, 1 cm e 2 a 5 cm. Esse aspecto não resultou em diferença estatística na produção de cogumelos, porém o menor tamanho de fragmentos apresentou maior produção de biogás e metano. Os melhores resultados foram obtidos para a gramínea *Zoysia japonica* que apresentou Eficiência Biológica (EB) de 118,0%, ou seja, em 1,0 kg de gramínea seca foi possível cultivar até 1,18 kg de cogumelos frescos (shimeji). Além disso, foi possível a produção de biogás nos resíduos pós-cultivo. Ao se comparar o substrato *in natura* com os resíduos, após um fluxo de cultivo, observou-se um aumento no rendimento de biogás e CH₄ de até 33,3 e 17,3%, respectivamente. Esses resultados indicam que o *Pleurotus ostreatus* atua como um pré-tratamento eficaz de gramíneas, pois mesmo após o cultivo de cogumelos houve o aumento do rendimento de biogás e metano em relação à amostra *in natura*. Num segundo momento, avaliou-se o uso do fungo *Pleurotus ostreatus* apenas como pré-tratamento das gramíneas em diferentes tempos de incubação, de 20, 30, 40 e 60 dias. Ao se avaliar ambas gramíneas, a *Zoysia japonica* apresentou os melhores resultados, sendo 20 dias de incubação o pré-tratamento mais efetivo, com aumento de 60,9 e 48,8% no rendimento de biogás e CH₄, respectivamente, em relação à mesma gramínea *in natura*. Em ambos estudos, pode-se obter redução de até 20,0% do tempo destinado à DA em relação à amostra *in natura*. Ficou evidente o potencial de pré-tratamento do *Pleurotus ostreatus* nas gramíneas avaliadas para a produção de biogás. Portanto, a produção de cogumelos, a utilização dos resíduos pós-cultivo para a produção de biogás e o uso do fungo como pré-tratamento foram considerados promissores. Todos esses aspectos corroboram a economia circular e alcançam diferentes Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Agenda 2030.

Palavras-chave: *Pleurotus*; Biomassa lignocelulósica; Cogumelos comestíveis; Potencial bioquímico de metano; Pré-tratamento biológico; Digestão anaeróbia.

Lourenço, Emilene de Carvalho. Producción de setas *Pleurotus ostreatus* en gramíneas como pretratamiento para la obtención de biogás. 2025. 124 p. Tesis de Doctorado en Energía y Sostenibilidad – Universidad Federal de la Integración Latinoamericana, Foz do Iguaçu.

RESUMEN

Gramíneas procedentes de podas representan una valiosa biomasa lignocelulósica, con potencial para la producción de setas comestibles y biogás. La Digestión Anaerobia (DA) es responsable de la obtención de biogás y el uso de pretratamientos puede aumentar su eficiencia. El pretratamiento es una alternativa para superar las barreras tecnológicas, como la baja degradabilidad de materiales lignificados y la formación de capas de sobrenadante en los biodigestores. Hongos comestibles, especialmente del género *Pleurotus* desempeñan un papel crucial en la degradación de la biomasa lignocelulósica y pueden ser utilizados como pretratamiento biológico en la DA. El presente estudio, inicialmente tuvo como finalidad evaluar la secuencia del cultivo de setas comestibles de la especie *Pleurotus ostreatus* en gramíneas de las especies *Zoysia japonica* (esmeralda) y *Axonopus compressus* (São Carlos), con posterior producción de biogás a partir de los residuos poscultivo. Para ello, las gramíneas fueron utilizadas para la preparación de sustratos y sometidas a inoculación por el hongo *Pleurotus ostreatus*. La producción de setas y la generación de biogás a partir de los residuos poscultivo fueron evaluados secuencialmente por medio de ensayos de Potencial Bioquímico de Metano (PBM). En el cultivo fueron evaluados dos tamaños de fragmentos en la confección de los sustratos, 1 cm y 2 a 5 cm. Este aspecto no resultó en una diferencia estadística en la producción de setas, sin embargo, el tamaño de fragmentos más pequeños presentó mayor producción de biogás y metano. Los mejores resultados fueron obtenidos para la gramínea *Zoysia japonica* que presentó Eficiencia Biológica (EB) de 118,0%, es decir, en 1,0 kg de gramínea seca fue posible cultivar hasta 1,18 kg de setas frescas (*shimeji*). Además, fue posible producir biogás a partir de residuos poscultivo. Comparando el sustrato *in natura* con los residuos poscultivo, se observó un aumento de hasta 33,3% en el rendimiento de biogás y de 17,3% en el de CH₄. Estos resultados indican que el *Pleurotus ostreatus* actúa como un pretratamiento eficaz en las gramíneas, ya que incluso después del cultivo de setas se produjo un aumento en el rendimiento de biogás y metano en relación con la muestra *in natura*. En segundo lugar, se evaluó el uso de hongo *Pleurotus ostreatus* sólo como pretratamiento de gramíneas en diferentes tiempos de incubación, 20, 30, 40 y 60 días. Al evaluar ambas gramíneas, la *Zoysia japonica* presentó los mejores resultados, siendo 20 días de incubación el pretratamiento más efectivo, con el aumento de 60,9 y 48,8% en el rendimiento de biogás y CH₄, respectivamente, en relación a la misma gramínea *in natura*. En ambos estudios, se pudo obtener una reducción de hasta 20,0% del tiempo destinado a la DA en relación a la muestra *in natura*. Los resultados muestran el potencial del *Pleurotus ostreatus* como pretratamiento eficaz de las gramíneas para la producción de biogás. La producción de setas, el uso de los residuos poscultivo para la producción de biogás y el uso del hongo como pretratamiento fueron considerados prometedores. Estos resultados refuerzan los principios de la economía circular y contribuyen a diversos Objetivos del Desarrollo Sostenible (ODS) de la agenda 2030.

Palabras Clave: *Pleurotus*; Biomasa lignocelulósica; Setas comestibles; Potencial bioquímico del metano; Pretratamiento biológico; Digestión anaerobia.

Lourenço, Emilene de Carvalho. Production of *Pleurotus ostreatus* mushrooms on grasses as a Pretreatment for Biogas Production. 2025. 124 pages. PhD in Energy and Sustainability – Federal University for Latin American Integration, Foz do Iguaçu.

ABSTRACT

Grasses offer valuable lignocellulosic biomass potentially able to produce edible mushrooms and biogas. Anaerobic Digestion (AD) generates biogas, and pretreatments improve its efficiency. Pretreatment is an alternative to overcoming technological barriers, such as the low degradability of lignified materials and the formation of floating layers in biodigesters. Edible fungi, especially those in the *Pleurotus* genus, play a crucial role in lignocellulosic biomass degradation and serve as an effective biological pretreatment in AD. This study initially aimed to evaluate the sequential cultivation of *Pleurotus ostreatus* mushrooms on *Zoysia japonica* (Emerald) and *Axonopus compressus* (São Carlos) and assess biogas production from post-cultivation residues. To achieve this, the process involved preparing the grasses as substrates and inoculating them with *Pleurotus ostreatus*. Mushroom production and biogas generation from post-cultivation residues were sequentially evaluated using Biochemical Methane Potential (BMP) assays. Substrate preparation included two fragment sizes: 1 cm and 2–5 cm. Fragment size did not cause statistically significant differences in mushroom production; smaller fragments increased biogas and methane production. Among the tested grasses, *Zoysia japonica* delivered the best results, achieving a Biological Efficiency (BE) of 118.0%, meaning that 1.0 kg of dried grass produced up to 1.18 kg of fresh mushrooms (shimeji). Additionally, post-cultivation residues successfully generated biogas. Comparison between the raw substrate and post-cultivation residues showed increases of up to 33.3% in biogas yield and 17.3% in CH₄ yield. These findings demonstrate that *Pleurotus ostreatus* effectively pretreated grasses, enhancing biogas and methane yields even after mushroom cultivation. The study's second phase focused on using *Pleurotus ostreatus* as a pretreatment for grasses at incubation periods of 20, 30, 40, and 60 days. Among the evaluated grasses, *Zoysia japonica* again performed best, with 20 days of incubation proving the most effective pretreatment, increasing biogas and CH₄ yields by 60.9% and 48.8%, respectively, compared to the untreated grass. Both studies demonstrated a reduction of up to 20.0% in AD time compared to the untreated sample. These results confirm the potential of *Pleurotus ostreatus* as an effective pretreatment for grasses in biogas production. The combined benefits of mushroom production, biogas generation from post-cultivation residues, and fungal pretreatment highlight promising strategies. These results reinforce circular economy principles and contribute to several Sustainable Development Goals (SDGs) of the 2030 Agenda.

Keywords: *Pleurotus*; Lignocellulosic biomass; Edible mushrooms; Biochemical methane potential; Biological pretreatment; Anaerobic digestion.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Gravimetria dos Resíduos Sólidos Urbanos no Brasil.	21
Figura 2 - Etapas da cadeia da produção e uso de biogás.	26
Figura 3 - Estrutura interna da biomassa lignocelulósica.	29
Figura 4 - Etapas da digestão anaeróbia.	36
Figura 5 - Morfologia do corpo de frutificação de diferentes espécies de <i>Pleurotus</i> spp.	44
Figura 6 - Cogumelos <i>Pleurotus ostreatus</i> e seus principais aspectos morfológicos.	46
Figura 7 - Diagrama das etapas do estudo sequencial de produção de cogumelos e biogás.	52
Figura 8 - Esquema do número de réplicas para cada experimento de cultivo, tendo em vista a avaliação dos parâmetros biológicos e os ensaios de PBM.	56
Figura 9 - Gramíneas utilizadas nos cultivos: a) <i>Zoysia japonica</i> ; e b) <i>Axonopus compressus</i> .	57
Figura 10 - Inóculo comercial de <i>Pleurotus ostreatus</i> em serragem, obtido da Fungitake cogumelos.	58
Figura 11 - Principais aparatos dos ensaios de potencial bioquímico de metano.	62
Figura 12 - Reatores utilizados para os ensaios de potencial bioquímico de metano.	63
Figura 13 - Microscópio eletrônico de varredura utilizado neste estudo.	64
Figura 14 - Substrato composto de <i>Zoysia japonica</i> com fragmentos de 2 a 5 cm (a) imediatamente após a inoculação do substrato e (b) após o tempo de colonização de 20 dias (incubação).	66
Figura 15 - <i>Pleurotus ostreatus</i> cultivado em gramíneas <i>Zoysia japonica</i> , referente ao primeiro ciclo de frutificação, (a) Cultivo I - 1cm e (b) Cultivo II- entre 2,0 e 5,0 cm.	68
Figura 16 - Eficiência Biológica conforme o N° de fluxos de <i>Pleurotus ostreatus</i> (n=3).	71
Figura 17 - Produção específica acumulada de biogás nas amostras <i>in natura</i> e resíduos pós-cultivo em <i>Zoysia japonica</i> (n=3).	82
Figura 18 - Média de produção específica acumulada de biogás nas amostras <i>in natura</i> e resíduos pós-cultivo em <i>Axonopus compressus</i> (n=3).	84
Figura 19 - Micrografias da gramínea <i>Zoysia japonica</i> <i>in natura</i> e pós-cultivo.	85
Figura 20 - Micrografias das amostras de gramínea <i>Axonopus compressus</i> <i>in natura</i> em amostras decorrentes do Cultivo I, tamanho de fragmento de 1 cm, antes da submissão das amostras a ensaios de PBM.	86
Figura 21 - Diagrama das etapas do estudo do pré-tratamento para a produção de biogás.	94
Figura 22 - Média de produção específica acumulada de biogás nas amostras <i>in natura</i> e pré-tratadas de <i>Zoysia japonica</i> (n=3).	101
Figura 23 - Média de produção específica acumulada de biogás nas amostras <i>in natura</i> e pré-tratadas de <i>Axonopus compressus</i> (n=3).	102
Figura 24 - Micrografias das amostras de gramínea <i>Zoysia japonica</i> <i>in natura</i> e pré-tratamentos com 20, 30, 40 e 60 dias.	105
Figura 25 - Micrografias das amostras de gramínea <i>Axonopus compressus</i> <i>in natura</i> e pré-tratamentos com 20, 30, 40 e 60 dias.	106

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição de substratos lignocelulósicos: celulose, hemicelulose e lignina (%) em base seca.	31
Tabela 2 - Produção de biogás e metano (CH ₄) em diferentes espécies de gramíneas.	33
Tabela 3 - Avaliação do tempo de duração de pré-tratamento em dias (DP), variação da produção de biogás e variação na produção de metano (CH ₄) utilizando espécies do gênero <i>Pleurotus</i>	40
Tabela 4 - Revisão da literatura sobre a produção de biogás em resíduos pós-cultivo.	49
Tabela 5 - Parâmetros de avaliação biológica do cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i> em gramínea <i>Zoysia japonica</i> e <i>Axonopus compressus</i> (n=3).	67
Tabela 6 - Eficiência Biológica conforme o N ^o de fluxos no cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i> em diferentes cultivos (n=3).	70
Tabela 7 - Série de sólidos em amostras encaminhadas aos ensaios de potencial bioquímico de metano (n=3).	75
Tabela 8 - Produção específica acumulada de biogás nas amostras <i>in natura</i> e resíduos pós-cultivo em <i>Zoysia japonica</i> (n=3).	76
Tabela 9 - Resumo das melhores condições da produção sequencial de cogumelos, biogás e metano em <i>Zoysia japonica</i> (n=3).	88
Tabela 10 - Valores de potencial bioquímico de metano em amostras de <i>Zoysia japonica</i> e <i>Axonopus compressus</i> pré-tratadas com <i>Pleurotus ostreatus</i> (n=3).	99

LISTAS DE QUADROS

- Quadro 1** - Identificação e características das amostras para ensaios de potencial bioquímico de metano (PBM) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). 54
- Quadro 2** - Equações das retas para a produção específica acumulada de biogás nas amostras in natura e resíduos pós-cultivo em *Zoysia japonica* (n=3). 83
- Quadro 3** - Equações das retas para a produção específica acumulada de biogás nas amostras in natura e resíduos pós-cultivo em *Axonopus compressus* (n=3). 84
- Quadro 4** - Cálculo de oportunidade financeira de utilização de 1 tonelada de gramínea *Zoysia japonica* na produção sequencial de cogumelos *Pleurotus ostreatus* para comercialização e biogás para substituição de gás liquefeito de petróleo. 88
- Quadro 5** - Identificação e características das amostras para ensaios de PBM. 95
- Quadro 6** - Equações das retas para a produção específica acumulada de biogás nas amostras in natura e resíduos pós-cultivo em *Zoysia japonica* (n=3). 102
- Quadro 7** - Equações das retas para a produção específica acumulada de biogás nas amostras in natura e resíduos pós-cultivo em *Axonopus compressus* (n=3). 103
- Quadro 8** - Cálculo de oportunidade financeira de utilização de 1 tonelada de gramíneas in natura das espécies *Zoysia japonica* e *Axonopus compressus* na produção biogás em comparação aos mesmos substratos pré-tratados com *Pleurotus ostreatus*. 108

LISTA DE SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ABRELPE	Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos
Especiais	
ABREMA	Associação Brasileira de Resíduos e Meio Ambiente
ABIOGÁS	Associação Brasileira de Biogás
ANP	Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
ANPC	Associação Nacional de Produtores de Cogumelos
CO ₂	Dióxido de Carbono
CH ₄	Metano
CBIOs	Créditos de Descarbonização
Ca(OH) ₂	Hidróxido de Cálcio
H ₂	Hidrogênio
H ₂ S	Sulfeto de Hidrogênio
LEIMAA	Laboratório de Estudos Interdisciplinares Ambientais e Alimentares
NBR	Norma Brasileira
NH ₃	Amônia
N ₂	Nitrogênio
ODS	Objetivos de Desenvolvimento Sustentável
pH	Potencial Hidrogeniônico
VDI	Verein Deutscher Ingenieure (Associação dos Engenheiros Alemães)

LISTA DE ABREVIATURAS

CV	Coeficiente de Variação
DA	Digestão Anaeróbia
ETEs	Estações de Tratamento de Esgoto
EB	Eficiência Biológica
FORSU	Fração Orgânica dos Resíduos Sólidos Urbanos
GEE	Gases de Efeito Estufa
IN	<i>In Natura</i>
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
PNRS	Política Nacional dos Resíduos Sólidos
PIB	Produto Interno Bruto
PBM	Potencial Bioquímico de Metano
RSU	Resíduos Sólidos Urbanos
RV	Resíduos Verdes
RS	Resíduos Sólidos
SV	Sólidos Voláteis
SF	Sólidos Fixos
ST	Sólidos Totais
TC	Tempo de Colonização
TEP	Tempo de Emissão dos Primórdios
TFC	Tempo de Formação do Cogumelo
TT	Tempo Total de cultivo
Ttotal	Tempo total (TT + tempo de DA)
US	Umidade do Substrato

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 CAPÍTULO I: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
2.1 RESÍDUOS ORGÂNICOS NO BRASIL	20
2.2 MATRIZ ENERGÉTICA	23
2.3 PRODUÇÃO DE BIOGÁS	25
2.3.1 Produção de biogás no Brasil	26
2.3.2 A biomassa lignocelulósica na produção de biogás	27
2.3.3 Gramíneas como substrato na obtenção de biogás	31
2.3.4 Digestão anaeróbia	34
2.3.5 Pré-tratamentos na produção de biogás	37
2.3.5.1 <i>Fungos aplicados aos pré-tratamentos biológicos</i>	37
2.4 POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO (PBM)	42
2.5 PRODUÇÃO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS	42
2.5.1 <i>Pleurotus spp.</i>	43
2.5.2 <i>Pleurotus ostreatus</i>	46
2.6 RESÍDUOS PÓS-CULTIVO DE COGUMELOS NA PRODUÇÃO DE BIOGÁS	47
3 CAPÍTULO II: AVALIAÇÃO DO CULTIVO SEQUENCIAL DE COGUMELOS <i>Pleurotus ostreatus</i> EM GRAMÍNEAS, COM A POSTERIOR PRODUÇÃO DE BIOGÁS NOS RESÍDUOS PÓS-CULTIVO	50
3.1 RELEVÂNCIA DO ESTUDO	50
3.2 OBJETIVOS	51
3.2.1 Objetivo geral	51
3.2.2 Objetivos específicos	51
3.3 MATERIAL E MÉTODOS	52
3.3.1 Local do estudo	52
3.3.2 Desenho experimental	52
3.3.3 Amostras	53
3.3.4 Preparo de substratos	56
3.3.4.1 <i>Gramíneas para produção de substratos</i>	56
3.3.4.2 <i>Preparo dos substratos para inoculação de <i>Pleurotus ostreatus</i></i>	57
3.3.4.3 <i>Condições de inoculação, incubação e cultivo do cogumelo</i>	58
3.3.5 Parâmetros de avaliação de produção de cogumelos	59
3.3.5.1 <i>Massa Fresca</i>	59
3.3.5.2 <i>Eficiência Biológica (EB)</i>	59
3.3.5.3 <i>Tempo de Colonização (TC), Tempo de Emissão dos Primórdios (TEP), Tempo de Formação do Cogumelo (TFC) e Tempo Total de cultivo (TT)</i>	60
3.3.6 Caracterização pela série de sólidos	60
3.3.6.1 <i>Umidade e Sólidos Totais (ST)</i>	60

3.3.6.2 Sólidos Voláteis (SV) e Sólidos Fixos (SF)	61
3.3.7 Avaliação do PBM nos resíduos pós-cultivo	61
3.3.8 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	63
3.3.9 Análises estatísticas	64
3.3.10 Cálculo de oportunidade financeira	64
3.4.1. Cultivo de cogumelos comestíveis da espécie <i>Pleurotus ostreatus</i> e aproveitamento do resíduo pós-cultivo para produção de biogás	65
3.4.2 Ensaio de PBM em amostra <i>in natura</i> e resíduos pós-cultivo	73
3.4.3 Cinética dos ensaios de PBM	81
3.4.4 Avaliação estrutural por MEV	85
3.4.5 Resumo das melhores condições para produção de cogumelos e biogás	87
3.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	90
4 CAPÍTULO III: AVALIAÇÃO DO USO DE <i>Pleurotus ostreatus</i> COMO PRÉ-TRATAMENTO EM GRAMÍNEAS PARA PRODUÇÃO DE BIOGÁS	92
4.1 RELEVÂNCIA DO ESTUDO	92
4.2 OBJETIVOS	92
4.2.1 Objetivo geral	92
4.2.2 Objetivos específicos	92
4.3 MATERIAL E MÉTODOS	93
4.3.1 Local do estudo	93
4.3.2 Desenho Experimental	93
4.3.3 Amostras	94
4.3.4 Preparo de substratos	96
4.3.4.1 Obtenção de substratos para inoculação de <i>Pleurotus ostreatus</i>	96
4.3.4.2 Preparo dos substratos para inoculação de <i>Pleurotus ostreatus</i> com finalidade de pré-tratamento biológico	96
4.3.5 Condições de incubação	96
4.3.6 Caracterização pela série de sólidos	96
4.3.7 Avaliação do PBM nos substratos pré-tratados	97
4.3.9 Cálculo de oportunidade financeira	97
4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	98
4.4.2 Cinética dos ensaios de PBM	101
4.4.3 Avaliação estrutural dos resíduos pós-cultivo por MEV	104
4.4.4 Resumo de oportunidades financeiras dos pré-tratamentos para biogás	107
4.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	110
6 ETAPAS FUTURAS	111
7 REFERÊNCIAS	112

1 INTRODUÇÃO

A alta taxa do crescimento populacional e o aumento significativo no consumo de bens têm levado a sociedade a uma série de impactos ambientais, entre eles, danos substanciais aos recursos naturais, aumento da poluição e aquecimento global. Para impedir tais danos, as práticas humanas em relação à destinação de resíduos e ao uso de combustíveis fósseis precisam ser reavaliadas. O reaproveitamento de resíduos para diversos fins tem sido incentivado, assim como há uma indicação clara da necessidade da transição energética para uma matriz mais sustentável que colabore na redução de Gases de Efeito Estufa (GEE). Além disso, existe a preocupação com a característica finita dos combustíveis fósseis (Correa *et al.*, 2019; Perin *et al.*, 2019; André; Diogo, Koomen, 2017) que precisa ser resolvida.

A geração de Resíduos Sólidos Urbanos (RSU) surge como uma consequência direta do padrão de consumo, originando-se de diversas atividades humanas. Estes resíduos, quando descartados inadequadamente, podem causar impactos ambientais, sociais e econômicos negativos, como a contaminação de solos e água, a proliferação de insetos e a liberação de GEE na atmosfera. Em 2023 foram geradas 80.957.467 toneladas de RSU, dos quais apenas 40.575.905 toneladas foram destinadas aos aterros sanitários e a outra parcela, 40.381.562 toneladas, destinada aos lixões ou aterros controlados (ABREMA, 2024). Esses valores destacam a necessidade de intensificar esforços para lidar com a destinação apropriada de resíduos, como a sua reutilização para produção de energia e/ou alimentos, a fim de evitar danos ao ambiente e à saúde pública. Esses resíduos quando são descartados de forma imprópria emitem, principalmente, dióxido de carbono (CO₂) e metano (CH₄) na atmosfera, ambos são GEE e contribuem para o aquecimento global (Brasil, 2021).

Uma parte substancial dos RSU coletados é composta por matéria orgânica, representando cerca da metade de sua massa total (ABRELPE, 2020). Esta fração, conhecida como Fração Orgânica dos Resíduos Sólidos Urbanos (FORSU), é constituída na maioria por Resíduos Verdes (RV) provenientes da limpeza urbana, abrangendo todos os resíduos originários da varrição, limpeza de logradouros e vias públicas, além de outros (Brasil, 2010). Os RV provenientes da manutenção de áreas verdes possuem em sua composição restos de poda, desbaste de plantas, aparas de gramíneas, flores, galhos e folhas. Esses resíduos são compostos principalmente por celulose, hemicelulose e lignina, e são conhecidos como biomassa lignocelulósica. Processos biológicos, como compostagem e digestão anaeróbia, são

utilizados para o tratamento ambiental adequado desse tipo de resíduo (Hoeve *et al.*, 2019; Alino, 2020).

A biomassa lignocelulósica é uma matéria-prima altamente promissora para o seu reaproveitamento devido à sua abundância, fácil acesso, variedade tipológica, natureza renovável, custo reduzido e por não competir com a produção de alimentos. Ela engloba todos os materiais vegetais não destinados ao consumo humano, provenientes de diversas fontes, como resíduos de lavouras, resíduos silviculturais e industriais, além dos RV presentes no RSU (Brown *et al.*, 2017; Silva, 2017).

As gramíneas são um exemplo de biomassa lignocelulósica abundante e apresentam um ciclo curto de produção. No Brasil elas estão entre as 10 famílias com o maior número de espécies conhecidas e podem ser encontradas em todos os biomas (Filgueiras, 2021). Estudos demonstram a versatilidade de espécies de gramíneas, tanto no cultivo de cogumelos comestíveis, quanto na produção de biogás (Naraian; Dixit, 2017; Lourenço *et al.*, 2021; Edwiges *et al.*, 2019; Triolo *et al.*, 2012; Oleszek *et al.*, 2014). Alguns apontam, inclusive, a utilização do substrato pós-cultivo de cogumelos (*spent mushroom substrate*) como promissor para a produção de biogás, enquanto outros utilizam os fungos apenas como pré-tratamento biológico (Urban, 2017; Pérez-Chávez; Mayer; Albertó, 2019; Lourenço, 2022; Colavolpe *et al.*, 2012). O uso de gramíneas nestes processos produtivos apresenta baixo custo ou até mesmo nulo, o que reduz gastos com a disposição destes resíduos (Hernandez-Beltrán *et al.*, 2019).

O cultivo de cogumelos que demanda recursos como madeira geralmente resulta em problemas ambientais, como o desmatamento. Assim, o uso de gramíneas, principalmente residuais, para tal finalidade é considerado promissor, pois se trata de uma alternativa ambientalmente sustentável no cultivo de cogumelos comestíveis (Claude *et al.*, 2024). Neste sentido, a técnica *JunCao*, que combina o cultivo de cogumelos e o uso de gramíneas, oferece benefícios sociais, ecológicos e econômicos e é uma alternativa para o gênero *Pleurotus* (Urban, 2017).

O *Pleurotus* spp. é cultivado mundialmente, popularmente conhecido como cogumelo ostra, hiratake ou shimeji, representa cerca de 16% da produção total de cogumelos estimada em 44,2 milhões de toneladas, em 2021, com expectativa de chegar a 50,0 milhões de toneladas em 2025 (FAO, 2021; Mordor Intelligence, 2023). O mercado global para o gênero foi avaliado em 56,13 bilhões de dólares em 2023 e deverá atingir 102,37 bilhões de dólares até

2031, indicando um crescimento de cerca de 83% neste período (Data Bridge, 2024).

O cultivo de cogumelos *Pleurotus ostreatus* pode atuar como um pré-tratamento biológico das gramíneas e potencializar a produção de biogás. Esse gás é obtido pela digestão anaeróbia (DA) e consiste na decomposição de biomassa por micro-organismos na ausência de oxigênio, é constituído principalmente por CH₄ e CO₂ (Kunz; Steinmetz; do Amaral, 2019; Brasil, 2021). O biogás é convertível em energia térmica, energia elétrica ou purificado a biometano, que é um biocombustível considerado análogo ao gás natural (ANP, 2022). Durante a DA, a depender da biomassa lignocelulósica, podem ser necessárias etapas preliminares denominadas de pré-tratamento, cujo objetivo é fazer a quebra da lignina e deixar os compostos mais acessíveis à DA. Esses pré-tratamentos podem ser químicos, físicos, biológicos, ou ainda a combinação destes (Hernández-Beltrán *et al.*, 2019; Rodriguez *et al.*, 2017).

A exemplo das aplicações biológicas, o *Pleurotus ostreatus* é conhecido por deixar o substrato composto de biomassa lignocelulósica com cor esbranquiçada, tornando-os porosos e quebradiços como resultado da decomposição, principalmente da lignina, atuando como um pré-tratamento biológico (Abdel-Hamid; Solbiati; Cann, 2013; Urban, 2017; Raman *et al.*, 2020; Pérez-Chávez; Mayer; Albertó, 2019; Nawarathne; Daranagama, 2024). O pré-tratamento pode diminuir a cristalinidade da celulose e o teor de lignina, o que facilita para que os microrganismos da DA tenham mais acesso aos nutrientes do substrato (Kousar *et al.*, 2024; Carrillo *et al.*, 2004; Alino, 2020; Hernández-Beltrán *et al.*, 2019). O pré-tratamento com o gênero *Pleurotus*, em diferentes tipos de biomassa lignocelulósica, pode resultar em um aumento na produção de biogás de até 3,9 vezes em relação ao mesmo substrato não tratado (Pérez-Chávez; Mayer; Albertó, 2019).

Nesse cenário, entende-se que estudos devem ser desenvolvidos com vistas a compreender os melhores aspectos do uso de fungos para a produção de alimentos e no pré-tratamento biológico de substratos vegetais para a produção de biogás, de modo a superar barreiras tecnológicas atuais, a exemplo da resistência da estrutura da biomassa lignocelulósica à DA e a formação de camada sobrenadante em biodigestores, fatores que resultam em baixo rendimento de biogás e biometano.

Com tais perspectivas, esse estudo tem por finalidade avaliar de forma inédita a sequência do cultivo de cogumelos comestíveis da espécie *Pleurotus ostreatus* em gramíneas

das espécies *Zoysia japonica* (grama esmeralda) e *Axonopus compressus* (grama São Carlos), com a posterior produção de biogás nos resíduos pós-cultivo. Foram avaliados os parâmetros biológicos de cultivo dos cogumelos, nos resíduos pós-cultivo foram realizados ensaios de PBM para determinar a produção de CH₄, do biogás, e ensaios de MEV para avaliar a estrutura dos substratos. Também de forma inédita se avaliou o uso de *Pleurotus ostreatus* apenas como pré-tratamento das mesmas gramíneas a partir da realização de ensaios de PBM para determinar a produção de CH₄ do biogás e ensaios de MEV.

2 CAPÍTULO I: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 RESÍDUOS ORGÂNICOS NO BRASIL

O aumento da população global ocasionou uma elevação correspondente no consumo de bens pela sociedade, que por sua vez tem gerado uma série de desafios ambientais como a mudança climática. Esses incluem mitigar a exaustão de recursos naturais, a produção elevada de resíduos, a contaminação da água e do ar, o comprometimento do solo e, conseqüentemente, a extinção de diversas espécies animais e vegetais (Malinowski; Laita, 2024). Nesse sentido, a geração de Resíduos Sólidos (RS) aparece como uma consequência deste modelo de consumo adotado. Estes são gerados nas cidades e no campo, podem ser provenientes de distintas atividades humanas e, quando descartados de maneira inadequada, podem acarretar diversos impactos ambientais, sociais e econômicos, como a contaminação de corpos d'água, solos e atmosfera (Correa *et al.*, 2019; Perin *et al.*, 2019).

Existe uma ampla variedade de RS, podendo ser classificados conforme as normas estabelecidas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), em específico a Norma Brasileira (NBR) 10004:2024. Tal normativa classifica os resíduos em: Classe 1 – Perigosos: Resíduos com propriedades que podem causar danos à saúde e ao meio ambiente e Classe 2 – Não Perigosos: Resíduos que, embora não sejam perigosos, podem impactar negativamente o meio ambiente se descartados incorretamente (ABNT, 2024).

Dentro da perspectiva urbana, a Política Nacional dos Resíduos Sólidos (PNRS), Lei nº 12.305/10, define RS no Art. 3º:

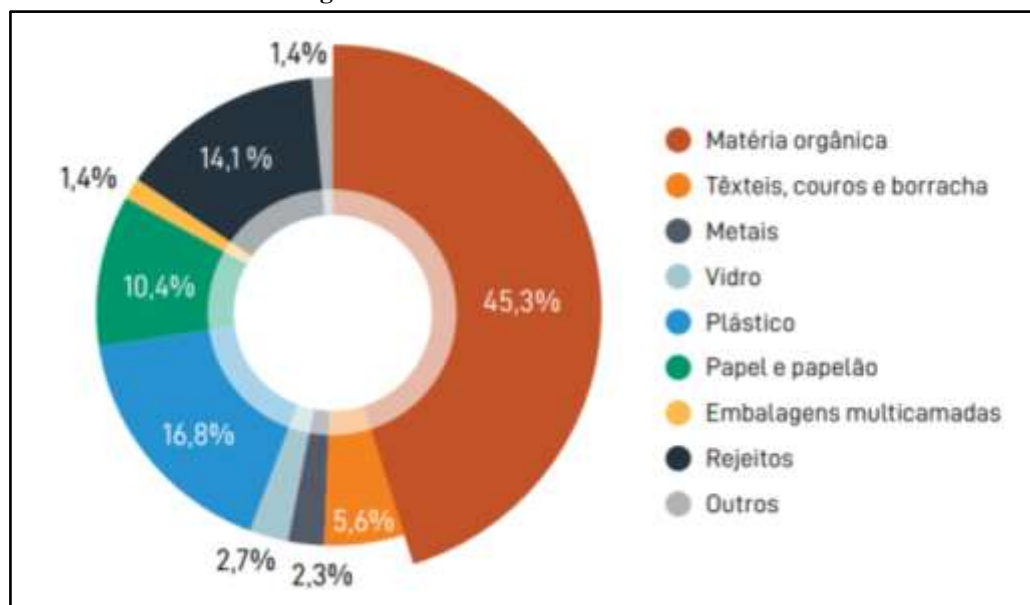
XVI - resíduos sólidos: material, substância, objeto ou bem descartado resultante de atividades humanas em sociedade, cuja destinação final se procede, se propõe proceder ou se está obrigado a proceder, nos estados sólido ou semissólido, bem como gases contidos em recipientes e líquidos cujas particularidades tornem inviável o seu lançamento na rede pública de esgotos ou em corpos d'água, ou exijam para isso soluções técnicas ou economicamente inviáveis em face da melhor tecnologia disponível.

Ademais, a mesma lei traz uma classificação para RSU como todos os resíduos domiciliares e resíduos de limpeza urbana que incluem resíduos de varrição, podas de árvores e gramas, e outros serviços de limpeza (Brasil, 2010).

A composição gravimétrica do RSU no Brasil, conforme dados do Panorama

de Resíduos Sólidos no Brasil 2020, publicado pela Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais (ABRELPE), pode ser observada na Figura 1.

Figura 1 - Gravimetria dos Resíduos Sólidos Urbanos no Brasil.



Fonte: ABRELPE, 2020.¹

Em 2019, a matéria orgânica, ou seja, a FORSU dentro do RSU coletado no Brasil foi de 45,3%, compostas por resíduos de sobras e perdas de alimentos e RV. Esta fração é tida como considerável quando comparada aos demais constituintes majoritários do RSU (16,8% plástico, 10,4% papel e 14,1% de rejeitos). Além disso, é estimado que a geração de RSU apresente uma curva crescente ao longo dos próximos 30 anos, com um aumento de quase 50,0%, em comparação ao ano base de 2019. Durante o mesmo período, espera-se um crescimento populacional de 12,0%, destacando a influência crucial da perspectiva econômica nessa equação. Isso se deve ao contínuo avanço do Produto Interno Bruto (PIB) e ao consequente aumento do poder de compra da sociedade (ABRELPE, 2020).

Nesse cenário, a destinação inadequada da FORSU é um desafio mundial e nacional. Sabe-se que a decomposição dessa fração resulta em emissões de GEE, geração de chorume, odores e consequentemente a contaminação do meio ambiente como solo, corpos de

¹ Não foram encontradas na literatura referências atualizadas sobre esta temática considerada de extrema relevância para a disposição e tratamento de RSU.

água e atmosfera. (Zago e Barros, 2019). Quando esses resíduos são descartados de maneira inadequada ou mesmo quando depositados em aterros sanitários, liberam tanto CO₂, quanto o CH₄ na atmosfera. Ambos os gases são reconhecidos como GEE, que contribuem para o aumento da temperatura global. No entanto, por meio de um planejamento adequado, é possível aproveitar o CH₄ como fonte de energia através da captura desse biogás produzido pelo reaproveitamento ou tratamento dos resíduos antes de serem destinados aos aterros sanitários, ou ainda por investimentos em aterros sanitários adaptados para a captura do biogás proveniente da decomposição dos resíduos orgânicos (CIBiogás, 2018).

A FORSU é classificada como Classe II pela NBR 10004:2024 (ABNT, 2024). Os RV são uma fração importante dentro da FORSU e, como tal, também são classificados como resíduos sólidos da Classe II (ABNT, 2024). Segundo o Art. 13 - alínea b da PNRS, os RV se enquadram em resíduos de limpeza urbana, que são todos aqueles originários da varrição, limpeza de logradouros e vias públicas, além de outros serviços de limpeza urbana (Brasil, 2010). Estes, quando devidamente separados, podem ser aproveitados para a produção de alimentos, como cogumelos comestíveis, e também gerar energia renovável, como o biogás (Lourenço *et al.*, 2021; Lourenço, 2022; Brasil, 2016; Kuczman *et al.*, 2018).

A produção de RV é contínua e significativa, vindo principalmente da manutenção de áreas verdes públicas e privadas. Esse tipo de resíduo é composto principalmente por restos de poda e desbaste de plantas, ou seja, gramas, flores, galhos e folhas (Hoeve *et al.*, 2019). A composição química dos RV é orgânica, formada principalmente por celulose, hemicelulose e lignina (biomassa lignocelulósica). Assim, processos biológicos, como a compostagem e a digestão anaeróbia, são considerados para o tratamento adequado destes passivos ambientais (Alino, 2020).

O uso de RV na geração de energia constitui uma alternativa coerente com o cenário atual de transição energética e com potencial de crescimento no mercado energético mundial. Esses resíduos podem ser considerados uma fonte de energia viável, de baixo custo e que não interfere na produção de alimentos já consolidada (Pérez-Chávez; Mayer; Albertó, 2019). Um dos principais constituintes da RV são as aparas de gramíneas que apresentam disponibilidade constante e, por esse motivo, há necessidade da busca por alternativas que agreguem valor comercial a este resíduo, como a DA (Itaipu Binacional, 2017).

Os RV são reconhecidos por apresentarem custos reduzidos em determinados

ciclos produtivos, podendo ser até considerado nulo. Em alguns casos também se evita custos com a disposição adequada desses resíduos. O uso de RV em processos produtivos promove melhorias na qualidade do meio ambiente e nas condições sanitárias de propriedades, especialmente em países em desenvolvimento (Hernández-Beltrán *et al.*, 2019).

Apesar da legislação indicar os aterros sanitários como um meio de disposição adequada, a PNRS - ou, Lei nº 12.305/10, preconiza uma ordem de prioridade no gerenciamento de resíduos, que se inicia pela não geração, redução, reutilização, reciclagem e tratamento dos resíduos sólidos, considerando como última alternativa à disposição final em aterros sanitários (Brasil, 2010). Embora o descarte final de resíduos orgânicos em aterros sanitários seja considerado a última opção na ordem de prioridade conforme a PNRS, no Brasil sua utilização é necessária devido ao expressivo volume de resíduos gerados pela população.

Dentro da perspectiva de tratamento do RSU e reaproveitamento da FORSU, a produção de alimentos por meio do cultivo de cogumelos comestíveis e a produção de energia renovável pela obtenção de biogás de RV são consideradas alternativas que podem ser exploradas com sucesso, contribuindo para economia circular, transição energética e para se alcançar os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), entre eles: (2) Fome zero e agricultura sustentável, (7) Energia limpa e acessível, (11) Promoção de cidades e comunidades sustentáveis, (12) Consumo e produção responsáveis e (13) Ação contra mudança do clima (ONU, 2024).

2.2 MATRIZ ENERGÉTICA

A matriz energética do Brasil se destaca pela significativa participação de energias renováveis, atingindo 49,1% do total produzido em 2023. Dentre essas fontes renováveis estão: biomassa de cana-de-açúcar (16,9%), hidráulica (12,1%), lenha e carvão vegetal (8,6%), eólica (2,6%), licor preto e outros renováveis (7,2%) e solar (1,7%). Ao se observar apenas o licor preto e outros renováveis se têm: licor preto (47,1%), biodiesel (27,5%), outras biomassas (22,6%), biogás (2,0%) e gás industrial de carvão vegetal (0,8%) (EPE, 2024). Nota-se que apesar da grande participação das renováveis ainda há um amplo espaço para sua expansão na perspectiva de transição energética e aumento do uso de fontes renováveis.

O crescimento previsto no setor de energias renováveis está diretamente

ligado às desvantagens resultantes da exploração e do uso excessivo de combustíveis fósseis, incluindo o esgotamento dessas fontes, a contaminação ambiental e a emissão de CO₂. Portanto, é crucial dar prioridade ao desenvolvimento de tecnologias que ampliem a utilização de energias mais limpas, capazes de mitigar impactos ambientais, reduzir custos e apresentar viabilidade para implantação em larga escala (Rouches *et al.*, 2016).

É relevante salientar que cada fonte renovável possui características distintas, incluindo variações na quantidade de energia produzida e na periodicidade da geração. Por exemplo, a energia solar é gerada apenas durante o dia, a eólica depende da presença de vento, e a hídrica pode ser impactada por estiagens e secas. Todas essas peculiaridades podem resultar em uma oferta de energia mais escassa e, conseqüentemente, mais cara (EPE, 2022). Dessa forma, a diversificação da matriz energética é essencial para se obter segurança energética, sob a perspectiva da transição energética.

O biogás se destaca com grande potencial de produção nesse cenário de integração energética, tendo em vista que pode ser obtido o ano todo a partir de uma ampla gama de substratos e está apto a ser produzido de forma descentralizada, aproveitando ao máximo o potencial de produção de cada localidade (CIBiogás, 2022). Esse gás, combustível renovável, possui inúmeras funcionalidades, tais como a geração de energia térmica para aquecimento de instalações residenciais e industriais, fonte de produção de eletricidade a partir do uso de geradores e aplicação como biocombustível de automóveis, após processo de purificação a biometano (Ho; Ngo; Guo, 2014).

Segundo a Associação Brasileira de Biogás (ABIOGÁS), o potencial teórico de produção de biogás total estimado em território nacional é de 84,6 bilhões de Nm³/ano, porém segundo o documento “Panorama do Biogás - 2024” elaborado pelo CIBiogás, o potencial instalado em operação em 2024 foi de cerca de 4,7 bilhões de Nm³/ano que representa 5,7% do potencial teórico total de produção de biogás. Esses números indicam o potencial futuro de crescimento do setor (ABIOGÁS, 2021; CIBiogás, 2024).

Ademais, há a possibilidade de purificação de biogás a biometano, um biocombustível contemplado na RenovaBio - Lei nº 13.576 de 2017. A produção de biometano pode contribuir com a descarbonização do setor energético por meio da geração de créditos de descarbonização (CBIOS), que pode gerar renda extra ao produtor (Brasil, 2017)

O biometano é um combustível análogo ao gás natural, mas diferente de seu

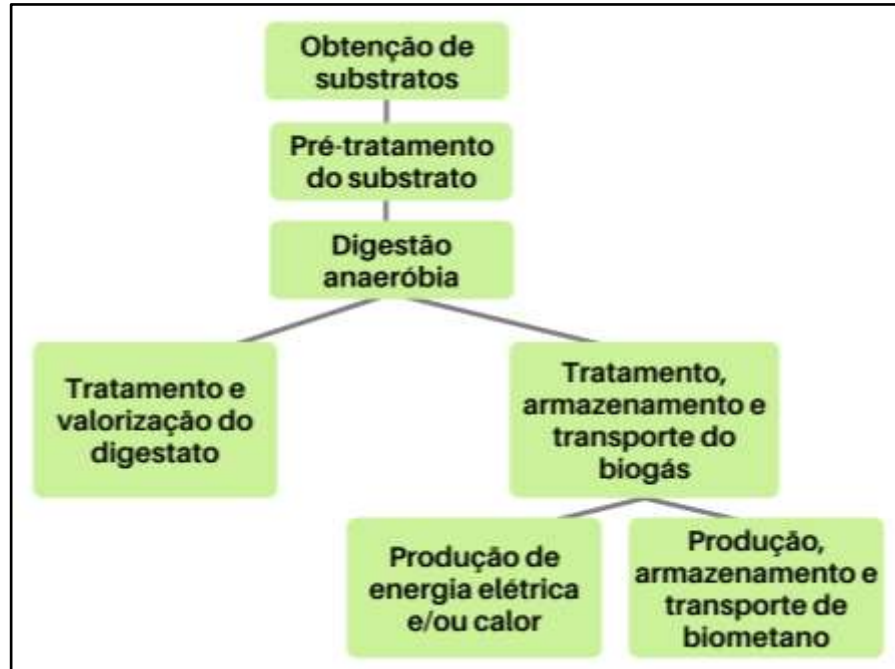
precursor é produzido de fontes renováveis (ANP, 2022). O seu potencial de descarbonização está vinculado ao seu processo de produção e transporte, uma vez que em sua produção é utilizado biomassa. Para termos de comparação, o gás natural emite cerca de 56,0 gCO₂eq/MJ, enquanto o biometano produzido no Brasil emite entre 5,9 a 14,4 gCO₂eq/MJ (UNICA DATA, 2022; ANP, 2022). Nessas condições a substituição de cada m³ de gás natural pelo biometano pode reduzir entre 74,0 e 90,0% as emissões de CO₂.

Nos últimos anos a produção desse biocombustível aumentou substancialmente no Brasil e nesse cenário, tanto o biogás quanto o biometano podem ser essenciais e devem contribuir para a transição e descarbonização da matriz energética nacional.

2.3 PRODUÇÃO DE BIOGÁS

O biogás é uma mistura gasosa gerada pela decomposição de matéria orgânica na ausência de oxigênio, sua composição majoritária é composta por CH₄ e CO₂ (Kunz; Steinmetz; do Amaral, 2019).

Na maioria dos processos de produção de biogás, as matérias-primas ou substratos, de origem animal ou vegetal, geralmente residual, são armazenados e acumulados em tanques e, após isso, direcionados aos processos de pré-tratamento, que é uma etapa não obrigatória que se faz necessária a depender da origem do substrato. Em seguida é feita a destinação ao biodigestor que, geralmente, possui em sua própria estrutura o local para o armazenamento do gás produzido (Strippel *et al.*, 2016). As principais etapas da cadeia de produção e uso de biogás estão dispostas na Figura 2.

Figura 2 - Etapas da cadeia da produção e uso de biogás.

Fonte: A autora, 2025.

Ao término da digestão anaeróbia, obtém-se o biogás e o digestato. Este último é composto por nutrientes que permanecem no material digerido e resulta em um resíduo rico em nutrientes que pode ser utilizado como fertilizante. É importante observar os requisitos legais, como as regulamentações relacionadas a fertilizantes, higiene e resíduos sólidos, durante a utilização subsequente do digerido como fertilizante (Rodriguez *et al.*, 2017).

2.3.1 Produção de biogás no Brasil

Segundo o BiogásMap, em 2024, no Brasil existiam cerca de 1365 plantas, destas 1324 estavam em operação, e juntas apresentam o potencial de produção de 4,1 bilhões de Nm³/ano. Essas plantas são subdivididas com relação à origem dos seus substratos que podem ser oriundos da agropecuária, saneamento e indústria. Dentre os estados que apresentam o maior número de unidades produtoras de biogás, destacam-se Minas Gerais (224), Paraná (139), Santa Catarina (55), São Paulo (54) e Goiás (52) (CIBiogás, 2024).

O documento “Panorama do Biogás no Brasil 2022” traz dados que demonstram que apesar do maior número de unidades produtivas ser do setor agropecuário

(78,0%), estas apresentam apenas 10,0% do volume de biogás produzido. Enquanto o maior volume de produção é proveniente do saneamento, 74,0%, com apenas 10,0% do número total de plantas. O setor industrial foi capaz de produzir 16,0% do volume de biogás com apenas 12,0% das unidades produtivas. Cabe destacar um crescimento de 22,0% no volume de biogás em relação ao ano de 2021, com um aumento de 114 novas plantas de biogás (CIBiogás, 2024).

O setor de saneamento contempla os aterros sanitários (fração orgânica do RSU), as usinas de tratamento de resíduos orgânicos e as estações de tratamento de esgoto (ETEs). Embora o maior volume de biogás produzido em 2022 seja proveniente desse setor, dos cerca de 699 aterros sanitários que estavam em operação em 2021 no Brasil, apenas 63 possuem captação de biogás para fins energéticos, que correspondem a apenas 9,0% do total de unidades. Destes, 57 apresentam a energia elétrica como o principal uso do biogás, 10 destes aterros também estão aptos à geração de energia térmica e 6 aterros estão autorizados pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) para produção de biometano (SNIS, 2022; CIBiogás, 2022; Lourenço *et al.*, 2023). Esses dados demonstram o potencial de crescimento desse setor, caso haja o reaproveitamento energético do biogás em mais aterros.

O setor industrial, que contempla abatedouros e frigoríficos, usinas de açúcar e etanol, fecularias e amidonarias, cervejarias, indústrias de óleo vegetal, gelatina, entre outros, tem demonstrado potencial para crescimento tendo em vista, principalmente, o setor sucroenergético. Enquanto o agropecuário inclui as atividades de criação de animais como avicultura, bovinocultura, suinocultura, ovinocultura, dentre outros (CIBiogás, 2024).

Com base no potencial de produção de biogás no Brasil associado ao crescimento do setor nos últimos anos, espera-se que, tanto o biogás, quanto o biometano apresentem boas perspectivas para aumentar a participação de fontes renováveis na matriz energética nacional.

2.3.2 A biomassa lignocelulósica na produção de biogás

O biogás pode ser obtido de uma ampla gama de resíduos vegetais (Brémond *et al.*, 2018; Wobiwo *et al.*, 2018; Pérez-Chávez; Mayer; Albertó, 2019) que se incluem na biomassa lignocelulósica, definida como um material biológico obtido de organismos vivos ou

recentemente vivos, e é considerada a principal matéria-prima potencial para a produção de bioenergia, sendo a fonte natural mais econômica e altamente renovável do mundo (Hernández-Beltrán *et al.*, 2019; OCDE, 2019).

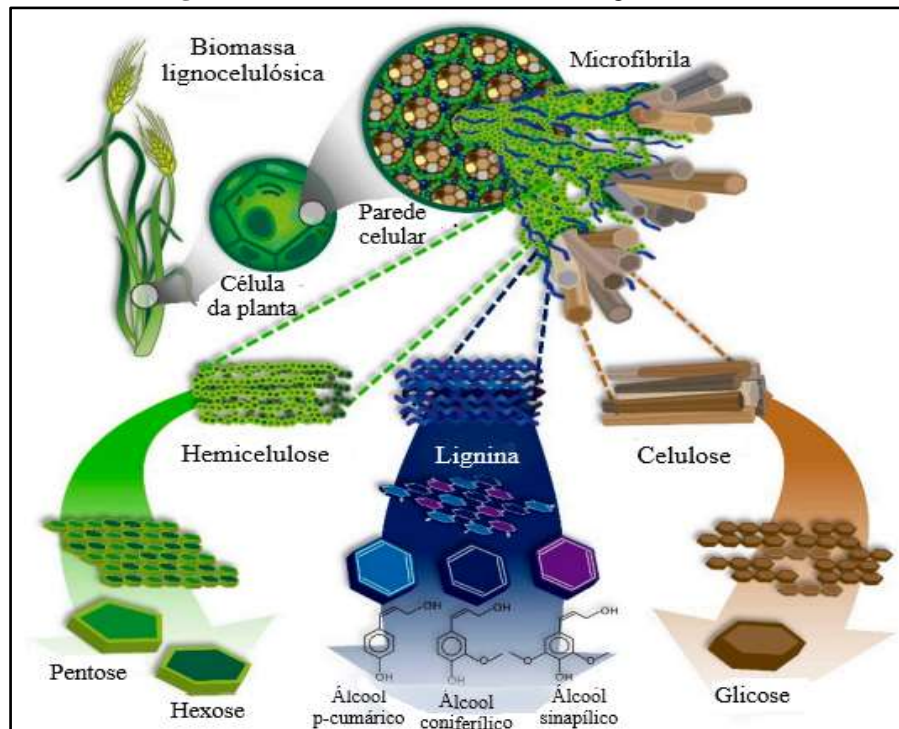
A produção de biogás se dá por meio da transformação dos Sólidos Voláteis (SV) contidos na matéria orgânica pela digestão anaeróbia (Montañez-Hernández *et al.*, 2018). A biomassa lignocelulósica é considerada uma matéria-prima altamente promissora devido à sua abundância, ampla variedade tipológica, natureza renovável, custo reduzido e ausência de competição com a produção de alimentos. Ela compreende todo material vegetal não destinado ao consumo humano, proveniente de florestas, culturas energéticas, fazendas agrícolas, entre outras fontes. Esta inclui resíduos de lavouras, como palha de milho, palha de trigo, casca de arroz, entre outros, e resíduos silviculturais tais como galhos e folhas de árvores, resíduos industriais que incluem resíduos de papel e celulose, resíduos de madeira, bagaço e palhas de cana-de-açúcar, e os RV existentes no RSU, que incluem folhas e galhos de árvores, restos de podas de jardim e gramíneas (Brown *et al.*, 2017; Silva, 2017). A Figura 3 ilustra a composição da estrutura da biomassa lignocelulósica.

A celulose é o principal componente da estrutura celular vegetal que compõe a biomassa lignocelulósica. Constitui a estrutura principal da parede celular das plantas, formada por subunidades de glicose ligadas por ligações β -1,4-glicosídicas. Sua fórmula molecular é $(C_6H_{10}O_5)_n$, com grau de polimerização entre 8.000 e 10.000. Possui regiões cristalinas e amorfas, com grau de cristalinidade variável. Na parede celular, assume disposições diversas, com partes cristalinas organizadas por ligações de hidrogênio e partes amorfas de cadeias ramificadas (Vasconcelos, 2012; Tibolla *et al.*, 2018; Marriott; Gómez; Mcqueen-Mason, 2015).

A hemicelulose representa a segunda maior proporção de materiais na composição da biomassa lignocelulósica, formando uma família de polissacarídeos de baixo peso molecular, como pentoses e hexoses, que conectam as fibras de celulose em microfibrilas e fazem ligações cruzadas com a lignina, contribuindo, assim, para a resistência estrutural. Está intimamente associada à celulose na parede celular das plantas. Composta por unidades de açúcar ligadas por ligações glicosídicas, possui ramificações de manose, arabinose, galactose e glicose. As hemiceluloses se depositam na parede celular antes da lignificação e variam em grau de ramificação e identidade dos açúcares secundários, conforme o tipo de vegetal (Rubin,

2008; Vasconcelos, 2012). A estrutura ramificada da hemicelulose facilita sua hidrólise, permitindo que seus polissacarídeos sejam mais facilmente quebrados por ácidos, isso ocorre devido à sua estrutura amorfa e por apresentar menor grau de polimerização em comparação com a celulose (Ogata, 2013).

Figura 3- Estrutura interna da biomassa lignocelulósica.



Fonte: Adaptado de Hernández-Beltrán *et al.*, 2019.

A hemicelulose representa a segunda maior proporção de materiais na composição da biomassa lignocelulósica, formando uma família de polissacarídeos de baixo peso molecular, como pentoses e hexoses, que conectam as fibras de celulose em microfibrilas e fazem ligações cruzadas com a lignina, contribuindo, assim, para a resistência estrutural. Está intimamente associada à celulose na parede celular das plantas. Composta por unidades de açúcar ligadas por ligações glicosídicas, possui ramificações de manose, arabinose, galactose e glicose. As hemiceluloses se depositam na parede celular antes da lignificação e variam em grau de ramificação e identidade dos açúcares secundários, conforme o tipo de vegetal (Rubin, 2008; Vasconcelos, 2012). A estrutura ramificada da hemicelulose facilita sua hidrólise, permitindo que seus polissacarídeos sejam mais facilmente quebrados por ácidos, isso ocorre

devido à sua estrutura amorfa e por apresentar menor grau de polimerização em comparação com a celulose (Ogata, 2013).

A lignina é o constituinte não-carboidrato mais representativo da biomassa vegetal (Chen, 2014). É um polímero tridimensional formado a partir da oxidação de álcoois: *p*-cumaril, coniferil e sinapil, que se conecta aos outros componentes da biomassa vegetal, como celulose e hemicelulose, por ligações covalentes. Apresenta uma estrutura amorfa complexa e diversa, sendo altamente resistente à degradação química e biológica, dificultando o acesso à celulose por enzimas hidrolíticas. Além disso, proporciona rigidez, resistência à compressão, proteção contra insetos e patógenos, e melhora o transporte de água dentro da planta. O grau de polimerização da lignina pode ser influenciado por diversos fatores, como solventes, potencial hidrogeniônico (pH), força iônica e temperatura. Devido à sua estrutura variável, os métodos de remoção da lignina devem ser adaptados de acordo com a especificidade do material e o objetivo que deseja alcançar (Gomes, 2019; Bond; Alonso; Dumesic, 2013; Vanholme *et al.*, 2010; Zhao *et al.*, 2010).

Os compostos predominantes na composição da biomassa lignocelulósica são: a celulose, representando de 35,0% a 50,0%, a hemicelulose, com uma proporção de 20,0% a 35,0%, e a lignina, variando de 10,0% a 25,0%, complementadas por quantidades menores de minerais, extrativos e outras substâncias (Aguiar; Ferraz, 2011; Vasconcelos, 2012). A composição de diferentes biomassas lignocelulósicas estão dispostas na Tabela 1.

Cabe ressaltar que cada biomassa lignocelulósica apresenta diferentes teores de celulose, hemicelulose e lignina. A combinação desses teores pode auxiliar na caracterização de cada material, ademais, esses substratos são recalcitrantes devido à sua estrutura heterogênea. Assim, a conversão biológica desses materiais é desafiadora, principalmente devido à presença da lignina, à cristalinidade da celulose e às interações entre lignina, hemicelulose e celulose (Gomes, 2019; Bond; Alonso; Dumesic, 2013).

Tabela 1 - Composição de substratos lignocelulósicos: celulose, hemicelulose e lignina (%) em base seca.

Biomassas lignocelulósicas	Composição em base seca (%)			Referências
	Celulose	Hemicelulose	Lignina	
Palha de milho	49,3 ± 1,8	28,8 ± 1,4	7,5 ± 0,4	Song <i>et al.</i> , (2014)
Gramma	47,12 ± 3,2	36,01 ± 3,2	11,55 ± 0,3	Merino <i>et al.</i> , (2016)
Gramma do Prado	41,28 ± 5,3	28,14 ± 3,2	30,14 ± 7,9	Tsapekos; Kougiias; Angelidaki (2018)
Palha de arroz	37,8 ± 0,2	29,6 ± 0,7	14,8 ± 0,4	Mustafa; Poulsen; Sheng (2016)
Palha de sorgo	26,93 ± 1,2	32,57 ± 1,9	10,16 ± 1,8	Hernández-Beltrán; Hernández-Escoto (2018)
Bagaço de cana	46,1 ± 0,7	20,1 ± 0,9	20,3 ± 0,6	Nosratpour; Karimi; Sadeghi (2018)

Fonte: Adaptado de Hernández-Beltrán *et al.*, (2019).

Reconhecendo todos esses aspectos, as gramíneas contidas nos RV são uma biomassa lignocelulósica abundante e, por isso, com grande potencial para a geração de biogás, porém pela sua composição há a necessidade da realização de pré-tratamentos para a disponibilização dos compostos para digestão anaeróbia e para que se aumente a eficiência na geração de CH₄ (Carrillo *et al.*, 2004; Alino, 2020; Hernández-Beltrán *et al.*, 2019). Atualmente, a estrutura da biomassa lignocelulósica é a principal barreira técnica, operacional e econômica para o uso deste material em larga escala na produção de biogás (Gueri *et al.*, 2020; Achinas; Achinas; Euverink, 2017).

2.3.3 Gramíneas como substrato na obtenção de biogás

As gramíneas são um exemplo de biomassa lignocelulósica e, no Brasil, estão entre as 10 famílias com o maior número de espécies conhecidas, podem ser encontradas em todos os biomas (Filgueiras, 2021) e são as principais espécies vegetais encontradas em áreas como margens de estradas, campos, encostas de rios e áreas urbanas, o que torna difícil quantificar o seu volume disponível. Além disso, as gramíneas atuam na prevenção da erosão, na absorção de minerais lixiviados, no sequestro de carbono, e são uma fonte fundamental de alimento para herbívoros e ruminantes. Elas também auxiliam na regulação dos fluxos hídricos,

na filtragem de pesticidas e fertilizantes, no fornecimento de habitat para a vida selvagem e no embelezamento da paisagem (Prochnow *et al.*, 2009; Carlier; Rotar; Vidican, 2009).

As gramíneas são uma fonte renovável e abundante e podem ser aproveitadas na produção de biogás, destacando-se pela vantagem de possuírem um ciclo curto de crescimento e por poderem ser cultivadas em terras não aráveis, evitando, assim, a competição com a produção de alimentos. No entanto, a produção de biogás proveniente desta biomassa lignocelulósica ainda é limitada devido às suas características (Rodriguez *et al.*, 2017).

As taxas de crescimento das plantas são afetadas pela fotossíntese e fatores ambientais. As gramíneas são classificadas em C3 e C4, com diferenças anatômicas entre elas. As espécies C4 requerem mais luz e são comuns em regiões tropicais, enquanto as C3 são mais encontradas na Europa. Gramíneas podem ser anuais (cereais) ou perenes (forrageiras), com as tropicais crescendo mais rápido que árvores e gerando mais biomassa em menor tempo. Ademais, o tipo de gramínea influencia na produção de biogás devido à variação em sua composição, impactando os substratos disponíveis para a digestão anaeróbia (Waller; Lewis, 1979; Triolo *et al.*, 2012).

Há um interesse pelo uso de gramíneas na produção de biogás, em estudos diversas espécies têm sido exploradas para essa finalidade. Embora a DA seja uma alternativa para o reaproveitamento de gramíneas, a degradação de sua estrutura é complexa devido à presença predominante de lignina, celulose e hemicelulose. Esses componentes são resistentes à etapa de hidrólise e a ação de micro-organismos da DA, resultando na formação de uma camada de resíduos não digeridos na superfície do biodigestor. Tanto a resistência do substrato à DA quanto a sua estrutura fibrosa, que contribuem para a formação dessa camada, indicam a necessidade de aprimoramentos no processo de digestão (Rodriguez *et al.*, 2017). Assim, antes de passar pelo processo de DA, a grama precisa ser preparada adequadamente para fornecer uma maior área de superfície aos microrganismos no biodigestor. Isso contribui para melhorar e acelerar o processo de degradação (Alaswad *et al.*, 2015; Rodriguez *et al.*, 2015).

Na Irlanda do Norte, a maioria das plantas de DA utilizam gramíneas na co-digestão, que consiste na mistura de diferentes substratos para a DA, frequentemente combinadas com outros materiais, como esterco de animais. Na Alemanha, entre 30,0 e 40,0% das usinas de biogás utilizam grama ou silagem de grama como co-substrato, ou seja, um dos substratos na composição da mistura de alimentação do biodigestor, com uma média de 8,0%

de participação em massa de silagem de grama no substrato total, podendo chegar em alguns casos a até 50,0% (IEA, 2014; Elsässer *et al.*, 2012).

No Brasil não há conhecimento de plantas mapeadas que já utilizam gramíneas, em larga escala em seus processos de produção de biogás, isso se dá pela grande disponibilidade de resíduos orgânicos em território nacional que apresentam menores desafios tecnológicos em relação às gramíneas. Porém, com as expectativas de crescimento do setor e a produção descentralizada característica do biogás, as gramíneas podem oferecer uma oportunidade para a complementação da dieta do biodigestor e incrementar a produção de biogás quando associadas aos outros substratos já consolidados.

Ademais, por não haver a necessidade de serem cultivadas, mas sim crescerem naturalmente, a grama não demanda os processos de alta energia necessários para fertilização e aplicação de pesticidas. Assim, presume-se que o balanço energético seja mais vantajoso, embora os rendimentos de biogás não sejam tão altos quanto em outras espécies agrícolas (Rodriguez *et al.*, 2017).

Na literatura, relata-se que a produção de biogás e/ou CH₄ pode variar muito a depender da espécie. Os resultados de produção de biogás em diferentes estudos estão dispostos na Tabela 2.

Tabela 2 - Produção de biogás e metano (CH₄) em diferentes espécies de gramíneas.

Espécie	Produção relatada de biogás ou CH ₄	Referência
Mistura de gramas compostas por: <i>Panicum maximum</i> , <i>Zoysia japonica</i> e <i>Axonopus compressus</i>	255 ± 4,0 a 323 ± 6 LN kgSV ⁻¹ de CH ₄	Edwiges <i>et al.</i> , (2019)
<i>Phalaris arundinacea</i> L. (cultivada)	406 ± 21 LN kgSV ⁻¹ de biogás	Oleszek <i>et al.</i> , (2014)
Grama selvagem	120 ± 16 LN kgSV ⁻¹ de biogás	Oleszek <i>et al.</i> , (2014)
<i>Poa pratensis</i> , <i>Trifolium repens</i> , <i>Poa abbreviata</i> e mistura de gramas.	288,7 ± 3,5 a 388,9 ± 10,2 LN kgSV ⁻¹ de CH ₄	Triolo <i>et al.</i> , (2012)

Fonte: A autora, 2025.

Edwiges e colaboradores (2019) conduziram um estudo sobre o uso de resíduo de jardim composto pela mistura de gramíneas das espécies *Panicum maximum*, *Zoysia japonica* e *Axonopus compressus* na DA. Foram realizados ensaios de PBM que demonstraram uma produção de 255 a 323 LN kgSV⁻¹ de CH₄. A presença de CH₄ no biogás foi de 68,0 a 72,0%. Deve-se observar que as misturas de gramíneas podem apresentar diferentes PBM, a depender da proporção dos compostos individuais da mistura.

Valores superiores foram observados em gramíneas cultivadas, da espécie *Phalaris arundinacea* L., quando comparadas às silvestres (Oleszek *et al.*, 2014). O objetivo da pesquisa foi responder se o *habitat* e a forma de utilização das plantas afetam o rendimento de biogás. A espécie cultivada apresentou produção de biogás de 406 ± 21 LN kgSV⁻¹, enquanto que as gramíneas silvestres obtiveram produção de apenas 120 ± 16 LN kgSV⁻¹, resultando em um rendimento de 3,4 vezes na grama cultivada em relação à selvagem. O estudo não apresentou dados de rendimento de CH₄. Essa pesquisa demonstra como diferentes espécies podem apresentar distintas composições químicas e afetar os rendimentos na DA.

Triolo e colaboradores (2012), estudaram diferentes espécies, *Poa pratensis*, *Trifolium repens*, *Poa abbreviata* e na mistura delas, totalizando nove amostras. Os valores de produção de CH₄ foram de 288,7 ± 3,5 a 388,9 ± 10,2 LN kgSV⁻¹ com concentração média de CH₄ de cerca de 58,3%. A variação de volume de CH₄ obtido entre as diferentes amostras foi de cerca de 26,0% e indica a necessidade de avaliar pontualmente as diversas gramíneas que serão submetidas na DA.

2.3.4 Digestão anaeróbia

O biogás é uma mistura gasosa, gerado pela DA de biomassa e é constituído, majoritariamente, por CH₄, entre 50,0 e 75,0% em volume, e CO₂, entre 25,0 e 50,0% em volume. Apresenta diferentes concentrações de hidrogênio (H₂), sulfeto de hidrogênio (H₂S) e outros gases traços, a depender da matéria-prima (Kainthola; Kalamdhad; Goud, 2019; Kunz; Steinmetz; do Amaral, 2019; Parsaee; Kiani; Karimi. 2019). Além da produção de CH₄, que tem seu potencial energético reconhecido, o CO₂ pode ser capturado e utilizado em diferentes atividades, que incluem a produção de produtos químicos e

biocombustíveis (EBA, 2024; IEA, 2019).

A DA é um processo biológico que transforma substratos orgânicos sólidos ou líquidos em biogás, através da ação de micro-organismos na ausência de oxigênio. A DA ocorre em quatro etapas: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (Kainthola; Kalamdhad; Goud, 2019; Curto; Martín, 2019), e para ser considerada eficiente, alguns fatores devem ser observados e controlados, pois estes podem beneficiar ou inibir o processo, são eles: presença de oxigênio, temperatura, agitação, pH e nutrientes (Kunz; Steinmetz; do Amaral, 2019; Chernicharo, 2007; Deng; Liu; Wang, 2020; Singh; Szamosi; Siménfalvi, 2020).

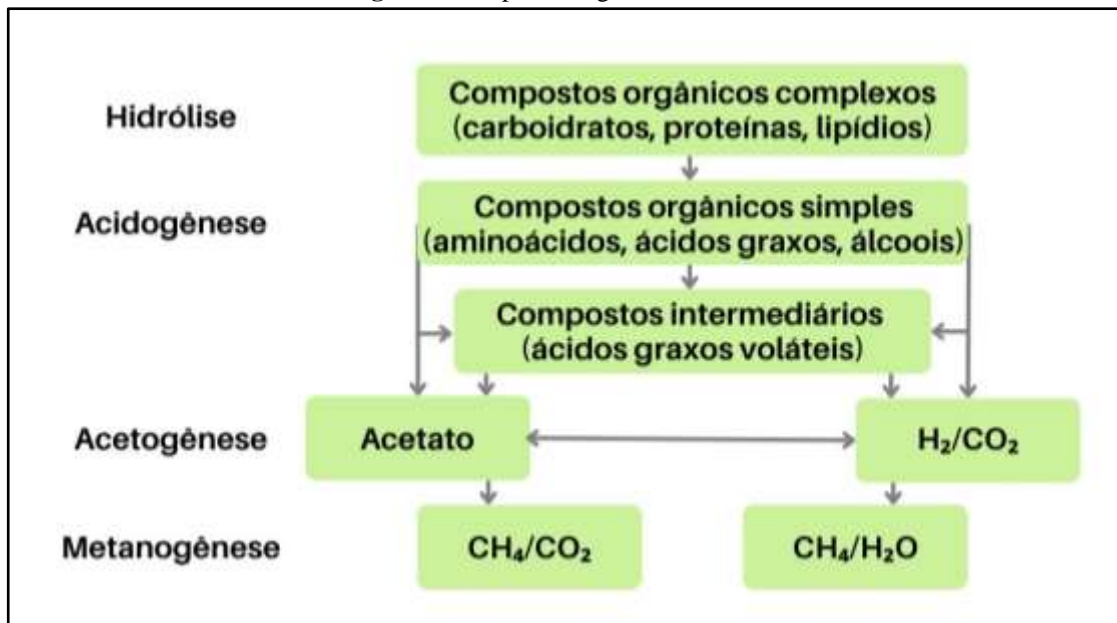
A hidrólise refere-se à transformação de polímeros orgânicos complexos, como carboidratos, proteínas e lipídios, em moléculas mais simples, realizada pela atividade de enzimas extracelulares secretadas por bactérias hidrolíticas. A facilidade de degradação do substrato está intimamente ligada à composição, assim como a produção de CH₄. Existe uma ordem de degradação da matéria orgânica que se inicia pelos carboidratos de cadeia curta > proteínas > lipídios > hemicelulose > celulose > lignina (Deublein; Steinhäuser, 2011). Dessa forma, espera-se que resíduos ricos em lignina, como biomassa vegetal, apresentam maior dificuldade de degradação na hidrólise quando comparados com outros substratos. Nessa etapa, também ocorre a quebra de ligações covalentes e o oxigênio dissolvido é consumido por micro-organismos anaeróbios facultativos, assim, o crescimento dos estritamente anaeróbios é favorecido. Ademais, a hidrólise é responsável por fornecer os nutrientes necessários para ocorrerem as etapas posteriores da DA (Deublein; Steinhäuser, 2011; Kunz; Steinmetz; do Amaral, 2019).

Na próxima etapa, conhecida por acidogênese, os monômeros resultantes da fase anterior são convertidos por bactérias fermentativas, principalmente do gênero *Acetobacter*, em ácidos carboxílicos de cadeia curta, dentre eles os ácidos: acético (mais abundante), propiônico e butírico. Além disso, ocorre a produção de compostos nitrogenados e sulfurados (Deng; Liu; Wang, 2020).

Durante a acetogênese, os compostos formados na fase anterior são utilizados pelas bactérias acetogênicas, ou seja, cada ácido carboxílico de cadeia curta gerado durante a acidogênese passa por um processo de bioconversão, visando obter substratos diretos para a produção de CH₄. No desfecho dessa etapa ocorre a geração de ácido acético, CO₂ e H₂, que são os precursores do biogás (Deublein; Steinhäuser, 2011; Chernicharo, 2007; Korres *et*

al., 2013). Na etapa final, conhecida como metanogênese, o carbono contido na matéria orgânica é convertido pela ação das *Arqueas metanogênicas* em CO_2 e CH_4 . As etapas envolvidas na DA estão dispostas na Figura 4.

Figura 4 - Etapas da digestão anaeróbia.



Fonte: Lourenço, 2022.

O Biogás pode conter H_2O , H_2S , O_2 , CO_2 , amônia (NH_3) e outros gases traços em sua composição e, por isso, é essencial compreender a composição de cada biogás e sua posterior utilização, pois para cada uso haverá uma necessidade específica de processo de purificação que deverá ser adotado conforme as características intrínsecas do biogás (Deng; Liu; Wang, 2020; CIBiogás, 2018). A purificação é indispensável, principalmente quando a finalidade é o aumento da concentração de CH_4 , pela produção do biometano, um biocombustível utilizado em motores a combustão.

Deve-se atentar que os substratos residuais de origem vegetal, como palhas, grãos, borras de café, gramíneas, pastagens, entre outros, são lignocelulósicos e, por isso, possuem baixa degradabilidade, devido à dificuldade no acesso às suas estruturas moleculares. Essa característica dificulta a degradação destes pelos micro-organismos, o que afeta a produção do biogás (Brémond *et al.*, 2018; Wobiwo *et al.*, 2018; Pérez-Chávez; Mayer; Albertó, 2019).

Nesses casos, por muitas vezes, se faz necessária a etapa de pré-tratamento do substrato, para que as barreiras físicas e químicas sejam minimizadas e haja um aumento da hidrólise da celulose durante a DA, ou seja, o pré-tratamento permite ampliar os poros na camada externa do substrato e reduzir a sua cristalinidade, essa alteração estrutural causa um aumento da área de contato que torna as reações químicas da DA mais rápidas, e resulta no aumento no rendimento de biogás quando comparado à mesma amostra sem o pré-tratamento. O uso desse tipo de estratégia permite a utilização de uma gama maior de substratos e, além disso, previne a formação de camadas flutuantes no interior dos biodigestores (Budzianowski, 2016; Tılma *et al.*, 2018).

2.3.5 Pré-tratamentos na produção de biogás

Conforme já mencionado anteriormente, a biomassa lignocelulósica apresenta algumas barreiras em sua utilização na produção de biogás, devido à sua estrutura recalcitrante. Assim, há a necessidade de que os substratos com tais características sejam pré-tratados para otimizar a produção de biogás e biometano.

O objetivo de um pré-tratamento é aumentar a área superficial acessível e o volume de poros, reduzir o teor de lignina e remover seletivamente as estruturas de hemicelulose, a fim de disponibilizar os açúcares fermentescíveis a partir da celulose e da hemicelulose entre outras moléculas (Sun; Cheng, 2002).

Entre as vantagens do uso de pré-tratamentos em biomassa lignocelulósica estão: diminuição do tempo da DA, aumento no rendimento na produção de biogás, redução da flutuação de material no interior do biodigestor, menores custos com eletricidade para agitação e viabilização de utilização de substratos locais (Montgomery; Bochmann, 2014).

Os pré-tratamentos são classificados em físicos (ultrassom, mecânico ou micro-ondas), químicos (alcalino, ácido, solventes orgânicos ou líquido iônico), físico-químicos (explosão a vapor, explosão de fibra por amônia ou hidrotérmico), biológicos (microrganismos ou enzimático) e a combinação desses (Hernández-Beltrán *et al.*, 2019; Rodriguez *et al.*, 2017).

Os denominados físicos englobam métodos que dispensam o uso de compostos externos durante o processo de preparação, como produtos químicos, água e

microorganismos. Os métodos de pré-tratamentos físicos mais comuns são os mecânicos, os ultrassônicos e os de micro-ondas (Rodriguez *et al.*, 2017). Apesar do alto custo energético associado a estes métodos, seja em termos de calor ou eletricidade, sua vantagem reside no fato de não requerer reagentes químicos ou micro-organismos, além de não gerar compostos inibidores da fermentação (Taherzadeh; Karimi, 2008). Em particular, processos físicos requerem energia abundante para a conversão da biomassa (Rodriguez *et al.*, 2017).

Os químicos envolvem uma ampla gama de ácidos, bases ou solventes orgânicos, os quais induzem alterações na estrutura física e química da biomassa lignocelulósica. Possuem a capacidade de degradar as estruturas complexas dos carboidratos, proteínas e lipídios, aumentar a disponibilidade de açúcares fermentáveis, remover a lignina e reduzir o grau de polimerização e cristalinidade da celulose. Esse tipo de pré-tratamento está recebendo maior destaque devido à sua tendência de ser mais econômico e proporcionar taxas de hidrólise mais rápidas, que propiciam o uso de reatores menores devido ao menor tempo de retenção hidráulica (Hernández-Beltrán *et al.*, 2019).

O pré-tratamento químico ácido é recomendado para a solubilização da hemicelulose e pode ser realizado utilizando ácido concentrado ou ácido diluído, tais como ácido sulfúrico, ácido clorídrico, ácido nítrico e ácido acético. Embora o ácido concentrado seja altamente eficaz na hidrólise da celulose, ele é extremamente tóxico e corrosivo, exigindo materiais especiais para a construção dos reatores. Por outro lado, o ácido diluído é uma opção mais econômica e pode hidrolisar até 100,0% da hemicelulose em seus açúcares componentes durante o pré-tratamento da biomassa lignocelulósica. Já o pré-tratamento químico alcalino é considerado mais eficaz na remoção de lignina (hidróxidos de sódio e potássio). Ademais, a alcalinidade residual na biomassa pode contribuir para a prevenção de queda no pH durante a etapa de acidogênese (Rodriguez *et al.*, 2017).

Os pré-tratamentos químicos têm sido utilizados no aumento da degradação de moléculas orgânicas complexas, como a lignina, que de outra forma não poderia ser digerida (Hernández-Beltrán *et al.*, 2019). Porém, deve-se atentar para a geração de resíduos químicos nesses processos que deverão ser tratados.

Já o pré-tratamento biológico envolve atividades bacterianas, fúngicas e enzimáticas, utilizando fungos como os da podridão marrom e branca para degradar a biomassa lignocelulósica. A pré-acidificação, conhecida como pré-tratamento microbiano anaeróbio,

pode melhorar a produção de biogás, separando a hidrólise e a acidogênese da produção de CH₄ para evitar efeitos inibitórios sobre os metanogênicos. A hidrólise enzimática utiliza enzimas para degradar a biomassa, sendo uma alternativa mais segura e menos energética que os métodos térmicos ou químicos (Rodriguez *et al.*, 2017).

Por outro lado, o pré-tratamento biológico possui a desvantagem de ser mais lento em relação aos demais, no entanto, é vantajoso por ter maior viabilidade econômica, pois pode ocorrer em baixas temperaturas e não necessita do uso de reagentes. Assim, na maioria das vezes, pode ser associado com o pré-tratamento físico. Além disso esse tipo de tratamento não produz compostos inibitórios e tem capacidade de melhorar o rendimento de CH₄ em substratos lignocelulósicos (Rouches *et al.*, 2016; Hernández-Beltrán *et al.*, 2019; Pérez-Chávez; Mayer; Albertó, 2019).

2.3.5.1 Fungos aplicados aos pré-tratamentos biológicos

Nos últimos vinte anos, diversos grupos de fungos foram estudados por sua capacidade seletiva de degradar lignina e hemicelulose (Shirkavand *et al.*, 2016). Em uma análise realizada por Pérez-Chávez e colaboradores (2019), que avaliaram 28 pesquisas, foram identificadas 41 espécies fúngicas e 43 substratos puros ou misturados. Os resultados dessa análise revelaram que 80,0% das pesquisas comprovaram um aumento na produção de biogás devido ao pré-tratamento. Além disso, 74,0% dos estudos que mediram a produção de CH₄ observaram um aumento na produção. Do total, 13 das espécies fúngicas investigadas são comestíveis, incluindo 5 do gênero *Pleurotus*: *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus eryngii* var. *tuoliensis*, *Pleurotus florida*, *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju*. Entre os 28 pré-tratamentos que empregaram o gênero *Pleurotus*, 82,0% registraram um aumento na produção de biogás de até 3,9 vezes em comparação com os substratos não tratados.

O uso de fungos da podridão branca como pré-tratamento tem se destacado devido à sua capacidade de prosperar em materiais ricos em lignocelulose e, conseqüentemente, degradar a lignina de forma eficaz (Brémond *et al.*, 2018; Rodriguez *et al.*, 2017).

Esse conjunto de fungos, também conhecidos por lignícolas, inclui várias espécies de cogumelos comestíveis, como o *Agaricus* spp., que cresce em compostagem, e outros que se desenvolvem em vegetais pasteurizados, como o *Lentinula edodes* e o *Pleurotus*

spp. Este último, conhecido popularmente como cogumelo ostra ou shimeji, é um dos cogumelos mais cultivados globalmente, apresentando uma variedade de cores e formas e demonstrando um potencial superior de degradação da lignina em comparação com outros fungos (Urban, 2017; ANPC, 2020).

Recentemente, o uso do pré-tratamento biológico foi avaliado e resultou em um aumento na produção de biogás e CH₄ ao empregar o *Pleurotus* spp. em diferentes substratos. A Tabela 3 demonstra a viabilidade da utilização do gênero *Pleurotus* como tratamento prévio em diferentes materiais lignocelulósicos.

Tabela 3 - Avaliação do tempo de duração de pré-tratamento em dias (DP), variação da produção de biogás e variação na produção de metano (CH₄), em relação ao substrato *in natura*, utilizando espécies do gênero *Pleurotus*.

Espécie	Substrato	DP (dias)	Variação do biogás (%)	Variação de CH ₄ (%)	Referências
<i>Pleurotus eryngii</i>	Palha de milho	42	+4,4	+18,2	Tuyen <i>et al.</i> , (2013).
	Palha de arroz	42	+14,0	+12,0	Tuyen <i>et al.</i> , (2013).
	Folha de palma	42	+71,4	+77,4	Tuyen <i>et al.</i> (2013).
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Palha de milho	42	-13,3	+15,4	Tuyen <i>et al.</i> , (2013).
	Palha de arroz	20	+56,0	+165,0	Mustafa <i>et al.</i> , (2017)
	Folha de palma	42	+61,9	+86,3	Tuyen <i>et al.</i> , (2013).

Fonte: A autora, 2025.

Dos artigos revisados que empregaram o gênero *Pleurotus* spp. como pré-tratamento, 83,3% demonstraram um aumento na produção de biogás, enquanto 100,0% registraram um aumento na produção de CH₄ em comparação com as amostras de controle (substrato *in natura*). O aumento na produção de CH₄ variou entre 12,0 e 165,0% (Tuyen *et al.*, 2013; Mustafa *et al.*, 2017). Entre as principais enzimas produzidas pelo gênero *Pleurotus* estão as celulases, xilanase, lacase, manganês peroxidase (MnP), proteases e amilase. As atividades enzimáticas e dos cogumelos ostra se diferem dependendo de suas espécies, natureza e composição do substrato de cultivo (Hernández-Domínguez; Sánchez; Díaz-Godínez, 2017;

Niyimbabazi *et al.*, 2022). As lacases, lignina-peroxidases e peroxidases dependentes de Mn são enzimas envolvidas na degradação da lignina e são produzidas por fungos do gênero *Pleurotus* (Tlecuitl-Beristain *et al.*, 2008).

Cabe ressaltar que no estudo realizado por Mustafa e colaboradores (2017) na palha de arroz foram combinados o pré-tratamento biológico com o físico de moagem, resultando em uma redução de 30,0% na lignina e um aumento de 165,0% na produção de CH₄ em um processo de DA de apenas 20 dias (Mustafa *et al.*, 2017).

Além disso, esses fungos podem ser utilizados simultaneamente para a produção de cogumelos comestíveis e como pré-tratamento da biomassa lignocelulósica como na utilização dos resíduos pós-cultivo para obtenção de biogás, conforme abordado em estudo realizado por Lourenço *et al.* (2021) em amostras de borra de café associada às gramíneas no cultivo de *Pleurotus ostreatus*. O substrato composto de 50,0% borra de café e 50,0% *Zoysia japonica*, obteve eficiência biológica (EB) de 106,6%, ou seja, a cada 1,00 kg de resíduo seco foi produzido 1,06 kg de cogumelos e resultou no resíduo de cultivo no qual produziu $462,4 \pm 13,2$ e $277,4 \pm 7,9$ LN kgSV⁻¹ de biogás e CH₄, respectivamente.

Para maximizar os rendimentos na produção de biogás, é crucial monitorar a atividade fúngica desde a seleção de cepas de alta qualidade até o processo de inoculação do fungo no substrato e sua introdução no biodigestor. Além disso, os parâmetros de qualidade do biogás e do biodigestato gerados também precisam ser verificados (Rouches *et al.*, 2016). Aspectos como espécie do fungo, proporção de inóculo em relação ao substrato e tempo de incubação do substrato (tempo de pré-tratamento). No caso de cultivo de cogumelos, o número de frutificações, a eficiência biológica e o rendimento da produção devem ser cuidadosamente analisados, pois impactarão na qualidade do resíduo pós-cultivo que pode ser utilizado na DA (Shirkavand *et al.*, 2016; Urben, 2017; Pérez-Chávez; Mayer; Albertó, 2019). Portanto, indiferente do uso do fungo, apenas como pré-tratamento ou no cultivo de cogumelos seguido por produção de biogás no resíduo pós-cultivo, é essencial otimizar todo o processo (Rouches *et al.*, 2016).

Em estudos com pré-tratamentos, uma das formas de monitoramento da DA e de obtenção de informações sobre o rendimento de produção de biogás, sua composição e o rendimento de CH₄ é por meio de ensaios laboratoriais regidos pela VDI 4630 (2016). Essa norma alemã auxilia no controle e operação de reatores anaeróbios, dentre eles o ensaio de

PBM. Para compreender os resultados de um pré-tratamento, são recomendados ensaios de PBM a nível de bancada, para que todas as condições operacionais sejam controladas e monitoradas, os resultados possam ser mensurados, e avaliada a viabilidade de aplicação de tal tratamento em escala real.

2.4 POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO (PBM)

O ensaio de PBM é um procedimento laboratorial que visa avaliar a produção máxima de CH_4 em uma amostra específica, realizada sob condições rigorosamente controladas e pré-determinadas. O experimento envolve a combinação de uma amostra de substrato orgânico com um inóculo anaeróbio. Os dados resultantes desses experimentos são quantificados em termos de volume de biogás e CH_4 gerados por unidade de massa de matéria orgânica, ajustados para condições normais de temperatura e pressão, ou seja, LN kgSV^{-1} . Os testes de PBM oferecem dados que ajudam a identificar a degradabilidade e o comportamento cinético da digestão anaeróbia, adaptados para cada tipo de substrato (Angelidaki *et al.*, 2009; Konrad *et al.*, 2018).

A norma alemã VDI 4630 (2016) é a metodologia mais utilizada para este tipo de ensaio e descreve o procedimento de DA, ressaltando os cuidados com a amostra e a importância de se manter as condições ideais, a fim de maximizar a produção de gás, com auxílio de um inóculo anaeróbio e adaptado à temperatura que será realizada a incubação (Cleves *et al.*, 2016). Cabe ressaltar que a produção de biogás depende da biodegradabilidade da fração volátil da matéria orgânica denominada SV de cada substrato. Além disso, para se evitar a acidificação, devido ao excesso de carga orgânica, a proporção entre a massa de SV do inóculo e do SV da amostra não deve ultrapassar 0,5 (VDI, 2016).

2.5 PRODUÇÃO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS

A produção de cogumelos comestíveis no Brasil iniciou na década de 50, o que é considerado relativamente recente em comparação com países europeus, asiáticos e norte-americanos. Esse alimento é altamente valorizado na culinária, não apenas pelo sabor e textura,

mas também pela riqueza em proteínas que oferece em sua composição (Soccol *et al.*, 2017; ANPC, 2020).

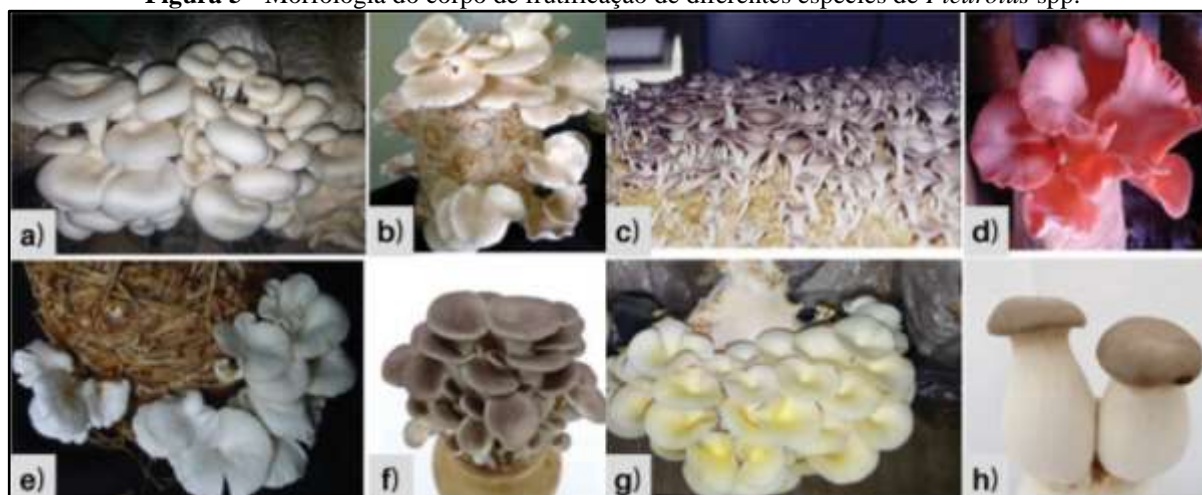
Em levantamento realizado pela Associação Nacional de Produtores de Cogumelos (ANPC) em 2018, foi verificado que o consumo *per capita* de cogumelos no Brasil foi de aproximadamente 0,16 kg por pessoa ao ano, um valor considerado baixo em comparação com países europeus, como França, Itália e Alemanha, onde esse consumo é de cerca de 2,0 kg *per capita* anualmente. Em contrapartida, os países asiáticos consomem em média 8,0 kg de cogumelos por habitante ao ano (ANPC, 2020). No contexto nacional, os estados de São Paulo e Paraná se destacam como os maiores produtores, e as espécies *Agaricus bisporus*, *Pleurotus* spp. e *Lentinula edodes* são as mais produzidas (ICAR, 2019; ANPC, 2020).

Segundo o relatório da Industry ARC (2019), é previsto que o mercado global de cogumelos alcance US\$49,7 bilhões até 2025, impulsionado pelo aumento da urbanização e do crescimento populacional. Isso resultará em uma demanda significativa por cogumelos e produtos derivados desses fungos.

2.5.1 *Pleurotus* spp.

O gênero *Pleurotus* apresenta cerca de 40 espécies, e é conhecido por sua diversidade em cores, tamanhos e formatos, contribui com aproximadamente, 25,0% da produção global de cogumelos comestíveis, sendo o segundo mais produzido no Brasil. Sua produção é impulsionada por ser rico em proteínas, fibras, aminoácidos, minerais e vitaminas solúveis em água, além de seu potencial uso como aromatizantes e em aplicações medicinais (Raman *et al.*, 2020; Feeney *et al.*, 2014; Knop; Yarden; Hadar, 2014; Golak-Siwulska *et al.*, 2018). Algumas das principais espécies do gênero são apresentadas na Figura 5.

Figura 5 - Morfologia do corpo de frutificação de diferentes espécies de *Pleurotus* spp.



a) *Pleurotus ostreatus*; (b) *Pleurotus flabellatus*; (c) *Pleurotus florida*; (d) *Pleurotus pulmonarius*; (e) *Pleurotus sajor-caju*; (f) *Pleurotus eous*; (g) *Pleurotus citrinopileatus*; (h) *Pleurotus eryngii*.

Fonte: Adaptado de Raman et al., (2021).

Os cogumelos desse gênero são conhecidos por suas propriedades nutricionais, terapêuticas e farmacológicas, sendo algumas espécies ricas em compostos fenólicos com ação antioxidante (Patel; Naraian; Singh, 2012; Gasecka *et al.*, 2015). Estudos indicam que o consumo regular desses cogumelos ou seu uso em suplementos alimentares pode melhorar a imunidade e reduzir o colesterol em humanos (Golak-Siwulska *et al.*, 2018).

Dentre as principais espécies estão o *P. ostreatus*, *P. eryngii*, *P. djamor*, *P. citrinopileatus* e *P. pulmonarius*. Esses fungos secretam enzimas, como lacases, lignina peroxidase e manganês peroxidase, e crescem naturalmente em troncos de árvores e materiais orgânicos em decomposição (Patel; Naraian; Singh, 2012; Bellettini *et al.*, 2019).

Esses fungos são capazes de degradar lignina, processo denominado podridão branca devido à coloração branca e aspecto cotonoso de seu micélio (aspecto de algodão). Essa ação enfraquece os materiais lignocelulósicos, tornando-os porosos e quebradiços. Dessa forma, são viáveis para cultivo em diversos tipos de resíduos agroindustriais e urbanos compostos por biomassa lignocelulósica e ricos em celulose, hemicelulose e lignina. Suas características os tornam possíveis de serem utilizados como pré-tratamento de substratos para a produção de biogás (Urban, 2017; Raman *et al.*, 2020; Pérez-Chávez; Mayer; Albertó, 2019).

O cultivo de cogumelos é reconhecido como uma prática de baixo custo, capaz de mitigar os impactos ambientais causados pela destinação inadequada de resíduos.

Além disso, essa abordagem de cultivo comercial contribui para a preservação de recursos naturais e para o desenvolvimento sustentável (Zárate-Salazar *et al.*, 2020; Meyer *et al.*, 2020). Ademais, estudos apontam para o potencial de incremento na produção de biogás e biometano a partir do uso desses fungos no pré-tratamento biológico em amostras de palhas de arroz e de milho, além de folhas de palma (Tuyen *et al.*, 2013; Mustafa *et al.*, 2017).

A técnica *JunCao*, que combina o cultivo de cogumelos (*Jun*) com o uso de gramíneas (*Cao*) nos substratos, oferece benefícios sociais, ecológicos e econômicos. Originária da China na década de 80, tornou-se o método de cultivo mais comum para o *Pleurotus* spp. Inicialmente, a serragem era utilizada como substrato, mas ao longo dos anos foi substituída por gramíneas (Urban, 2017).

No estudo conduzido por Naraiian e Dixit (2017), foi utilizado erva daninha como substrato para três espécies de cogumelos: *Pleurotus florida*, *Pleurotus eous* e *Pleurotus sajor-caju*, e avaliadas as eficiências biológicas para esses experimentos. A eficiência biológica (EB) é um parâmetro que expressa em percentual a razão entre a produção de cogumelos frescos e a massa seca de substrato seco. Os resultados obtidos foram de 90,0%, 89,0% e 82,0%, para as três espécies, respectivamente. Assim, as gramíneas de podas, reconhecidas por serem o principal constituinte da fração orgânica do RSU e por serem uma biomassa lignocelulósica, podem apresentar grande potencial para a sua utilização, tanto em cultivos de cogumelos comestíveis do gênero *Pleurotus*, quanto na produção de biogás quando submetidas ao pré-tratamento fúngico.

2.5.2 *Pleurotus ostreatus*

A capacidade de adaptação do *Pleurotus ostreatus* em uma variedade de substratos residuais e em misturas deles, juntamente com sua tolerância às temperaturas em torno de 30 °C, tem impulsionado sua ampla produção e comercialização em diversos países e ao longo de diferentes estações do ano (Freitas *et al.*, 2018; Bellettini *et al.*, 2019; Figueiró; Graciolli, 2011; Oliveira *et al.*, 2018; Lourenço, 2022).

O *Pleurotus ostreatus*, popularmente conhecido como cogumelo ostra, hiratake ou shimeji, representa cerca de 19,0% da produção mundial, ficando atrás apenas do *Lentinula edodes* (Shiitake), com 22,0% (Sánchez; Royse, 2017). Além disso, seu cultivo pode

ser realizado com tecnologia de baixo custo e oferece alta rentabilidade econômica devido às significativas taxas de conversão do substrato em corpos de frutificação (Owaid; Abed; Al-Saeedi, 2017; Patel; Naraiian; Singh, 2012). No Brasil, esse é produzido em várias regiões e em diferentes estações do ano, sem a necessidade de gastos excessivos com controle de temperatura (Urben, 2017; Bellettini *et al.*, 2019).

Lourenço *et al.*, (2021) utilizaram uma mistura de gramíneas de podas na produção de *Pleurotus ostreatus* e obtiveram uma EB de 117,3%. Em outro estudo foi avaliada a produção da mesma espécie fúngica em amostras de borra de café associada às gramíneas *Zoysia japonica* e *Cynodon* spp. cv. *Tifton 85*. Obteve-se EB de até 106,6%, além disso, os resíduos desse pós-cultivo foram destinados aos ensaios de PBM e avaliados o seu potencial de produção de biogás, que foi de até $462,4 \pm 13,2$ LN kgSV⁻¹ (Lourenço, 2022).

A espécie em questão se demonstra como uma ótima alternativa para a destinação adequada de resíduos de podas de gramíneas, uma vez que esses podem ser reaproveitados como substrato para a produção de alimentos de qualidade e, conseqüentemente, gera resíduos pós-cultivo, que podem ser utilizados na produção de combustível renovável pela DA. A Figura 6 apresenta os principais aspectos morfológicos de cogumelos da espécie *Pleurotus ostreatus*.

Figura 6 - Cogumelos *Pleurotus ostreatus* e seus principais aspectos morfológicos.



Fonte: A autora, 2025.

2.6 RESÍDUOS PÓS-CULTIVO DE COGUMELOS NA PRODUÇÃO DE BIOGÁS

Após a bioconversão dos resíduos lignocelulósicos por meio do cultivo de cogumelos, um subproduto vegetal conhecido como resíduo pós-cultivo é gerado, composto pelo resíduo parcialmente degradado e o micélio do fungo utilizado. Esse material representa cerca de 40,0 a 50,0% do volume original inicial do cultivo. Estudos demonstram que os resíduos pós-cultivo do gênero *Pleurotus* apresentam uma notável degradação de lignina (41,0 - 50,0%), hemicelulose (16,0 - 48,0%) e celulose (3,8 - 17,0%) em comparação com os substratos originais de palhas de arroz e trigo (Taniguchi *et al.*, 2005; Čilerdžić *et al.*, 2017).

A composição do resíduo pós-cultivo pode variar em decorrência da espécie cultivada e da biomassa utilizada (Saad *et al.*, 2017). Sabe-se que a produção média mundial anual de cogumelos comestíveis é de 8 milhões de toneladas, resultando em cerca de 5,0 kg de resíduos pós-cultivo gerado para cada 1,0 kg de cogumelo produzido (Zisopoulos *et al.*, 2016; Niazi; Ghafoor, 2021).

O resíduo pós-cultivo demonstra um potencial significativo para ser utilizado como matéria-prima na biodigestão anaeróbia, devido à sua baixa concentração de compostos orgânicos lignocelulósicos e células fúngicas. As produções de biogás em alguns resíduos pós-cultivo de cogumelos comestíveis estão dispostas na Tabela 4.

Em estudo realizado por Mehta e colaboradores (1990) foi investigado o uso de *Pleurotus florida* como pré-tratamento para a produção de biogás. O estudo avaliou diferentes períodos de incubação do fungo em amostras de palha de arroz, especificamente 30, 60 e 90 dias, sem induzir a frutificação. A pesquisa registrou uma produção de 148 LN kgST⁻¹ de biogás, mas não forneceu dados sobre a quantidade de CH₄ presente no gás produzido.

Em pesquisa realizada por Vieira (2021) avaliou a produção de biogás e CH₄ a partir de substratos exauridos da produção de *Agaricus bisporus*, também conhecido como Champignon de Paris. Esse substrato é composto por uma mistura de palha de trigo (40,0 - 50,0%), esterco de cavalo (20,0 - 25,0%), esterco de aves (10,0 - 15,0%) e gesso (5,0 - 10,0%). O processo de digestão anaeróbia teve uma duração de 43 dias e resultou em uma produtividade de 305,95 e 157,38 LN kgSV⁻¹ de biogás e CH₄, respectivamente. Além disso, a autora ressalta que a comercialização de cogumelos é rentável, porém há altos custos de produção pelo uso de eletricidade, utilizada para manter as temperaturas adequadas aos cultivos, que a depender da espécie terá suas especificidades. Assim, a valoração dos resíduos pós-cultivo pela produção de

biogás para utilização no próprio ciclo produtivo pode resultar em um aumento de rentabilidade, que foi demonstrado em um estudo da viabilidade de produção de biogás. A reutilização dos resíduos, além de contribuir para a economia circular, pode reduzir custos com eletricidade no processo de produção (Vieira, 2021).

Outro estudo avaliou três ciclos de produção de cogumelos *Pleurotus ostreatus* em palha de trigo, porém não houve relatos dos dados de produção de cogumelos. Os resíduos pós-cultivo foram encaminhados a digestão anaeróbia por 44 dias. O processo resultou na produção de 402,0 LN kgST⁻¹ de biogás, sem informações sobre a composição do gás (Tabela 4) (Colavolpe *et al.*, 2012).

O cultivo *Pleurotus ostreatus* em resíduos de borra de café e gramíneas das espécies *Zoysia japonica* (grama esmeralda) e *Cynodon spp. cv. Tifton 85* (feno) com posterior produção de biogás e CH₄ foi avaliado. O substrato composto por 50% de borra de café e 50% de *Zoysia japonica*, apresentou uma EB de 106,6%, resultando no resíduo pós-cultivo que produziu 462,4 LN kgSV⁻¹ de biogás e 277,4 LN kgSV⁻¹ de CH₄. Já o substrato composto por 50% de borra de café e 50% de *Cynodon spp. cv. Tifton 85*, demonstrou uma EB de 103,7%, produzindo 339,2 LN kgSV⁻¹ de biogás e 196,8 LN kgSV⁻¹ de CH₄. Esses dados indicaram a eficiência do uso de tais resíduos na produção sequencial de cogumelos e biogás para a espécie estudada (Lourenço, 2022).

Tabela 4 - Revisão da literatura sobre a produção de biogás em resíduos pós-cultivo.

Substrato	Espécie	Cogumelos (EB%)	DA (dias)	Rendimento de biogás	% de CH ₄ no biogás	Rendimento de CH ₄	Referência
Palha de arroz	<i>P. florida</i>	28,0*	45	148 LN kgST ⁻¹ *	-	-	Mehta; Gupta; Kaushal (1990)
Palha de trigo e esterco	<i>Agaricus bisporus</i>		43	306 LN kgSV ⁻¹	51	157 LN kgSV ⁻¹	Vieira (2021)
Borra de café e <i>Zoysia japonica</i>	<i>P. ostreatus</i>	106,6	32	462 LN kgSV ⁻¹	60	277 LN kgSV ⁻¹	Lourenço (2022)
Borra de café e <i>Cynodon</i> spp. cv. Tifton 85	<i>P. ostreatus</i>	103,7	30	339 LN kgSV ⁻¹	58	196 LN kgSV ⁻¹	Lourenço (2022)
Palha de arroz	<i>P. ostreatus</i>	40,1	45	-	-	133,0 L.kgSV ⁻¹	Huang <i>et al.</i> , (2019)
Palha de trigo	<i>P. ostreatus</i>	-	44	402 LN kgST ⁻¹ *	-	-	Colavolpe <i>et al.</i> , (2012)

*Valor calculado a partir dos dados da pesquisa em relação à massa úmida de substrato.

*LN kgSV⁻¹: Litros normalizados por quilograma de sólidos voláteis.

*LN kgST⁻¹: Litros normalizados por quilograma de sólidos totais.

Fonte: A autora, 2025.

3 CAPÍTULO II: AVALIAÇÃO DO CULTIVO SEQUENCIAL DE COGUMELOS *Pleurotus ostreatus* EM GRAMÍNEAS, COM A POSTERIOR PRODUÇÃO DE BIOGÁS NOS RESÍDUOS PÓS-CULTIVO

3.1 RELEVÂNCIA DO ESTUDO

Devido ao grande volume de aparas de gramas gerados nas cidades, faz-se necessário estudos sobre o seu reaproveitamento adequado. Assim, de forma sequencial tais resíduos têm potencial para se tornar insumos na produção de cogumelos comestíveis, considerados alimentos de qualidade, e na produção de biogás dos resíduos obtidos pós-cultivo. Esses aspectos corroboram para a diminuição de resíduos destinados inadequadamente, contribuem com a produção de alimentos e possibilitam a geração de combustíveis renováveis.

3.2 OBJETIVOS

3.2.1 Objetivo geral

Avaliar a viabilidade na sequência de produção de cogumelos comestíveis, da espécie *Pleurotus ostreatus*, em gramíneas das espécies *Zoysia japonica* (grama esmeralda) e *Axonopus compressus* (grama São Carlos), com a posterior avaliação da produção de biogás nos resíduos pós-cultivo.

3.2.2 Objetivos específicos

Caracterizar os substratos de gramíneas de podas antes do cultivo dos cogumelos da espécie *Pleurotus ostreatus*, a partir de análises de umidade, sólidos totais, sólidos voláteis e sólidos fixos;

Inocular com a espécie *Pleurotus ostreatus* os substratos compostos por gramíneas, a fim de cultivar cogumelos e avaliar o uso dos resíduos pós-cultivo para a produção de biogás;

Avaliar os parâmetros biológicos: eficiência biológica (EB), Tempo de Colonização (TC), Tempo de Emissão dos Primórdios (TEP), Tempo de Formação do Cogumelo (TFC) e Tempo Total de cultivo (TT) na produção de cogumelos *Pleurotus ostreatus*;

Avaliar a produção de cogumelos da espécie *Pleurotus ostreatus*, utilizando os parâmetros de massa fresca e eficiência biológica;

Realizar ensaios de PBM e avaliar a produção de biogás nos resíduos pós-cultivo;

Analisar as melhores condições sequenciais de cultivo de cogumelos e produção de biogás.

Realizar ensaios de MEV nas amostras de gramíneas *in natura* e pós-cultivo a fim de identificar mudanças em sua estrutura física.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1 Local do estudo

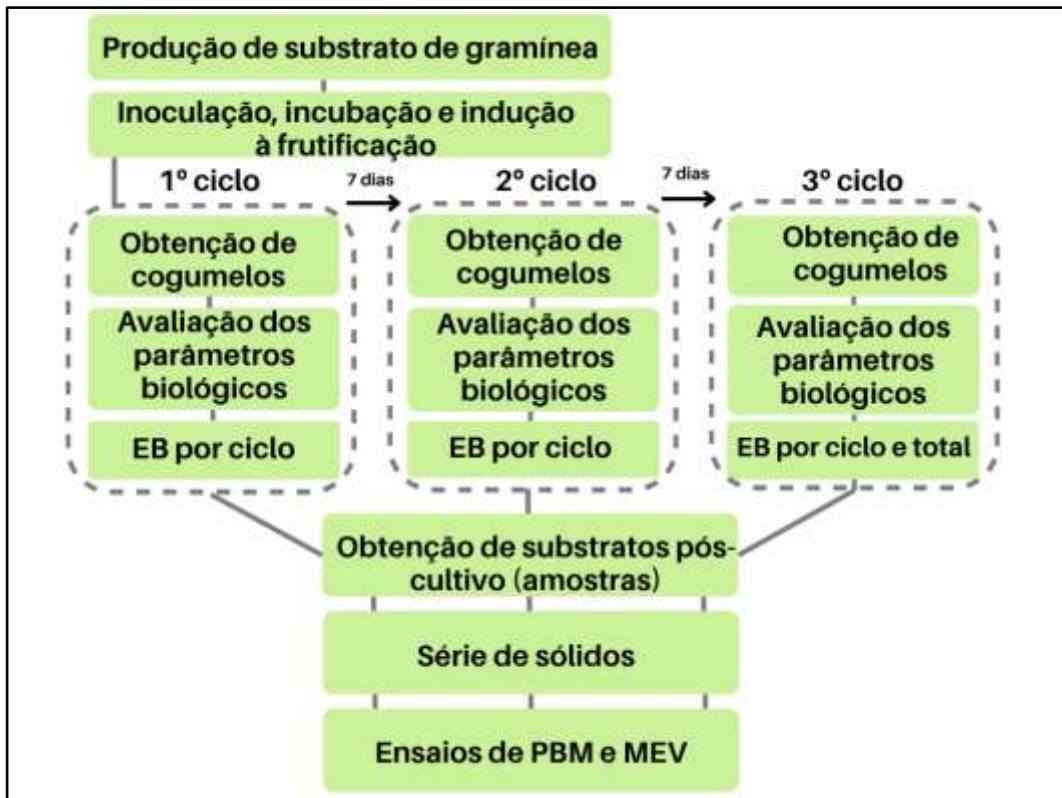
Todos os ensaios da etapa de preparo e caracterização dos substratos foram realizados no Laboratório de Estudos Interdisciplinares Ambientais e Alimentares (LEIMAA), assim como as etapas de produção e inoculação dos substratos. Os ensaios de PBM foram realizados nas dependências do laboratório de ensino de química da Universidade Federal da Integração Latino-Americana (Unila), localizado no Itaipu Parquetec.

3.3.2 Desenho experimental

Esse estudo consiste no preparo de substratos compostos por aparas de gramíneas para a produção de cogumelos comestíveis e avaliação do potencial de geração de biogás e CH₄ a partir dos resíduos pós-cultivo. Inicialmente foram preparados os substratos a partir das gramíneas *Zoysia japonica* e *Axonopus compressus* que foram inoculados e incubados com *Pleurotus ostreatus* e após submetidos à frutificação (produção dos cogumelos). A indução da frutificação ocorreu em 3 ciclos com intervalos de 7 dias entre eles (Urban, 2017). A EB foi calculada para cada ciclo de cultivo e, ao final do terceiro ciclo, os dados foram consolidados

para determinar a EB total. A Figura 7 apresenta as principais etapas de desenvolvimento do estudo.

Figura 7- Diagrama das etapas contidas no estudo sequencial de produção de cogumelos e biogás.



EB: eficiência biológica; MEV: microscopia eletrônica de varredura; PBM: potencial bioquímico de metano.

Fonte: A autora, 2025.

Os ensaios iniciaram com 5 réplicas de substratos cultivados para cada condição avaliada, a cada ciclo de frutificação uma das 5 réplicas dos substratos, equivalente àquele ciclo de produção, é retirada para se tornar amostra para os ensaios de PBM. Demais detalhes são exemplificados na Figura 8. Além disso, a cada ciclo foi realizado o cálculo de EB referente àquele ciclo e, por fim, no terceiro ciclo os dados de todos os ciclos foram associados (EB total do cultivo).

3.3.3 Amostras

Inicialmente, apenas a espécie de gramínea *Zoysia japonica* foi avaliada. Após os testes preliminares e com os resultados do melhor tamanho de fragmento determinado a partir dos Cultivos I e II, aplicou-se a melhor condição (1 cm) à gramínea *Axonopus compressus* que deu origem ao Cultivo III.

Para um melhor entendimento dos resultados apresentados, as amostras de gramíneas foram classificadas com uma letra que caracteriza a origem da amostra e um número referente ao experimento. As amostras de gramínea *in natura*, foram identificadas com as letras IN e os resíduos pós-cultivo de cogumelos, pela letra R. A variação do número que acompanha a(s) letra(s) está associado a algum tratamento diferente recebido pela amostra que está descrito no Quadro 1. Nos Cultivos I e II a função do ensaio foi: (i) mensurar a produção de biogás, CH₄ nas amostras sem tratamento fúngico e (ii) verificar a influência do tamanho de fragmentos na produção de biogás e CH₄. No Cultivo III a função dos ensaios foi apenas mensurar a produção de biogás, uma vez que o tamanho dos fragmentos já estava definido.

Quadro 1 - Identificação e características das amostras para ensaios de potencial bioquímico de metano (PBM) e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

ID	Característica da amostra
Cultivo I - <i>Zoysia japonica</i>	
IN1	<i>in natura</i> (1 cm) Composição: gramíneas de podas secas trituradas com fragmentos médios de 1 cm.
R1	Substrato da 1ª frutificação (1 cm) Composição: resíduo pós-cultivo (preparado conforme item 3.3.4.2), após primeira frutificação, composto de gramíneas de podas trituradas com fragmentos médios de 1 cm+ 5% de inóculo de <i>Pleurotus ostreatus</i> .
R2	Substrato da 2ª frutificação (1 cm) Composição: resíduo pós-cultivo (preparado conforme item 3.3.4.2), após segunda frutificação, composto de gramíneas de podas trituradas com fragmentos médios de 1 cm+ 5% de inóculo de <i>Pleurotus ostreatus</i> .
R3	Substrato da 3ª frutificação (1 cm) Composição: resíduo pós-cultivo (preparado conforme item 3.3.4.2), após terceira frutificação, composto de gramíneas de podas trituradas com fragmentos médios de 1 cm + 5% de inóculo de <i>Pleurotus ostreatus</i> .
Cultivo II - <i>Zoysia japonica</i>	
IN2	<i>in natura</i> (2 a 5 cm) Composição: gramíneas de podas secas com fragmentos médios de 2 a 5 cm, conforme obtidas após a poda.
R4	Substrato da 1ª frutificação (2 a 5 cm) Composição: resíduo pós-cultivo (preparado conforme item 3.3.4.2), após primeira frutificação, composto de gramíneas de podas com fragmentos médios de 2 a 5 cm + 5% de inóculo de <i>Pleurotus ostreatus</i> .
R5	Substrato da 2ª frutificação (2 a 5 cm) Composição: resíduo pós-cultivo (preparado conforme item 3.3.4.2), após segunda frutificação, composto de gramíneas de podas com fragmentos médios de 2 a 5 cm + 5% de inóculo de <i>Pleurotus ostreatus</i> .
R6	Substrato da 3ª frutificação (2 a 5 cm) Composição: resíduo pós-cultivo (preparado conforme item 3.3.4.2), após terceira frutificação, composto de gramíneas de podas com fragmentos médios de 2 a 5 cm + 5% de inóculo de <i>Pleurotus ostreatus</i> .
Cultivo III - <i>Axonopus compressus</i>	
IN3*	<i>in natura</i> (1 cm) Composição: gramíneas de podas secas trituradas com fragmentos médios de 1 cm.
R7*	Substrato da 1ª frutificação (1 cm) Composição: resíduo pós-cultivo (preparado conforme item 3.3.4.2), após primeira frutificação, composto de gramíneas de podas trituradas com fragmentos médios de 1 cm+ 5% de inóculo de <i>Pleurotus ostreatus</i> .
R8*	Substrato da 2ª frutificação (1 cm) Composição: resíduo pós-cultivo (preparado conforme item 3.3.4.2), após segunda frutificação, composto de gramíneas de podas trituradas com fragmentos médios de 1 cm+ 5% de inóculo de <i>Pleurotus ostreatus</i> .

* O tamanho das partículas do Cultivo III foi definido pelos resultados para produção de biogás nos Cultivos I e II.

Fonte: A autora, 2025.

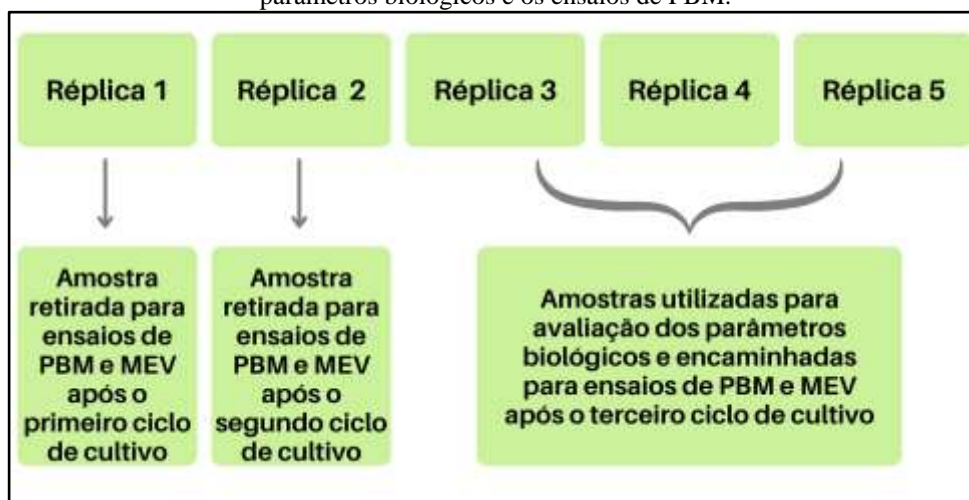
Para avaliação dos aspectos biológicos dos fungos foi adotada a avaliação por cultivos e para os ensaios de PBM e MEV por amostras. O Cultivo I foi responsável por originar as amostras dos resíduos pós-cultivo R1, R2 e R3, o Cultivo II as amostras R4, R5 e R6 e o Cultivo III as amostras R7 e R8.

Os Cultivo I e III foram conduzidos com uma etapa adicional de trituração das gramíneas para que se pudesse obter um tamanho de fragmento médio de até 1,0 cm (IN1, R1, R2, R3 e IN3, R7, R8). Enquanto, que se optou por manter o tamanho de fragmento obtido na poda no Cultivo II, entre 2,0 e 5,0 cm (IN2, R4, R5 e R6).

As amostras identificadas com a letra R passaram pela etapa de preparo do substrato e cultivo de cogumelos conforme descrito nos itens 3.3.4.2. Assim, a composição inicial do substrato antes do cultivo foi composta por gramínea, o hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2) 0,05% m/m (ajuste de pH) e umidade em cerca de 70%. Sobre a massa total desse composto foi adicionado 5% (m/m) do inóculo comercial a base de serragem contendo a espécie *Pleurotus ostreatus*, conforme o item 3.3.4.3. Só após o cultivo de cogumelos nos substratos especificados no Quadro 1 é que foram retiradas as amostras de resíduos pós-cultivo para os ensaios de PBM e MEV.

Para cada cultivo de cogumelos e obtenção do resíduo pós-cultivo (amostras) foram produzidas 5 réplicas de substrato inoculado, conforme item 3.3.4.3. Ao fim de cada ciclo de frutificação foi retirada a amostra correspondente, de forma que a última avaliação dos parâmetros biológicos dos cogumelos, após o terceiro ciclo de frutificação, ainda pudesse ser feita em triplicata. Este número de réplica foi necessário pois as análises são destrutivas. A Figura 8 apresenta o esquema do número de réplicas adotadas neste experimento específico.

Figura 8 – Esquema do número de réplicas para cada experimento de cultivo, tendo em vista a avaliação dos parâmetros biológicos e os ensaios de PBM.



Fonte: A autora, 2025.

Optou-se por padronizar e retirar do cultivo e encaminhar para amostragem a réplica que obteve o EB médio de produção de cogumelos naquele ciclo em questão. Além disso, para estimar uma comparação com a produção de biogás nas amostras obtidas pós-cultivo com gramíneas de podas *in natura*, amostras destes resíduos também foram analisadas (IN1, IN2 e IN3).

3.3.4 Preparo de substratos

3.3.4.1 Gramíneas para produção de substratos

As gramíneas foram obtidas a partir da poda de jardins na cidade de Foz do Iguaçu - PR. A *Zoysia japonica*, conhecida popularmente por grama esmeralda, foi coletada nas dependências do Itaipu Parquetec, enquanto a *Axonopus compressus* foi coletada em um jardim residencial. O volume total de gramíneas, de cada espécie, para todos os experimentos foi obtido em uma única poda, após isso elas foram secas ao ar livre e armazenadas em sacos de estopa, em temperatura ambiente até a produção de substratos, para posterior utilização no experimento. A Figura 9 apresenta as imagens de ambas gramíneas utilizadas neste estudo.

Figura 9 – Gramíneas utilizadas nos cultivos: a) *Zoysia japônica*; e b) *Axonopus compressus*.



Fonte: A autora, 2025.

3.3.4.2 Preparo dos substratos para inoculação de *Pleurotus ostreatus*

Inicialmente, realizou-se o preparo das gramíneas a serem utilizadas para a confecção dos substratos. As impurezas como folhas, pedaços de galhos e outros resíduos visíveis foram retirados manualmente, com a intenção de obter uma amostra homogênea e livres de possíveis interferentes.

Foram utilizadas gramíneas secas da espécie *Zoysia japonica* com dois padrões de tamanhos de fragmentos, um entre 2,0 e 5,0 cm e outro de 1,0 cm, com o uso de moagem adicional em liquidificador (Philco 800W). Foram pesados 1,0 kg de gramínea e adicionados 5,0 g de Ca(OH)_2 e 2,0 L de água da torneira, para alcançar a umidade ideal para o cultivo, aproximadamente 70,0% e pH próximo a 7,0 (Urben, 2017). Após a homogeneização, a mistura foi mantida em repouso por 24 h. Passado o período de repouso, o excesso de água da mistura foi retirado com o auxílio de uma peneira.

Os substratos foram fracionados e pesados em embalagens individuais contendo em torno de 400,0 g cada, acondicionados em sacos de polipropileno (19,0 x 32,0 x 0,01 cm) e esterilizados em autoclave (marca Digitale, Brasil), com capacidade para 12,0 L, por 60 min a 121 °C e 1,0 atm (Urben, 2017; Fan *et al.*, 2003; Oliveira *et al.*, 2018). Por fim, os substratos foram resfriados em temperatura ambiente para a inoculação e posterior incubação.

3.3.4.3 Condições de inoculação, incubação e cultivo do cogumelo

A inoculação foi realizada com inóculo comercial produzido pela empresa Cogumelos Fungitake, estabelecida em Umuarama-PR, preparado em serragem contendo a linhagem de *Pleurotus ostreatus*. Em ambiente estéril, aos substratos foram adicionados 5,0% (m/m) de inóculo comercial (descrito anteriormente), em relação à massa úmida do substrato, conforme preconizado na literatura (Urban, 2017; Freitas *et al.*, 2018). Para cada réplica, pesou-se aproximadamente 20 g de inóculo em balança analítica, que em seguida foi adicionado ao substrato estéril após o resfriamento. Com o auxílio de elásticos e gaze esterilizada, fechou-se os sacos plásticos. Na incubação os sacos foram mantidos em uma sala escura e com controle de temperatura entre 25 e 28 °C, por um período de 20 dias. A Figura 10 apresenta o inóculo comercial utilizado.

Figura 10 – Inóculo comercial de *Pleurotus ostreatus* em serragem, obtido da Fungitake cogumelos.



Fonte: A autora, 2025.

Após o período de incubação, abriu-se os sacos dos cultivos para induzir a etapa de frutificação, ou seja, favorecer o nascimento dos cogumelos. Essa etapa foi feita em uma sala com iluminação natural indireta e controle de umidade e temperatura (20 e 25 °C), considerados ideais para o gênero *Pleurotus*. Após, manteve-se a umidade entre 80,0 e 90,0%,

com auxílio de aspersão de água. Findada a primeira frutificação (ciclo de crescimento dos cogumelos), encaminhou-se os mesmos substratos (ou sacos de cultivo) para as condições de incubação por mais 7 dias, a fim de serem induzidos à segunda frutificação após esse processo. Esse mesmo procedimento foi repetido para obter o terceiro ciclo de cogumelos, conforme recomenda a literatura (Urban, 2017; Bellettini *et al.*, 2019).

Após o terceiro ciclo de frutificação das amostras, os substratos pós-cultivo foram congelados para que mantivessem suas características até os ensaios de caracterização da série de sólidos dos substratos e a realização da incubação dos ensaios de PBM, conforme VDI 4630 (2016).

3.3.5 Parâmetros de avaliação de produção de cogumelos

Foram avaliados os corpos de frutificação conforme os procedimentos descritos por Figueiró e Graciolli (2011), a citar, a massa fresca, a EB e o tempo total de cultivo (TT). A colheita dos cogumelos foi realizada antes que os píleos se tornassem planos para evitar a liberação de esporos, conforme recomenda a literatura (Urban, 2017).

3.3.5.1 *Massa Fresca*

A massa fresca foi verificada após cada colheita dos corpos de frutificação, cada réplica de cultivo teve a massa de sua produção aferida em balança analítica logo após o procedimento de colheita. Ao final dos três fluxos de frutificação, a massa de cada ciclo foi somada, resultando na massa fresca total.

3.3.5.2 *Eficiência Biológica (EB)*

A EB foi avaliada e expressa sobre a produção da biomassa fúngica, a qual é caracterizada pela conversão do substrato em cogumelos (Figueiró; Graciolli, 2011). O cálculo desse parâmetro é expresso pela Equação 1:

$$EB (\%) = \frac{\text{Massa fresca de cogumelos (g)}}{\text{Massa seca do substrato (g)}} \times 100 \quad \text{Equação (1)}$$

As massas secas dos substratos foram obtidas por ensaios de umidade em cada remessa de substratos submetidos a incubação, conforme item 3.3.6.1.

3.3.5.3 Tempo de Colonização (TC), Tempo de Emissão dos Primórdios (TEP), Tempo de Formação do Cogumelo (TFC) e Tempo Total de cultivo (TT)

O TC levou em consideração o tempo necessário de incubação para a colonização completa do substrato, ou seja, até que todo o substrato apresentasse aspecto cotonoso (branco e com textura de algodão), indicando o recobrimento do substrato pela massa fúngica. O TEP foi avaliado com base no primeiro indicativo de aparecimento dos cogumelos na massa fúngica superficial ao substrato, indicando o início da formação dos cogumelos. O TFC considerou os dias desde a emissão dos primórdios até a formação completa do cogumelo, quando este estava apto a ser colhido. O TT somou o TC com o TFC e os intervalos de incubação entre os três ciclos ou fluxos de produção de cogumelos (Figueiró; Graciolli, 2011).

3.3.6 Caracterização pela série de sólidos

Todos os ensaios foram realizados em triplicata após 24 h de repouso das amostras após o congelamento. Foram quantificados a umidade, os ST, os SV e os SF pela diferença de massa após secagem em estufa e carbonização em mufla, de acordo com *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, método 2540 com pequenas alterações (APHA, 2012). As amostras de celulose microcristalina e de inóculo, essenciais para avaliação dos resultados dos ensaios de PBM conforme descrito no item 3.3.7, também foram submetidas aos ensaios de caracterização em relação à série de sólidos a cada batelada de ensaios.

3.3.6.1 Umidade e Sólidos Totais (ST)

Previamente, os cadinhos de porcelana foram secos em estufa a 105 °C por 60 min e, após isso, resfriados em dessecador com sílica para posterior pesagem em balança

analítica. Foram pesados cerca de 2,0 g de amostra, colocados em estufa pré-aquecida a 105 °C por 24 h, e pesados após o resfriamento desses em dessecador com sílica. A diferença de massa após a estufa será denominada umidade do substrato, US, e a massa resultante, ST.

3.3.6.2 Sólidos Voláteis (SV) e Sólidos Fixos (SF)

Após o procedimento anterior, as amostras compostas pelos ST foram encaminhadas à mufla a 550 °C por 4 h. Na sequência, o conjunto (cadinho e cinzas) foi resfriado em dessecador com sílica para posterior aferição de massa em balança analítica. A massa restante nos cadinhos é denominada sólidos fixos (SF) ou cinzas, e a diferença entre a massa inicial e a final, SV.

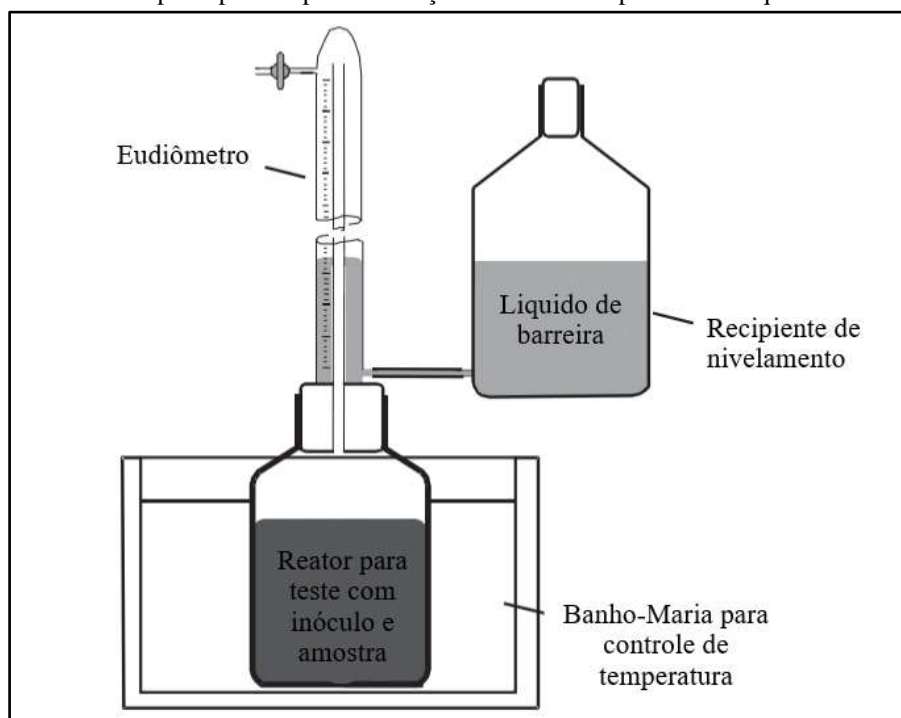
3.3.7 Avaliação do potencial bioquímico de metano (PBM) nos resíduos pós-cultivo

Os ensaios foram realizados para determinar o PBM, conforme as diretrizes propostas pela norma alemã VDI 4630 (VDI, 2016). O inóculo utilizado foi cedido pelo laboratório de biogás do CIBiogás e mantido sob temperatura mesofílica (37 °C) por 7 dias, até o momento da incubação dos ensaios. Utilizou-se celulose microcristalina como padrão positivo, incubada sob as mesmas condições das amostras em cada batelada de PBM, visando avaliar a atividade biológica do inóculo utilizado no experimento. Além disso, foram incubadas amostras de inóculo para determinação de biogás produzido, os resultados obtidos nesses ensaios foram descontados do valor de produção de biogás dos substratos avaliados em cada rodada do experimento, uma vez que cada amostra é incubada com uma fração de inóculo. Assim, todas as bateladas de ensaios contaram com a incubação de amostras de inóculo puro (cerca de 200 mL) e de celulose microcristalina (cerca de 1 g, calculado a partir dos SV do inóculo). As amostras, o padrão positivo e o inóculo foram incubados em triplicata, conforme recomendação da VDI 4630 (VDI, 2016).

Foram utilizados para o experimento reatores de vidro com volume de trabalho de 250 mL. A proporção de SV do inóculo em relação ao SV do substrato foi 4:1, ou seja, a razão entre a quantidade de SV do substrato por SV do inóculo foi de 0,25, com base no valor inicial de SV no substrato e no inóculo, conforme os resultados obtidos durante os ensaios

de série de sólidos. Após adicionados o inóculo e o substrato (amostra), os reatores foram acoplados aos eudiômetros de 300 mL (Figuras 11 e 12), vedados e purgados com gás nitrogênio (N_2) para assegurar um ambiente anaeróbico instantâneo. Após o teste de estanqueidade, de 30 min, o N_2 foi liberado e o sistema mantido sob temperatura mesofílica ($37^\circ C$), controlada por um sistema de banho-maria e agitação. O volume de biogás foi registrado diariamente e normalizado no padrão de temperatura e pressão ($273,15 K$ e $101,33 kPa$). Os experimentos foram mantidos até que a produção diária de biogás representasse menos de 0,5% da produção acumulada por 3 dias consecutivos e os resultados foram expressos em $LN\ kgSV^{-1}$ para o biogás e para o CH_4 .

Figura 11 – Principais aparatos para realização de ensaios de potencial bioquímico de metano.



Fonte: Adaptado da VDI 4630 (2016).

O sistema utilizado foi composto por 12 reatores com capacidade de análise de um padrão positivo, um inóculo e duas amostras por batelada (todos em triplicata). A Figura 12 apresenta o conjunto de reatores onde foram realizados os ensaios de PBM desta pesquisa. Os valores de PBM foram calculados pela razão entre o volume de gás seco produzido, normalizado e a quantidade de SV adicionados ao ensaio conforme a VDI 4630 (2016).

Figura 12 – Reatores utilizados para os ensaios de potencial bioquímico de metano.



Fonte: A autora, 2025.

A composição do biogás foi avaliada pela leitura do gás produzido, a partir do volume mínimo acumulado de 150,0 mL, com equipamento Dräger X-7000, com sensores de CH₄ e CO₂. O equipamento passou por conferência regular em gás padrão para confirmar a precisão dos sensores e, quando necessário, um fator de correção foi aplicado nas leituras.

3.3.8 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para avaliar a morfologia das gramíneas *in natura* e pós-cultivos foi feita a análise de MEV gerando imagens microscópicas da superfície das amostras, a fim de avaliar a aparência das superfícies desse material. As amostras foram colocadas em uma fita adesiva dupla face de carbono fixada em um suporte (stub). Foi realizada a deposição de ouro-paládio até uma espessura de 6-9nm, utilizando-se o equipamento SC7620 Quorum Mini Sputter Coater/Glow Discharge System. O microscópio de varredura utilizado foi o Zeiss EVO-MA10 operando em tensão de 10 kV (Figura 13).

Figura 13 – Microscópio eletrônico de varredura utilizado neste estudo.



Fonte: A autora, 2025.

3.3.9 Análises estatísticas

Os resultados obtidos foram comparados pelo teste de Tukey disponibilizado pelo software livre Sistema de Análise e Separação de Médias em Experimentos Agrícolas - ASM-Agri (versão 8.2, 2001).

3.3.10 Cálculo de oportunidade financeira

Para os cálculos de oportunidade financeira foi utilizado como referência uma tonelada de *Zoysia japonica*, gramínea que apresentou melhores resultados de cultivo e de produção de biogás, nas duas condições de cultivo que apresentaram os melhores resultados nos ensaios de PBM (R1 e R2).

Inicialmente foi estimada a massa de cogumelos frescos que podem ser produzidos em cada um dos cultivos com base nos resultados do parâmetro EB, que leva em consideração a massa fresca de cogumelos obtidos em função da massa seca de substrato

(Equação 1). Na sequência, para o potencial de arrecadação com os cogumelos, a massa fresca de cogumelos (em kg) foi multiplicada pelo valor de mercado atual (em R\$) para cada kg de cogumelos e depois o total convertido para dólares (US\$).

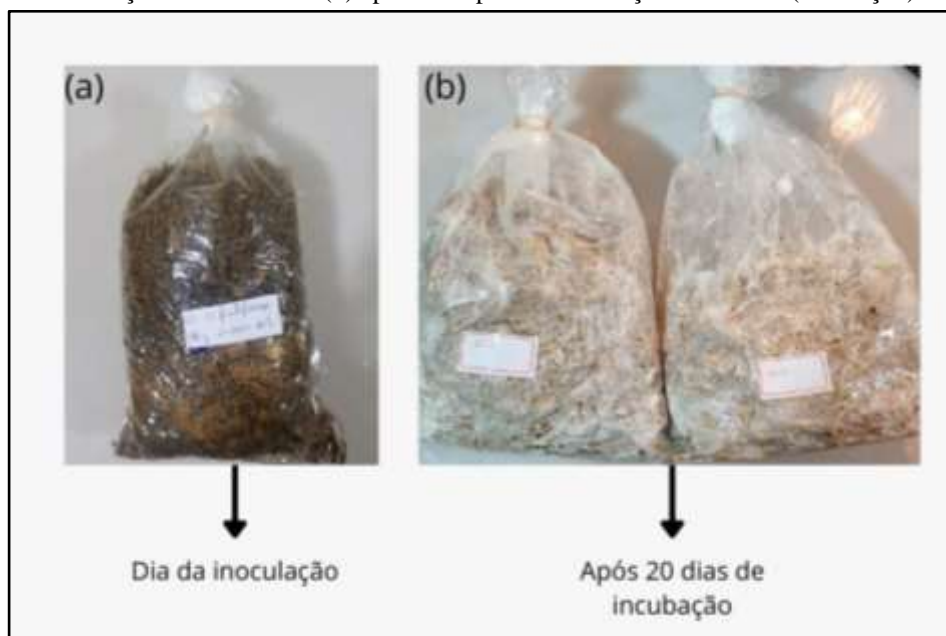
Em seguida, com base nos resultados dos ensaios de PBM os volumes de biogás produzidos em cada um dos cultivos foram calculados. Para tais volumes foi mensurado o potencial calorífico com base em um biogás contendo 60% de metano. O potencial calorífico do biogás foi calculado para se obter a quantidade de kgs de GLP equivalente. A massa de GPL foi multiplicada pelo valor de mercado deste combustível e após o resultado foi convertido para US\$. Por fim, foram somados os valores obtidos pelo cultivo de cogumelos e a produção de biogás para se chegar na oportunidade financeira total em US\$ por tonelada de gramínea seca em cada cultivo analisado.

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.4.1. Cultivo de cogumelos comestíveis da espécie *Pleurotus ostreatus* e aproveitamento do resíduo pós-cultivo para produção de biogás

A gramínea *Zoysia japonica*, conhecida popularmente como grama esmeralda, foi escolhida por sua maior disponibilidade para primeira etapa do estudo que avaliou o tamanho de fragmento ideal para o cultivo e produção de biogás sequencial. Durante a fase de colonização do substrato, estabeleceu-se o tempo necessário para essa etapa com base no aspecto visual de colonização total do substrato. A Figura 14(a) apresenta o aspecto inicial da inoculação do substrato e (b) o ideal para o fim da colonização (incubação), momento em que se dá início à etapa de indução à frutificação.

Figura 14 – Substrato composto de *Zoysia japonica* com fragmentos de 2 a 5 cm (a) imediatamente após a inoculação do substrato e (b) após o tempo de colonização de 20 dias (incubação).



Fonte: A autora, 2025.

O tempo necessário para a colonização total do substrato composto da espécie *Zoysia japonica* foi de 20 dias, ou seja, momento em que toda a superfície está coberta pelo micélio do fungo (Figura 14). Assim, o TC de 20 dias foi definido como ideal para todos os experimentos subsequentes compostos desta gramínea. Após observações o mesmo TC também pode ser adotado para a gramínea *Axonopus compressus*.

Estudos indicam que quando fungos do gênero *Pleurotus* spp. foram cultivados em gramíneas apresentaram tempos de colonização entre 16 e 22 dias para os substratos compostos por taboa, junco, capim-elefante, *Panicum maximum* e *Panicum virgatum*. Estes valores estão em consonância com os obtidos por este estudo (Naraian; Dixit, 2017; Karuppuraj; Sekarenthiran; Perumal, 2014; Oliveira *et al.*, 2018; Tirkey; Simon; Lal, 2017; Prasad *et al.*, 2023).

A Tabela 5 apresenta os principais resultados de avaliação biológica para os cultivos avaliados no presente estudo. Para essa avaliação foram analisados os cultivos como um todo, com três ciclos de frutificação, e por isso estão identificados como Cultivos I, II e III não como amostras isoladas.

Tabela 5 – Parâmetros de avaliação biológica do cultivo de *Pleurotus ostreatus* em gramínea *Zoysia japonica* e *Axonopus compressus* (n=3).

Identificação	Substrato	Umidade (%)	TC	TEP	TFC	TT	Nº Ciclos
Cultivo I	Gramínea <i>Zoysia japonica</i> , 1 cm, 5% inóculo	79,6 ± 1,2 ^{ab}	20	4	8	58	3
Cultivo II	Gramínea <i>Zoysia japonica</i> , 2 a 5 cm, 5% inóculo	78,0 ± 1,0 ^b	20	4	8	58	3
Cultivo III*	Gramínea <i>Axonopus compressus</i> , 2 a 5 cm, 5% inóculo	80,8 ± 1,1 ^a	20	4	8	43	2

Médias com letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística entre si segundo Teste Tukey a 5,0% de probabilidade. TC: tempo de colonização (dias); TEP: tempo de emissão de primórdios (dias); TFC: tempo de formação dos cogumelos (dias); TT: tempo total do cultivo (dias); ±: desvio padrão.

*Experimento realizado após a averiguação de que o tamanho de fragmentos impacta no rendimento dos ensaios de PBM, assim para a espécie *Axonopus compressus*, foi realizado o experimento apenas com o menor tamanho de fragmento (1 cm).

Fonte: A autora, 2025.

Em uma avaliação geral destes resultados, pode-se observar que apenas a US e o número de ciclos apresentaram diferenças entre os diferentes cultivos realizados. A US foi de 79,6 ± 1,2; 78,0 ± 1,0 e 80,8 ± 1,1 nos cultivos I, II e III, respectivamente. Essa diferença se dá devido ao preparo dos substratos que foram realizados individualmente para cada cultivo. Todos os substratos preparados para os cultivos apresentaram valores de umidade entre 78,0 ± 1,0 e 80,8 ± 1,1%, consideradas superiores à descrita como ideal para o cultivo de *Pleurotus ostreatus*, de cerca de 70% (Urben, 2017; Bellettini *et al.*, 2019). Porém, não foram detectados prejuízos aos cultivos devido a essa diferença.

Nota-se que os tamanhos de fragmentos analisados proporcionaram condições idênticas nos Cultivos I e II, que apresentaram os mesmos TC, TEP, TFC, TT e Nº de ciclos de cogumelos de 20, 4, 8, 58 e 3, respectivamente. Indicando que o tamanho dos fragmentos em uma mesma amostra não afetou os parâmetros avaliados. Enquanto isso, no Cultivo III o TC, TEP, TFC foi idêntico aos demais experimentos, já o Nº de fluxos de cogumelos foi inferior (2) aos demais cultivos (3) e que resultou em um menor TT, de 43 dias. Levanta-se a hipótese que a composição da gramínea influenciou no número de ciclos de cultivo.

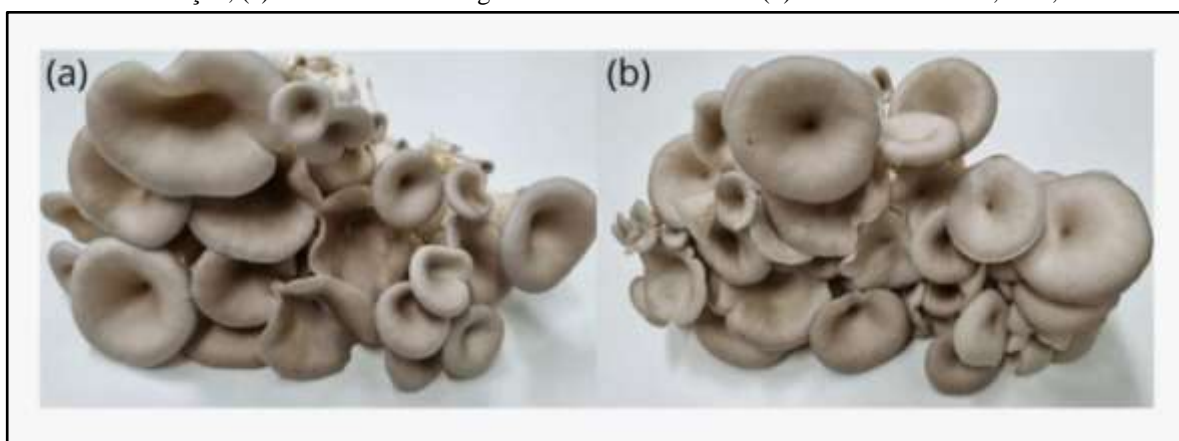
Para o cultivo de *Pleurotus florida*, em diferentes substratos provenientes da agricultura, como palha de arroz, palha de feijão e palha de sorgo, a literatura descreve TEPs

entre 1 e 9 dias, de acordo com cada tipo de substrato. Assim, o TEP de 4 dias registrado neste estudo é coerente com os obtidos em outros substratos residuais ricos em lignocelulose (Figueiró; Graciolli, 2011).

Os resultados do presente estudo para a *Zoysia japonica*, são similares aos apresentados por Lourenço (2022) em um estudo do cultivo de *Pleurotus ostreatus* em substratos produzidos a partir de 50% gramíneas (*Zoysia japonica* e *Cynodon spp. cv. Tifton 85*) e 50% borras de café. Aqui os valores de TC, PEP, TF, TT e N° de ciclos foram, respectivamente, 22, 4, 8, 60 e 3, idênticos aos descritos na literatura mencionada. Enquanto que os parâmetros TC e TT foram reduzidos, em dois dias em relação à literatura. A redução do TC, altera simultaneamente o TT, se deve às características intrínsecas da matéria-prima (gramínea) utilizada para a produção dos substratos.

Como próximo passo, buscou-se compreender se o tamanho de fragmentos da gramínea teve influência sobre a produção de cogumelos produzidos em *Zoysia japonica* (Cultivos I e II). Os aspectos visuais dos cogumelos obtidos nos Cultivos I e II podem ser observados na Figura 15.

Figura 15 – *Pleurotus ostreatus* cultivado em gramíneas *Zoysia japonica*, referente ao primeiro ciclo de frutificação, (a) Cultivo I - com fragmentos médios de 1cm e (b) Cultivo II- entre 2,0 e 5,0 cm.



Fonte: A autora, 2025.

Os cogumelos obtidos nos Cultivos I, II (Figura 15) e III apresentaram bom aspecto visual com píleos arredondados e estipe proporcional. Os tamanhos de fragmentos,

distintos no Cultivos I e II para o mesmo substrato, não acarretaram mudanças significativas nos aspectos visuais dos cogumelos. Esta análise é considerada importante, pois é um indicativo da qualidade dos cogumelos para consumo e comercialização, principalmente para produtores comerciais como uma forma de oportunizar uma maior aceitação do produto por parte dos consumidores e garantir um maior tempo de prateleira. Assim, pode-se constatar que o tamanho de fragmentos menores, de 1 cm, não teve influência negativa na aparência dos cogumelos.

O tamanho de fragmentos de 2,0 a 5,0 cm, adotada no cultivo II, já foi utilizada em estudos anteriores, para amostras similares, com bons resultados de colonização pelos fungos e bons rendimentos de produção de cogumelos em amostras de gramíneas (Lourenço *et al.*, 2021; Lourenço, 2022). Estes resultados corroboram aqueles obtidos no presente estudo nos cultivos I e II. Apesar da literatura destacar que um tamanho muito pequeno de fragmentos do substrato pode acarretar perdas no desenvolvimento micelial do fungo, devido à sua compactação e falta de aeração e, por isso, impactar negativamente na produção de cogumelos (Bellettini *et al.*, 2019), o tamanho de fragmento de 1 cm, utilizado no Cultivo I e III, não causou tal efeito (Figura 15, e Tabela 6). Para a etapa seguinte do estudo, os dados foram coletados tendo como referência cada um dos ciclos de frutificação, com a função de caracterizar a produção de cogumelos. A Tabela 6 apresenta dados de EB para os cultivos dispostos conforme N° de Fluxo.

Tabela 6 – Eficiência Biológica conforme o N^o de fluxos no cultivo de *Pleurotus ostreatus* em diferentes cultivos (n=3).

N ^o do Fluxo	Característica do substrato	EB (%)	% da produção total	Amostras de resíduos pós-cultivo
1 (1 ^o)	Cultivo I- Gramínea <i>Zoysia japonica</i> , 1 cm	67,4 ± 6,3 ^b	62,5	R1
2 (1 ^o +2 ^o)		100,6 ± 3,2 ^a	93,3	R2
3 (1 ^o +2 ^o +3 ^o)		107,8 ± 6,6 ^a	100,0	R3
1 (1 ^o)	Cultivo II- Gramínea <i>Zoysia japonica</i> , 2 a 5 cm	80,3 ± 4,8 ^b	68,8	R4
2 (1 ^o +2 ^o)		113,9 ± 6,6 ^a	96,3	R5
3 (1 ^o +2 ^o +3 ^o)		118,0 ± 7,7 ^a	100,0	R6
1 (1 ^o)	Cultivo III- Gramínea <i>Axonopus compressus</i> , 1 cm	18,0 ± 2,8 ^d	37,8	R7
2 (1 ^o +2 ^o)		47,8 ± 7,7 ^c	100,0	R8

EB: eficiência biológica (%); CV: coeficiente de variação (%); ±: desvio padrão. Médias com letras iguais na mesma coluna não tiveram diferença estatística entre si segundo Teste Tukey a 5,0% de probabilidade.

Fonte: A autora, 2025.

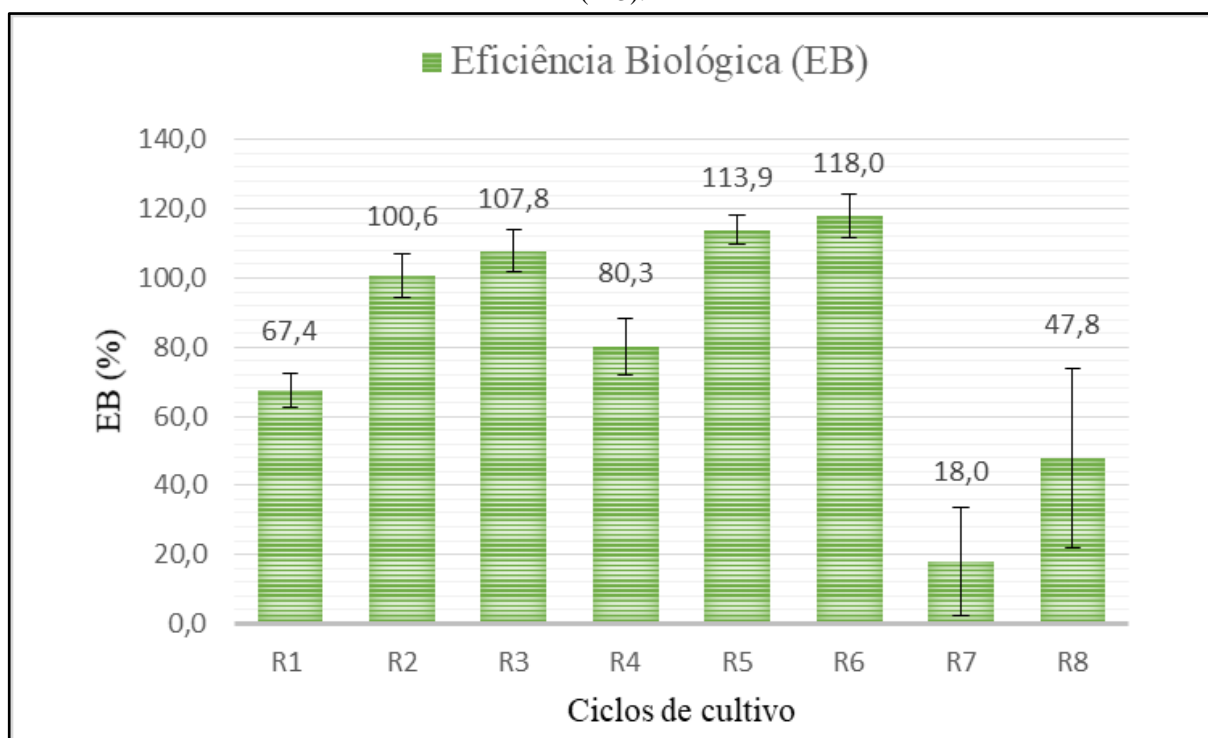
Nos Cultivos, o primeiro fluxo de produção, também conhecido como primeira frutificação, teve a duração de 28 dias, o segundo, de 43 dias, e o terceiro finalizou com 58 dias. Os Cultivos I e II apresentaram TT de 58 dias, ou seja, 3 fluxos de cogumelos foram colhidos, enquanto o Cultivo III apresentou TT de 43 dias, redução ocasionada pela obtenção de apenas 2 ciclos de cogumelos (Tabela 6).

Nota-se que nos substratos do Cultivos I e II, que se diferem apenas pelo tamanho de fragmentos, o primeiro ciclo de frutificação obteve EB de 67,4 e 80,3%, respectivamente. Estes valores indicam que 62,5 e 68,8% da EB total de cogumelos foi resultado apenas do primeiro fluxo de cultivo. Quando somados os valores obtidos no primeiro e no segundo fluxo, para se obter resultados para 2 ciclos de frutificação, a EB foi de 100,6 e 113,9%. Dessa forma, os dois primeiros ciclos juntos apresentam que cerca de 93,3 e 96,3% da produção total de cogumelos já havia ocorrido neste segundo fluxo, respectivamente para os Cultivo I e II (Tabela 6).

No Cultivo III, onde o substrato foi a base de *Axonopus compressus*, pode-se observar que o primeiro fluxo de cogumelos representou apenas 37,8% da EB final, sendo o

segundo fluxo o mais representativo com 62,2% da produção total obtida em 2 fluxos de cultivo. Esses resultados se diferenciam dos Cultivo I e II utilizando *Zoysia japonica*, pois enquanto os Cultivos I e II apresentam maior EB no primeiro ciclo de frutificação o Cultivo III apresentou maior EB no segundo ciclo. Para uma melhor análise dos dados, os resultados obtidos para o Cultivos I, II e III foram dispostos na Figura 16.

Figura 16 – Eficiência Biológica conforme o N° de fluxos no cultivo de *Pleurotus ostreatus* em gramíneas (n=3).



Fonte: A autora, 2025.

O Cultivo II, com substrato preparado com fragmentos entre 2,0 e 5,0 cm, apresentou melhor EB final, após 3 ciclos de cultivo, $118,0 \pm 7,7\%$, enquanto o Cultivo I, com fragmentos de 1,0 cm, apresentou EB $107,8 \pm 6,6\%$. Apesar da EB ser superior para o Cultivo II, não foi possível considerar uma diferença estatística em relação ao Cultivo I (Tabela 6 e Figura 16). Assim, não se pode afirmar que na mesma gramínea a produção de cogumelos foi afetada pela diferença nos fragmentos dos substratos avaliados.

Já no Cultivo III houve apenas dois ciclos de cultivo de cogumelos que resultaram em uma EB total de $47,6 \pm 7,7\%$, valor considerado bem inferior se comparado com

a EB total dos Cultivos I e II, $107,8 \pm 6,6\%$ e $118,0 \pm 7,7\%$, respectivamente (Tabela 6 e Figura 16). Estes resultados indicam que a gramínea *Zoysia japonica* foi mais eficiente na bioconversão da matéria orgânica em cogumelos comestíveis quando comparada a gramínea *Axonopus compressus*.

Diferentes gramíneas já foram utilizadas em cultivos do gênero *Pleurotus* e apresentaram diferentes EBs, entre 82,0 e 90,0% para a planta aquática taboa, 100,3% para junco, entre 84,3 e 35,1% para capim-elefante suplementado e puro, de 26,3% para *Panicum maximum* e 32,1% para *Panicum virgatum* (Naraian; Dixit, 2017; Karuppuraj; Sekarenthiran; Perumal, 2014; Oliveira *et al.*, 2018; Prasad *et al.*, 2023). A espécie *Zoysia japonica* associada a borra de café, já foi avaliada no cultivo de *Pleurotus ostreatus* e após três ciclos de cultivo apresentou EB de $106,6 \pm 7,9\%$ (Lourenço, 2022). Estes valores indicados na literatura para substratos contendo a mesma gramínea se aproximam dos obtidos no presente estudo, nos Cultivos I e II.

Os resultados obtidos neste estudo indicam que a efetividade de produção de cogumelos comestíveis da espécie *Pleurotus ostreatus* em gramínea *Zoysia japonica* depende do número de frutificações, sendo as duas primeiras mais produtivas antes do esgotamento do substrato e do fim do processo produtivo em três fluxos de cultivo. Enquanto isso, a espécie *Axonopus compressus* apresentou uma EB inferior, devido ao esgotamento do substrato no segundo fluxo de cultivo. Mesmo com uma EB menor em comparação a outra espécie de gramínea analisada, a depender da disponibilidade desta, que pode ser um resíduo, a sua utilização pode ser ainda considerada uma boa alternativa para redução de volume de resíduos e obtenção de cogumelos comestíveis.

Os valores superiores de EB obtidos nos Cultivos I e II, $107,8 \pm 6,6\%$ e $118,0 \pm 7,7\%$ (Tabela 6 e Figura 16) indicam um melhor desenvolvimento do fungo no substrato composto por *Zoysia japonica*, assim, pode-se confirmar a presença de nutrientes considerados essenciais ao desenvolvimento fúngico, a umidade adequada do substrato e o tamanho de poros suficientes para que houvesse as trocas gasosas que resultaram em ótimos valores de bioconversão da matéria orgânica, 100% residual, em alimentos de elevada qualidade nutricional.

Ao se comparar apenas os Cultivos I e II, que foram produzidos na mesma gramínea e obtiveram os melhores resultados de EB, pode-se indicar que o número de fluxos

de cultivo deve ser definido a depender da sua finalidade, do tempo e do espaço disponível para a produção de cogumelos, de um estudo de viabilidade econômica e das oportunidades de negócios. No presente estudo, pode-se indicar que o cultivo de *Pleurotus ostreatus* em *Zoysia japonica* seja conduzido apenas até o segundo fluxo de cogumelos sem que haja uma perda expressiva na produção de cogumelos, tendo em vista que o terceiro fluxo representa apenas 6,7 e 3,7% da produção total nos Cultivos I e II, respectivamente. Além disso, ao se eliminar o terceiro ciclo de frutificação, tem-se um ganho de tempo de 58 para 43 dias, aproximadamente 25% em relação ao TT, que em escala de produção comercial pode representar a possibilidade de adiantamento de uma nova remessa de cultivos, que resultarão numa maior geração de receita ao produtor.

3.4.2 Ensaios de PBM em amostra *in natura* e resíduos pós-cultivo

Os ensaios de PBM foram realizados nas gramíneas *in natura* (IN1, IN2 e IN3) e nos resíduos originados nos Cultivos I (R1, R2, R3) e II (R4, R5 e R6), nos três ciclos de frutificação e no Cultivo III (R7 e R8) em dois ciclos, a fim de se avaliar a melhor produção de biogás associada a melhor produção de cogumelos comestíveis, de forma que o produtor possa otimizar seus processos produtivos e reaproveitar sequencialmente e de maneira mais eficaz os seus resíduos.

O inóculo utilizado para a produção de biogás em todos os ensaios apresentou média de $6,8 \pm 1,2\%$ de ST e de $5,4 \pm 1,1\%$ de SV. Os valores de produção de biogás do inóculo foram descontados do valor de produção das amostras do ensaio correspondente, conforme descrito no item 3.3.7. Por se tratar de um volume mínimo de produção de biogás no inóculo, por este já ser estabilizado, o teor de CH₄ não pode ser mensurado nesses ensaios.

A celulose microcristalina apresentou $95,9 \pm 0,5\%$ de sólidos voláteis (SV) e foi utilizada como padrão positivo. Os dados obtidos neste ensaio, incluindo a produção e composição do biogás, serviram para avaliar a qualidade do inóculo e confirmar sua seleção para a produção de biogás e CH₄. O PBM da celulose variou entre 598 ± 10 e 659 ± 14 LN kgSV⁻¹, com uma concentração média de 58,0% de CH₄. Esses resultados demonstram a capacidade do inóculo em promover a digestão anaeróbia (DA) e se aproximam dos valores máximos esperados para a celulose microcristalina, que são de 745,0 LN kgSV⁻¹ de biogás e

aproximadamente 50% de CH₄. De acordo com a norma VDI (2016), os ensaios deverão atingir no mínimo 80% de recuperação de biogás, correspondente a valores entre 596,0 e 745,0 LN kgSV⁻¹ (VDI, 2016). Os valores das análises de série de sólidos realizadas em todas as amostras deste estudo e que são essenciais para os posteriores ensaios de PBM estão dispostos na Tabela 7.

As amostras de gramíneas *in natura* denominadas IN, por não apresentarem nenhum preparo prévio, apresentaram menor umidade, entre 9,76 e 11,15%, em comparação às amostras obtidas dos resíduos pós-cultivo, entre 71,47 e 77,95% (Tabela 7). Cabe destacar que a umidade impacta no valor de ST, que são inversamente superiores nas amostras IN em relação às amostras R.

Os resultados obtidos para ST demonstraram que os resíduos pós-cultivo Cultivo I foram de 25,37; 27,44 e 27,06% para as amostras R1, R2 e R3, respectivamente. Porém, a estatística não demonstrou diferença entre tais resultados. Nas amostras do Cultivo II foi constatada diferença entre as médias de 22,21; 27,35 e 28,53% para as amostras R4, R5 e R6, respectivamente. Enquanto no Cultivo III os valores de 22,05 e 24,00% para as amostras R7 e R8, respectivamente, não mostraram diferença estatística.

Quanto aos SV não foi possível identificar um padrão entre os resíduos obtidos dos diferentes ciclos de frutificação. Os valores de SV para as amostras *in natura* foram de 80,51% nas amostras IN1 e IN2, de 78,10% em IN3. Os grupos de amostras que compõem os Cultivos I, II ou III, alcançaram valores de SV de 17,93 a 21,95%. Esses resultados se alinham com aqueles de umidade indicando que nas amostras dos resíduos pós-cultivo os valores de SV são menores por conta da presença da água.

Tabela 7 – Série de sólidos em amostras encaminhadas aos ensaios de potencial bioquímico de metano (n=3).

Identificação das amostras	Identificação do substrato	Umidade (%)	ST (%)*	SV (%)*	SF (%)*
IN1	<i>in natura</i> <i>Zoysia japonica</i> (1 cm)	11,15 ± 0,1 ^c	88,85 ± 0,1 ^a	80,51 ± 0,1 ^a	8,34 ± 0,1 ^b
R1	1º frutificação (Experimento I)	74,63 ± 0,2 ^{ab}	25,37 ± 0,2 ^b	21,02 ± 0,2 ^c	4,35 ± 0,2 ^d
R2	2º frutificação (Experimento I)	72,56 ± 3,3 ^b	27,44 ± 3,3 ^b	21,95 ± 0,6 ^c	5,49 ± 0,7 ^{cd}
R3	3º frutificação (Experimento I)	72,94 ± 4,0 ^b	27,06 ± 4,0 ^b	21,23 ± 0,7 ^c	5,83 ± 2,0 ^{cd}
IN2	<i>in natura</i> <i>Zoysia japonica</i> (2 a 5 cm)	11,15 ± 0,1 ^c	88,85 ± 0,1 ^a	80,51 ± 0,1 ^a	8,34 ± 0,1 ^b
R4	1º frutificação (Experimento II)	77,79 ± 1,1 ^a	22,21 ± 1,1 ^c	18,27 ± 0,3 ^d	3,94 ± 0,3 ^d
R5	2º frutificação (Experimento II)	72,65 ± 3,2 ^b	27,35 ± 3,2 ^b	21,34 ± 0,6 ^c	6,01 ± 0,6 ^{cd}
R6	3º frutificação (Experimento II)	71,47 ± 3,1 ^b	28,53 ± 3,1 ^b	21,60 ± 0,9 ^c	6,93 ± 0,9 ^{bc}
IN3	<i>in natura</i> <i>Axonopus compressus</i> (1 cm)	9,76 ± 0,5 ^c	90,22 ± 0,5 ^a	78,10 ± 1,7 ^b	12,12 ± 1,7 ^a
R7	1º frutificação (Experimento III)	77,95 ± 0,6 ^a	22,05 ± 0,6 ^c	17,93 ± 0,8 ^d	4,12 ± 0,8 ^d
R8	2º frutificação (Experimento III)	76,00 ± 1,5 ^{ab}	24,00 ± 1,5 ^{cd}	19,02 ± 0,2 ^d	4,98 ± 0,2 ^{cd}

ST: sólidos totais; SV: sólidos voláteis; SF: sólidos fixos; ±: desvio padrão. *ST e SV avaliados em relação à massa fresca.

Fonte: A autora, 2025.

Deve-se destacar que apesar dos ensaios apresentarem dados de massa úmida, ST, SV e SF, a produção de biogás e CH₄ é mensurada em LN kgSV⁻¹. Assim, cada valor de SV foi utilizado no cálculo da produção de biogás e CH₄ de sua amostra correspondente.

Os valores dos ensaios de PBM realizados nas amostras IN e nos resíduos pós-cultivo (R) da espécie *Pleurotus ostreatus* em gramíneas *Zoyza japonica* e *Axonopus compressus* estão dispostos na Tabela 8.

Tabela 8 – Produção específica acumulada de biogás nas amostras *in natura* e resíduos pós-cultivo em *Zoyzia japonica* (n=3).

Amostras	SV (%)*	LN Biogás kg SV ⁻¹	CH ₄ (%)	CH ₄ (LN kg SV ⁻¹)	Efeito Biogás (%)	Efeito CH ₄ (%)	Tempo da DA
IN1	80,51 ± 0,1 ^a	261 ± 12 ^{dcd}	67 ± 1 ^a	175 ± 8 ^{bc}	-	-	31
R1	21,02 ± 0,2 ^c	348 ± 28 ^a	59 ± 1 ^{cd}	205 ± 16 ^a	33,3	17,3	25
R2	21,95 ± 0,6 ^c	296 ± 2 ^b	55 ± 0 ^e	163 ± 1 ^{bc}	13,4	-7,0	25
R3	21,23 ± 0,7 ^c	167 ± 2 ^g	60 ± 1 ^{bc}	100 ± 1 ^e	-36,0	-42,7	25
IN2	80,51 ± 0,1 ^a	243 ± 18 ^{def}	67 ± 1 ^a	162 ± 12 ^{bc}	-	-	31
R4	18,27 ± 0,3 ^d	282 ± 31 ^{bc}	58 ± 1 ^{cdb}	163 ± 18 ^{bc}	16,0	0,6	25
R5	21,34 ± 0,6 ^c	225 ± 1 ^{ef}	59 ± 1 ^{bcd}	133 ± 1 ^d	-7,4	-18,1	25
R6	21,60 ± 0,9 ^c	156 ± 4 ^g	57 ± 2 ^{de}	89 ± 3 ^e	-35,8	-45,1	25
IN3	78,10 ± 1,7 ^b	276 ± 21 ^{bcd}	66 ± 1 ^a	182 ± 14 ^{ab}	-	-	29
R7	17,93 ± 0,8 ^d	248 ± 3 ^{cdef}	62 ± 2 ^b	154 ± 2 ^{cd}	-10,1	-15,4	27
R8	19,02 ± 0,2 ^d	222 ± 1 ^f	60 ± 2 ^{bc}	133 ± 1 ^d	-19,6	-26,9	27

*SV avaliados em relação à massa fresca. SV: sólidos voláteis; LN Biogás kg SV⁻¹: litros normalizados de biogás por quilograma de sólidos voláteis; LN CH₄ kg SV⁻¹: litros normalizados de biometano por quilograma de sólidos voláteis; DA: digestão anaeróbica; ±: desvio padrão. Médias com letras iguais na mesma coluna não tiveram diferença estatística entre si, segundo Teste Tukey a 5,0% de probabilidade.

*SV avaliados em relação à massa fresca.

Fonte: A autora, 2025.

Ao observar os resultados de PBM para as amostras *in natura* de *Zoyza japonica*, tem-se que a gramínea com o menor tamanho de fragmentos, IN1, foi capaz de produzir 261 ± 12 LN kgSV⁻¹ de biogás, enquanto que IN2 apresentou uma produção de 243 ± 18 LN kgSV⁻¹. Apesar das médias diferentes, não foi possível considerar que houve uma diferença estatística entre os resultados de médias (Tabela 8), indicando que o tamanho de

fragmentos não afetou a produção de biogás nas amostras *in natura*. Enquanto isso, IN3 produziu 276 ± 21 LN kgSV⁻¹, que apesar de se tratar de outra espécie de gramínea, *Axonopus compressus*, também não apresentou diferença estatística quando comparada às demais amostras *in natura*.

Ao longo do cultivo Cultivo I, a produção de biogás foi de 348 ± 28 , 296 ± 2 e 167 ± 2 LN kgSV⁻¹, para as amostras R1, R2 e R3, respectivamente, valores que demonstraram diferença estatística, quando comparados entre si. Já no Cultivo II os valores foram de 282 ± 31 , 225 ± 1 e 156 ± 4 LN kgSV⁻¹ para as amostras R4, R5 e R6, respectivamente. Nestes resultados também houve diferença estatística entre as amostras. Enquanto que no Cultivo III, houve diferença entre os valores de produção de biogás foram 248 ± 3 e 222 ± 1 LN kgSV⁻¹ para R7 e R8, respectivamente. Em todos os cultivos, nota-se que à medida em que se avança no número de fluxos de frutificação (ciclos de produção de cogumelos) se tem uma diminuição na produção de biogás que pode ser atribuída à diminuição da fração orgânica dos materiais disponíveis para a DA. Outro dado importante é que a amostra do Cultivo I, R1 (1 cm), demonstrou valor de rendimento de biogás superior quando comparada à amostra do Cultivo II, R4 (2 a 5 cm). Esse resultado pode ser atribuído ao menor tamanho de fragmentos, uma vez que se tratava de uma mesma espécie de gramínea nos substratos e as mesmas condições de cultivo.

Os melhores valores de produção de biogás foram obtidos pela amostra R1, 348 ± 28 LN kgSV⁻¹, que corresponde a associação de menor tamanho de fragmentos, 1 cm, com um fluxo de cultivo de cogumelos e corresponde ao resíduo pós-cultivo da gramínea *Zoyza japonica*.

Outro parâmetro relevante a ser discutido está entre o percentual de CH₄ no biogás produzido nas amostras IN1, IN2 e IN3 e nas obtidas pós-cultivo (R1 a R8), as IN foram capazes de obter um percentual médio de CH₄ em torno de 66 ± 1 e $67 \pm 1\%$ superior às amostras pós-cultivo que variam de 55 ± 0 e $62 \pm 2\%$ (Tabela 8). Deve-se considerar que, apesar da produção de biogás ser superior em algumas amostras de pós-cultivo, sempre há de se avaliar o percentual de CH₄ e o quanto esse valor impactará no rendimento total de CH₄ produzido, uma vez que este é o gás presente no biogás que possui potencial energético.

Ao se avaliar a produção de CH₄, as amostras IN1, IN2 e IN3 apresentaram valores de produção de 175 ± 8 ; 162 ± 12 e 182 ± 14 LN kgSV⁻¹ que não apresentaram diferença

estatística entre si (Tabela 8). Já ao se comparar os resíduos pós-cultivo da mesma gramínea, o Cultivo I com o menor tamanho de fragmentos, com as amostras R1, R2 e R3 (205 ± 16 ; 163 ± 1 ; 100 ± 1), apresentaram as melhores médias de produção de CH_4 em relação ao Cultivo II, com maior tamanho de fragmentos, amostras R4, R5 e R6 (163 ± 18 ; 133 ± 1 ; 89 ± 3). Com destaque de maior produção para a amostra R1 que corresponde ao menor tamanho de partícula, 1 cm, com apenas 1 fluxo de cultivo de cogumelos. Essa condição, mostrou-se mais eficiente na produção de CH_4 , $205 \pm 16 \text{ LN kgSV}^{-1}$, inclusive quando comparado a R4, $163 \pm 18 \text{ LN kgSV}^{-1}$, com o mesmo número de fluxos de cultivo, na mesma espécie de gramínea, mas com tamanho de fragmentos maior (2,0 a 5,0 cm).

Na literatura, diferentes gramíneas *in natura* apresentam diferentes valores de produção de biogás. Espécies cultivadas apresentaram produção média de biogás de $406 \pm 21 \text{ LN kgSV}^{-1}$, enquanto que em gramíneas silvestres a produção foi de $120 \pm 16 \text{ LN kgSV}^{-1}$ (Oleszek *et al.*, 2014). A faixa de produção de biogás obtida por esses autores engloba os resultados apresentados por este estudo para as amostras IN1, IN2 e IN3 (261 ± 12 ; 243 ± 18 e $276 \pm 21 \text{ LN kgSV}^{-1}$). Estes resultados ressaltam a importância de ensaios de PBM para cada tipo de amostra e para cada variação de característica dentro de uma mesma espécie de substrato.

Já em outro estudo, que avaliou os substratos pós-cultivo de *Pleurotus florida* em palha de arroz, com três fluxos de frutificação a produção de biogás foi de $148,0 \text{ LN kgST}^{-1}$, enquanto o percentual de CH_4 não foi informado (Tabela 4). O valor de produção de biogás se aproxima dos apresentados neste estudo, para os resíduos pós-cultivo após três fluxos de cogumelos, em R3 e R6, de 167 e 156 LN kgSV^{-1} (Mehta; Gupta; Kaushal, 1990). Entretanto, os resultados do estudo em comparação foram expressos em LN kgST^{-1} , unidade que se difere do indicado na VDI 4630 (2016), LN kgSV^{-1} e que foi aplicado no presente estudo.

Para a mesma espécie de fungo, *Pleurotus ostreatus*, em palha de trigo, os resíduos pós-cultivo após três fluxos de cogumelos foram destinados a DA por 44 dias. Para tal, obteve-se 402 LN kgST^{-1} de biogás, entretanto o estudo não apresentou dados para qualificação do biogás, ou seja, não indicou a produção de CH_4 (Colavolpe *et al.*, 2012) (Tabela 4). A falta de dados sobre a composição do biogás, no estudo mencionado, levanta o questionamento sobre o potencial energético desse gás, tendo em vista que a concentração de CH_4 tem influência direta sobre o volume total de CH_4 produzido, que está diretamente ligado

ao potencial energético do biogás. Ademais, os resultados de produção de biogás também foram expressos em LN kgST^{-1} , como no estudo anteriormente mencionado, o que se difere da unidade indicada na norma utilizada no presente estudo (VDI, 2016).

Esta diferença de unidade, indicada nos estudos anteriores, impede uma comparação adequada de resultados com os estudos regidos pela norma oficial, que indica a utilização da expressão de resultados em SV, tendo em vista que esta representa a matéria orgânica do substrato disponível para ser degradada pela DA, os quais correspondem apenas a uma parcela dentro dos ST, ou seja, ST é dividido em SV e SF. Os SF, também conhecidos por cinzas, não possuem potencial de produção de biogás.

Vieira (2021) avaliou a produção de biogás em resíduos pós-cultivo da espécie *Agaricus bisporus* em palha de trigo e esterco, e obteve um rendimento de biogás de 306 LN kgSV^{-1} e 157 LN kgSV^{-1} de rendimento de CH_4 , o que indica que cerca de 51% do biogás é composto por CH_4 . Apesar do rendimento de biogás ser superior no estudo mencionado, o rendimento de CH_4 foi considerado similar a alguns resultados aos encontrados no presente estudo (entre 89 e 205 LN kgSV^{-1}). Deve-se atentar que apesar dos resultados expressarem a mesma unidade e apresentarem similaridades, os experimentos foram conduzidos com uma espécie de fungo diferente do avaliado no presente estudo.

Os valores de produção de CH_4 obtidos neste estudo (89 ± 3 a $205 \pm 16 \text{ LN kgSV}^{-1}$), tanto das amostras IN quanto das amostras R1 a R8, são distintos dos publicados por Edwiges e colaboradores (2019) para amostras sem pré-tratamento, compostas pela mistura de gramíneas das espécies *Panicum maximum*, *Zoysia japonica* e *Axonopus compressus*, que indicaram 255 a 323 LN kgSV^{-1} de CH_4 (Edwiges *et al.*, 2019). Também são inferiores aos descritos por Triolo e colaboradores (2012) que avaliaram diferentes espécies de gramínea, *Poa pratensis*, *Trifolium repens*, *Poa abbreviata* e a misturas delas e obtiveram produção de CH_4 de $288,7 \pm 3,5$ a $388,9 \pm 10,2 \text{ LN kgSV}^{-1}$. Essa distinção dos resultados em relação a literatura pode estar associada a características intrínsecas das amostras, metodologia adotada e condições experimentais.

Resíduos pós-cultivo de *Pleurotus ostreatus* em misturas de gramíneas das espécies *Zoysia japonica* (50%) + borra de café (50%), e *Cynodon* spp. cv. Tifton 85 (50%) + borra de café (50%) foram avaliadas e apresentaram tempo de DA de 30 e 32 dias e resultaram em um rendimento de CH_4 de $277 \pm 7,9 \text{ LN kgSV}^{-1}$ e $196 \pm 12,0 \text{ LN kgSV}^{-1}$, respectivamente

(Lourenço, 2022). Os valores do estudo mencionado são superiores aos apresentados no presente estudo, para os resíduos pós-cultivo, R3 e R6, com mesma especificação de três fluxos de frutificações, que produziram 100 ± 1 e 89 ± 3 LN kgSV⁻¹ de CH₄. Essa diferença se dá pela variação nas características químicas das amostras, uma vez que os resultados dos ensaios de PBM são únicos para cada substrato avaliado.

A produção sequencial de *Pleurotus ostreatus* e biogás dos resíduos pós-cultivo, condição que mais se assemelha ao presente estudo, em palhas de arroz em um único fluxo de cultivo foi avaliada. A EB para o cogumelo cultivado foi de 40,1%, enquanto o rendimento de CH₄ do resíduo pós-cultivo foi de 133,0 LN kgSV⁻¹ (Huang *et al.*, 2019). Os valores apresentados na literatura são inferiores quando comparado às mesmas condições realizadas neste estudo em R1, com EB de $67,4 \pm 6,3$ e $80,3 \pm 4,8\%$ e rendimento de CH₄ de 205 ± 16 LN kgSV⁻¹. Cabe destacar que o mesmo tipo de estudo, com dados para análise sequencial do cultivo de cogumelos associada a produção de biogás, não foi encontrado para espécies de gramíneas utilizando o fungo *Pleurotus ostreatus*.

Apesar dos valores de rendimento de CH₄ obtidos na literatura serem superiores aos encontrados no presente estudo, há de se observar que cada espécie de gramínea irá apresentar características intrínsecas que se divergem das demais utilizadas em outros estudos e que essas características individuais podem resultar em resultados distintos.

No entanto, ao se observar apenas os experimentos propostos neste estudo houve ganhos significativos na produção de biogás e CH₄ ao se investigar o tamanho de fragmentos associado com o pré-tratamento dos substratos pela ação de *Pleurotus ostreatus* em relação às amostras *in natura*. Ademais, cabe salientar que neste estudo, além da produção de biogás também houve a produção de cogumelos comestíveis a partir das mesmas amostras e anterior aos ensaios de PBM.

Assim, outro aspecto importante a se discutir, é que as amostras R1 e R2 obtiveram ganhos na produção de biogás de 33,3%, e 20,3%, respectivamente, em relação à amostra de mesmo tamanho de fragmentos *in natura*, IN1. Para CH₄ apenas R1 apresentou aumento de rendimento de 17,3%. O mesmo ocorreu com R4 em relação a IN2, com ganho de 16,0% para biogás e 0,6% de CH₄. Esse ganho de produção indica a função de pré-tratamento do fungo *Pleurotus ostreatus* em amostras de gramíneas da espécie *Zoysia japonica*, pois mesmo após a retirada de um fluxo de cultivo de cogumelos em R1 e R4 a produção de biogás

e CH₄ ainda se manteve superior à amostra de referência. Já nas amostras R2, R3, R5, R6, R7 e R8 houve uma redução na produção de biogás e CH₄, indicando o desgaste do substrato (resíduo pós-cultivo) pela produção dos cogumelos (Tabela 8).

Nas amostras R7 e R8, correspondentes ao Cultivo III, não foi possível visualizar a mesma tendência de aumento do rendimento de biogás e CH₄ pelo uso do fungo observado nas amostras R1 e R4, originadas nos Cultivos I e II. Esses resultados indicam um maior efeito da ação dos fungos como pré-tratamento na gramínea *Zoysia japonica* quando comparada a *Axonopus compressus*. Ainda, as amostras R7 e R8 apresentaram produção inferior de biogás e CH₄ em relação a IN3 indicando a conversão de parte da matéria orgânica da gramínea em cogumelos, tornando essa fração indisponível para produção de biogás e CH₄.

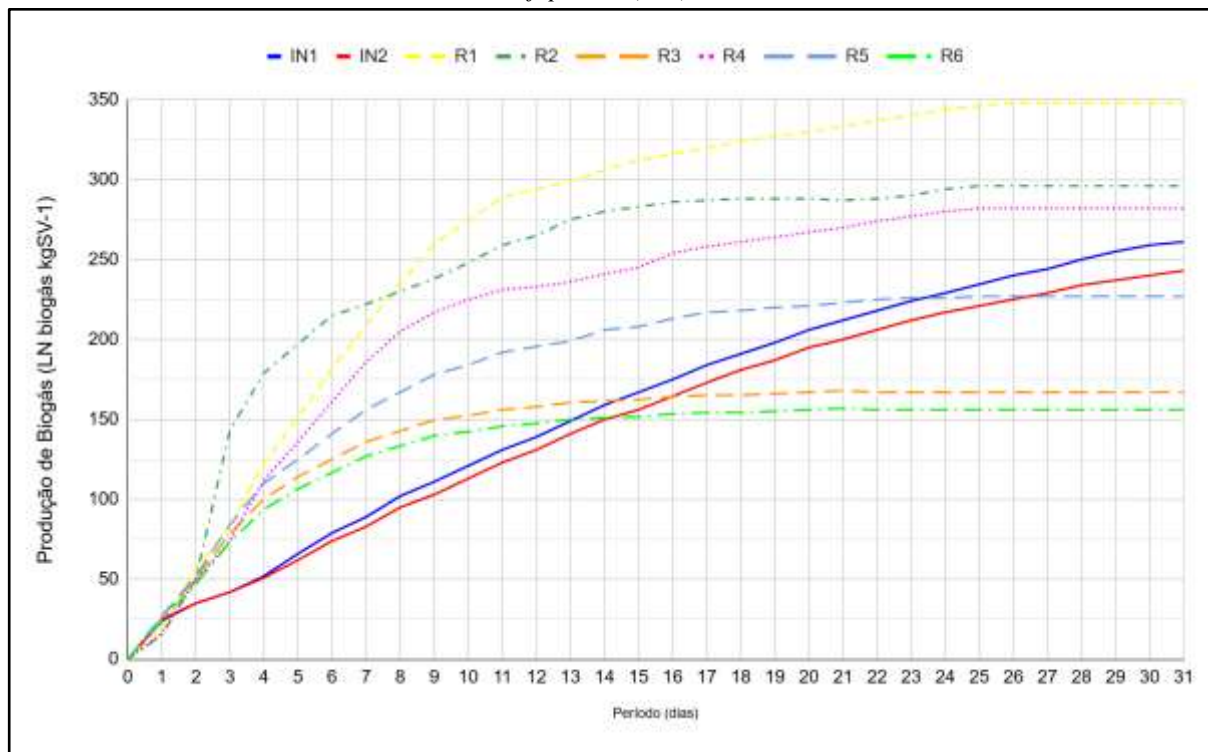
3.4.3 Cinética dos ensaios de PBM

Outro aspecto relevante a ser avaliado é o tempo da DA, ao se observar os resultados das amostras IN1 e IN2, o tempo de DA foi de 31 dias, sendo 6 dias a mais em relação às amostras de resíduos pós-cultivo, R1 a R6, de 25 dias, o que corrobora com a afirmação de que os fungos desempenham um papel de pré-tratamento nestas amostras, de modo que o substrato se tornou mais acessível aos micro-organismos responsáveis pela produção de biogás (Tabela 8). A utilização dessa função de pré-tratamento do fungo resultou numa redução de cerca de 20% no tempo de DA. Enquanto que IN3 (29 dias) em relação à R7 e R8 (27 dias) a redução foi de apenas 2 dias, que resultou em apenas 7% de redução no tempo da DA.

Estudos apontam tempos superiores de DA na produção de biogás em resíduos pós-cultivo, entre 30 e 45 dias (Colavolpe *et al.*, 2012; Lourenço *et al.*, 2021; Mehta; Gupta; Kaushal, 1990), assim os resultados deste estudo, tanto a redução de tempo da DA quanto o aumento de rendimento de biogás e CH₄, apontam para uma otimização dos procedimentos de incubação e cultivo de *Pleurotus ostreatus* associado ao pré-tratamento de *Zoysia japonica* para a DA.

A cinética da reação revela também a diferença de comportamento das amostras IN1 e IN2 quando comparadas as amostras R1 a R6 para *Zoysia japonica* (Figura 17).

Figura 17 – Produção específica acumulada de biogás nas amostras *in natura* e resíduos pós-cultivo em *Zoysia japonica* (n=3).



Fonte: A autora, 2025.

As amostras IN1 e IN2 apresentaram menor inclinação da curva de produção de biogás quando comparadas às amostras R1, R2, R3, R4, R5 e R6, indicando uma menor produção de biogás nos dias iniciais da DA (Figura 17 e Quadro 2). Isso se deve à menor disponibilidade imediata de compostos essenciais à DA nas amostras sem a ação dos fungos em relação às amostras inoculadas e incubadas com *Pleurotus ostreatus* que resultaram nos resíduos pós-cultivo. Sabe-se que a degradação da lignina leva a carboidratos com cadeias menores passíveis de serem metabolizados com maior facilidade. Ou seja, nas amostras IN houve uma maior dificuldade de acesso dos micro-organismo responsáveis pela DA aos compostos necessários à reação química que resulta na formação do biogás (Aguiar; Ferraz, 2011; Vasconcelos, 2012). No Quadro 2 estão dispostas as equações da reta e os valores de inclinação das curvas correspondentes aos primeiros dias da DA e até que a produção de biogás chegasse a 90% do total em cada um dos ensaios de PBM.

Quadro 2 - Equações das retas para a produção específica acumulada de biogás nas amostras *in natura* e resíduos pós-cultivo em *Zoysia japonica* (n=3).

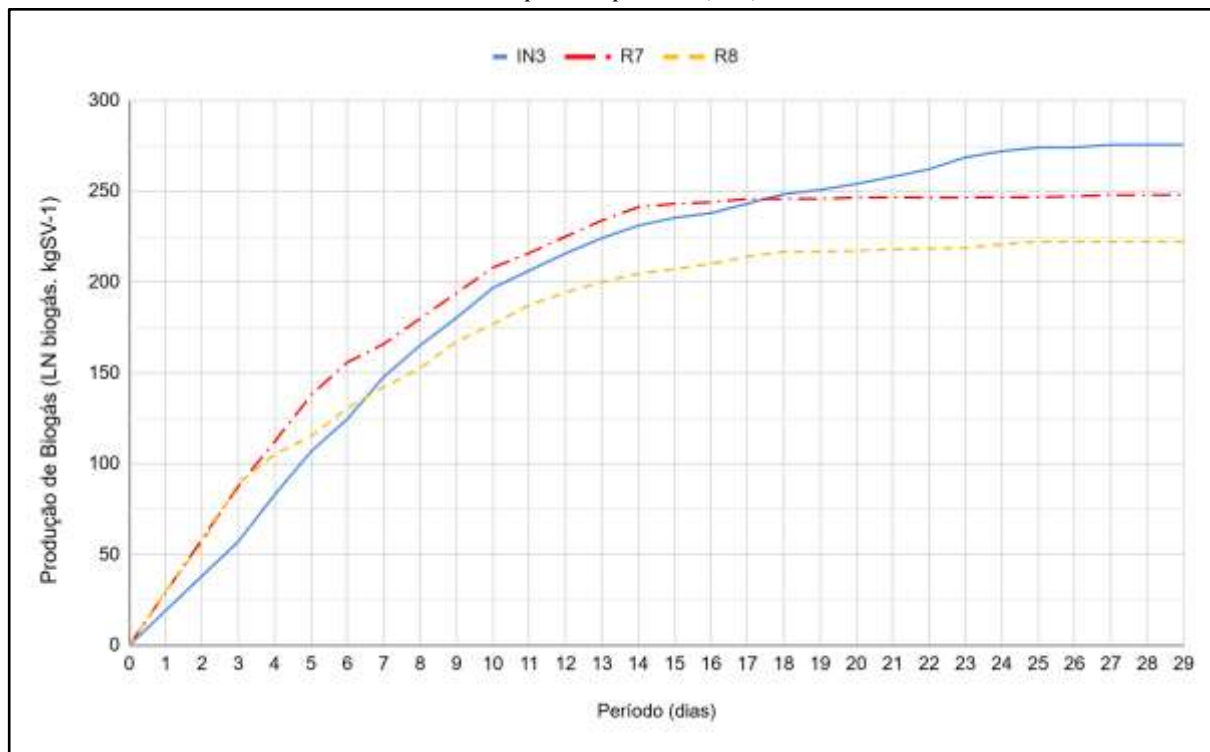
Amostras	Nº de dias adotados para a equação	Equação da reta	Coefficiente de determinação (R ²)
IN1	24	$y = 9,4x + 10,5$	0,987
IN2	25	$y = 8,6x + 11,8$	0,987
R1	8	$y = 30,5x - 34,9$	0,997
R2	16	$y = 16,0x + 22,0$	0,889
R3	12	$y = 22,0x + 19,5$	0,846
R4	11	$y = 18,8x + 12,6$	0,852
R5	14	$y = 14,2x + 20,7$	0,913
R6	9	$y = 18,2x + 0,9$	0,943

Fonte: A autora, 2025.

Os ensaios do Cultivo I, amostras R1, R2, e R3 apresentaram maior inclinação da reta, 30,5; 16,0 e 22,0 LN BiogáskgSVdia⁻¹, respectivamente, quando comparados a IN1, 9,4 LN BiogáskgSVdia⁻¹. O mesmo pode ser observado no Cultivo II, onde R4, R5 e R6 apresentaram valor de 18,8; 14,2 e 18,2 LN BiogáskgSVdia⁻¹, respectivamente superior a IN2 com 8,6 em ambos os casos os substratos preparados a partir de *Zoysia japonica*, após a ação do *Pleurotus ostreatus* apresentaram maior velocidade de reação (Quadro 2). Assim, pode-se afirmar que houve a influência de pré-tratamento fúngico para se obter maiores velocidades de reação que resultaram em um tempo menor de produção do biogás total nos substratos R1, R2 e R3, R4, R5 e R6, e em alguns destes casos também ocorreu a maior produção de biogás, conforme observado em R1 e R2 (Figura 17 e Quadro 2).

A Figura 18 apresenta a cinética de reação para a DA nas amostras IN3 e R7 e R8 produzidas a partir da gramínea *Axonopus compressus*.

Figura 18- Média de produção específica acumulada de biogás nas amostras *in natura* e resíduos pós-cultivo em *Axonopus compressus* (n=3).



Fonte: A autora, 2025.

As cinéticas de produção de biogás observadas para *Zoysia japonica* foram diferentes da obtidas para *Axonopus compressus* (Figuras 16 e 17). Apesar dos resíduos pós-cultivo produzidos de *Axonopus compressus* apresentarem um aumento na produção de biogás nos dias iniciais (maior velocidade), observado pela maior inclinação da reta nestes dias, não houve aumento no rendimento de biogás ao final do experimento quando comparado os substratos pós-cultivo a IN3 (Quadro 3 e Figura 18).

Quadro 3 - Equações das retas para a produção específica acumulada de biogás nas amostras *in natura* e resíduos pós-cultivo em *Axonopus compressus* (n=3).

Amostras	Nº de dias adotados para a equação	Equação da reta	Coefficiente de determinação (R ²)
IN3	18	$y = 14,3x + 13,2$	0,939
R7	12	$y = 18,5x + 6,7$	0,958
R8	13	$y = 14,6x + 15,4$	0,948

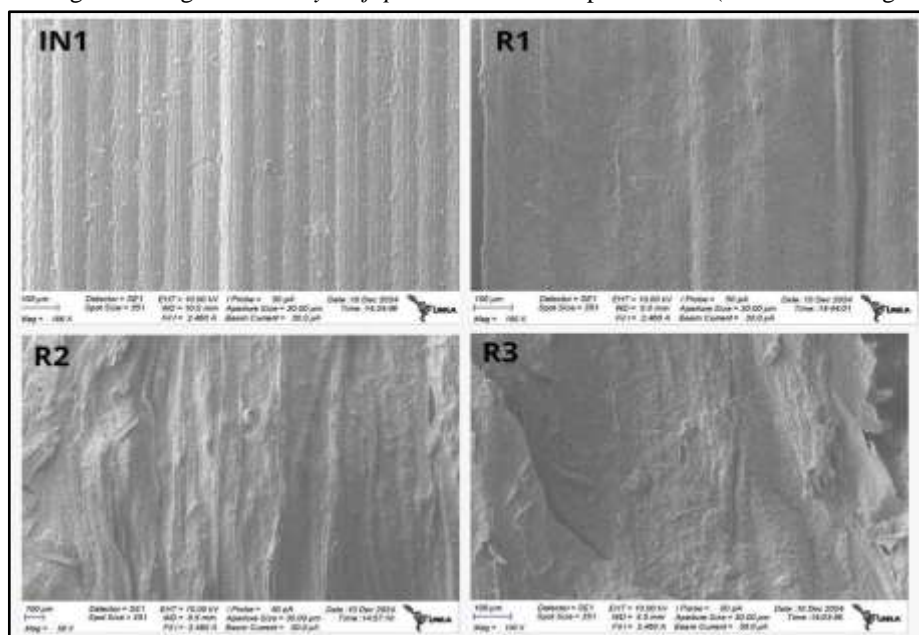
Fonte: A autora, 2025.

A amostra R7 apresentou uma velocidade maior de reação, 18,5 LN Biogás/kgSVdia⁻¹, em relação a IN3, 14,3 LN Biogás/kgSVdia⁻¹, ao se mensurar até o dia em que se obteve 90% da produção total de biogás do experimento. Em diferentes estudos a inclinação da reta é frequentemente associada ao efeito de pré-tratamentos em substratos para obtenção de biogás, assim, o presente estudo corrobora com resultados obtidos em outros estudos (Edwige *et al.*, 2019; Colavolpe *et al.*, 2012; Mustafa *et al.*, 2017).

3.4.4 Avaliação estrutural por MEV

Os resíduos pós-cultivo de ambas as espécies de gramíneas avaliadas foram submetidos a ensaios de MEV com a expectativa de comprovar as alterações na estrutura física da superfície das amostras e corroborar os resultados quantitativos obtidos nos ensaios de PBM. Somente as amostras de pós-cultivo de gramíneas com 1 cm foram avaliadas neste ensaio por apresentarem melhor desempenho na produção de biogás (Figuras 19 e 20).

Figura 19 - Micrografias da gramínea *Zoysia japonica in natura* e pós-cultivo (tamanho de fragmento de 1 cm).

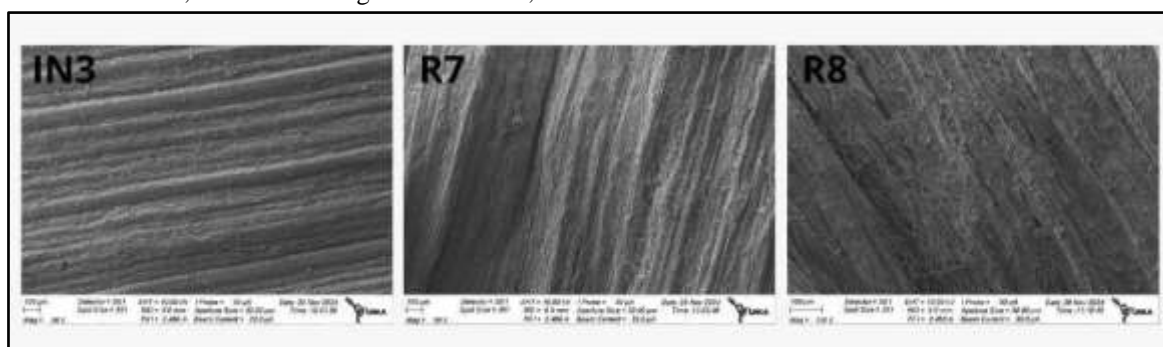


IN1: gramínea *in natura*; R1: substrato após 1 ciclo de cultivo; R2: substrato após 2 ciclos de cultivo; R3: substrato após 3 ciclos de cultivo.

Fonte: a autora, 2025.

As imagens mostram a irregularidade ou desestruturação da superfície da gramínea de *Zoysia japonica* nas amostras R comparadas à amostra IN1 (Figura 19). As amostras submetidas aos diferentes números de ciclos de cultivo de cogumelos apresentam desgaste progressivo em R1, R2 e R3 que representam 1, 2 e 3 fluxos de cultivo, respectivamente. Ao se observar a estrutura de IN1, as fibras são organizadas com estrutura linear devido a lignina. É visível, quando se compara IN1 a R3, o rompimento dessa estrutura na superfície da gramínea e a desorganização ocasionada pela ação das enzimas secretadas pelos fungos *Pleurotus ostreatus*.

Figura 20 - Micrografias das amostras de gramínea *Axonopus compressus in natura* em amostras decorrentes do Cultivo I, tamanho de fragmento de 1 cm, antes da submissão das amostras a ensaios de PBM.



IN1: gramínea *in natura*; R7: substrato após 1 ciclo de cultivo; R8: substrato após 2 ciclos de cultivo.

Fonte: A autora, 2025.

O mesmo desgaste na estrutura externa da gramínea observado na *Zoysia japonica* pode ser observado nas amostras de *Axonopus compressus* (Figura 20). Porém, o nível de desgaste nestas amostras pode ser considerado inferior às primeiras, principalmente entre as R1 a R7 (1 fluxo de cultivo) e R2 a R8 (2 fluxos de cultivo) (Figura 19 e Figura 20). A gramínea da espécie *Axonopus compressus* se apresentou mais resistente a atuação das enzimas produzidas pelos fungos *Pleurotus ostreatus*, essa afirmação corrobora os resultados obtidos tanto na EB final do Cultivo III, de apenas 47,6%, quanto nos ensaios de PBM realizados nas amostras pós-cultivo R7 e R8 que obtiveram valores de produção de biogás inferiores a amostra *in natura*.

As imagens (Figura 19 e Figura 20) não refletem exatamente os resultados obtidos nos ensaios de PBM (Tabela 8), pois na espécie *Zoysia japonica* a maior exposição do substrato ao fungo não resultou na maior produção de biogás e CH₄, ou seja, o pré-tratamento

não se mostrou mais efetivo. Neste sentido, o substrato pós-cultivo que obteve o melhor resultado de pré-tratamento foi R1, pois teve ganho na velocidade de reação e aumento no rendimento de biogás e CH₄ (Tabela 8 e Quadro 2). Enquanto na espécie *Axonopus compressus* o efeito de pré-tratamento pode ser observado, por ensaios de PBM, apenas em relação a velocidade de reação inicial do experimento e não em relação ao aumento de rendimento na produção de biogás e CH₄ (Tabela 8 e Quadro 3). Os mesmos resultados foram observados por Mustafa *et al.*, (2017) para a mesma espécie fúngica.

No presente estudo foi possível comprovar que o pré-tratamento aumenta a biodisponibilidade de carboidratos para a DA, aumentando o rendimento de biogás e CH₄. A exposição por um período maior do substrato aos fungos pode causar uma maior desestruturação na gramínea, porém nem sempre isso resultará em uma maior produção de biogás e CH₄. A hipótese levantada é de que o esgotamento do substrato pode acarretar redução do metabolismo dos fungos e impactar a DA (Aguiar; Ferraz, 2011; Vasconcelos, 2012; Tortora *et al.*, 2012).

3.4.5 Resumo das melhores condições para produção sequencial de cogumelos e biogás

O menor tamanho de fragmentos, apesar de não ter um efeito significativo em relação à produção de cogumelos (Tabela 6), apresentou um impacto positivo na produção de biogás (Tabela 8). Desta forma, não se pode avaliar esta variável isoladamente e sim concomitantemente com as respostas de produção de cogumelos e biogás. Assim, a Tabela 9 apresenta um resumo das combinações que apresentaram os melhores resultados obtidos na produção de cogumelos, seguido da produção de biogás. As combinações sugeridas de cultivo sequencial de produção de biogás foram resultantes do cultivo da gramínea *Zoysia japonica*, por ser a única que apresentou aumento rendimento de biogás e mesmo após o cultivo de cogumelos. Ao se avaliar as possibilidades R1 e R2 apenas pelos resultados de bancada obtidos, ambas podem ser consideradas boas oportunidades, tanto na obtenção de cogumelos, quanto pela produção de biogás. Todavia, a maior discrepância entre os resultados está no TT associado ao tempo da DA e no efeito de ganho de CH₄ pelo uso do fungo como pré-tratamento das gramíneas. A produção que corresponde a amostra R1 é aquela que apresenta o menor tempo total (Ttotal) que é composto pela soma do tempo total de cultivo (TT) e do tempo de DA, 53

dias, pois com apenas um ciclo de produção de cogumelos foi possível ter uma produção que corresponde a cerca de 62,5% da EB total possível em 3 fluxos de cultivo, com uma redução de aproximadamente 22,0% de tempo total de cultivo com relação a R2 e um aumento de 17,3% na produção de CH₄.

Tabela 9 – Resumo das melhores condições da produção sequencial de cogumelos, biogás e metano em *Zoysia japonica* (n=3).

Amostras	Produção total (%)	TT (dias)	Biogás (LN kg SV ⁻¹)	CH ₄ (LN kg SV ⁻¹)	Tempo da DA (dias)	Ttotal (dias)	Efeito CH ₄ (%)
R1 (Cultivo I - 1 ciclo)	62,5	28	348 ± 28 ^a	205 ± 16 ^a	25	53	17,3
R2 (Cultivo I - 2 ciclo)	93,3	43	296 ± 2 ^b	163 ± 1 ^b	25	68	-7,0

SV: sólidos voláteis; LN Biogás kg SV⁻¹: litros normalizados de biogás por quilograma de sólidos voláteis; LN CH₄ kg SV⁻¹: litros normalizados de biometano por quilograma de sólidos voláteis; TT: tempo total de cultivo; Ttotal: TT+Tempo da DA; ±: desvio padrão. Médias com letras iguais na mesma coluna não tiveram diferença estatística entre si segundo Teste Tukey a 5,0% de probabilidade. EB: eficiência biológica (%); CV: coeficiente de variação (%).

Fonte: A autora, 2025.

No Quadro 4 são expostos de forma simplificada as oportunidades financeiras para um produtor detentor de resíduos de podas de gramas da espécie *Zoysia japonica*, e que faça a produção sequencial de cogumelos e biogás conforme os cenários R1 e R2 com direcionamento do biogás para substituição de gás liquefeito de petróleo (GLP).

Quadro 4 - Cálculo de oportunidade financeira de utilização de 1 tonelada de gramínea *Zoysia japonica* na produção sequencial de cogumelos *Pleurotus ostreatus* para comercialização e biogás para substituição de gás liquefeito de petróleo. Valores apresentados em U\$S.

Cultivo*	Massa de cogumelos frescos (kg)	Potencial de arrecadação** (U\$S)	Volume de biogás obtido m ³ /ton***	Valor economizado pela substituição do GLP**(U\$S)	Oportunidade financeira total (U\$S)
R1	674	3.854,76	288,21	177,55	4.032,31
R2	1.000	5.719,23	236,50	145,70	5.864,93

GLP: gás liquefeito de petróleo; m³/ton: metros cúbicos por tonelada.

* Para os cálculos se considerou 1.000 kg de gramíneas secas.

** O Valor do GLP foi de R\$8,22/kg conforme informe de preços PETROBRAS para janeiro de 2025. O valor do cogumelo shimeji branco (*Pleurotus ostreatus*) foi de R\$33,00 consultado no comércio de Foz do Iguaçu-PR no dia 05 de fevereiro de 2025. O câmbio do dia era de R\$1,00 equivalente a U\$S5,77.

*** Considerou-se o poder calorífico inferior de um biogás com 60% metano.

Ao se avaliar as oportunidades financeiras de R1 e R2, nota-se que ambas podem apresentar oportunidades de ganhos, tanto pela venda de cogumelos, quanto pela utilização do biogás produzido. No entanto, o cultivo de cogumelos apresenta uma possibilidade de retorno financeiro maior quando comparado ao valor que pode ser obtido pela utilização do biogás.

A decisão do número do tipo de cultivo, 1 ou 2 ciclos, cabe ao produtor a depender da infraestrutura disponível, de uma análise de viabilidade econômica, das oportunidades de negócios que se apresentam e dos benefícios financeiros que podem ser obtidos pela venda de cogumelos, custos evitados com o consumo do biogás produzido ou ainda da receita que pode ser obtida da venda do gás produzido. Neste estudo, avaliando apenas as oportunidades de ganhos financeiros, recomenda-se que sejam priorizados os requisitos adotados em R2, pois apesar do aumento de 15 dias tempo total da produção sequencial, destacou-se ao se avaliar uma oportunidade financeira 45% superior à R1 devido a maior produção de cogumelos.

Deve-se atentar que em ambos os casos o gerador das gramíneas poderá estar evitando também custos com a destinação de resíduos. Além disso, após a biodigestão terá como subproduto também o digestato que poderá ser utilizado na propriedade evitando desprendimento com recursos com biofertilizantes. Ou seja, todo um processo sustentável e que futuramente pode se tornar ainda mais vantajoso com todas as mudanças climáticas, esgotamento de recursos naturais e dos combustíveis fósseis. Neste estudo avaliou apenas o uso do biogás para a substituição de GLP, porém existem outras alternativas que podem se tornar viáveis a partir do volume de biogás produzido como a produção de energia elétrica para autoconsumo ou inserção na rede de distribuição ou ainda a geração de energia térmica para autoconsumo.

3.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os substratos constituídos de gramíneas *Zoysia japonica* e *Axonopus compressus* foram capazes de produzir cogumelos comestíveis da espécie *Pleurotus ostreatus*. Porém, a *Zoysia japonica* foi a mais eficaz quando avaliados os principais parâmetros biológicos do cultivo. Os cogumelos de todos os cultivos apresentaram bom aspecto visual, característica considerada essencial para a comercialização. Os tamanhos de fragmentos, de 1,0 e de 2,0 a 5,0 cm, na produção de cogumelos proporcionaram condições idênticas quanto aos parâmetros biológicos avaliados. Os cultivos em *Zoysia japonica* apresentaram maior EB no primeiro fluxo de cogumelos e ao se observar a soma dos dois primeiros fluxos, constatou-se que até 96% da EB total ocorreu em apenas dois fluxos de produção de cogumelos. A maior EB obtida indica que 1,00 kg de gramínea seca foi capaz de produzir até 1,18 kg de cogumelos frescos.

Nas amostras *in natura* não houve o aumento na produção de biogás pelo menor tamanho de fragmentos. Já nos resíduos pós-cultivo, o menor tamanho de fragmentos, resultou em uma produção superior de biogás. Além disso, ficou evidente que à medida em que se avança no número de fluxos de cultivo de cogumelos há uma tendência de diminuição na produção de biogás. Os melhores valores de produção de biogás foram obtidos pela associação de menor tamanho de fragmentos com apenas um fluxo de cultivo de cogumelos. Foi observado o aumento de rendimento na produção de biogás e CH₄ de até 33,3 e 17,3%, respectivamente, em relação a sua amostra IN correspondente.

Os resultados deste estudo comprovam a função de pré-tratamento do fungo *Pleurotus ostreatus* em amostras de gramíneas da espécie *Zoysia japonica*, pois após um fluxo de cultivo de cogumelos, os volumes de biogás e CH₄ ainda se mantiveram superiores aos da amostra de referência. Ademais, o tempo da DA foi reduzido em até 20% nos resíduos pós-cultivo.

Ao se avaliar a oportunidade financeira da produção sequencial de cogumelos e biogás, deve-se optar pelo modelo de cultivo R2, com menor tamanho de fragmentos e dois ciclos de frutificação, pois a maior produção de cogumelos pode ser considerada uma oportunidade financeira mais atrativa.

Portanto, tendo em vista a projeção crescente para o mercado dos fungos comestíveis e a necessidade de uma transição energética mundial, pode-se dizer que a produção de alimentos e energia a partir de resíduos orgânicos é uma estratégia promissora, que deve ser vista como uma aliada para o desenvolvimento local e a geração descentralizada de energia. Além disso, ambas as atividades, cultivo de cogumelos e produção de biogás, estão em consonância com os ODS da Agenda 2030, entre eles: (2) Fome zero e agricultura sustentável, (6) Água potável e saneamento, (7) Energia limpa e acessível, (11) Promoção de cidades e comunidades sustentáveis, (12) Consumo e produção responsáveis e (13) Ação contra mudança do clima.

4 CAPÍTULO III: AVALIAÇÃO DO USO DE *Pleurotus ostreatus* COMO PRÉ-TRATAMENTO EM GRAMÍNEAS PARA PRODUÇÃO DE BIOGÁS

4.1 RELEVÂNCIA DO ESTUDO

Devido ao grande volume de aparas de gramas gerados nas cidades, se faz necessário estudos sobre o seu reaproveitamento adequado. Assim, conforme hipótese confirmada no capítulo anterior, o fungo *Pleurotus ostreatus* pode ser utilizado para o pré-tratamento de gramíneas para a produção de biogás. Este estudo busca comprovar o aumento da produção de biogás e CH₄ em gramíneas pelo uso de pré-tratamento biológico com *Pleurotus ostreatus* com vistas ao reaproveitamento de resíduos e aumento na produção de energia renovável.

4.2 OBJETIVOS

4.2.1 Objetivo geral

Avaliar a efetividade de pré-tratamento biológico por meio do fungo *Pleurotus ostreatus*, com diferentes tempos de incubação, em gramíneas das espécies *Zoysia japonica* (grama esmeralda) e *Axonopus compressus* (grama São Carlos) na produção de biogás e CH₄.

4.2.2 Objetivos específicos

Produzir substratos a partir de aparas de podas de gramíneas das espécies *Zoysia japonica* (grama esmeralda) e *Axonopus compressus* (grama São Carlos) para inoculação de *Pleurotus ostreatus*;

Caracterizar os substratos antes da inoculação com *Pleurotus ostreatus*, a partir de análises de umidade, sólidos totais, sólidos voláteis e sólidos fixos;

Inocular os substratos com a espécie *Pleurotus ostreatus* a fim de avaliar o uso do fungo como pré-tratamento biológico para a produção de biogás;

Realizar a digestão anaeróbia em ensaios de PBM e avaliar a produção de biogás e CH₄ nas gramíneas *in natura* e pré-tratadas;

Avaliar o impacto de diferentes tempos de incubação no pré-tratamento de gramíneas com base nos ensaios de PBM e indicar o melhor pré-tratamento proposto para a obtenção de biogás e CH₄;

Realizar ensaios de MEV nas amostras de gramíneas *in natura* e pré-tratadas a fim de identificar mudanças em sua estrutura física.

4.3 MATERIAL E MÉTODOS

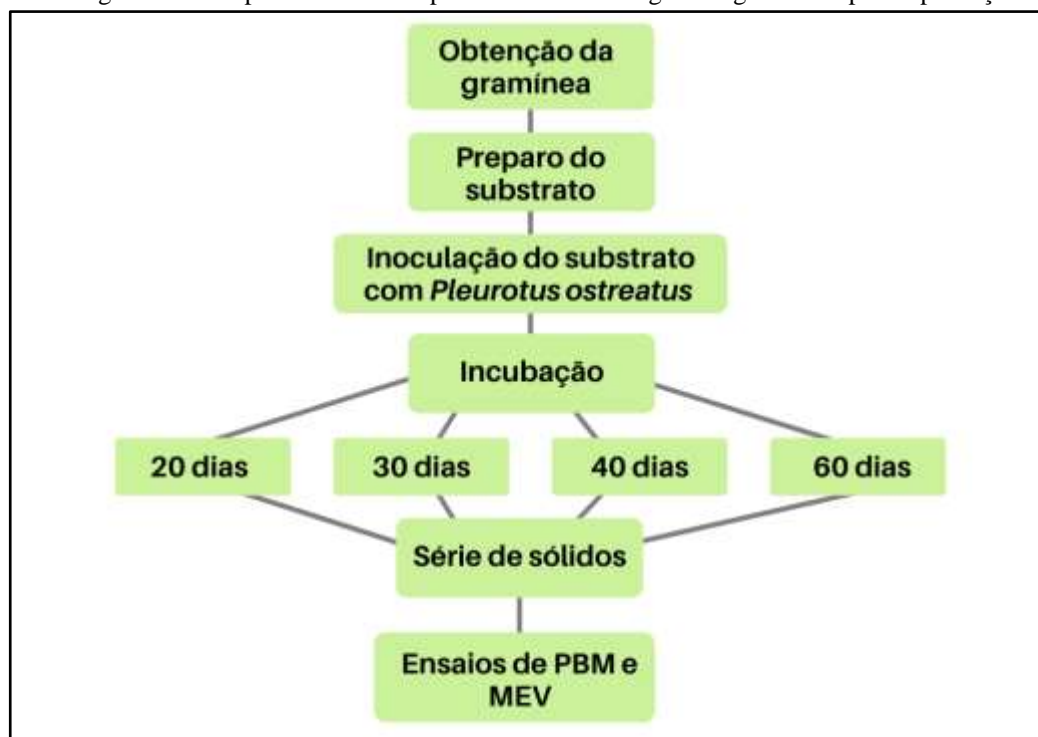
4.3.1 Local do estudo

O local do estudo foi descrito no capítulo II, item 3.3.1, p.52.

4.3.2 Desenho Experimental

Este estudo consistiu no pré-tratamento biológico de gramíneas da espécie *Zoysia japonica* e *Axonopus compressus* pelo fungo *Pleurotus ostreatus*, que após seus respectivos tempos de pré-tratamentos foram encaminhadas para ensaios de PBM para a avaliação potencial de produção de biogás e CH₄. O diagrama contendo o desenho experimental deste estudo está disposto na Figura 21.

Figura 21 - Diagrama das etapas do estudo do pré-tratamento biológico de gramíneas para a produção de biogás.



Fonte: a autora, 2025.

Nota-se que todas as etapas dos distintos pré-tratamentos são idênticas, sendo que a única diferença entre eles está contida no tempo de incubação dos substratos que nesse caso é sinônimo de tempo de pré-tratamento biológico pelo fungo *Pleurotus ostreatus*.

4.3.3 Amostras

Para melhorar o entendimento dos resultados apresentados, as amostras de gramíneas foram classificadas com uma letra que caracteriza a origem da amostra e um número referente ao experimento. Sendo que as amostras de gramínea *in natura*, serão identificadas com as letras IN e as amostras pré-tratadas pela letra T. Neste estudo, tendo em vista os resultados do capítulo anterior, apenas o tamanho de fragmentos de 1 cm foi utilizado. A variação do número que acompanha a(s) letra(s) está associado a algum tratamento diferente recebido pela amostra, que está descrito no Quadro 5. Todos os ensaios tiveram o objetivo mensurar a produção de biogás e CH₄ em amostras sem pré-tratamento fúngico.

Quadro 5 - Identificação e características das amostras para ensaios de PBM.

ID	Característica da amostra
<i>Zoysia japonica</i>	
IN1	<i>in natura</i> (1 cm) Composição: gramíneas de podas secas trituradas com fragmentos médios de 1 cm.
T1	Pré-tratamento de 20 dias Composição: substrato pós-incubação (preparado conforme item 4.3.4.2), composto de gramíneas de podas trituradas com fragmentos médios de 1 cm+ 5% de inóculo de <i>Pleurotus ostreatus</i> .
T2	Pré-tratamento de 30 dias Composição: substrato pós-incubação (preparado conforme item 4.3.4.2), composto de gramíneas de podas trituradas com fragmentos médios de 1 cm+ 5% de inóculo de <i>Pleurotus ostreatus</i> .
T3	Pré-tratamento de 40 dias Composição: substrato pós-incubação (preparado conforme item 4.3.4.2), composto de gramíneas de podas trituradas com fragmentos médios de 1 cm+ 5% de inóculo de <i>Pleurotus ostreatus</i> .
T4	Pré-tratamento de 60 dias Composição: substrato pós-incubação (preparado conforme item 4.3.4.2), composto de gramíneas de podas trituradas com fragmentos médios de 1 cm+ 5% de inóculo de <i>Pleurotus ostreatus</i> .
<i>Axonopus compressus</i>	
IN3	<i>in natura</i> (1 cm) Composição: gramíneas de podas secas trituradas com fragmentos médios de 1 cm.
T5	Pré-tratamento de 20 dias Composição: substrato pós-incubação (preparado conforme item 4.3.4.2), composto de gramíneas de podas trituradas com fragmentos médios de 1 cm+ 5% de inóculo de <i>Pleurotus ostreatus</i> .
T6	Pré-tratamento de 30 dias Composição: substrato pós-incubação (preparado conforme item 4.3.4.2), composto de gramíneas de podas trituradas com fragmentos médios de 1 cm+ 5% de inóculo de <i>Pleurotus ostreatus</i> .
T7	Pré-tratamento de 40 dias Composição: substrato pós-incubação (preparado conforme item 4.3.4.2), composto de gramíneas de podas trituradas com fragmentos médios de 1 cm+ 5% de inóculo de <i>Pleurotus ostreatus</i> .
T8	Pré-tratamento de 60 dias Composição: substrato pós-incubação (preparado conforme item 4.3.4.2), composto de gramíneas de podas trituradas com fragmentos médios de 1 cm+ 5% de inóculo de <i>Pleurotus ostreatus</i> .

Fonte: A autora, 2025.

4.3.4 Preparo de substratos

4.3.4.1 *Obtenção de substratos para inoculação de *Pleurotus ostreatus**

A obtenção dos substratos se deu como descrito no capítulo II, item 3.3.4.1, p.57.

4.3.4.2 *Preparo dos substratos para inoculação de *Pleurotus ostreatus* com finalidade de pré-tratamento biológico*

O preparo de substratos ocorreu conforme descrito no capítulo II, item 3.3.4.2, p. 56.

4.3.5 Condições de incubação

A inoculação foi realizada com inóculo comercial preparado em serragem contendo a linhagem de *Pleurotus ostreatus*. Aos substratos foram adicionados 5,0% (m/m) de inóculo, em relação à massa úmida do substrato, conforme preconiza a literatura (Urban, 2017; Freitas *et al.*, 2018). Pesou-se, cerca de 20 g do inóculo, em balança analítica e, em seguida, esses foram adicionados ao substrato estéril após o resfriamento. Com o auxílio de elásticos e gaze esterilizada, fechou-se os sacos plásticos. Os substratos foram acondicionados em local escuro, arejado e com temperatura entre 25 e 28 °C, por períodos distintos de 20, 30, 40 e 60 dias para os pré-tratamentos T1, T2, T3 e T4, respectivamente.

Após os tempos determinados de pré-tratamento os substratos colonizados deram origem às amostras que foram congeladas para que mantivessem suas características até os ensaios de caracterização da série de sólidos dos substratos e a realização da incubação dos ensaios de PBM, conforme VDI 4630 (2016).

4.3.6 Caracterização pela série de sólidos

A caracterização foi realizada conforme descrito no capítulo II, item 3.3.6, p.61.

4.3.7 Avaliação do potencial bioquímico de metano (PBM) nos substratos pré-tratados

Os ensaios de PBM foram realizados conforme descrito no capítulo II, item 3.3.7, p.62.

4.3.8 Análises estatísticas

Foram realizados conforme descrito no item 3.3.8, p.64.

4.3.9 Cálculo de oportunidade financeira

Para os cálculos de oportunidade financeira foi utilizado como referência uma tonelada da gramínea seca que passou pelo preparo para o cultivo em questão, para cada tipo de gramínea foi escolhido o pré-tratamento que apresentou os melhores resultados nos ensaios de PBM e comparado ao mesmo substrato sem pré-tratamento, ou seja, *in natura* (IN1 e T1; IN3 e T5).

Inicialmente, com base nos resultados dos ensaios de PBM os volumes de biogás produzidos por tonelada em cada substrato foram calculados, levando em consideração suas respectivas unidades, ST e SV. Para tais volumes foi mensurado o potencial calorífico com base em um biogás contendo 60% de metano. O potencial calorífico do biogás foi calculado para se obter a quantidade de kgs de GLP equivalente. A massa de GPL foi multiplicada pelo valor de mercado deste combustível e após o resultado foi convertido para US\$. Por fim, foi calculado o valor acrescido de produção de biogás pelo pré-tratamento em relação à amostra *in natura*.

4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.4.1 O uso de *Pleurotus ostreatus* no pré-tratamento de *Zoysia japonica* e *Axonopus compressus*

Tendo em vista que nos ensaios realizados no Capítulo II os fungos da espécie *Pleurotus ostreatus* foram capazes de aumentar a velocidade de reação e o rendimento na produção de biogás, mesmo em resíduos pós-cultivo de cogumelos comestíveis. A hipótese provável é de que os fungos agiram como um pré-tratamento da biomassa lignocelulósica, deixando os substratos mais expostos ao meio reacional, acarretando numa maior produção de biogás quando é submetido à DA. Sabe-se que para a formação dos cogumelos é necessária a bioconversão de parte da matéria orgânica nos corpos de frutificação. Dessa forma, espera-se que o uso de pré-tratamento pela inoculação e incubação do substrato pelo fungo sem a produção de cogumelos aumente ainda mais a produção de biogás, uma vez que a matéria orgânica pré-tratada estará integralmente disponível para a DA.

Nesse sentido, os substratos produzidos a partir de *Zoysia japonica* e *Axonopus compressus* foram submetidos à inoculação e à incubação pelo fungo por determinados períodos de 20, 30, 40 e 60 dias, e após esse período os substratos pré-tratados foram encaminhados para ensaios de PBM. Os dados dos ensaios para os pré-tratamentos foram comparados aos de produção de biogás e CH₄ em amostras *in natura*, ou seja, com o substrato sem a ação de pré-tratamento. A Tabela 10 apresenta os resultados coletados dos distintos pré-tratamentos realizados e que tiveram como diferença entre eles apenas o tempo de incubação do fungo (tempo do pré-tratamento).

Tabela 10 – Valores de potencial bioquímico de metano em amostras de *Zoysia japonica* e *Axonopus compressus* pré-tratadas com *Pleurotus ostreatus* (n=3).

Amostras	PT (dias)	SV* (%)	LN Biogás kg SV ⁻¹	CH ₄ (%)	LN CH ₄ kg SV ⁻¹	Efeito Biogás (%)	Efeito CH ₄ (%)	Tempo DA (dias)
IN1	<i>in natura</i>	80,5 ± 0,1 ^a	261 ± 12 ^c	67 ± 1 ^a	175 ± 8 ^{cde}	-	-	31
T1	20	15,5 ± 0,1 ^{de}	420 ± 18 ^a	62 ± 1 ^{cd}	260 ± 11 ^a	60,9	48,8	25
T2	30	17,5 ± 0,4 ^{cd}	389 ± 5 ^a	60 ± 0 ^d	233 ± 4 ^b	49,0	33,4	25
T3	40	19,1 ± 0,9 ^c	319 ± 17 ^b	58 ± 2 ^e	185 ± 13 ^{cd}	22,2	5,7	25
T4	60	15,4 ± 0,8 ^{de}	264 ± 6 ^c	58 ± 3 ^e	153 ± 5 ^e	1,1	-12,5	25
IN3	<i>in natura</i>	78,1 ± 1,7 ^b	276 ± 21 ^c	66 ± 1 ^a	182 ± 14 ^{cd}	-	-	29
T5	20	18,2 ± 0,5 ^c	294 ± 9 ^{bc}	65 ± 2 ^{ab}	191 ± 6 ^c	6,4	5,0	27
T6	30	19,5 ± 0,1 ^c	269 ± 11 ^d	63 ± 2 ^{bc}	169 ± 7 ^{cde}	-2,2	-7,2	27
T7	40	18,6 ± 0,7 ^c	263 ± 6 ^c	62 ± 3 ^{cd}	163 ± 4 ^{de}	-4,3	-10,4	27
T8	60	14,9 ± 0,3 ^e	204 ± 8 ^d	62 ± 1 ^{cd}	126 ± 5 ^f	-25,8	-30,8	27

*SV avaliados em relação à massa fresca. PT: pré-tratamento; LN Biogás kg SV⁻¹: litros normalizados de biogás por quilograma de sólidos voláteis; LN CH₄ kg SV⁻¹: litros normalizados de biometano por quilograma de sólidos voláteis; DA: digestão anaeróbica; ±: desvio padrão. Médias com letras iguais na mesma coluna não tiveram diferença estatística entre si segundo Teste Tukey a 5,0% de probabilidade.

Fonte: A autora, 2025.

As amostras T1, T2, T3 e T4, em *Zoysia japonica*, apresentaram produção de biogás de 420 ± 18, 389 ± 5, 319 ± 17 e 264 ± 6 LN kgSV⁻¹, respectivamente. A produção de biogás na amostra *in natura* e nos pré-tratamentos apresentaram diferença estatística entre si. Todos esses pré-tratamentos apresentaram um volume maior de produção de biogás em relação à amostra IN1, com exceção de T4 que não se distinguiram estatisticamente de IN. Já na gramínea *Axonopus compressus*, nenhum dos pré-tratamentos, T5, T6, T7 e T8, apresentou uma maior produção de biogás. Observa-se, em ambas gramíneas, uma variação negativa de produção de biogás à medida que os pré-tratamento avançam.

Quanto ao teor de CH₄, nota-se em ambas as gramíneas que à medida que o tempo de pré-tratamento avança também há uma variação negativa nesse parâmetro. Para *Zoysia japonica* a variação foi de 67 ± 1% na amostra IN1 para 58 ± 3 % na amostra T4 e para

Axonopus compressus foi de $66 \pm 1\%$ em IN3 para $62 \pm 1\%$ em T8.

O rendimento de CH_4 para *Zoysia japonica* foi de 175 ± 8 , 260 ± 11 , 233 ± 4 , 185 ± 13 e 153 ± 5 LN kgSV^{-1} para as amostras IN1, T1, T2, T3 e T4, respectivamente. A produção de CH_4 para os substratos pós-cultivo apresentou uma diferença estatística entre si. Entretanto, T3 e T4 não apresentaram produção de CH_4 superior a IN1.

Apesar dos tratamentos T1, T2 e T3 apresentarem maiores médias na produção de CH_4 (260 ± 11 , 233 ± 4 , 185 ± 13 LN kgSV^{-1}) em relação à amostra IN (175 ± 8 LN kgSV^{-1}), apenas T1 e T2 apresentaram produção superior de CH_4 estatisticamente. O pré-tratamento T1 foi o que apresentou os melhores resultados na produção de biogás (420 ± 18 LN kgSV^{-1}) e maior percentual de CH_4 ($62 \pm 1\%$), ambos resultados culminaram em um maior volume de CH_4 produzido (260 ± 11 LN kgSV^{-1}), com ganho de rendimento de CH_4 de 48,8% em relação à amostra sem pré-tratamento (Tabela 10).

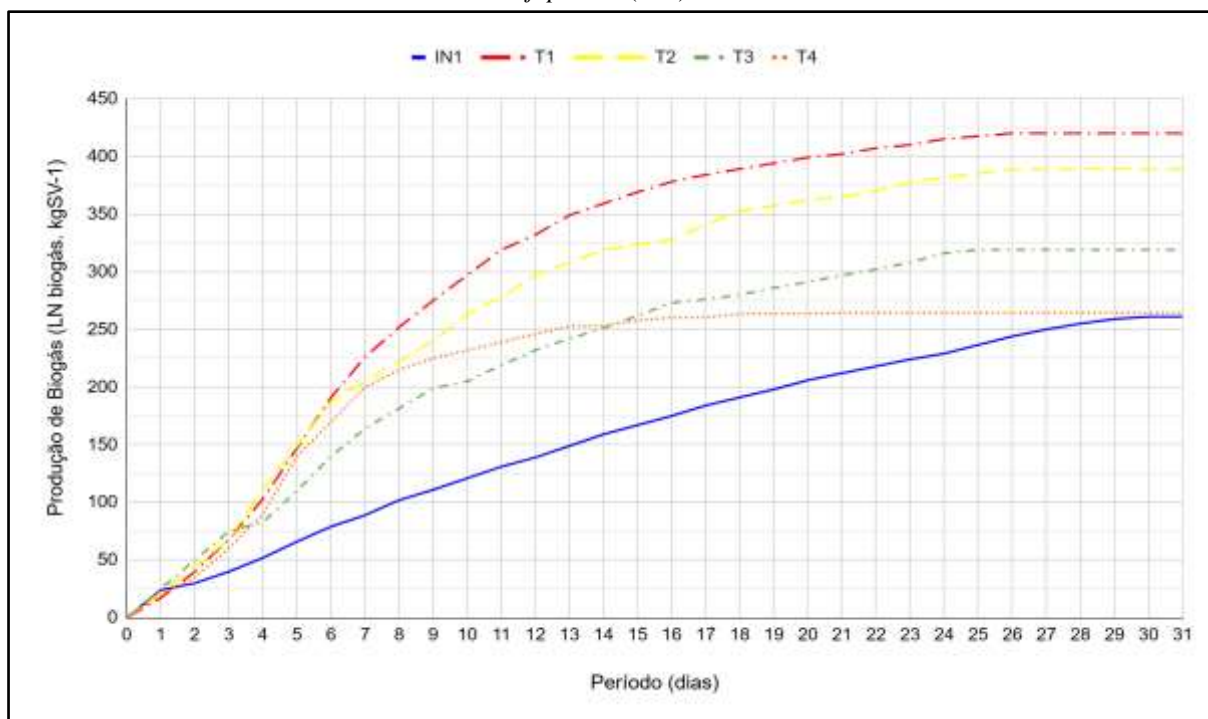
O aumento de rendimento de CH_4 não foi observado para a gramínea *Axonopus compressus*. Ao se observar IN3, T5, T6, T7 e T8 os valores obtidos foram 182 ± 14 , 191 ± 6 , 169 ± 7 , 163 ± 4 , 126 ± 5 LN kgSV^{-1} , respectivamente. Apesar de T5 apresentar um maior volume produzido, não houve diferença estatística quando comparado a IN3. Nota-se que a partir de T6 os pré-tratamentos apresentaram perda gradativa de produção de CH_4 à medida que os tempos de pré-tratamentos foram aumentados (Tabela 10).

Os pré-tratamentos T1, T2 e T3 apresentaram um efeito positivo na produção de biogás de 60,9; 49,0 e 22,2 e CH_4 de 48,8; 33,4 e 5,7%, enquanto T4 apresentou apenas um aumento discreto na produção de biogás de 1,1% em comparação à amostra IN1, porém esse aumento não resultou em maior produção de CH_4 que foi reduzida em -12,5% (Tabela 10). Para a gramínea *Axonopus compressus* apenas T5, apresentou um efeito positivo na produção de biogás de 6,4% e CH_4 5,0%. Os pré-tratamentos T6, T7 e T8 apresentaram valores inferiores (negativos) de rendimento na produção de biogás, quando comparado a IN, de cerca de -2,2; -4,3 e -25,8% e de -7,2; -10,4 e -30,8% para CH_4 , quando comparados a IN3 com produção de 276 ± 21 LN kgSV^{-1} para biogás e 175 ± 8 LN kgSV^{-1} CH_4 .

4.4.2 Cinética dos ensaios de PBM

A amostra IN1 apresentou um tempo de DA de 31 dias, superior em 20,0% ao obtido em todos os pré-tratamentos para *Zoysia japonica* de 25 dias. A Figura 22 apresenta as cinéticas de produção de biogás para as amostras IN1, T1, T2, T3 e T4. Pode-se observar maiores inclinações das retas (Figura 22 e Quadro 6) que comprovam que as maiores velocidades das reações ocorreram nas amostras pré-tratadas. As velocidades de T1, T2, T3 e T4, foram de 25,7; 20,1; 15,1 e 24,5 LN BiogáskgSVdia⁻¹, respectivamente, quando comparadas à amostra IN1 com 9,4 LN BiogáskgSVdia⁻¹, essa maior velocidade resultou em um tempo inferior de DA nas amostras pré-tratadas (Quadro 6).

Figura 22 – Média de produção específica acumulada de biogás nas amostras *in natura* e pré-tratadas de *Zoysia japonica* (n=3).



Fonte: A autora, 2025.

O biogás produzido nas amostras pré-tratadas é superior nos dias iniciais em volume diário e o acúmulo resultou também em maior volume total final de produção (Tabela 10 e Figura 22). As velocidades foram obtidas do primeiro dia da DA até que a produção de biogás chegasse a 90% do total e estão descritos no Quadro 6.

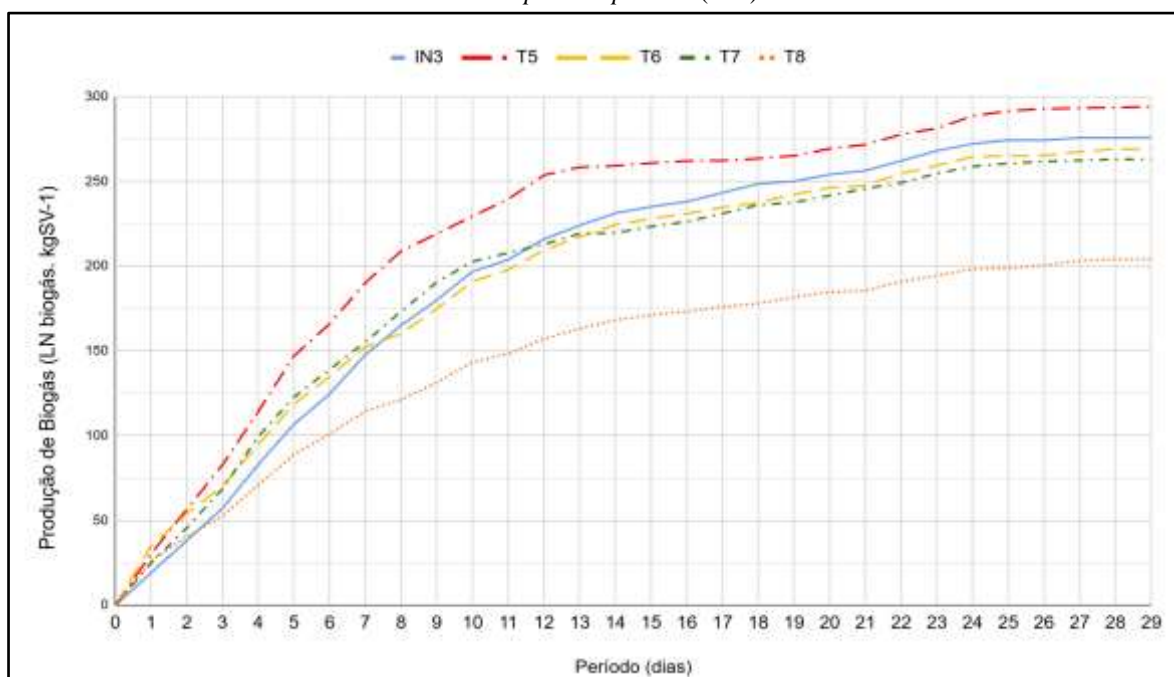
Quadro 6 - Equações das retas para a produção específica acumulada de biogás nas amostras *in natura* e resíduos pós-cultivo em *Zoysia japonica* (n=3).

Amostras	Nº de dias adotados para a equação	Equação da reta	Coefficiente de determinação (R ²)
IN1	20	$y = 9,4x + 10,5$	0,987
T1	16	$y = 25,7x - 12,7$	0,963
T2	18	$y = 20,1x + 12,9$	0,945
T3	19	$y = 15,1x + 18,6$	0,951
T4	11	$y = 24,5x - 23,6$	0,960

Fonte: A autora, 2025.

O aumento de velocidade de reação nas amostras pré-tratadas evidenciou a atuação do pré-tratamento biológico dos substratos compostos pela gramínea *Zoysia japonica* (Quadro 6). Enquanto, que ao observar a espécie *Axonopus compressus* o comportamento dos pré-tratamentos foi outro e pode ser observado na Figura 23 e Quadro 7.

Figura 23 – Média de produção específica acumulada de biogás nas amostras *in natura* e pré-tratadas de *Axonopus compressus* (n=3).



Fonte: A autora, 2025.

Foi observada a maior inclinação da reta, que indica maior velocidade de reação, apenas em T5, 14,5 LN BiogáskgSVdia⁻¹ quando comparada à amostra IN3, 14,3 (Quadro 7). Neste caso, o valor produzido de biogás foi superior tanto em volume diário quanto em volume total final de produção e resultou em um tempo inferior de DA quando comparada a amostra IN3. As amostras pré-tratadas T6, T7 e T8 apresentaram menor cinética quando comparadas a IN3. O tempo total da DA em todos os pré-tratamentos foi reduzido em 2 dias, valor que corresponde a uma redução de cerca de 7,0% (Tabela 10 e Figura 23).

Quadro 7 - Equações das retas para a produção específica acumulada de biogás nas amostras *in natura* e resíduos pós-cultivo em *Axonopus compressus* (n=3).

Amostras	Nº de dias adotados para a equação	Equação da reta	Coefficiente de determinação (R ²)
IN3	18	$y = 14,3x + 13,2$	0,939
T5	18	$y = 14,5x + 39,0$	0,8727
T6	19	$y = 12,2x + 32,1$	0,9224
T7	18	$y = 12,8x + 29,6$	0,8925
T8	20	$y = 8,7486x + 27,166$	0,9136

Fonte: A autora, 2025.

Diferentes estudos demonstram a utilização de *Pleurotus ostreatus* como pré-tratamento biológico em amostras de palha de arroz, com tempos de DA de 15, 30 e 45 dias, com rendimento de biogás de 361, 353, 367 LN kgSV⁻¹ e rendimento de CH₄ entre 258 e 263 LN kgSV⁻¹ (Mustafa; Poulsen; Sheng, 2016; Mustafa *et al.*, 2017; Albornoz *et al.*, 2018). Quando comparados a este estudo, o pré-tratamento T1 apresentou melhores valores de produção de biogás (420 ± 18 LN kgSV⁻¹) e CH₄ (260 ± 11, 233 ± 4 LN kgSV⁻¹), porém deve-se considerar as diferenças existentes entre os substratos (palha de arroz x gramíneas) e que cada um destes substratos deve apresentar seu valor característico de PBM com relação à sua composição química, sua granulometria e características específicas do pré-tratamento utilizado, como, por exemplo, o tempo de incubação. Ademais, este estudo apresentou um tempo intermediário, de 25 e 27 dias, de duração da DA em relação a literatura avaliada.

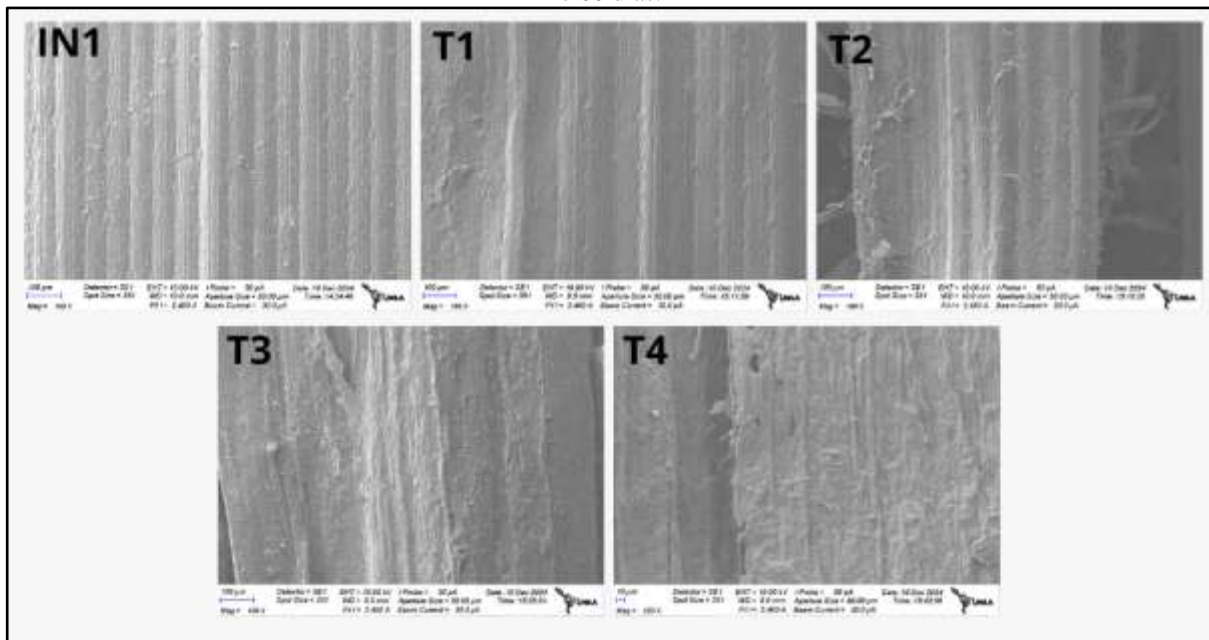
A utilização de *Pleurotus ostreatus* para pré-tratar amostras residuais de palha de milho, folhas de palma e bagaço de cana-de-açúcar já foram relatadas e obtiveram rendimento de biogás de 195, 170 e 110 LN kgST⁻¹, respectivamente, com produção de CH₄ de 33,27 e 18,0 LN kgST⁻¹, respectivamente (Tuyen *et al.*, 2013). O estudo mencionado apresentou baixa produção de biogás e CH₄, diferentemente dos resultados da presente pesquisa. Cabe observar que as unidades de quantificação de biogás e CH₄ se diferem daquelas recomendadas pela VDI 4630 (2016) e utilizadas no presente estudo.

O gênero *Pleurotus* já foi utilizado amplamente como pré-tratamento, com a finalidade única de otimizar o processo produtivo de biogás. Os resultados de diversos estudos apontam para um aumento na produção de biogás entre 4,0 e 80,0%. No presente estudo, obteve-se até 60,9% de aumento de rendimento de biogás. Ao se observar o rendimento de CH₄ na literatura são encontrados valores de até 1,6 vezes superiores em relação à amostra *in natura*, enquanto que neste estudo foi obtido um aumento de até 48,8% (Albornoz *et al.*, 2018; Mustafa; Poulsen; Sheng, 2016; Mustafa *et al.*, 2017; Tuyen *et al.*, 2013; Müller; Trösch, 1986).

4.4.3 Avaliação estrutural dos resíduos pós-cultivo por MEV

Após todos os resultados aqui expostos, às amostras pré-tratadas de ambas espécies de gramíneas foram submetidas a ensaios de MEV com a expectativa de comprovar as alterações na estrutura das amostras, a fim de corroborar os resultados quantitativos e de cinética obtidos nos ensaios anteriores. Os resultados da análise podem ser observados nas Figuras 24 e 25.

Figura 24 - Micrografias das amostras de gramínea *Zoysia japonica in natura* e pré-tratamentos com 20, 30, 40 e 60 dias.

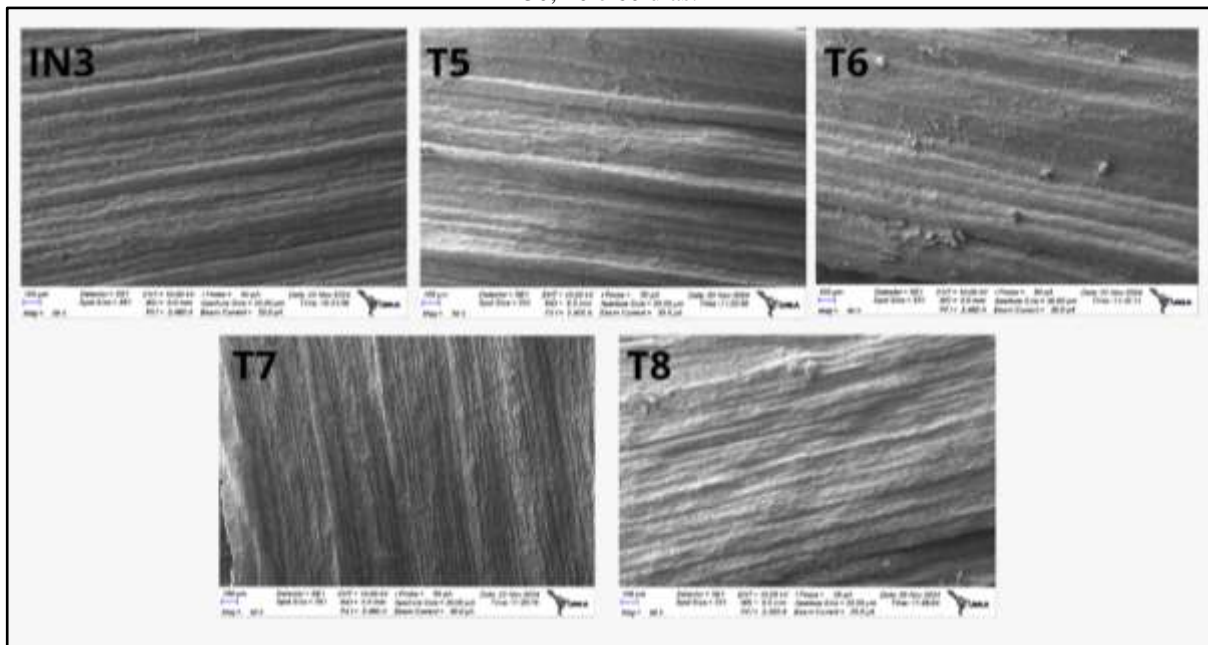


IN1: gramínea *in natura*; T1: 20 dias de pré-tratamento; T2: 30 dias de pré-tratamento; T3: 40 dias de pré-tratamento; T4: 60 dias de pré-tratamento.

Fonte: A autora, 2025.

As imagens apresentam a desestruturação da superfície da gramínea *Zoysia japonica* quando comparada àquelas submetidas aos diferentes pré-tratamentos a amostra IN1. Fica nítido a desorganização progressiva que ocorre em T1, T2, T3 e T4 que representam os pré-tratamento com 20, 30, 40 e 60 dias, respectivamente. Ao se observar a estrutura de IN1, há uma estrutura linear devido a presença de lignina, que facilmente visível observado em comparação ao outro extremo da Figura 24, em T4.

Figura 25 - Micrografias das amostras de gramínea *Axonopus compressus* *in natura* e pré-tratamentos com 20, 30, 40 e 60 dias.



IN3: gramínea *in natura*; T5: 20 dias de pré-tratamento; T6: 30 dias de pré-tratamento; T7: 50 dias de pré-tratamento; T8: 60 dias de pré-tratamento.

Fonte: A autora, 2025.

O desgaste na estrutura da gramínea observado na *Zoysia japonica* (Figura 24) pode ser observado também nas amostras de *Axonopus compressus* (Figura 25). No entanto, o nível de desorganização nestas amostras foi considerado inferior ao se comparar as mesmas condições, ou seja, comparando principalmente T3 a T7 (40 dias) e T4 a T8 (60 dias). A gramínea da espécie *Axonopus compressus* se apresentou mais resistente a atuação das enzimas produzidas pelos fungos *Pleurotus ostreatus*, essa afirmação está em consonância com as estruturas observadas nas imagens da MEV, mas também fundamentada pelos resultados obtidos nos ensaios de PBM das amostras T6 a T8, que apresentaram valores inferiores de produção de biogás e CH₄ quando comparadas a amostra *in natura* (Figura 25 e Tabela 10).

Em ambas as gramíneas, foi possível notar que o maior tempo de incubação dos substratos pelos fungos não resultou em melhoria no rendimento da produção de biogás e CH₄. Para a *Zoysia japonica*, levanta-se a hipótese de que compostos essenciais a DA, após maior acesso pelo pré-tratamento, ou seja, pela decomposição da estrutura da gramínea pela ação das enzimas, podem ser consumidos pelo próprio fungo ou ainda reações químicas indesejadas podem inibir as reações essenciais a DA (Aguiar; Ferraz, 2011; Vasconcelos, 2012; Tortora *et al.*, 2012). Para *Axonopus compressus*, ressalta-se a baixa interação da amostra e o

fungo em questão que resultou na baixa efetividade do *Pleurotus ostreatus* para atuar de forma eficiente na degradação da gramínea.

Os pré-tratamentos superiores a 30 dias em ambas espécies de gramíneas apresentaram um odor distinto das demais amostras com menor tempo de pré-tratamento. Essa observação pode ser considerada um indicativo de reações químicas indesejadas e uma justificativa do porquê pré-tratamentos mais longos não apresentarem um ganho significativo na produção do biogás e CH₄.

Portanto, pode-se afirmar que no presente estudo os pré-tratamentos com períodos superiores a 20 dias de incubação não se justificam, tendo em vista os melhores rendimentos de produção de biogás e CH₄ foram obtidos pelos pré-tratamentos T1 e T5, que resultaram em um aumento do rendimento de CH₄ de 48,8 e 5,0%, respectivamente. Mesmo que para *Zoysia japonica* outros pré-tratamentos tenham demonstrado aumento no rendimento de CH₄, com base no presente estudo a adoção deste outros pré-tratamento não é recomendada, pois acarretaram um rendimento menor quando comparado a T1 com um maior desprendimento de tempo para a etapa de pré-tratamento.

4.4.4 Resumo de oportunidades financeiras dos pré-tratamentos para obtenção de biogás

Conforme resultados expostos anteriormente, o pré-tratamento das gramíneas resultou em aumento no rendimento da produção de biogás e CH₄. No Quadro 8, buscou-se mensurar, de forma simplificada, o impacto do aumento de produção de biogás em relação às oportunidades financeiras que podem se apresentar para um detentor de resíduos de podas de gramas da espécie *Zoysia japonica* e *Axonopus compressus*. Foram avaliadas as gramíneas *in natura*, IN1 e IN3, e os pré-tratamentos que apresentaram maior rendimento para cada uma das espécies, T1 e T5. A estimativa foi feita adotando o biogás no uso térmico para substituição de gás liquefeito de petróleo (GLP).

Ao avaliar o volume de produção de biogás para as gramíneas sem pré-tratamento o rendimento de biogás foi de 210 e 216 m³/ton, para IN1 e IN3, respectivamente, e compará-las às gramíneas pré-tratadas, com 319 e 224 m³/ton, em T1 e T5, respectivamente, observou-se a oportunidade de ganhos financeiros pela adoção dos pré-tratamentos. Na espécie *Zoysia japonica* houve aumento de U\$S 64,00 por tonelada de resíduo pré-tratado, este valor

representa um aumento de cerca de 52,0% se comparado a IN1. Enquanto na espécie *Axonopus compressus* o aumento de oportunidade financeira foi de U\$S 5,00 por tonelada, este valor representa cerca de 4,0% de possibilidade de aumento em relação a IN3 (Quadro 8). Conclui-se que ambas as gramíneas apresentaram possibilidades de ganhos financeiros pela aplicação dos pré-tratamentos.

Quadro 8 - Cálculo de oportunidade financeira de utilização de 1 tonelada de gramíneas *in natura* das espécies *Zoysia japonica* e *Axonopus compressus* na produção biogás em comparação aos mesmos substratos pré-tratados com *Pleurotus ostreatus*. Valores calculados para substituição de gás liquefeito de petróleo e apresentados em U\$S.

Substrato*	Nº de dias do pré-tratamento	Volume de biogás obtido (m ³ /ton)**	Valor economizado pela substituição do GLP**(U\$S)	Valor acrescido pelo pré-tratamento em relação a IN (U\$S)
IN1	-	210	129,40	-
T1	20	319	196,40	64,00
IN3	-	216	133,10	-
T5	20	224	138,1	5,00

GLP: gás liquefeito de petróleo; m³/ton: metros cúbicos por tonelada.

* Para os cálculos se considerou 1 tonelada de gramíneas secas.

** O Valor do GLP foi de R\$8,22/kg conforme informe de preços PETROBRAS para janeiro de 2025.

O câmbio do dia era de R\$1,00 equivalente a U\$S 5,77, no dia 05 de fevereiro de 2025.

*** Considerou-se o poder calorífico inferior de um biogás com 60% metano.

Fonte: A autora, 2025.

Ao avaliar o volume de produção de biogás para as gramíneas sem pré-tratamento o rendimento de biogás foi de 210 e 216 m³/ton, para IN1 e IN3, respectivamente, e compará-las às gramíneas pré-tratadas, com 319 e 224 m³/ton, em T1 e T5, respectivamente, observou-se a oportunidade de ganhos financeiros pela adoção dos pré-tratamentos. Na espécie *Zoysia japonica* houve aumento de U\$S 64,00 por tonelada de resíduo pré-tratado, este valor representa um aumento de cerca de 52,0% se comparado a IN1. Enquanto na espécie *Axonopus compressus* o aumento de oportunidade financeira foi de U\$S 5,00 por tonelada, este valor representa cerca de 4,0% de possibilidade de aumento em relação a IN3 (Quadro 8). Conclui-se que ambas as gramíneas apresentaram possibilidades de ganhos financeiros pela aplicação dos pré-tratamentos.

Recomenda-se que para a implementação de projetos em escala plena sejam

feitos estudos aprofundados de viabilidade financeira, avaliando as características intrínsecas de cada projeto para determinar a real aplicabilidade do pré-tratamento e avaliar o seu retorno financeiro a depender do uso e das características do biogás produzido.

4.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos reforçam a função de pré-tratamento biológico do fungo *Pleurotus ostreatus* em amostras de gramíneas da espécie *Zoysia japonica* e *Axonopus compressus*. Os melhores resultados foram obtidos para *Zoysia japonica*, popularmente conhecida como grama esmeralda.

Os pré-tratamento de 20 a 40 dias para *Zoysia japonica* apresentaram ganho na produção de biogás. Porém, observou-se que este ganho não foi gradual na produção de biogás e CH₄ à medida em que seus tempos de incubação foram estendidos. O tempo ideal de pré-tratamento para ambas espécies por *Pleurotus ostreatus* foi de 20 dias, que resultou em um aumento de rendimento na produção de biogás e CH₄, de até 60,9% e 48,8%, respectivamente, quando comparado a produção do substrato *in natura*. Além disso, houve uma redução de até 20,0% do tempo destinado à DA em relação às amostras *in natura*.

O *Pleurotus ostreatus* foi considerado versátil e pode ser utilizado no pré-tratamento de gramíneas com potencialização da produção de biogás e CH₄, de acordo com os resultados obtidos no Capítulo III.

O presente estudo conclui que a utilização de *Pleurotus ostreatus*, como pré-tratamento biológico, contribui para o aumento da produção de biogás e CH₄ obtidos a partir de resíduos orgânicos, especificamente em gramíneas. O uso de *Pleurotus ostreatus* foi capaz de potencializar a transformação de um passivo ambiental persistente, como as gramíneas de podas, em biogás que pode ser convertido em energia, térmica ou elétrica, e assim, suprir demandas locais de energia de forma descentralizada contribuindo para a ampliação da matriz energética renovável do país.

5 ETAPAS FUTURAS

Tendo em vistas os resultados obtidos no presente estudo, levanta-se algumas oportunidades de linhas de pesquisas possíveis e que podem complementar e auxiliar na difusão da utilização de resíduos de podas de gramíneas para a produção de cogumelos e biogás com fins energéticos. Entre os principais temas estão:

- Análise do cultivo sequencial de cogumelos e biogás em outras espécies de gramíneas abundantes na região;
- Análise de viabilidade econômica para implementação de cultivos sequenciais de cogumelos e biogás.
- Estudo do papel de cada enzima secretada pelo *Pleurotus ostreatus* na degradação dos compostos de gramíneas diversas;
- Aplicação de pré-tratamentos enzimáticos seletivos para lignina em diferentes gramíneas;
- Análise de pré-tratamentos em gramíneas por outras espécies de fungos do gênero *Pleurotus*;
- Análise do potencial de produção de cogumelos do tipo shimeji e biogás a partir de resíduos de podas de gramíneas de áreas públicas na cidade de Foz do Iguaçu-PR.

6 REFERÊNCIAS

ABDEL-HAMID, A. M.; SOLBIATI, J. O.; CANN, I. K. Insights into lignin degradation and its potential industrial applications. **Adv Appl Microbiol**, [S.L.], v. 82, p. 1-28, 2013.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE BIOGÁS E BIOMETANO - ABIOGÁS. **Potencial do biogás no Brasil**. São Paulo: ABIOGÁS, 2021.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **NBR 10004: Resíduos sólidos - Classificação**. 1. ed. Rio de Janeiro, RJ: ABNT, 2024. 77 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE LIMPEZAS PÚBLICAS E RESÍDUOS ESPECIAIS - ABRELPE. **Panorama dos Resíduos Sólidos no Brasil 2020**. São Paulo: Abrelpe, 2020.

ABREMA- Associação Brasileira de Resíduos e Meio Ambiente. **Panorama dos Resíduos Sólidos no Brasil 2024**. São Paulo: Abrema, 2024.

ACHINAS, S.; ACHINAS, V.; EUVERINK, G. J. W. A Technological Overview of Biogas Production from Biowaste. **Engineering**, [S.L.], v. 3, n. 3, p. 299-307, jun. 2017.

AGUIAR, A.; FERRAZ, A. Mecanismos envolvidos na biodegradação de materiais lignocelulósicos e aplicações tecnológicas correlatas. **Química Nova**, [S.L.], v. 34, n. 10, p. 1729-1738, 2011.

ALASWAD, A. et al. Technologies and developments of third generation biofuel production. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [S.L.], v. 51, p. 1446-1460, nov. 2015.

ALBORNOZ, S. et al. Understanding of the contribution of the fungal treatment conditions in a wheat straw biorefinery that produces enzymes and biogas. **Biochemical Engineering Journal**, [S.L.], v. 140, p. 140-147, dez. 2018.

ALINO, J. H. L. **Codigestão de resíduos de aparado de grama, resíduos de frutas e vegetais e esgoto sanitário: Efeito do pré-tratamento e recirculação do digestato**. 2020. 84 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais, Universidade Tecnológica do Paraná, Medianeira, 2020.

ANDRÉE, B. P. J.; DIOGO, V.; KOOMEN, E. Efficiency of second-generation biofuel crop subsidy schemes: spatial heterogeneity and policy design. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [S.L.], v. 67, p. 848-862, jan. 2017.

ANGELIDAKI, I. et al. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. **Water Science And Technology**, [S.L.], v. 59, n. 5, p. 927-934, mar. 2009.

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS - ANP. Painel Dinâmico Renovabio. Disponível em: <<https://app.powerbi.com/view?r=eyJrIjoiMzIzYzE5OWItZWMyOC00ZDMzLWI5MzctM2U1NGNjNzYxNTAwIiwidCI6IjQ0OTlmNGZmLTI0YTtNGI0Mi1iN2VmLTEyNGFmY2FkYzIxMyJ9>>. Acesso em: 23 jul. 2023.

AGÊNCIA NACIONAL DOS PRODUTORES DE COGUMELOS - ANPC. Cogumelos no Brasil. Disponível em: <<https://www.anpccogumelos.org/cogumelos>>. Acesso em: 05 jun. 2024.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Method 2540, Solids**. 22. ed. Washington: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environmental Federation, 2012.

BELLETTINI, M. B. et al. Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. **Saudi Journal Of Biological Sciences**, [S.L.], v. 26, n. 4, p. 633-646, mai. 2019.

BOND, J. Q.; ALONSO, D. M.; DUMESIC, J. A. Catalytic Strategies for Converting Lignocellulosic Carbohydrates to Fuels and Chemicals. **Aqueous Pretreatment Of Plant Biomass For Biological And Chemical Conversion To Fuels And Chemicals**, [S.L.], p. 61-102, abr. 2013.

BRASIL. Lei nº. 12.305, de 02 de Agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; Altera A Lei Nº 9.605, de 12 de Fevereiro de 1998; e Dá Outras Providências. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, ago. 2010.

BRASIL. Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental. Probiogás. **Biometano como combustível veicular**. 1. ed. Brasília, DF: Probiogás, 2016.

BRASIL. Lei nº 13.576, de dezembro de 2017. Dispõe sobre a Política Nacional dos Biocombustíveis (RenovaBio) e dá outras providências. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, dez. 2017.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Regional. **Roteiro para Redução de Emissões de Gases de Efeito Estufa (GEE) no Manejo de RSU**. Brasília, DF: 2021.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Regional. Secretaria Nacional de Saneamento - SNS. **Panorama do Saneamento Básico no Brasil 2021**. Brasília, DF: 2021.

BRÉMOND, U. et al. Biological pretreatments of biomass for improving biogas production: an overview from lab scale to full-scale. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [S.L.], v. 90, p. 583-604, jul. 2018.

BROWN, L. M. et al. Ethanol Production from Renewable Lignocellulosic Biomass. In: LOVE, J.; BRYANT, J. A. **Biofuels and Bioenergy**. 1. ed. Chichester: Wiley Blackwell, 2017. p. 89-104.

- BUDZIANOWSKI, W. M. A review of potential innovations for production, conditioning and utilization of biogas with multiple-criteria assessment. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [S.L.], v. 54, p. 1148-1171, fev. 2016.
- CARLIER, L. et al. Importance and functions of grasslands. **Not Bot Horti Agrobot Cluj-Napoca**, [S.L.], v. 37, p. 25–30, jun. 2009.
- CARRILLO, F. et al. Structural FTIR analysis and thermal characterisation of lyocell and viscose-type fibres. **European Polymer Journal**, [S.L.], v. 40, n. 9, p. 2229-2234, set. 2004.
- CHEN, H. Chemical Composition and Structure of Natural Lignocellulose. **Biotechnology Of Lignocellulose**, [S.L.], p. 25-71, jan. 2014.
- CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores anaeróbios**. 2. ed. Belo Horizonte: UFMG, 2007. 379 p.
- CENTRO INTERNACIONAL DE ENERGIAS RENOVÁVEIS - CIBIOGÁS. **Conceitos gerais sobre biogás e biometano**. Curso de Biogás aplicado à produção e uso de biometano. Foz do Iguaçu: CIBiogás, 2018.
- CENTRO INTERNACIONAL DE ENERGIAS RENOVÁVEIS - CIBIOGÁS. **Panorama do Biogás no Brasil 2021**. Foz do Iguaçu: CIBiogás, 2022.
- CENTRO INTERNACIONAL DE ENERGIAS RENOVÁVEIS - CIBIOGÁS. Biogás Map, 2022. Disponível em:
<<https://app.powerbi.com/view?r=eyJrIjoibmZjE4OTgwY2VkIiwidCI6ImMzOTg3ZmI3LTQ5ODMtNDA2Ny1iMTQ2LTc3MGU5MWE4NGViNSJ9>>. Acesso em: 06 jun. 2024.
- CENTRO INTERNACIONAL DE ENERGIAS RENOVÁVEIS - CIBIOGÁS. **Panorama do Biogás no Brasil 2022**. Foz do Iguaçu: CIBiogás, 2023.
- CENTRO INTERNACIONAL DE ENERGIAS RENOVÁVEIS - CIBIOGÁS. **Panorama do Biogás no Brasil 2023**. Foz do Iguaçu: CIBiogás, 2024.
- ĆILERDŽIĆ, J. et al. Potential of selected fungal species to degrade wheat straw, the most abundant plant raw material in Europe. **Bmc Plant Biology**, [S.L.], v. 17, n. 2, p. 249, dez. 2017.
- CLAUDE, I. et al. Evaluation of the Influence of Varied Juncao Grass Substrates on Physiological and Enzymatic Reactions of *Pleurotus ostreatus*. **Current Issues in Molecular Biology**, [S.L.], v. 46, n. 9, p. 9493-9502, ago. 2024.
- CLEVES, L. M C. et al. Perspectivas del ensayo de Potencial Bioquímico de Metano - PBM para el control del proceso de digestión anaerobia de residuos. **Revista Ion**, [S.L.], v. 29, n. 1, p. 95-108, jun. 2016.

COLAVOLPE, M. B. et al. Utilización de los desechos de hongos comestibles como co-digestor para obtener biogás. **Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente**, [S.L.], v. 16, p. 1-6, out. 2012.

CORREA, D. F. et al. Towards the implementation of sustainable biofuel production systems. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [S.L.], v. 107, p. 250-263, jun. 2019.

CURTO, D.; MARTÍN, M. Renewable based biogas upgrading. **Journal Of Cleaner Production**, [S.L.], v. 224, p. 50-59, jul. 2019.

DATA BRIDGE. Marketing research. Global Oyster Mushroom Market – Industry Trends and Forecast to 2031. Disponível em:

<<https://www.databridgemarketresearch.com/pt/reports/global-oyster-mushroom-market>>. Acesso em: 18 jun. 2024.

DENG, L.; LIU, Y.; WANG, W. Anaerobic Digestion Microorganisms. **Biogas Technology**, [S.L.], p. 1-29, 2020.

DEUBLEIN, D.; STEINHAUSER, A. **Biogas from waste and renewable resources: An introduction**. 1. ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2011. 578 p.

EUROPEAN BIOGAS ASSOCIATION - EBA. Biogenic CO₂ from the biogas industry. Disponível em: <<https://www.europeanbiogas.eu/biogenic-co2-from-the-biogas-industry/>>. Acesso em: 14 fev. 2024.

EDWIGES, T. et al. Comparison of various pretreatment techniques to enhance biodegradability of lignocellulosic biomass for methane production. **Journal Of Environmental Chemical Engineering**, [S.L.], v. 7, n. 6, p. 103495, dez. 2019.

ELSÄSSER, M. et al. **Biogas from grass: how grassland can contribute to producing energy**. 1. ed. Frankfurt Am Main: Competence Center Agriculture and Food Business, 2012.

EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA - EPE. Balanço Energético Nacional 2024. Disponível em: <https://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-819/topico-715/BEN_S%C3%ADntese_2024_PT.pdf>. Acesso em: 15 mai. 2025.

FAN, L. et al. Cultivation of *Pleurotus* mushrooms on brazilian coffee husk and effects of caffeine and tannic acid. **Micologia Aplicada Internacional**, Puebla, v. 15, p. 15-21, jan. 2003.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS - FAO. Status and trends in world mushroom production-III -World Production of Different Mushroom Species in 21st Century. Disponível em:

<<https://agris.fao.org/search/en/providers/122648/records/6474735cbf943c8c79830e22>>. Acesso em 20 dez. 2024.

FEENEY, M. J. et al. Mushrooms and Health Summit Proceedings. **The Journal Of Nutrition**, [S.L.], v. 144, n. 7, p. 1128-1136, jul. 2014.

FIGUEIRÓ, G. G.; GRACIOLLI, L. A. Influência da composição química do substrato no cultivo de *Pleurotus florida*. **Ciência e Agrotecnologia**, [S.L.], v. 35, n. 5, p. 924-930, out. 2011.

FILGUEIRAS, T. S. **Gramíneas do Cerrado**. 1. ed. póstuma. Rio de Janeiro: IBGE, 2021. 630 p.

FREITAS, A. C. et al. Use of coffee by-products for the cultivation of *Pleurotus citrinopileatus* and *Pleurotus salmoneo-stramineus* and its impact on biological properties of extracts thereof. **International Journal Of Food Science & Technology**, [S.L.], v. 53, n. 8, p. 1914-1924, abr. 2018.

GASECKA, M. et al. Phenolic composition and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* enriched with selenium and zinc. **European Food Research And Technology**, [S.L.], v. 242, n. 5, p. 723-732, nov. 2015.

GOLAK-SIWULSKA, I. et al. Bioactive compounds and medicinal properties of Oyster mushrooms (*Pleurotus* sp.). **Folia Horticulturae**, [S.L.], v. 30, n. 2, p. 191-201, dez. 2018.

GOMES, M. M. **Produção de biogás a partir de bagaço de cana-de-açúcar após pré-tratamento com ácido cítrico diluído**. 2019. 215 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM, Uberlândia, MG, 2019.

GUERI, M. V. D. et al. Biomassa vegetal: pré-tratamentos e codigestão anaeróbia. In: FURTADO, A. C.; BOTTON, J. P.; ALMEIDA, H. C. (org.). **Fundamentos da biodigestão anaeróbia: conceitos e processos**. 1. ed. Curitiba: Brazil Publishing, 2020, p. 57-82.

HERNÁNDEZ-BELTRÁN, J. U.; HERNÁNDEZ-ESCOTO, H. Enzymatic hydrolysis of biomass at high-solids loadings through fed-batch operation. **Biomass And Bioenergy**, [S.L.], v. 119, p. 191-197, dez. 2018.

HERNÁNDEZ-BELTRÁN, J. U. et al. Insight into Pretreatment Methods of Lignocellulosic Biomass to Increase Biogas Yield: current state, challenges, and opportunities. **Applied Sciences**, [S.L.], v. 9, n. 18, p. 3721, set. 2019.

HERNÁNDEZ-DOMÍNGUEZ, E. M.; SÁNCHEZ, C.; DÍAZ-GODÍNEZ, G. Production of laccases, cellulases and xylanases of *Pleurotus ostreatus* grown in liquid-state fermentation. **Mexican Journal of Biotechnology**, [S.L.], v. 2, n. 2, p. 169-176, jul. 2017.

HO, D. P.; NGO, H. H.; GUO, W. A mini review on renewable sources for biofuel. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 169, p. 742–749, jul. 2014.

HOEVE, M. T. et al. Life cycle assessment of garden waste management options including long-term emissions after land application. **Waste Management**, [S.L.], v. 86, p. 54-66, mar. 2019.

HUANG, W. et al. Full utilization of nutrients in rice straw by integrating mushroom cultivation, biogas production, and fertilizer use. **International Journal of Agricultural and Biological Engineering**, [S.L.], v. 12, n. 4, p. 174-183, ago. 2019.

INDIAN COUNCIL OF AGRICULTURAL RESEARCH - ICAR. Mushroom market size & industry analysis, by type (button mushroom, shiitake mushroom, oyster mushroom, and others), form (fresh mushroom, frozen mushroom, dried mushroom, and canned mushroom), and regional forecast 2019- 2026. Chambaghat: Indian Council of Agricultural Research; 2019.

INTERNATIONAL ENERGY AGENCY - IEA. IEA Bioenergy: Country Reports Summary 2014. Disponível em: <https://www.ieabioenergy.com/wp-content/uploads/2015/01/IEA-Bioenergy-Task-37-Country-Report-Summary-2014_Final.pdf>. Acesso em: 14 fev. 2024.

INTERNATIONAL ENERGY AGENCY - IEA. Putting CO₂ to Use, creating value from emissions. 2019. Disponível em: <<https://www.iea.org/reports/putting-co2-to-use>>. Acesso em: 14 fev. 2024.

INDUSTRY ARC. Mushroom Market - Global Industry Analysis, Size, Share, Growth, Trends, and Forecast 2021 - 2026. Disponível em: <https://www.industryarc.com/Report/16679/mushroommarket.html?https://www.industryarc.com/Report/16679/mushroommarket.html&gclid=CjwKCAiAgvKQBhBbEiwAaPQw3LdFQ6RPiddEi271ZxhCWF9XXqiBw wXfvRonRFucz3HmUMbqY2-3xoCNnIQAvD_BwE#>>. Acesso em: 01 mar. de 2022.

ITAIPU BINACIONAL. Itaipu prova ser viável a replicação de planta de biogás para todo o país. **Itaipu Binacional**, Foz do Iguaçu. 02 jun. 2017. Disponível em: <<https://www.itaipu.gov.br/sala-de-imprensa/noticia/itaipu-prova-ser-viavel-replicacao-de-planta-de-biogas-para-todo-o-pais>>. Acesso em: 20 mar. 2024.

KAINTHOLA, J.; KALAMDHAD, A. S.; GOUD, V. V. A review on enhanced biogas production from anaerobic digestion of lignocellulosic biomass by different enhancement techniques. **Process Biochemistry**, [S.L.], v. 84, p. 81-90, set. 2019.

KARUPPURAJ, V.; SEKARENTHIRAN, S. C.; PERUMAL K. Yield improvement of *Pleurotus florida* fruiting bodies from locally available unexplored lignocellulosic substrates. **Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci**, v. 3, n. 10, p.985–990, dez. 2014.

KNOP, D.; YARDEN, O.; HADAR, Y. The ligninolytic peroxidases in the genus *Pleurotus*: divergence in activities, expression, and potential applications. **Applied Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 99, n. 3, p. 1025-1038, dez. 2014.

KONRAD, O. et al. **Produção de biogás a partir de biomassas residuais provenientes do setor agroindustrial**. Lajeado: Univates, 2018. 19 p.

KORRES, N. E. et al. **Bioenergy Production by Anaerobic Digestion**. Londres: Routledge, 2013. 472 p.

KOUSAR, A. et al. Recent advances on environmentally sustainable valorization of spent mushroom substrate: A review. **Biofuels, Bioprod. Bioref.**, [S.L.], v. 18, p. 639–651, jan. 2024.

KUCZMAN, O. et al. Food waste anaerobic digestion of a popular restaurant in Southern Brazil. **Journal Of Cleaner Production**, [S.L.], v. 196, p. 382-389, set. 2018.

KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; DO AMARAL, A. C. **Fundamentos da digestão anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento do digestato**. 1. ed. Concórdia: Sbera, 2019. 209 p.

LOURENÇO, E. C. et al. A sustentabilidade na produção de cogumelos comestíveis: o cultivo de *Pleurotus ostreatus* em resíduos de podas urbanas. In: **IV Congresso Brasileiro de Ciências e Tecnologias Ambientais (IV CBCTA)**, 2021, Toledo.

LOURENÇO, E. C. **Caracterização do substrato exaurido do cultivo de *Pleurotus ostreatus* composto por borra de café e gramíneas e avaliação do potencial bioquímico de metano**. 2022. 62 p. Trabalho de conclusão do curso (licenciatura em Química) - Universidade da Integração Latino Americana (UNILA), Foz do Iguaçu, 2022.

LOURENÇO, E. C. et al. **O papel dos aterros sanitários na produção de biogás rumo à transição energética do Brasil**. In: XV Encontro de Economia Paranaense, 2023, Maringá. Disponível em: <https://drive.google.com/file/d/15iyhAV3smDEkh5l9ohR4ytN24Uzu2Gt_/view>. Acesso em: 23 maio 2024.

MALINOWSKI, C. E.; LAITA, N. J. V. O impacto da superpopulação no meio ambiente: o controle de natalidade é necessário? **Revista Direitos Fundamentais & Democracia**, [S.L.], v.29, n. 2.

MARRIOTT, P. E.; GÓMEZ, L. D.; MCQUEEN-MASON, S. J. Unlocking the potential of lignocellulosic biomass through plant science. **New Phytologist**, [S.L.], v. 209, n. 4, p. 1366-1381, out. 2015.

MEHTA, V.; GUPTA, J. K.; KAUSHAL, S. C. Cultivation of *Pleurotus florida* mushroom on rice straw and biogas production from the spent straw. **World Journal Of Microbiology & Biotechnology**, [S.L.], v. 6, n. 4, p. 366-370, dez. 1990.

MERINO, O. et al. Screening of Ionic Liquids for Pretreatment of Taiwan Grass in Q-Tube Minireactors for Improving Bioethanol Production. **Waste And Biomass Valorization**,

[S.L.], v. 8, n. 3, p. 733-742, jun. 2016.

MEYER, V. et al. Growing a circular economy with fungal biotechnology: a white paper. **Fungal Biology And Biotechnology**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 1-24, abr. 2020.

MONTAÑEZ-HERNÁNDEZ, L.E. et al. Sustainable Production of Biogas from Renewable Sources: Global Overview, Scale Up Opportunities and Potential Market Trends. In: Singh, O.V., Chandel, A.K. **Sustainable Biotechnology-Enzymatic Resources of Renewable Energy**. 1. ed. Cham, Switzerland: Springer International Publishing AG, 2018, p. 325–354.

MONTGOMERY, L. F. R.; BOCHMANN, G. **Pretreatment of feedstock for enhanced biogas production**. 1. ed. Paris, France: IEA Bioenergy, 2014. 24 p.

MORDOR INTELLIGENCE. Tamanho do mercado de cogumelos frescos e análise de participação – Tendências e previsões de crescimento (2024 – 2029). Disponível em: <<https://www.mordorintelligence.com/pt/industry-reports/fresh-mushrooms-market>>. Acesso em: 16 out. 2024.

MÜLLER, H. W.; TRÖSCH, W. Screening of white-rot fungi for biological pretreatment of wheat straw for biogas production. **Applied Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 24, n. 2, p. 180-185, maio 1986.

MUSTAFA, A. M.; POULSEN, T. G.; SHENG, K. Fungal pretreatment of rice straw with *Pleurotus ostreatus* and *Trichoderma reesei* to enhance methane production under solid-state anaerobic digestion. **Applied Energy**, [S.L.], v. 180, p. 661-671, out. 2016.

MUSTAFA, A. M. et al. Combinations of fungal and milling pretreatments for enhancing rice straw biogas production during solid-state anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 224, p. 174-182, jan. 2017.

NARAIAN, R.; DIXIT, B. Nutritional Value of Three Different Oyster Mushrooms Grown on Cattail Weed Substrate. **Archives Of Biotechnology And Biomedicine**, [S.L.], v. 1, n. 1, p. 061-066, abr. 2017.

NAWARATHNE, I. Y.; DARANAGAMA, D. A. Bioremediation and sustainable mushroom cultivation: harnessing the lignocellulolytic power of *Pleurotus* species on waste substrates. **New Zealand Journal of Botany**, [S.L.], p. 1–19, fev. 2024.

NIAZI, A. R.; GHAFLOOR, A. Different ways to exploit mushrooms: a review. **All Life**, [S.L.], v. 14, n. 1, p. 450-460, jan. 2021.

NIYIMBABAZI, O. et al. Ability of Three *Pleurotus* Species for Effective use of Giant Grass Compost. **Journal of Horticultural Research**, [S.L.], v. 30, n. 1, p. 67-76, jun. 2022.

NOSRATPOUR, M. J.; KARIMI, K.; SADEGHI, M. Improvement of ethanol and biogas production from sugarcane bagasse using sodium alkaline pretreatments. **Journal Of Environmental Management**, [S.L.], v. 226, p. 329-339, nov. 2018.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT - OCDE. **Renewable energy**. Disponível em: <https://www.oecd-ilibrary.org/energy/renewable-energy/indicator/english_aac7c3f1-en>. Acesso em: 28 ago. 2019.

OGATA, B. H. **Caracterização das frações celulose, hemicelulose e lignina de diferentes genótipos de cana-de-açúcar e potencial de uso em biorrefinarias**. 2013. 109 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo – USP, Piracicaba, 2013.

OLESZEK, M. et al. Comparison of biogas production from wild and cultivated varieties of reed canary grass. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 156, p. 303-306, mar. 2014.

OLIVEIRA, R. de et al. Produção de *Pleurotus florida* sob a influência de diferentes substratos da amazônia meridional. **Revista Agrotecnologia - Agrotec**, [S.L.], v. 9, n. 2, p. 28, set. 2018.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS - ONU. Objetivos do desenvolvimento sustentável. Disponível em: <<https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>>. Acesso em: 08 de mar. 2024.

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

PARSAEE, M.; KIANI, M. K. D.; KARIMI, K. A review of biogas production from sugarcane vinasse. **Biomass And Bioenergy**, [S.L.], v. 122, p. 117-125, mar. 2019.

PATEL, Y.; NARAIAN, R.; SINGH, V. K. Medicinal properties of *Pleurotus* species (*Oyster mushroom*): a review. **World Journal Fungal Plant Biol**, Jaunpur, v. 3, n. 1, p. 1–12, jan. 2012.

PÉREZ-CHÁVEZ, A. M.; MAYER, L.; ALBERTÓ, E. Mushroom cultivation and biogas production: a sustainable reuse of organic resources. **Energy For Sustainable Development**, [S.L.], v. 50, p. 50-60, jun. 2019.

PERIN, G.; JONES, P. R. Economic feasibility and long-term sustainability criteria on the path to enable a transition from fossil fuels to biofuels. **Current Opinion In Biotechnology**, [S.L.], v. 57, p. 175-182, jun. 2019.

PRASAD, S. et al. Yield and proximate composition of *Pleurotus florida* cultivated on wheat straw supplemented with perennial grasses. **The Indian Journal Of Agricultural Sciences**, New Delhi, v. 88, n. 1, p. 91-94, mar. 2023.

PROCHNOW, A. et al. Bioenergy from permanent grassland – A review: 1. biogas. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 100, n. 21, p. 4931-4944, nov. 2009.

RAMAN, J. et al. Cultivation and Nutritional Value of Prominent *Pleurotus* spp.: an overview. **Mycobiology**, [S.L.], v. 49, n. 1, p. 1-14, nov. 2020.

RODRIGUEZ, C. et al. Pre-treatment techniques used for anaerobic digestion of algae. **Fuel Processing Technology**, [S.L.], v. 138, p. 765-779, out. 2015.

RODRIGUEZ, C. et al. Pretreatment techniques used in biogas production from grass. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [S.L.], v. 68, p. 1193-1204, fev. 2017.

ROUCHES, E. et al. Improvement of anaerobic degradation by white-rot fungi pretreatment of lignocellulosic biomass: a review. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [S.L.], v. 59, p. 179-198, jun. 2016.

RUBIN, E. M. Genomics of cellulosic biofuels. **Nature**, [S.L.], v. 454, n. 7206, p. 841-845, ago. 2008.

SAAD, A. L. M. et al. Aproveitamento de resíduos agrícolas no cultivo do cogumelo medicinal *Ganoderma lucidum* utilizando a tecnologia chinesa “JunCao”. **Ambiência**, Guarapuava, v. 13, n. 3, p. 572-582, set. 2017.

SANCHEZ, J. E.; ROYSE, D. J. Producción mundial de setas *Pleurotus* spp. con énfasis en países Iberoamericanos. In: ROYSE, D. J.; SANCHEZ, J. E. **La BioLogia, el Cultivo y las propiedades Nutricionales y Medicinales de las setas Pleurotus spp.** Chiapas, México: ECOSUR, 2017. p. 17–24.

SHIRKAVAND, E. et al. Combination of fungal and physicochemical processes for lignocellulosic biomass pretreatment – A review. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [S.L.], v. 54, p. 217-234, fev. 2016.

SILVA, T. A. L. **Avaliação do pré-tratamento de explosão a vapor catalisado por ácido cítrico e hidróxido de sódio sobre a hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar.** 2017. 70 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis, Universidade Federal de Uberlândia, UFU, Uberlândia, MG, 2017.

SINGH, B.; SZAMOSI, Z.; SIMÉNFAI, Z. Impact of mixing intensity and duration on biogas production in an anaerobic digester: a review. **Critical Reviews In Biotechnology**, [S.L.], v. 40, n. 4, p. 508-521, mar. 2020.

SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE SANEAMENTO - SNIS. Painel de Saneamento 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/cidades/pt-br/aceso-a-informacao/acoes-e-programas/saneamento/snis/painel>>. Acesso em: 30 de jun. 2023.

SOCOL, C. R. et al. Cogumelos: uma fonte promissora de compostos ativos para o desenvolvimento de bioprodutos farmacêuticos e nutracêuticos. *Biotecnologia Aplicada à*

Agro e Indústria Fundamentos e Aplicações. In: SOCCOL, C. R.; FRANÇA, L. R. **Biotecnologia Aplicada à Agro & Indústria**. 4. vol. São Paulo: Blucher, 2017. 1069 p.

SONG, Z. et al. Comparison of Seven Chemical Pretreatments of Corn Straw for Improving Methane Yield by Anaerobic Digestion. **Plos One**, [S.L.], v. 9, n. 4, p. 1-1, abr. 2014.

STRIPPEL, F. et al. Biowaste to biogas. Disponível em: <https://www.biogas.org/edecom/web.fvb.nfs/id/de_homepage>. Acesso em: 14 fev. 2022.

SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 83, n. 1, p. 1-11, maio 2002.

TAHERZADEH, M. J.; KARIMI, K. Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: a review. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 9, n. 9, p. 1621-1651, set. 2008.

TANIGUCHI, M. et al. Evaluation of pretreatment with *Pleurotus ostreatus* for enzymatic hydrolysis of rice straw. **Journal Of Bioscience And Bioengineering**, [S.L.], v. 100, n. 6, p. 637-643, dez. 2005.

TIBOLLA, H. et al. Cellulose nanofibers produced from banana peel by chemical and mechanical treatments: characterization and cytotoxicity assessment. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 75, p. 192-201, fev. 2018.

TILMA, M. et al. Corn silage fungal-based solid-state pretreatment for enhanced biogas production in anaerobic co-digestion with cow manure. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 253, p. 220-226, abr. 2018.

TIRKEY, V. J.; SIMON, S.; LAL, A. Efficacy of different substrates on the growth, yield and nutritional composition of oyster mushroom-*Pleurotus florida* (Mont.) Singer. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, [S.L.], v. 6, n. 4, p. 1097-1100, jun. 2017.

TLECUITL-BERISTAIN, S. et al. Laccases of *Pleurotus ostreatus* observed at different phases of its growth in submerged fermentation: production of a novel laccase isoform. **Mycol Res**, [S.L.], v. 112, n. 9, p. 1080-1084, set. 2008.

TORTORA G. J; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. 967 p.

TRIOLO, J. M. et al. Biochemical methane potential and anaerobic biodegradability of non-herbaceous and herbaceous phytomass in biogas production. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 125, p. 226-232, dez. 2012.

TSAPEKOS, P.; KOUGIAS, P. G.; ANGELIDAKI, I. Mechanical pretreatment for increased biogas production from lignocellulosic biomass; predicting the methane yield from structural

plant components. **Waste Management**, [S.L.], v. 78, p. 903-910, ago. 2018.

TUYEN, D.V. et al. Effect of fungal treatments of fibrous agricultural by-products on chemical composition and in vitro rumen fermentation and methane production. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 129, p. 256-263, fev. 2013.

UNICA DATA. Painel de certificações, metas e mercado de CBIOS - RenovaBio. Disponível em: <<https://unicadata.com.br/listagem.php?idMn=110>>. Acesso em: jul. de 2023.

URBEN, A. F. **Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada: biotecnologia e aplicações na agricultura e saúde**. 3. ed. Brasília: Embrapa, 2017. 274 p.

VANHOLME, R. et al. Lignin Biosynthesis and Structure. **Plant Physiology**, [S.L.], v. 153, n. 3, p. 895-905, maio 2010.

VASCONCELOS, S. M. **Pré-tratamento de bagaço de cana-de-açúcar com ácido fosfórico diluído para aplicação em biorrefinarias**. 2012. 184 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, 2012.

VEREIN DEUTSCHER INGENIEURE - VDI. **VDI 4630. Fermentation of organic materials characterization of the substrate, sampling, collection of material data, fermentation tests**. Düsseldorf: Verein Deutscher Ingenieure, 2016. 132 p.

VIEIRA, Sabrina. **Biodigestão anaeróbica do resíduo da produção de cogumelos tipo champignon de Paris (*Agaricus bisporus*)**. 2021. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2021.

WALLER, S. S.; LEWIS, J. K. Occurrence of C 3 and C 4 Photosynthetic Pathways in North American Grasses. **Journal Of Range Management**, [S.L.], v. 32, n. 1, p. 12, jan. 1979.

WOBIWO, F. A. et al. Valorization of spent coffee ground with wheat or *Miscanthus* straw: yield improvement by the combined conversion to mushrooms and biomethane. **Energy For Sustainable Development**, [S.L.], v. 45, p. 171-179, ago. 2018.

ZAGO, V. C. P.; BARROS, R. T. de V. Gestão dos resíduos sólidos orgânicos urbanos no Brasil: do ordenamento jurídico à realidade. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, [S.L.], v. 24, n. 2, p. 219-228, abr. 2019.

ZÁRATE-SALAZAR, J. R. et al. Use of lignocellulosic corn and rice wastes as substrates for oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus* Jacq.) cultivation. **Sn Applied Sciences**, [S.L.], v. 2, n. 11, out. 2020.

ZHAO, Q. et al. Syringyl lignin biosynthesis is directly regulated by a secondary cell wall master switch. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 107, n. 32, p.

14496-14501, jul. 2010.

ZISOPOULOS, F. K. et al. A resource efficiency assessment of the industrial mushroom production chain: the influence of data variability. **Journal Of Cleaner Production**, [S.L.], v. 126, p. 394-408, jul. 2016.