



INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE
CIÊNCIAS DA VIDA E DA NATUREZA
(ILACVN)

QUÍMICA – LICENCIATURA

CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO EXAURIDO DO CULTIVO DE *Pleurotus ostreatus* COMPOSTO POR BORRA DE CAFÉ E GRAMÍNEAS E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO

EMILENE DE CARVALHO LOURENÇO

Foz do Iguaçu
2022

CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO EXAURIDO DO CULTIVO DE *Pleurotus ostreatus* COMPOSTO POR BORRA DE CAFÉ E GRAMÍNEAS E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO

EMILENE DE CARVALHO LOURENÇO

Trabalho de Conclusão de Curso II apresentado ao Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e Natureza (ILACVN) da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Licenciatura em Química.

Orientador: Prof. Dr^a. Aline Theodoro Toci

Foz do Iguaçu
2022

EMILENE DE CARVALHO LOURENÇO

CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO EXAURIDO DO CULTIVO DE *Pleurotus ostreatus* COMPOSTO POR BORRA DE CAFÉ E GRAMÍNEAS E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO

Trabalho de Conclusão de Curso II apresentado ao Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e Natureza (ILACVN) da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Licenciatura em Química.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof. Dr^a. Aline Theodoro Toci
UNILA

Prof. Dr^a. Márcia Regina Becker
UNILA

Prof. Dr^a. Daniella Rodrigues Fernanda Noronha
UFRJ

Foz do Iguaçu, 29 de julho de 2022.

TERMO DE SUBMISSÃO DE TRABALHOS ACADÊMICOS

Nome completo do autor(a): Emilene de Carvalho Lourenço

Curso: Química Licenciatura

	Tipo de Documento
(.....) graduação	(.....) artigo
(.....) especialização	(X) trabalho de conclusão de curso
(.....) mestrado	(.....) monografia
(.....) doutorado	(.....) dissertação
	(.....) tese
	(.....) CD/DVD – obras audiovisuais
	(.....)

Título do trabalho acadêmico: CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO EXAURIDO DO CULTIVO DE *Pleurotus ostreatus* COMPOSTO POR BORRA DE CAFÉ E GRAMÍNEAS E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO

Nome do orientador(a): Prof. Dr^a. Aline Theodoro Toci

Data da Defesa: 29/07/2022

Licença não-exclusiva de Distribuição

O referido autor(a):

a) Declara que o documento entregue é seu trabalho original, e que o detém o direito de conceder os direitos contidos nesta licença. Declara também que a entrega do documento não infringe, tanto quanto lhe é possível saber, os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade.

b) Se o documento entregue contém material do qual não detém os direitos de autor, declara que obteve autorização do detentor dos direitos de autor para conceder à UNILA – Universidade Federal da Integração Latino-Americana os direitos requeridos por esta licença, e que esse material cujos direitos são de terceiros está claramente identificado e reconhecido no texto ou conteúdo do documento entregue.

Se o documento entregue é baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não a Universidade Federal da Integração Latino-Americana, declara que cumpriu quaisquer obrigações exigidas pelo respectivo contrato ou acordo.

Na qualidade de titular dos direitos do conteúdo supracitado, o autor autoriza a Biblioteca Latino-Americana – BIUNILA a disponibilizar a obra gratuitamente e de acordo com a licença pública *Creative Commons* **Licença 3.0 Unported**.

Foz do Iguaçu, _____ de _____ de _____.

Assinatura do Responsável

AGRADECIMENTOS

O desenvolvimento deste trabalho de conclusão de curso contou com diversas contribuições, dentre as quais agradeço:

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. Além disso, por permitir que pessoas tão especiais pudessem partilhar comigo essa jornada.

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.

À minha orientadora, Aline Theodoro Toci, pela dedicação e paciência em me orientar durante todo o desenvolvimento deste trabalho, e apoiar minhas ideias e planos.

À professora Marcela Boroski, que incentivou e possibilitou o primeiro acesso ao grupo de pesquisa LEIMAA - Laboratório de Estudos Interdisciplinares do Meio Ambiente e Alimentos, e pelo apoio nos diversos projetos desenvolvidos durante a graduação.

Ao Professor Michel Passarini pelo acesso ao Laboratório de Biotecnologia Ambiental e pelo apoio na realização de meios de cultura e inóculos.

A todos os professores que, de alguma forma, contribuíram para que eu pudesse chegar até esse momento, em especial à professora Maria das Graças Cleophas Porto, que além de ser uma professora maravilhosa, compreende a realidade dos alunos e atua como uma incentivadora de futuros profissionais de qualidade na área do ensino de Química.

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

À UNILA pela oportunidade de poder cursar Química Licenciatura, que é minha paixão.

Aos colegas do LEIMAA, em especial ao Aldo Sidulfo Barbosa Valdez e ao Cristian Aceker Godoy, pela paciência e disposição em responder perguntas aleatórias

sobre os procedimentos e sobre a vida.

A todos meus amigos, que me apoiaram e me incentivaram nessa longa caminhada, em especial à Franciele Natividade Luiz, que sempre esteve comigo nas decisões importantes voltadas ao meu desenvolvimento pessoal e intelectual, e à Sabrina Kerkhoff, que está presente desde a primeira graduação e seguiu comigo nesse desafio de cursar uma segunda graduação. Não foi fácil, mas estamos finalizando mais essa etapa de nossas vidas juntas.

À amiga de longa data, Fernanda Rubio, que esteve presente em diversos momentos e contribuiu de muitas formas ao longo de toda a minha formação acadêmica.

Aos amigos conquistados ao longo do curso, Guilherme Pavão Gomes, Caroline Diel Abreu, Aldo Sidulfo Barbosa Valdez e Raquel Rodrigues que dividiram comigo seus sonhos e conquistas, e que me deram a oportunidade de conhecê-los e descobrir pessoas tão diferentes entre si, mas com objetivos em comum.

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.

RESUMO

O *Pleurotus ostreatus* é um cogumelo com grande relevância gastronômica e nutricional, pois possui baixo valor calórico e quantidades elevadas de proteínas, vitaminas e fibras alimentares. Além disso, possui propriedades terapêuticas e farmacológicas, e é capaz de degradar materiais lignocelulósicos. O substrato exaurido pós-cultivo desse fungo, *Spent Mushroom Substrate* (SMS), possui potencial para utilização como adubo orgânico, ração animal, substrato para plantas e produção de biocombustíveis, como o biogás. A composição do substrato pós-cultivo pode variar conforme a espécie cultivada e a diversidade de biomassa utilizada. Por conter compostos orgânicos lignocelulósicos e células fúngicas, esse substrato pós-cultivo possui grande potencial para ser utilizado como matéria-prima em biodigestão anaeróbia. Dentre os substratos que podem ser utilizados para o cultivo estão a borra de café e as gramíneas, por serem ricos em nutrientes e em lignocelulose, os quais são compostos essenciais para o desenvolvimento de fungos da podridão branca. Em vista disso, este trabalho teve como objetivo a produção de *Pleurotus ostreatus* em resíduos de borra de café e gramíneas das espécies *Zoysia japonica* (grama esmeralda) e *Cynodon spp.* cv. Tifton 85 (feno), para posterior obtenção e caracterização do substrato residual utilizado no cultivo e execução de ensaios de Potencial Bioquímico de Metano (PBM), a fim de avaliar a produção de biogás e metano. O substrato S1, composto de 50,0% borra de café e 50,0% *Zoysia japonica*, obteve eficiência biológica (EB) de 106,6%, e resultou no resíduo de cultivo R1, o qual produziu $462,4 \pm 13,2$ e $277,4 \pm 7,9$ $\text{LN.kg}_{\text{SV}}^{-1}$ de biogás e metano, respectivamente. Enquanto que o substrato S2, composto por 50,0% borra de café e 50,0% *Cynodon spp.* cv. Tifton 85, apresentou EB de 103,7%, e produziu $339,2 \pm 20,7$ e $196,8 \pm 12,0$ $\text{LN.kg}_{\text{SV}}^{-1}$ de biogás e metano, respectivamente. Dessa forma, a utilização desses resíduos para a produção de energia limpa foi considerada uma alternativa que contribui para a economia circular e para alcançar os Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Agenda 2030, especialmente os que versam sobre energia limpa e acessível (7), consumo e produção responsáveis (12) e ação contra as mudanças climáticas (13).

Palavras-chave: resíduos; lignocelulose; *Pleurotus ostreatus*; digestão anaeróbia; biogás.

RESUMEN

El *Pleurotus ostreatus* es una seta de gran relevancia gastronómica y nutricional, ya que cuenta con un bajo valor calórico y a la vez altos contenidos de proteínas, vitaminas y fibra dietética. Además, posee propiedades terapéuticas, farmacológicas y es capaz de degradar materiales lignocelulósicos. El sustrato poscultivo de esta seta, *Spent Mushroom Substrate* (SMS), tiene potencial como uso de fertilizante orgánico, alimento para animales, sustrato para plantas y producción de biocombustibles, como el biogás. La composición del sustrato poscultivo puede variar según las especies cultivadas y la diversidad de biomasa utilizada. Al contener compuestos orgánicos lignocelulósicos y células fúngicas, este sustrato poscultivo tiene un gran potencial como materia prima en biodigestión anaerobia. Entre los sustratos que se pueden utilizar para el cultivo se encuentran los pozos de café y las gramíneas, ya que son ricos en nutrientes y en lignocelulosa, compuestos esenciales para el desarrollo de los hongos de la pudrición blanca. Ante lo expuesto, este trabajo tuvo como objetivo producir setas *Pleurotus ostreatus* en residuos de pozo de café y gramíneas de las especies *Zoysia japonica* (hierba esmeralda) y *Cynodon spp.* cv. Tifton 85 (heno), para posterior obtención y caracterización del sustrato residual utilizado en el cultivo y ejecución de ensayos de Potencial Bioquímico de Metano (PBM), con el fin de evaluar la producción de biogás y metano. El sustrato S1, compuesto por 50,0% pozo de café y 50,0% *Zoysia japonica*, presentó una eficiencia biológica (EB) de 106,6%, y dio como resultado el residuo de cultivo R1, que produjo $462,4 \pm 13,2$ y $277,4 \pm 7,9$ $L_N.kg_{SV}^{-1}$ de biogás y metano, respectivamente. Mientras que el sustrato S2, compuesto por 50,0% pozo de café molido y 50,0% *Cynodon spp.* CV. Tifton 85, presentó EB de 103,7%, y produjo $339,2 \pm 20,7$ y $196,8 \pm 12,0$ $L_N.kg_{SV}^{-1}$ de biogás y metano, respectivamente. De esta forma, el aprovechamiento de estos residuos para la producción de energía limpia se planteó como una alternativa que contribuye a la economía circular y al logro de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de la Agenda 2030, en especial aquellos que versan sobre energía asequible y no contaminante (7), producción y consumo responsables (12) y acción por el clima (13).

Palabras clave: desperdicio; lignocelulosa; *Pleurotus ostreatus*; digestión anaeróbica; biogás.

ABSTRACT

Pleurotus ostreatus is a mushroom with great gastronomic and nutritional relevance, as it has low caloric value and high amounts of proteins, vitamins and dietary fiber. In addition, it has therapeutic and pharmacological properties, and is capable of degrading lignocellulosic materials. The depleted post-cultivation substrate of this fungus, Spent Mushroom Substrate (SMS), has potential for use as organic fertilizer, animal feed, substrate for plants and production of biofuels, such as biogas. The composition of the post-cultivation substrate may vary according to the species cultivated and the diversity of biomass used. As it contains lignocellulosic organic compounds and fungal cells, this post-cultivation substrate has great potential to be used as a raw material in anaerobic biodigestion. Among the substrates that can be used for cultivation are coffee grounds and grasses, as they are rich in nutrients and in lignocellulose, which are essential compounds for the development of white rot fungi. In view of this, the objective of this work was the production of *Pleurotus ostreatus* in coffee grounds residues and grasses of the species *Zoysia japonica* (emerald grass) and *Cynodon spp.* cv. Tifton 85 (hay), for later obtaining and characterization of the residual substrate used in the cultivation and execution of Biochemical Potential of Methane (BMP) tests, in order to evaluate the production of biogas and methane. The substrate S1, composed of 50.0% coffee grounds and 50.0% *Zoysia japonica*, obtained a biological efficiency (EB) of 106.6%, and resulted in the cultivation residue R1, which produced 462.4 ± 13.2 and 277.4 ± 7.9 L_N.kg_{SV}⁻¹ of biogas and methane, respectively. While the S2 substrate, composed of 50.0% coffee grounds and 50.0% *Cynodon spp.* cv. Tifton 85, presented EB of 103.7%, and produced 339.2 ± 20.7 and 196.8 ± 12.0 L_N.kg_{SV}⁻¹ of biogas and methane, respectively. In this way, the use of these wastes for the production of clean energy was considered an alternative that contributes to the circular economy and to achieving the Sustainable Development Goals (SDGs) of the 2030 Agenda, especially those that deal with clean and affordable energy (7), responsible consumption and production (12) and action against climate change (13).

Key words: waste; lignocellulose; *Pleurotus ostreatus*; anaerobic digestion; biogas.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Representação da célula vegetal e seus compostos lignocelulósicos.....	17
Figura 2 – Cogumelos <i>Pleurotus ostreatus</i> e seus principais constituintes.....	19
Figura 3 – Cadeia de produção e uso do biogás.....	26
Figura 4 – Etapas da digestão anaeróbia.....	28
Figura 5 – Delineamento do estudo de caracterização e ensaios de PBM em amostras de substrato pós-cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i>	32
Figura 6 – Reatores utilizados para os ensaios de PBM.....	42
Figura 7 – Substratos S1 e S2 (a) 10 dias de incubação, colonização incompleta e (b) 22 dias de incubação, colonização completa.....	45
Figura 8 – Cogumelos produzidos a partir dos substratos S1 e S2.....	46
Figura 9 – Média de produção específica acumulada de biogás nas amostras R1 e R2 (n=3).....	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGVs	Ácidos Graxos Voláteis
ANEEL	Agência Nacional de Energia Elétrica
ANPC	Associação Nacional dos Produtores de Cogumelos
CORDIS	<i>Community Research and Development Information Service</i>
CV	Coeficiente de Variação
CT	Carbono Total
EB	Eficiência Biológica
EPE	Empresa de Pesquisa Energética
FAO	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
FAOSTAT	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics</i>
ILACVN	Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza
MO	Matéria Orgânica
ODS	Objetivos do Desenvolvimento Sustentável
ONU	Organização das Nações Unidas
PBM	Potencial Bioquímico de Metano
pH	Potencial Hidrogeniônico
SF	Sólidos Fixos
SMS	<i>Spent Mushroom Substrate</i>
ST	Sólidos Totais
SV	Sólidos Voláteis
TT	Tempo Total de Cultivo
UNILA	Universidade Federal da Integração Latino-Americana

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 PRODUÇÃO DE COGUMELOS NO BRASIL	16
2.1.1 <i>Pleurotus spp.</i>	16
2.1.2 <i>Pleurotus ostreatus</i>	19
2.2 UTILIZAÇÃO DO RESÍDUO PÓS-CULTIVO	20
2.3 MATRIZ ENERGÉTICA	24
2.4 BIOGÁS	25
2.5 DIGESTÃO ANAERÓBIA	27
2.6 POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO (PBM)	29
3 OBJETIVOS	31
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
4 METODOLOGIA	32
4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO	32
4.2 LOCAL DO ESTUDO	32
4.3 CULTIVO DE COGUMELOS E OBTENÇÃO DO SUBSTRATO PÓS-CULTIVO	33
4.3.1 Inóculo de <i>Pleurotus ostreatus</i>	33
4.3.1.1 Preparo de Meio de Cultivo em Extrato de Café	33
4.3.1.2 Inoculação do Meio de Cultivo	33
4.3.1.3 Inoculação de Sementes	34
4.3.2 Substratos <i>in natura</i>	34
4.3.2.1 Obtenção dos Resíduos Para Produção dos Substratos <i>In Natura</i>	34
4.3.2.2 Produção dos Substratos Para Cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i>	34
4.3.3 Condições do Cultivo de Cogumelo	35
4.3.4 Parâmetros de Avaliação de Produção e Comportamento do Fungo	36
4.3.4.1 Umidade dos Cogumelos	36
4.3.4.2 Massa Fresca	36
4.3.4.3 Eficiência Biológica (EB)	36
4.3.4.4 Tempo de Colonização (TC), Tempo de Emissão dos Primórdios (TEP), Tempo de Formação do Cogumelo (TFC), Tempo Total de cultivo (TT) e Número de Cogumelos (NC)	37
4.3.5 Obtenção do Substrato Pós-Cultivo	37
4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS SUBSTRATOS PÓS-CULTIVO DE <i>Pleurotus ostreatus</i>	37
4.4.1 Umidade, Sólidos Totais (ST), Sólidos Voláteis (SV), Sólidos Fixos (SF), Matéria Orgânica (MO) e Carbono Total (CT)	37
4.4.1.1 Umidade e Sólidos Totais	38
4.4.1.2 Sólidos Voláteis (SV) e Sólidos Fixos (SF)	38
4.4.1.3 Matéria Orgânica (MO) e Carbono Total (CT)	38

	13
4.4.2 Nitrogênio e Proteínas Totais	39
4.4.3 Glicídios Totais	39
4.4.4 Lipídios Totais	40
4.4.5 Fibras	40
4.4.6 Potencial Hidrogeniônico (pH)	41
4.5 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO (PBM) NOS SUBSTRATOS PÓS-CULTIVO	41
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	43
5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS SUBSTRATOS PRÉ-CULTIVO	43
5.2 PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO DE PRODUÇÃO E COMPORTAMENTO DO FUNGO	44
5.3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS RESÍDUOS PÓS-CULTIVO	48
5.4 ENSAIOS DE PBM NO RESÍDUOS PÓS-CULTIVO	49
6 CONCLUSÃO	54
REFERÊNCIAS	55

1 INTRODUÇÃO

A produção de cogumelos comestíveis teve início no Brasil na década de 50, considerada recente quando comparada aos países Europeus, Asiáticos e Norte Americanos. Em 2018, o consumo de cogumelos pela população brasileira foi em torno de 0,16 kg/pessoa/ano, considerado baixo em relação aos países Europeus, como França, Itália e Alemanha, os quais possuíram consumo anual per capita de, aproximadamente, 2 kg. Já os países asiáticos consomem cerca de 8 kg de cogumelos anualmente por habitante (ANPC, 2018).

Recentemente, 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 (ABREU, 2019; ANPC, 2018). Segundo o relatório da *Industry ARC* (2019), estima-se que o mercado de cogumelos mundial atinja US\$ 49,7 bilhões até 2025, devido ao aumento da urbanização e crescimento populacional, estabelecendo uma demanda substancial por cogumelos e produtos à base desses fungos.

Entre 2003 e 2013, houve um aumento de 50,0% na produção de resíduos agrícolas no mundo (CHERUBIN et al., 2017). Sabe-se que a disposição inadequada desses resíduos pode ocasionar problemas ambientais, como: liberação de gases de efeito estufa, proliferação de pragas e bloqueio de nitrogênio do solo. Desse modo, torna-se necessário o manejo correto desses, através de alternativas sustentáveis, tal como a utilização desses resíduos como substrato na produção de cogumelos comestíveis do gênero *Pleurotus* (RANI et al., 2008; SÖZBIR et al., 2015).

Os cogumelos do gênero *Pleurotus* são reconhecidos por suas propriedades nutricionais, terapêuticas e farmacológicas (PATEL et al., 2012). Algumas das espécies desse gênero são ricas em compostos fenólicos que podem atuar como antioxidantes (GASECKA et al., 2016). Muitos compostos bioativos foram isolados e avaliados em *Pleurotus*, e indicam que o consumo regular dos cogumelos ou o uso na produção de suplementos alimentares pode melhorar a imunidade e reduzir o colesterol em humanos (GOLAK-SIWULSKA et al., 2018). Além de serem capazes de degradar materiais lignocelulósicos, como celulose, hemicelulose e lignina, esses fungos possuem altas taxas de crescimento micelial e grande facilidade de cultivo em diversos substratos, sejam eles de origem residual de agroindústrias ou urbana (BELLETTINI et al., 2016; KNOP et al., 2015; URBEN, 2017; RAMAN et al., 2021).

A produção do *Pleurotus ostreatus*, por sua vez, além de ser adaptável em diversos substratos residuais e nas misturas desses, como borra de café e gramíneas, resiste às temperaturas próximas a 30 °C, o que contribui para que essa espécie seja amplamente cultivada e comercializada em diversos países e em diferentes estações do ano (FREITAS et al., 2018; BELLETTINI et al., 2016; FIGUEIRÓ; GRACIOLLI, 2011; OLIVEIRA et al., 2018).

Após a produção de cogumelos nos resíduos, o substrato exaurido pós-cultivo, conhecido do inglês como *spent mushroom substrate* (SMS), precisa de uma destinação adequada, para evitar a contaminação de novos ciclos de cultivo, a propagação de pragas e a contaminação dos cursos d'água. Assim, esse substrato pós-cultivo pode ser aproveitado de diversas maneiras, tais como adubo orgânico, ração animal e na produção de biocombustíveis, como o biogás (CORRAL-BOBADILLA et al., 2019; FANG et al., 2017; OWAID et al., 2017; ABREU, 2019). Desse modo, objetiva-se, por meio deste trabalho, obter e caracterizar o substrato residual do cultivo de *Pleurotus ostreatus* e executar ensaios de Potencial Bioquímico de Metano (PBM), a fim de avaliar a possibilidade de sua utilização na produção de biogás.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 PRODUÇÃO DE COGUMELOS NO BRASIL

Os cogumelos comestíveis são muito apreciados na culinária, tanto pelo seu sabor e textura, quanto pela disponibilidade de proteínas em sua composição (SOCCOL et al., 2017). A produção de cogumelos no Brasil teve início em São Paulo na década de 50 por imigrantes asiáticos e europeus. Esse início é considerado recente quando comparado aos países Europeus, Asiáticos e Norte Americanos (ABREU, 2019).

Segundo a ANPC (2018), o consumo de cogumelos pela população brasileira foi de cerca de 0,16 kg/pessoa/ano, muito inferior aos países europeus, 2,0 kg/pessoa/ano, e asiáticos, 6,0 a 8,0 kg/pessoa/ano. Ainda de acordo com dados da ANPC, (2018), no cenário brasileiro os estados de São Paulo e Paraná são os principais produtores e as espécies mais produzidas são o *Agaricus bisporus*, o *Pleurotus spp.* e o *Lentinula edodes*, produzindo aproximadamente 8.000, 2.000 e 1.500 toneladas/ano, respectivamente.

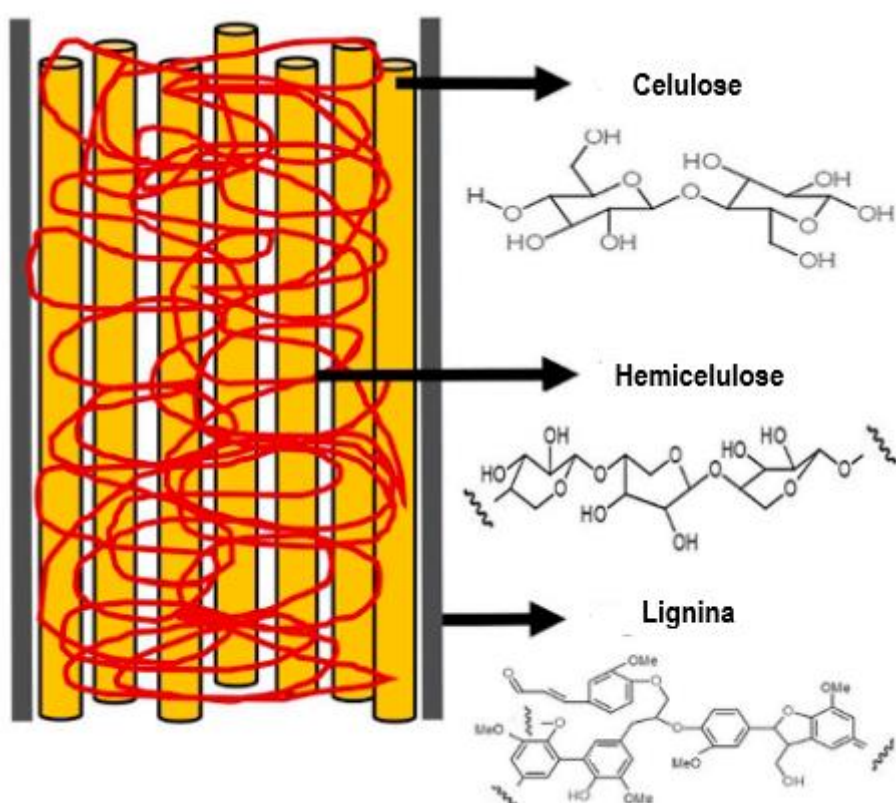
2.1.1 *Pleurotus spp.*

O gênero *Pleurotus* apresenta cerca de 40 espécies, as quais são distribuídas de acordo com a região e a tolerância à temperatura de cada espécie específica (RAMAN et al., 2021). Dentre essas, as espécies *P. ostreatus*, *P. eryngii*, *P. djamor*, *P. citrinopileatus* e *P. pulmonarius* são reconhecidas por suas propriedades nutricionais, terapêuticas e farmacológicas (PATEL et al., 2012). Esses fungos secretam enzimas, tais como lacases, peroxidases e manganês peroxidase, que degradam materiais lignocelulósicos e, na natureza, crescem em troncos de árvores e materiais orgânicos em processo de decomposição. As altas taxas de crescimento micelial aliadas às capacidades enzimáticas dessas espécies, garantem a decomposição de materiais lignocelulósicos e, consequentemente, a facilidade no cultivo desses cogumelos em diversos substratos (BELLETTINI et al., 2016; KNOP et al., 2015).

A degradação da lignina por esse gênero de fungos é conhecida como podridão branca, pois seu micélio apresenta coloração característica branca com aspecto cottonoso (semelhante ao algodão), e sua ação causa o enfraquecimento desses materiais,

tornando-os porosos e quebradiços devido à quebra da lignina. Por esses aspectos, tais fungos apresentam grande viabilidade de cultivo em vários tipos de resíduos agroindustriais e urbanos, desde que sejam ricos em compostos lignocelulósicos, os quais incluem a celulose, a hemicelulose e a lignina (URBEN, 2017; RAMAN et al., 2021). Essas características contribuem para que esses tipos de fungos sejam utilizados, amplamente como pré-tratamento de substratos para a produção de biogás (PÉREZ-CHÁVEZ et al., 2019). A Figura 1 representa a célula vegetal e seus respectivos compostos lignocelulósicos.

Figura 1 – Representação da célula vegetal e seus compostos lignocelulósicos



os subprodutos da produção agrícola, por exemplo, madeira, palhas de arroz, milho, trigo, casca de coco, folhas de bananeira e resíduos do processo produtivo de café (cascas, folhas, polpas e borras) (CARVALHO et al., 2012; FAN; SOCCOL, 2003; VEGA; FRANCO, 2013; PÉREZ-CHÁVEZ et al., 2019).

Com o aumento da produção mundial de café e, consequentemente, a preocupação em relação à destinação de seus resíduos, com destaque à borra, a utilização desses é viável para o estabelecimento de um equilíbrio sustentável para o cultivo de cogumelos (FAN e SOCCOL, 2003; WOBIVO et al., 2018; FREITAS et al., 2018; MUSSATO et al., 2011). O cultivo de cogumelos, por sua vez, é considerado de baixo custo e pode mitigar impactos ambientais gerados na destinação incorreta de resíduos. Além disso, essa forma de cultivo para comercialização ajuda a promover a preservação de recursos naturais e o desenvolvimento sustentável (ZÁRATE-SALAZAR et al., 2020; MEYER et al., 2020).

Para que a utilização desses resíduos seja eficiente na produção de substratos, alguns aspectos nutricionais relevantes ao desenvolvimento dos micélios do gênero *Pleurotus* devem ser avaliados, dentre esses: a relação carbono nitrogênio (C/N), o teor de nitrogênio, as proteínas totais, os lipídios totais, os glicídios, a umidade, o pH, a série de sólidos e a lignina. A ampla faixa de relação C/N, entre 15 e 100, facilita a adesão de variados subprodutos agrícolas e resíduos na formulação do substrato (URBEN, 2017; BELLETTINI et al., 2016; FIGUEIRÓ; GRACIOLLI, 2011; OLIVEIRA et al., 2018).

Diversos estudos apontam que os fungos desse gênero possuem uma maior produtividade quando há mais de um composto no substrato, dessa forma, o uso de gramíneas, palhas, farelos e demais resíduos estão sendo incorporados aos processos produtivos, visando a ampliação da produção e a valoração de diversos resíduos, sejam agroindustriais ou urbanos (JATWA et al., 2016; TIRKEY et al., 2017; PRASAD et al., 2018). As variedades dos componentes do substrato podem auxiliar na nutrição do fungo devido às suas diferenças de composição, além de trazer benefícios ambientais. No entanto, os micro-organismos presentes no substrato não podem ser competidores, apenas protetores, exigindo, assim, uma maior seletividade biológica para o cultivo desse gênero (BELLETTINI et al., 2016; PRASAD et al., 2018; TIRKEY et al., 2017).

2.1.2 *Pleurotus ostreatus*

De acordo com Sánchez e Royse (2017), o segundo cogumelo mais produzido mundialmente é o *Pleurotus ostreatus*, popularmente conhecido como cogumelo ostra, hiratake ou shimeji, o qual representa 19,0% da produção mundial, ficando atrás apenas do *Lentinula edodes* (Shiitake), com 22,0%. O *Pleurotus ostreatus*, além de conter muitos nutrientes em sua composição, atua como antioxidante, antimutagênico e hepatoprotetor, pode ser cultivado a partir de tecnologia de baixo custo e traz alta rentabilidade econômica, devido às grandes taxas de conversão do substrato em corpos de frutificação (ESTRADA; PECCHIA, 2017; OWAID et al., 2017; PATEL et al., 2012). Essa espécie é bastante vantajosa na dieta alimentar por possuir baixo valor calórico, grandes quantidades de proteínas (26,3 e 29,9 g/100g) e fibras alimentares (19,6 a 22,8 g/100g), e valores mínimos de lipídios (0,5 a 0,9 g/100g) (FEENEY et al., 2014; KNOP et al., 2015; GOLAK-SIWULSKA et al., 2018; SALAMI et al., 2017). A Figura 2 apresenta os principais aspectos morfológicos de um cogumelo adulto da espécie *Pleurotus ostreatus*.

Figura 2 - Cogumelos *Pleurotus ostreatus* e seus principais aspectos morfológicos



Fonte: A autora, 2022.

O *Pleurotus ostreatus* possui grande capacidade de adaptação em uma série de substratos residuais. Desenvolvendo-se facilmente em temperaturas próximas a 30 °C, o que contribui para que essa espécie seja amplamente cultivada e comercializada em diversos países. No Brasil, por exemplo, ela pode ser produzida em várias regiões e em

diferentes estações do ano, sem a necessidade de gastos excessivos com controle de temperatura (URBEN, 2017; BELLETTINI et al., 2016).

Ademais, Cherubin et al. (2017) afirma que houve um aumento de 50,0% na produção de resíduos agrícolas no mundo, entre 2003 e 2013. A disposição imprópria dos resíduos pode ocasionar diversos problemas ambientais, como a liberação de gases de efeito estufa, proliferação de moléstias e bloqueio de nitrogênio no solo (DINARDO-MIRANDA; FRACASSO, 2013; JIN et al., 2014; FERREIRA, 2015). Estudos recentes demonstram que o manejo correto dos resíduos agrícolas é capaz de contribuir em processos produtivos, sequestro de carbono, aumento da atividade microbiana e redução da erosão do solo (FRANZLUEBBERS, 2015; PAREDES JUNIOR et al., 2015; POEPLAU; DON, 2015). Desse modo, é necessário o uso de alternativas de gerenciamento adequado de resíduos, como a utilização desses como matéria-prima para a produção de *Pleurotus ostreatus* (RANI et al., 2008; SÖZBIR et al., 2015).

2.2 UTILIZAÇÃO DO RESÍDUO PÓS-CULTIVO

Apesar do Brasil não se encontrar entre os maiores produtores de cogumelos do mundo, como China, Estados Unidos, Japão e alguns países europeus (FAOSTAT, 2014), essa atividade possui potencial de expansão, visto que há um crescimento populacional, e que esse impactará diretamente na demanda por alimentos e energia (ONU, 2019). Logo, os alimentos que possuem fontes alternativas e variadas propriedades nutricionais, como o *Pleurotus ostreatus*, serão mais requisitados, gerando resíduos pós-cultivo.

Após os resíduos lignocelulósicos passarem pela bioconversão ecológica, através do cultivo de cogumelos, um subproduto do cultivo de origem vegetal, citado anteriormente como resíduo pós-cultivo, é gerado pela colonização pelo micélio do fungo, e representa cerca de 40,0 a 50,0% do volume do substrato *in natura*. Estudos indicam que os substratos pós-cultivo do gênero *Pleurotus* apresentam uma degradação significativa de lignina (41,0 - 50,0%), hemicelulose (16,0 - 48,0%) e celulose (3,8 - 17,0%) em palhas de arroz e trigo, em relação aos substratos *in natura* (TANIGUCHI et al., 2005; ČILERDŽIĆ et al., 2017).

Diante disso, o substrato pós-cultivo pode ser aproveitado alternativamente, como adubo orgânico, ração animal, composto para plantas ornamentais,

substrato para plantas, na biorremediação de solos e água contaminados por poluentes químicos e orgânicos, e na produção de biocombustíveis (VIEIRA, 2021; CORRAL-BOBADILLA et al., 2019; FANG et al., 2017; OWAID et al., 2017; ABREU, 2019).

De acordo com Saad et al. (2017), a composição do substrato exaurido pós-cultivo varia conforme a espécie cultivada e a diversidade de biomassa utilizada, por exemplo: palha de trigo, palha de arroz, resíduos de algodão, bagaço de cana-de-açúcar, serragem, polpas e cascas de frutas, folha de bananeira, polpa de café, entre outros. Segundo o relatório realizado pela FAO, (2018), a média de produção mundial de cogumelos comestíveis anualmente é de 8 milhões de toneladas e, a cada 1,0 kg de cogumelo é gerado, aproximadamente, 5,0 kg de substrato pós-cultivo (SCHIMPF; SCHUTZ, 2016). Por ainda conter baixo teor de compostos orgânicos lignocelulósicos e células fúngicas, esse substrato pós-cultivo possui grande potencial para ser utilizado como matéria-prima em biodigestão anaeróbia. A Tabela 1 apresenta uma revisão da literatura para a produção de biogás em resíduos de cultivos de cogumelos comestíveis e o uso de fungos como pré-tratamento em diferentes substratos.

Tabela 1- Revisão da literatura sobre a produção de biogás em substratos submetidos a inoculação com *fungos* comestíveis

Substrato	Espécie	Cogumelos (EB%)	Finalidade do fungo	DA (dias)	Rendimento de Biogás	Rendimento de Metano	Referência
Borra de café e <i>Zoza japonica</i> (R1)	<i>P. ostreatus</i>	106,6	Cultivo	32	462 L _N .kg _{SV} ⁻¹	277 L _N .kg _{SV} ⁻¹	Este estudo
Borra de café e <i>Cynodon spp.</i> cv. Tifton 85 (R2)	<i>P. ostreatus</i>	103,7	Cultivo	30	339 L _N .kg _{SV} ⁻¹	196 L _N .kg _{SV} ⁻¹	Este estudo
Palha de trigo	<i>P. ostreatus</i>	-	Cultivo	44	402 L _N .kg _{ST} ^{-1*}	-	Colavolpe et al., (2012)
Palha de arroz	<i>P. florida</i>	28,0*	Cultivo	45	148 L _N .kg _{ST} ^{-1*}	-	Mehta et al., (1990)
Palha de trigo e esterco	<i>Agaricus bisporus</i>	-	Cultivo	43	306 L _N .kg _{SV} ⁻¹	157 L _N .kg _{SV} ⁻¹	Vieira (2021)
Palha de trigo	<i>P. ostreatus</i>	-	Pré-tratamento	15	361 L _N .kg _{SV} ^{-1*}	-	Albornoz et al., (2018)
Palha de arroz	<i>P. ostreatus</i>	-	Pré-tratamento	45	367 L _N .kg _{SV} ^{-1*}	263 L _N .kg _{SV} ^{-1*}	Mustafa et al., (2016)
Palha de arroz	<i>P. ostreatus</i>	-	Pré-tratamento	30	353 L _N .kg _{SV} ^{-1*}	258 L _N .kg _{SV} ^{-1*}	Mustafa et al., (2017)
Palha de milho	<i>P. ostreatus</i>	-	Pré-tratamento	3	195 L _N .kg _{ST} ⁻¹	33 L _N .kg _{ST} ^{-1*}	Tuyen et al., (2013)
Folhas de palma	<i>P. ostreatus</i>	-	Pré-tratamento	3	170 L _N .kg _{ST} ^{-1*}	27 L _N .kg _{ST} ^{-1*}	Tuyen et al., (2013)
Bagaço de cana-de-açúcar	<i>P. ostreatus</i>	-	Pré-tratamento	3	110 L _N .kg _{ST} ⁻¹	18 L _N .kg _{ST} ⁻¹	Tuyen et al., (2013)
Palha de trigo	<i>P. florida</i>	-	Pré-tratamento	90	292 L _N .kg _{ST} ^{-1*}	199 L _N .kg _{ST} ^{-1*}	Müller e Trösch, (1986)

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

*L_N.kg_{SV}⁻¹: Litros normalizados por quilograma de sólidos voláteis.

*L_N.kg_{ST}⁻¹: Litros normalizados por quilograma de sólidos totais.

Fonte: A autora, 2022.

Recentemente, um estudo avaliou a produção de biogás e metano proveniente de substratos pós-cultivo da produção de *Agaricus bisporus*, popularmente 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 proveniente de aves (10,0 - 15,0%) e gesso (5,0 - 10,0%). A digestão anaeróbia teve duração de 43 dias e apresentou produtividade de 306 e 157 L_N.kg_{SV}⁻¹ de biogás e metano, respectivamente (Tabela 1) (VIEIRA, 2021).

O uso do gênero *Pleurotus* na produção de biogás não é recente, em estudo realizado por Müller e Trösch (1986), o resíduo do cultivo após três ciclos de cogumelos *Pleurotus florida*, em palha de trigo, foi utilizado para obtenção de biogás. O substrato avaliado foi capaz de produzir 292 e 199 L_N.kg_{ST}⁻¹ de biogás e metano, respectivamente. Além disso, os autores destacam um incremento na produção de biogás e metano em relação às amostras não tratadas de 17,0 e 27,8%, respectivamente (Tabela 1).

Mehta (1990) descreveu a utilização de *Pleurotus ostreatus* como pré-tratamento para produção de biogás. O estudo testou diferentes tempos: 30, 60 e 90 dias de incubação do fungo em amostras de palha de arroz, sem induzir a frutificação. A pesquisa apresentou produção de 148 L_N.kg_{ST}⁻¹ de biogás. Porém, não obteve dados de quantificação de metano no gás produzido (Tabela 1).

Desde a década de 90 houve um aumento do número de trabalhos utilizando fungos para a produção de biogás. Pérez-Chávez e colaboradores (2019) avaliaram 28 pesquisas, as quais utilizaram substratos pré-tratados por fungos para a obtenção de biogás. Dessa revisão totalizaram 41 espécies fúngicas e 43 substratos estudados (puros ou misturados). Dentre os resultados, 80,0% das pesquisas apresentaram aumento na produção de biogás pela ação da utilização dos fungos como pré-tratamento e, desses estudos, 74,0% dos que obtiveram a produção de metano aferida, aumentaram sua produção. Ademais, 13 dessas espécies fúngicas são comestíveis, sendo 5 do gênero *Pleurotus*: *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus eryngii* var. *tuoliensis*, *Pleurotus florida*, *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju*. Dos 28 pré-tratamentos que utilizaram o gênero *Pleurotus*, 82,0% apresentaram acréscimo na produção de biogás de até 3,9 vezes em relação ao substrato sem tratamento.

Além disso, de acordo com a *Community Research and Development Information Service* (CORDIS, 2021), o projeto *SmartMushroom*, que envolve consórcio de

empresas e centros de pesquisa da Alemanha, Espanha e Sérvia, começou a ser desenvolvido em 2018, com o objetivo de usar o SMS na produção de biogás, e aproveitar a energia nos secadores para transformar uma parcela desse extrato pós-cultivo em biofertilizante peletizado das próprias unidades produtoras de cogumelo. Esse projeto tem o potencial de propiciar menor custo de gerenciamento de resíduos para produtores de cogumelos, exemplificando uma aplicação em economia circular.

Nesse sentido, a associação do cultivo de cogumelos comestíveis, como forma de reaproveitamento de resíduos, com a produção de biogás pode ser considerada uma alternativa economicamente atraente, pois, além de produzir alimentos de qualidade e com valores gastronômico e nutricional elevados, pode contribuir para o crescimento do setor de produção de combustíveis renováveis, fortalecendo a matriz energética nacional (PÉREZ-CHÁVEZ et al., 2019).

A produção de biogás é uma estratégia com potencial de valorização econômica e ambiental de resíduos do cultivo de cogumelos, uma vez que produz um biocombustível renovável, o qual pode ser transformado em energia elétrica, e cogera o digestato, que possui propriedades fertilizantes. A possibilidade de execução dessa estratégia é investigada desde 1983, porém, com o recente aumento da produção de fungos, o tema voltou a ser objeto de pesquisas, principalmente na Europa e na Ásia. Essa proposta possui a finalidade de desenvolver alternativas sustentáveis para a destinação correta do substrato pós-cultivo e contribuir para os Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS), como o de energia limpa e acessível (7), consumo e produção responsáveis (12) e ação contra as mudanças climáticas (13) (COLLELA et al., 2019; VIEIRA, 2021; ONU, 2019).

2.3 MATRIZ ENERGÉTICA

De acordo com Vieira, (2021), após a “crise do Petróleo”, a partir da década de 70, houve maior procura dos países compradores de combustíveis fósseis por formas alternativas para aquisição de energia. Uma dessas é o uso de combustíveis renováveis, que além de ser ambientalmente sustentável, produz menor impacto e assegura maior segurança energética para a nação. Por mais que a matriz energética mundial ainda se detém nas fontes não renováveis, o Brasil demonstra um crescimento considerável na utilização de energias renováveis, alcançando 42,9% da matriz energética,

majoritariamente composta por energia hidráulica. Em contrapartida, as fontes não renováveis, como petróleo, carvão mineral, gás natural e energia nuclear, representam 36,4, 5,7, 13,0 e 1,4%, respectivamente (EPE, 2020; IEA, 2021).

Devido às desvantagens subsequentes à exploração e do uso excessivo de combustíveis fósseis, tais como esgotamento dessas fontes, contaminação ambiental e emissão de gases causadores do efeito estufa, há perspectivas de crescimento do setor de energias renováveis. Desse modo, há a preconização para o desenvolvimento de tecnologias que ampliem o uso de energias limpas, mitiguem impactos ambientais, minimizem custos e apresentem viabilidade de implantação em larga escala, tendo em vista evitar danos à saúde humana e ao meio ambiente (ROUCHES et al., 2016; PARAMJEET et al., 2018).

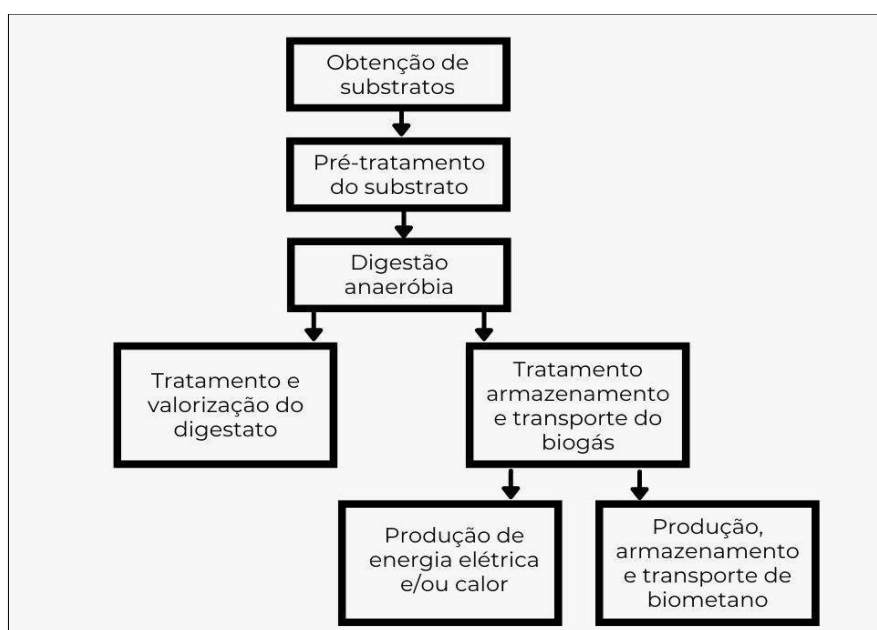
De acordo com dados obtidos pelo CIBiogás (2020), o Brasil possui 548 plantas de biogás, 426 dessas utilizam resíduos agropecuários como fonte de substrato. O Paraná ocupava, em 2019, o segundo lugar no ranking nacional de plantas de biogás em operação, com 110 plantas (21,0%), precedido por Minas Gerais, com 196 plantas (38,0%). Para que isso ocorra com maior facilidade, o Brasil possui leis que incentivam o uso de combustíveis de fonte renovável, como a RenovaBio (2016), uma Política Nacional de Biocombustíveis, a qual visa a expansão da representatividade dos biocombustíveis na matriz energética brasileira (EPE, 2017).

2.4 BIOGÁS

O biogás é uma mistura gasosa, proveniente de biomassa e é constituída, majoritariamente, por metano (entre 50,0 e 75,0% em volume) e dióxido de carbono (entre 25,0 e 50,0% em volume), podendo conter pequenas concentrações de hidrogênio (H_2), sulfeto de hidrogênio (H_2S) e outros traços de gases (KAINTHOLA et al., 2019). O substrato utilizado na digestão anaeróbia, bem como as tecnologias de biodigestão usadas nas usinas de biogás, são fatores determinantes para a composição dessa energia renovável (KUNZ et al., 2019). Esse biocombustível tem inúmeras funcionalidades, tais como: fonte de energia térmica para aquecimento de instalações residenciais e industriais, fonte de energia elétrica para produção de eletricidade com o uso de geradores, e aplicação como combustível de automóveis, após purificação e armazenamento adequado (HO et al., 2014). A Figura 3 apresenta as principais etapas da cadeia de produção e uso de biogás.

Diferentes fontes de matéria-prima, animal ou vegetal, podem ser utilizadas na produção de biogás, essas são acumuladas em tanques e depois direcionadas para processos de pré-tratamento. O pré-tratamento é considerado uma etapa não obrigatória, porém garante maior produção de biogás e diminui problemas técnicos. Em seguida, o substrato é encaminhado ao biodigestor. O biogás é produzido e armazenado no próprio biodigestor, o qual possui uma saída de segurança para o biocombustível. O digestato resultante no digestor é comumente armazenado ou tratado para posterior conversão em biofertilizantes (STRIPPEL et al., 2016).

Figura 3 - Cadeia de produção e uso do biogás



Fonte: CIBIOGÁS, 2018.

Em adição à geração de energia renovável, a produção de biogás contribui para o manejo adequado de resíduos, a redução da emissão de gases de efeito estufa e a redução da eutrofização de lagos e rios ocasionada pelo descarte incorreto de resíduos (KAINTHOLA et al., 2019). Segundo a Agência Nacional de Energia Elétrica (ANEEL, 2020), a produção desse biocombustível tem apresentado um acréscimo significativo no cenário energético nacional, possuindo uma variedade de insumos (substratos), tais como a biomassa lignocelulósica e os resíduos agroindustriais, animais e urbanos. Quando se trata da oferta interna de energia, sua participação é baixa, 0,1%, no entanto, nos últimos anos vem apresentando um crescimento de 23,0% ao ano (EPE, 2020). Em 2012, a ANEEL elaborou a Resolução Normativa nº 482/2012, a qual possibilita, de maneira renovável, a

produção de energia própria e conexão à rede de distribuição a todo consumidor de energia elétrica. Além disso, essa resolução permite a implantação de projetos de micro e minigeração distribuída, com potência instalada entre 75 kW e 5 MW, a partir de fontes renováveis, como o biogás (ANEEL, 2012).

2.5 DIGESTÃO ANAERÓBIA

A digestão anaeróbia consiste em um processo biológico que converte substrato orgânico sólido ou líquido em biogás pela ação degradante de micro-organismos anaeróbios. Dentre os substratos que podem ser empregados, destacam-se resíduos agrícolas, urbanos, industriais ou a mistura desses. Nesse sentido, a biomassa residual é apontada como uma fonte de baixo custo, até mesmo nulo em alguns ciclos produtivos, uma vez que os substratos produzidos a partir da matéria-prima residual evitam custos com a disposição desses. Ademais, contribuem com a qualidade do meio ambiente e das condições sanitárias em propriedades rurais, principalmente em países em desenvolvimento (HERNANDEZ-BELTRÁN et al., 2019).

Para que a biodigestão seja eficiente, alguns fatores devem ser observados e controlados, pois esses têm o poder de beneficiar ou inibir o processo, são eles: presença de oxigênio, temperatura, pH, nutrientes e agitação (EDWIGES, 2019; KUNZ et al., 2019; CHERNICHARO, 2007; KUMARI et al., 2018; DENG et al., 2020; SINGH et al., 2020). A digestão anaeróbia ocorre em quatro etapas: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (KAINTHOLA et al., 2019).

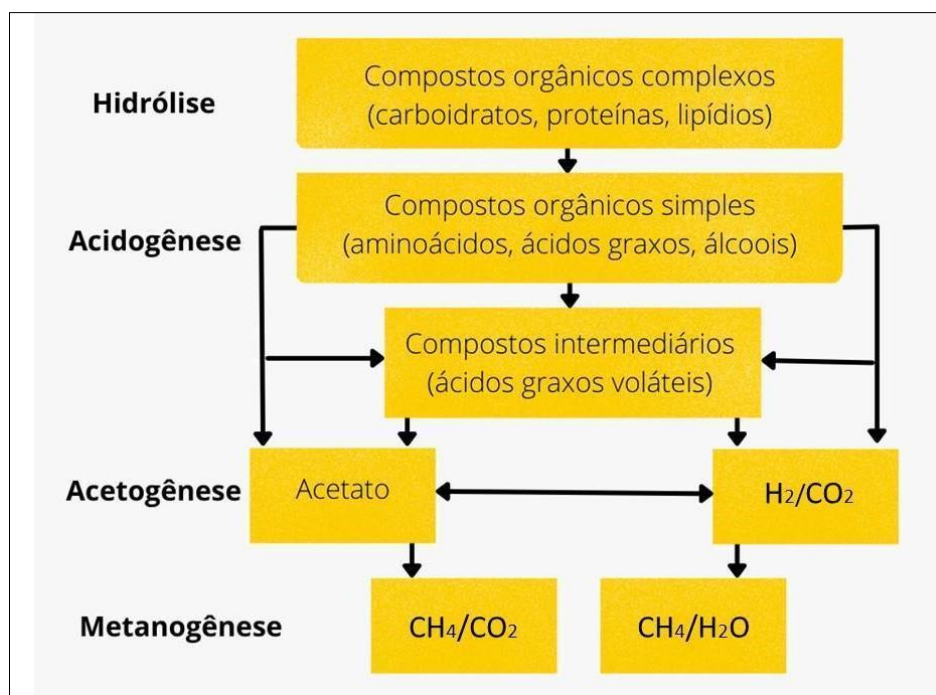
A hidrólise consiste na conversão de polímeros orgânicos complexos - tais como carboidratos, proteínas e lipídios - em moléculas mais simples, através da ação de enzimas extracelulares secretadas por bactérias hidrolíticas. A facilidade de degradação da matéria orgânica no substrato está relacionada com a composição desse (carboidratos de cadeia pequena > proteínas > lipídios > hemicelulose > celulose > lignina) e ao aumento da produção de metano (DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2011). Além disso, há quebra de ligações covalentes e o oxigênio dissolvido é consumido por micro-organismos anaeróbios facultativos, fornecendo o crescimento favorável para os estritamente anaeróbios. Essa etapa fornece os nutrientes necessários para a execução das etapas posteriores (DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2011; KUNZ et al., 2019).

Na etapa de acidogênese, por sua vez, os monômeros gerados na fase anterior são transformados por bactérias fermentativas, principalmente do gênero *Acetobacter*, em ácidos carboxílicos de cadeia curta, conhecidos na literatura como ácidos graxos voláteis (AGVs), entre eles: os ácidos acético, propiônico e butírico. Além disso, há produção de compostos nitrogenados e sulfurados (DENG et al., 2020).

Já na acetogênese, os compostos intermediários formados na etapa anterior, AGVs, são consumidos por bactérias acetogênicas. Cada AGV formado pela acidogênese possui mecanismo de bioconversão com a finalidade de obter substratos diretos para a produção de metano. Ao final dessa etapa, ocorre a produção de ácido acético, dióxido de carbono e gás hidrogênio, precursores do biogás (DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2011; CHERNICHARO, 2007; KORRES et al., 2013).

Por fim, na metanogênese, o carbono contido na biomassa é convertido em dióxido de carbono e metano através da ação das arqueas metanogênicas em condições extremamente anaeróbias. A Figura 4 apresenta os processos envolvidos na digestão anaeróbia (KORRES et al., 2013; KUNZ et al., 2019; CHERNICHARO, 2007).

Figura 4 - Etapas da digestão anaeróbia



Fonte: Adaptado de DEUBLEIN e STEINHAUSER, 2011.

Devido à presença de lignocelulose, em alguns resíduos, tais como palhas, grãos, borras de café, podas urbanas, gramas de jardins, pastagens, entre outros, são mais

difíceis de acessar suas estruturas moleculares e, conseqüentemente, possuem baixa degradabilidade (BRÉMOND et al., 2018; WOBIWO, 2018; PÉREZ-CHÁVEZ et al., 2019). A resistência dessas estruturas e a alta polimerização, resultam na baixa produção de biogás. Desse modo, alguns estudos demonstram a viabilidade do pré-tratamento desses resíduos ricos em lignina utilizando *Pleurotus spp.* e, conseqüentemente, possibilitando a utilização desses resíduos na produção de biogás (PÉREZ-CHÁVEZ et al., 2019; MUSTAFA et al., 2017).

O biogás obtido pode ser submetido ao processo de purificação, a fim de remover H₂O, H₂S, O₂, CO₂, NH₃ e outros gases traços de sua composição, seguindo para aplicações em energia térmica, elétrica e veicular (DENG et al., 2020; CIBIOGÁS, 2020). Para a utilização do biogás em motores, faz-se necessária sua purificação por causa da composição variada, a fim de aumentar o teor de CH₄ (CIBIOGÁS, 2018). Para a viabilidade da utilização de biogás, faz-se necessário o estudo técnico e laboratorial a respeito dos aspectos de volume de produção e de sua composição. Nesse sentido, a VDI 4630 (2016) descreve procedimentos para controle e operação de reatores anaeróbios, dentre eles o ensaio de Potencial Bioquímico de Metano (PBM).

2.6 POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO (PBM)

O PBM é uma análise em escala laboratorial que determina a produção máxima de metano, obtida em determinadas condições. Esse ensaio tem seu valor expresso em volume de biogás e metano por unidade de massa de matéria orgânica obtido a partir de ensaios de sólidos voláteis (L_N.kg_{SV}⁻¹). O monitoramento dos ensaios de PBM auxiliam na identificação da biodegradabilidade e do comportamento cinético do processo de acordo com o substrato de interesse (ANGELIDAKI et al., 2009; KONRAD et al., 2018). Esse ensaio compreende a mistura de um substrato orgânico com um inóculo anaeróbio sob determinadas condições experimentais. A norma alemã VDI 4630 (2016) é a metodologia mais utilizada, e descreve o procedimento de digestão anaeróbia destacando os cuidados com a amostra e ressaltando a importância de condições ideais de processo, a fim de maximizar a produção de gás, com lodo (inóculo) estritamente anaeróbio e adaptado na temperatura da incubação (CÁRDENAS-CLEVES et al., 2016).

Uma vez que a produção de biogás é fundamentada na biodegradabilidade da fração volátil da matéria orgânica, essa metodologia preconiza que a relação entre a

massa de Sólidos Voláteis (SV) da amostra e o SV do lodo adicionado como inóculo não deve ser superior a 0,5, para evitar a acidificação no processo por excesso de carga orgânica. O volume acumulado de gás produzido deve ser corrigido conforme as condições normais de temperatura e pressão, e o PBM é calculado pela razão entre o volume de gás produzido normalizado e a quantidade de sólidos voláteis da amostra (VDI 4630, 2016)

3 OBJETIVOS

O objetivo do estudo é avaliar o potencial de produção de biogás produzido com o resíduo proveniente do cultivo de cogumelos comestíveis da espécie *Pleurotus ostreatus* cultivados em borras de cafés e gramíneas, averiguando a viabilidade de aplicação.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

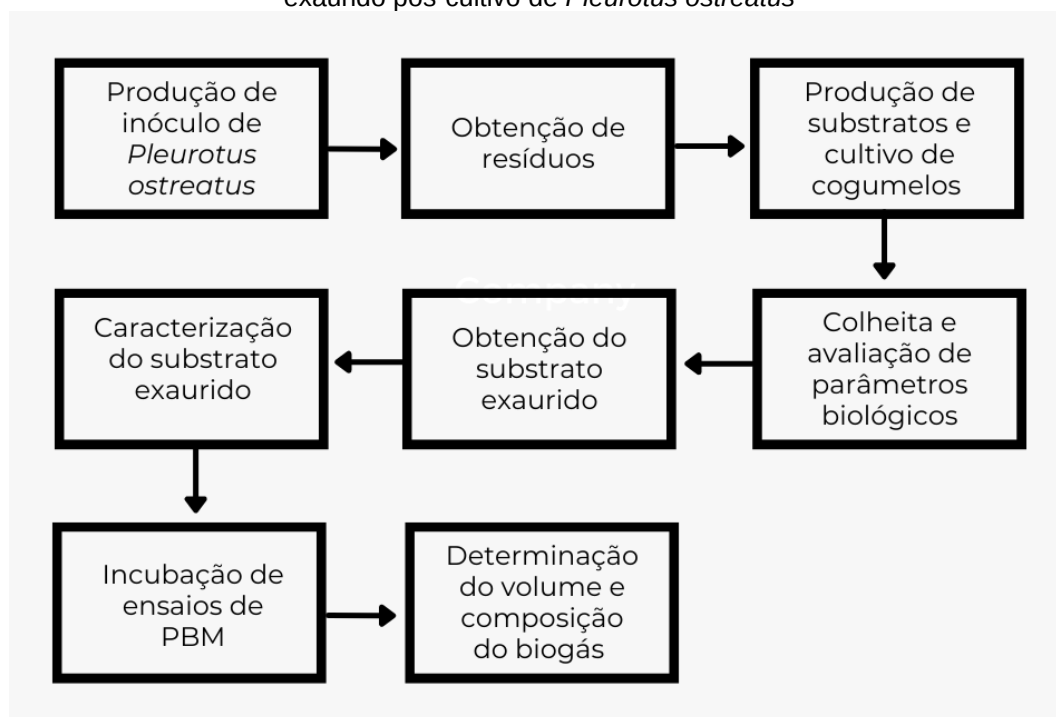
- Produzir inóculo de *Pleurotus ostreatus*;
- Obter resíduos de borra de café e de gramíneas do tipo *Zoysia japônica* e *Cynodon spp.* cv. Tifton 85;
- Confeccionar os substratos para o cultivo de *Pleurotus ostreatus* através da mistura de resíduos (50,0% gramíneas e 50,0% borra de café);
- Determinar a composição centesimal (carboidratos, lipídios, glicídios e fibras) nos substratos;
- Inocular, incubar e cultivar o fungo *Pleurotus ostreatus* nos substratos confeccionados;
- Colher três fluxos de cogumelos e avaliar os aspectos biológicos do cultivo;
- Obter substratos pós-cultivo de *Pleurotus ostreatus*;
- Determinar a composição centesimal (carboidratos, lipídios, glicídios e fibras) nos substratos pós-cultivo;
- Incubar os ensaios de PBM, conforme VDI 4630;
- Acompanhar e avaliar os resultados dos volumes de biogás produzidos diariamente e a composição desse.

4 METODOLOGIA

4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

O estudo realizado foi subdividido, a fim de atingir os objetivos propostos anteriormente. A Figura 5 apresenta as principais etapas desenvolvidas nesta pesquisa.

Figura 5 – Delineamento do estudo de caracterização e ensaios de PBM em amostras de substrato exaurido pós-cultivo de *Pleurotus ostreatus*



Fonte: A autora, 2022.

4.2 LOCAL DO ESTUDO

Todo o preparo e caracterização dos substratos foram realizados no Laboratório de Estudos Interdisciplinares Ambientais e Alimentares (LEIMAA). As etapas de produção e inoculação de meio de cultivo foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia Ambiental, localizado na unidade do Jardim Universitário. Os ensaios de PBM foram realizados nas dependências do laboratório de ensino de química da mesma instituição, localizado no Parque Tecnológico Itaipu (PTI). Todos os experimentos foram

realizados na cidade de Foz do Iguaçu - PR, nos laboratórios da Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA).

4.3 CULTIVO DE COGUMELOS E OBTENÇÃO DO SUBSTRATO PÓS-CULTIVO

4.3.1 Inóculo de *Pleurotus ostreatus*

4.3.1.1 Preparo de Meio de Cultivo em Extrato de Café

Foi preparado o extrato de café a partir da metodologia adaptada por Fan et al., (2003). Primeiramente, 40,0 g de grãos de café foram cozidos em 1,0 L de água destilada por 60 min. Após isso, foram adicionados 200,0 g de batatas picadas, mantendo a fervura por mais 15 min, logo após a mistura foi filtrada com auxílio de uma gaze e o volume da mistura aferida para 1,0 L com água destilada. Em um frasco de vidro resistente a temperatura, juntamente com 17,0 g de ágar e 15,0 g de dextrose, o extrato obtido foi acondicionado e, para haver a dissolução, promoveu-se a agitação do conteúdo. Em seguida, fechou-se o frasco em meia rosca e encaminhou-se para esterilização em autoclave a 121 °C por 20 min. Após o resfriamento, o meio de cultura foi transferido para placas de Petri em uma capela de fluxo laminar previamente sanitizada, flambando a boca do frasco na chama de gás ou lamparina de álcool.

4.3.1.2 Inoculação do Meio de Cultivo

Primeiramente, partiu-se os cogumelos da espécie *Pleurotus ostreatus* ao meio manualmente, a fim de evitar contaminação no interior deles. Retirou-se três fragmentos do interior do píleo, com cerca de 1,0 a 2,0 mm de fragmento da parte interna do cogumelo, com auxílio de bisturi, para cada placa de Petri preparada anteriormente. Após isso, os fragmentos foram colocados no centro das placas contendo o meio de cultura e incubados sob luz fluorescente (Lucadema, 81,0 L) por 10 dias a 28 °C (URBEN, 2017).

4.3.1.3 Inoculação de Sementes

Pesou-se cerca de 1,0 kg de sementes de sorgo que foram lavadas em água corrente. Após isso, ferveu-se as sementes em água por 25 min. Em seguida, escoou-se o líquido com auxílio de uma peneira, acondicionou-se as sementes em sacos de polipropileno de 19,0 x 32,0 x 0,01 cm e se esterilizou a 121 °C por 20 min e 1 atm em autoclave (marca Digitale, Brasil), com capacidade para 12,0 L. Após o resfriamento, foram inoculadas cerca de 1,0 cm² do meio de cultivo colonizado anteriormente em capela de fluxo laminar com controle biológico. Ainda dentro da capela, os sacos foram fechados com arame e gaze esterilizados. Após isso, esses foram mantidos em ambiente limpo e seco a 28 °C por 15 dias, na ausência de luz (URBEN, 2017).

4.3.2 Substratos *in natura*

4.3.2.1 Obtenção dos Resíduos Para Produção dos Substratos *In Natura*

A borra de café, proveniente da extração em máquina de expresso, foi obtida em uma cafeteria de Foz do Iguaçu - PR. A extração foi realizada da seguinte forma: 7,0 g de café moído e 35,0 mL de água a 90,5 °C, com pressão de 9,0 atm, obtendo-se cada dose de café extraído por 20 s. Após a extração, o volume de borra produzido diariamente foi recolhido e armazenado em geladeira até a produção dos substratos.

O *Cynodon spp.* cv. Tifton 85, por sua vez, foi obtido em uma propriedade rural localizada em Serranópolis do Iguaçu - PR, onde é utilizado como alimento para os animais. Já a *Zoysia japonica*, conhecida popularmente por grama esmeralda, foi coletada das podas de jardins residenciais em Foz do Iguaçu - PR. Ambas gramíneas foram secas e armazenadas em temperatura ambiente até a produção de substratos.

4.3.2.2 Produção dos Substratos Para Cultivo de *Pleurotus ostreatus*

Foram utilizadas gramíneas secas, *Cynodon spp.* cv. Tifton 85 e *Zoysia*

japonica, com partículas entre 2,0 e 5,0 cm para preparar os substratos. Foram pesados 1,0 kg de gramínea e adicionados 5,0 g de hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2) e 2,0 L de água da torneira, para alcançar a umidade ideal para o cultivo, aproximadamente 70,0% (URBEN, 2017). Como controle e para cálculo de parâmetros biológicos a umidade foi medida em todos os substratos de acordo com o item 4.4.1. 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 preparados seguindo uma proporção de 50,0% borra de café e 50,0% gramíneas, para ambas espécies. Sendo denominado S1 a mistura 50,0% borra de café + 50,0% *Zoysia japonica* e S2 a mistura 50,0% borra de café + 50,0% *Cynodon* spp. cv. Tifton 85. Em torno de 400,0 g de cada substrato foram pesados, acondicionados em sacos de polipropileno de 19,0 x 32,0 x 0,01 cm em triplicata, e esterilizados em autoclave por 60 min a 121 °C e 1,0 atm (URBEN, 2017; FAN et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2018). Em seguida, foram encaminhados para ambiente adequado para a incubação e posterior cultivo dos cogumelos.

4.3.3 Condições do Cultivo de Cogumelo

O cultivo foi realizado a partir da inoculação dos substratos com 10,0% (m/m) de inóculo produzido em extrato de café, em relação à massa úmida do substrato, conforme é preconizado na literatura (URBEN, 2017; FREITAS et al., 2018). Pesou-se os inóculos em balança analítica e, em seguida, esses foram adicionados ao substrato esterilizado após o resfriamento. Com o auxílio de elásticos e gaze esterilizada, fechou-se os sacos plásticos. Os cultivos foram acondicionados em local escuro, arejado e com temperatura entre 25 e 28 °C, por um período de 22 a 25 dias. Após esse período, abriu-se os cultivos a fim de induzir a frutificação em estufa, com iluminação indireta por 12 h diárias e controle de umidade e temperatura, considerados ideais para o gênero *Pleurotus*. Após, manteve-se a temperatura entre 20 e 25 °C e a umidade entre 80,0 e 90,0%. Findada a primeira frutificação, encaminhou-se os substratos inoculados por 7 dias em condições de incubação para serem induzidos à segunda frutificação. Esse mesmo procedimento foi repetido para obter o terceiro ciclo de cogumelos (URBEN, 2017; BELLETTINI et al., 2016).

4.3.4 Parâmetros de Avaliação de Produção e Comportamento do Fungo

Foram avaliados os corpos de frutificação conforme os procedimentos descritos por Figueiró e Gracioli (2011), o qual avalia a umidade dos cogumelos, a massa fresca, a Eficiência Biológica (EB), e o Tempo Total de Cultivo (TT).

4.3.4.1 Umidade dos Cogumelos

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 pesadas 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 e a massa resultante, sólidos totais (ST).

4.3.4.2 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.

4.3.4.3 Eficiência Biológica (EB)

A EB foi avaliada e expressa sobre a produção da biomassa fúngica, a qual é caracterizada pela conversão dos substratos em cogumelos. O cálculo desse parâmetro é expresso pela Equação 1:

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

4.3.4.4 Tempo de Colonização (TC), Tempo de Emissão dos Primórdios (TEP), Tempo de Formação do Cogumelo (TFC), Tempo Total de cultivo (TT) e Número de Cogumelos (NC)

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, 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 está apto a ser colhido. O TT somou o TC com o TFC e três ciclos de produção de cogumelos. Já o NC avaliou o número de cogumelos obtidos em cada réplica e em cada fluxo de cogumelos, indicando o número de cogumelos obtido ao fim do cultivo.

4.3.5 Obtenção do Substrato Pós-Cultivo

Os substratos pós-cultivo foram obtidos a partir do cultivo de cogumelos da espécie *Pleurotus ostreatus* em misturas compostas por 50,0% borra de café + 50,0% *Zoysia japonica* (R1) e 50,0% borra de café + 50,0% *Cynodon* spp. cv. Tifton 85 (R2), provenientes do cultivo descrito anteriormente. Seguidamente dos três ciclos de frutificação e da avaliação da produção de cogumelos, os resíduos pós-cultivo desse processo foram caracterizados e encaminhados ao ensaio de PBM, conforme VDI 4630 (2016).

4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS SUBSTRATOS PÓS-CULTIVO DE *Pleurotus ostreatus*

4.4.1 Umidade, Sólidos Totais (ST), Sólidos Voláteis (SV), Sólidos Fixos (SF), Matéria Orgânica (MO) e Carbono Total (CT)

Todos os ensaios foram realizados após 24 h de repouso das amostras. Foram quantificados a umidade, o ST, o SV, o SF e o CT a partir do método que utiliza a estufa seguida da mufla, descrito por Carmo e Silva (2011).

4.4.1.1 Umidade e Sólidos Totais

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 pesadas 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 e a massa resultante, ST.

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

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

4.4.1.3 Matéria Orgânica (MO) e Carbono Total (CT)

Determinou-se o teor de matéria orgânica a partir da perda de massa do resíduo incinerado, sendo considerado o material perdido pela incineração no intervalo de variação da temperatura de 105 a 550 °C, conforme a Equação 2:

$$MO (\%) = (P - (T - C) \times 100) / P \quad (\text{Equação 2})$$

Onde P = massa da amostra depois de aquecida a 105 °C (g), C = massa do cadinho (g) e T = massa da cinza (g) + cadinho (g). A partir desse valor, juntamente com

o fator de correção de 2,10, calculou-se o teor de CT nas amostras, conforme descrito por Carmo e Silva, (2011).

4.4.2 Nitrogênio e Proteínas Totais

Os teores de nitrogênio e proteínas foram determinados segundo as metodologias estabelecidas pela AOAC nº 15057 (1984), com algumas modificações. O método é composto por três etapas: digestão, destilação e titulação. Primeiramente, pesou-se cerca de 0,20 g de amostra em tubos de Kjeldahl e se adicionou uma mistura catalisadora, composta por 1,75 g de K_2SO_4 (sulfato de potássio) e 0,002 g de Selênio, e 5,0 mL de H_2SO_4 (ácido sulfúrico) concentrado. Após isso, as amostras foram levadas ao digestor, as quais foram aquecidas a 370 °C até a mistura se tornar incolor, com adição de mais 60 min, totalizando 5 h de digestão. Finalmente, o material digerido foi destilado no destilador de Kjeldahl.

Foram adicionados 15,0 mL de NaOH (hidróxido de sódio) a 60,0% e 2,0 mL de água destilada ao tubo de digestão. Após isso, recolheu-se o destilado em um Erlenmeyer de 250 mL contendo 30,0 mL de H_3BO_3 (ácido bórico) a 2,0%. Realizou-se a titulação com HCl (ácido clorídrico) a 0,04 N e uma solução alcoólica de vermelho de metila 0,1% (10,0 mL) e verde de bromocresol 0,1% (25,0 mL) como indicador. A partir do cálculo do teor de nitrogênio foi convertido em teor de proteína total, utilizando-se do fator 6,25 para a borra de café e gramíneas, e 4,38 para os cogumelos.

4.4.3 Glicídios Totais

Este ensaio foi realizado a partir do método descrito por Dubois e colaboradores (1956), com algumas alterações. Primeiramente, pesou-se aproximadamente 0,5 g das amostras secas e moídas em um Erlenmeyer de 125 mL. Em seguida, adicionou-se 20,0 mL de H_2SO_4 a 74,0% para hidrólise e encaminhou-se o Erlenmeyer em banho de água sob agitação por 30 min a 50 °C. Transferiu-se o material a um balão volumétrico de 250,0 mL e a ele se acrescentou 1,0 mL de solução de Carrez I

(hexacianoferrato (II) de potássio trihidratado ($K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$) 15,0%) e 1,0 mL de solução de Carrez II (sulfato de zinco heptahidratado ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) 30,0%).

Para a determinação colorimétrica foi utilizado 0,5 mL de amostra filtrada e 0,5 mL de água. Após isso, adicionou-se 1,0 mL de solução de fenol a 5,0% e agitou-se com auxílio de vortex por cerca de 20 s. Em seguida, foi adicionado 5,0 mL de H_2SO_4 concentrado e, novamente, a mistura foi agitada no vortex por 20 s. Utilizou-se esse mesmo procedimento na construção da curva padrão nas concentrações de 0,02 a 0,15 mg/mL. A amostra foi substituída por padrão de glicose 0,10 mg/mL. A leitura da absorbância das amostras foi realizada a 490,0 nm em um espectrofotômetro (UV-Vis da *Thermo Scientific Evolution 201 UV-Visible Spectrophotometer*). O equipamento possui dois caminhos ópticos e foram utilizadas cubetas de quartzo com 10,0 mm de caminho óptico.

4.4.4 Lipídios Totais

Pesou-se em triplicata cerca de 2,0 g de amostra, previamente moídas, em tubos de Falcon de 50,0 mL, utilizando-se a metodologia de Toci et al., (2013). Os lipídios foram extraídos da amostra com 15,0 mL de solução hexano:diclorometano 1:1 (v/v) e extrator Ultra Turrax (IKA; Germany) por 3 min, a 14.000 rpm. Em seguida, foram levadas as amostras à centrífuga (Hettich/Rotina 380) e, logo, essas foram filtradas em balões previamente secos a 105 °C por 1 h e resfriadas em dessecador com sílica para posterior pesagem. Por fim, encaminhou-se as amostras ao rotaevaporador (IKA/RV8) e à estufa a 105 °C, para secagem até massa fixa.

4.4.5 Fibras

Posteriormente à determinação de Sólidos Totais (ST), Sólidos voláteis (SV), Sólidos Fixos (SF), glicídios, proteínas e lipídios, o conteúdo de fibras foi calculado por diferença em relação aos Sólidos Voláteis (SV) e os constituintes dessa fração, conforme a Equação 3.

$$Fibras = SV - (glicídios + proteínas + lipídios) \quad (\text{Equação 3})$$

4.4.6 Potencial Hidrogeniônico (pH)

Pesou-se aproximadamente 10,0 g da amostra em um béquer e se diluiu o conteúdo com 25,0 mL de água destilada. Em seguida, a mistura foi agitada até que as partículas ficassem suspensas uniformemente. Após isso, operando um medidor de bancada da marca MS TECNOPON, previamente calibrado, determinou-se o pH da amostra de acordo com as instruções do manual do fabricante (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

4.5 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO (PBM) NOS SUBSTRATOS PÓS-CULTIVO

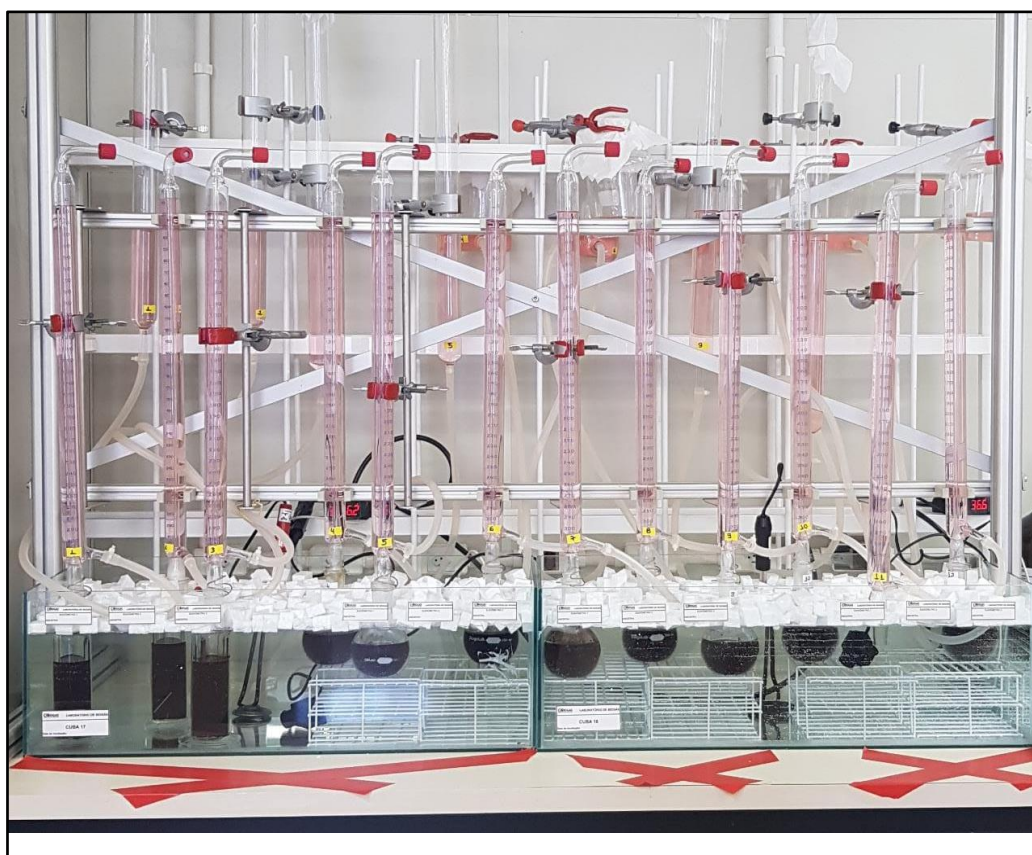
Os ensaios foram realizados para determinar o Potencial Bioquímico Metano (PBM) conforme as diretrizes propostas pela norma alemã, VDI 4630. O inóculo utilizado foi cedido pelo Laboratório de biogás do CIBiogás e mantido sob temperatura mesofílica (37 °C) até o momento da incubação. Ensaios com celulose microcristalina, padrão positivo, foram realizados juntamente ao PBM com o objetivo de avaliar a atividade biológica do inóculo utilizado para o teste. Além disso, foram incubadas amostras de inóculo, em triplicata, para a determinação de biogás produzido no inóculo, que foi descontado do valor de biogás dos substratos avaliados.

Todas as amostras foram testadas em triplicata em reatores de vidro com volume de trabalho de 250 mL. A proporção de SV do inóculo em relação ao SV do substrato foi de 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. Após adicionados o inóculo e o substrato (amostra), os reatores foram acoplados aos eudiômetros de 300,0 mL (Figura 6), vedados e adicionados gás nitrogênio (N₂) com a finalidade de assegurar um ambiente anaeróbio instantâneo. Após o teste de estanqueidade, de 30 min, o N₂ foi liberado e o sistema mantido sob temperatura mesofílica (37 °C), controlada por banho-maria. 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 três dias consecutivos e os resultados foram expressos em $L_N.kg_{SV}^{-1}$ para o biogás e para o metano.

Os valores de PBM foram calculados pela razão entre o volume de gás seco produzido, normalizado e a quantidade de SV adicionados ao ensaio de acordo com a VDI 4630 (2016). Enquanto a composição do biogás foi avaliada pela leitura do gás produzido com equipamento Dräger X-7000, com sensores de CH_4 e CO_2 . A Figura 6 apresenta o conjunto de reatores onde foram realizados os ensaios de PBM.

Figura 6 – Reatores utilizados para os ensaios de PBM



Fonte: A autora, 2022.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS SUBSTRATOS PRÉ-CULTIVO

Foram realizados testes preliminares de desenvolvimento do *Pleurotus ostreatus* em diferentes proporções dos componentes do substrato. Pôde-se observar maior desenvolvimento do micélio e melhor produtividade de cogumelos nos substratos compostos por 50,0% gramíneas e 50,0% borra de café para ambas as espécies de gramíneas, e por isso neste estudo foi mantida tal proporção. Verificou-se em ambos os substratos os parâmetros de pH (8,27 e 8,21) e umidade ($70,6 \pm 2,9$ e $66,2 \pm 1,4$), para os substratos S1 e S2, respectivamente. O controle desses parâmetros é indispensável para promover um ambiente adequado para a colonização do substrato pelo fungo. De acordo com a literatura, o pH deve ser próximo a 7,0 e a umidade deve ser mantida em torno de 70,0% (URBEN, 2017).

A caracterização química foi realizada na borra de café e nas gramíneas individualmente, e em seguida foi calculado as proporções em que os resíduos estavam na composição dos substratos *in natura*. Os dados de quantificação de SF, SV, CT, N, C/N, proteínas, glicídios, lipídios e fibras estão dispostos na Tabela 2.

Tabela 2 - Caracterização química de substratos *in natura* utilizados nos cultivos de cogumelos comestíveis da espécie *Pleurotus ostreatus*. Valores obtidos a partir da caracterização individual (n=3) dos componentes de cada substrato em (g/100g).

Amostras	Sólidos Fixos	Sólidos Voláteis	CT	N	C/N	Proteínas	Glicídios	Lipídios	Fibras
S1	5,6 $\pm$ 0,2	94,4 $\pm$ 0,2	45,0 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,1	45	6,4 $\pm$ 0,1	52,6 $\pm$ 2,3	7,2 $\pm$ 0,4	28,3 $\pm$ 2,7
S2	5,4 $\pm$ 0,1	94,6 $\pm$ 0,1	45,0 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,1	46	6,5 $\pm$ 0,0	54,2 $\pm$ 3,0	6,7 $\pm$ 0,3	27,2 $\pm$ 3,3

Fonte: A autora, 2022.

Os substratos secos S1 e S2 apresentaram 5,6 e 5,4 g/100g de SF e 94,4 e 94,6 g/100g de SV, respectivamente. Os SF também podem ser descritos na literatura como cinzas, e têm em seu conteúdo os minerais que são considerados essenciais ao bom desenvolvimento de micélios do gênero *Pleurotus* (FIGUEIRÓ; GRACIOLLI, 2011).

A presença de N (1,0 g/100g) é essencial para o desenvolvimento do fungo, porém em taxas elevadas pode ocasionar inibição da colonização do substrato, impedindo

o desenvolvimento do micélio do fungo e, conseqüentemente, causando a inviabilidade de produção dos cogumelos. Em ambos substratos esse nutriente foi considerado adequado quando comparado a outros estudos da literatura, o qual deve estar presente na faixa de 1,0% (URBEN, 2017; BELLETTINI et al., 2016). Teores similares aos avaliados neste estudo foram encontrados por Figueiró e Graciolli (2011), no cultivo de *Pleurotus florida*, observando-se valores de 0,9, 1,0 e 1,1% para palhas de trigo, feijão e arroz, respectivamente.

Outro aspecto importante e que varia de acordo com o substrato utilizado é a relação C/N, o qual deve estar entre 15 e 100 para o gênero *Pleurotus* (URBEN, 2017; BELLETTINI et al., 2016). Este estudo apresentou valores de C/N de 45 e 46 para os substratos S1 e S2, respectivamente. Em estudo realizado por Figueiró e Graciolli (2011), os autores destacam como adequados aqueles com relação C/N próximo a 45, corroborando com os identificados nessa pesquisa.

Quanto às suas composições, os substratos apresentaram pouca variação entre si, apresentando os seguintes teores nos substratos S1 e S2, respectivamente: proteínas (6,4 e 6,5 g/100g), glicídios (52,5 e 54,2 g/100g), lipídios (7,2 e 6,7 g/100g) e fibras (28,3 e 27,1 g/100g). Não houve diferença estatística na aplicação do teste Tukey a uma probabilidade de 5,0%, para nenhum dos parâmetros avaliados. Nesse viés, ambos os substratos foram considerados adequados para o cultivo de *Pleurotus ostreatus*.

Segundo Salami et al., (2017), diferentes substratos podem interferir na composição nutricional dos cogumelos. Porém há uma escassez de estudos que demonstrem a caracterização química dos substratos, apesar de cada substrato apresentar características únicas.

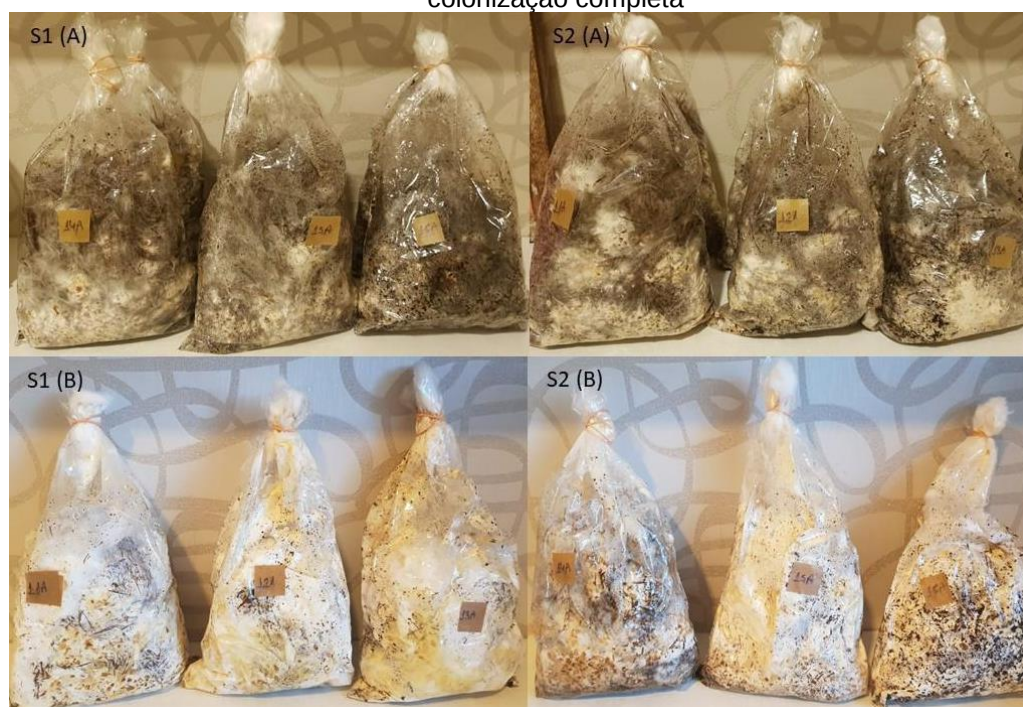
5.2 PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO DE PRODUÇÃO E COMPORTAMENTO DO FUNGO

Uma das principais características a ser observada durante a incubação do fungo é a capacidade desse em se desenvolver no substrato escolhido. A colonização deve ser rápida, em torno de 15 a 30 dias, de modo que não ocorra possíveis contaminações ou indicativos de inibição de crescimento da massa fúngica, sendo dependente do tipo de substrato, tamanho de partículas, quantidade e tipo de inóculo utilizado (BELLETTINI, et al., 2016; URBEN, 2017; RAMAN et al., 2021). Na Figura 7 nota-se que ambos substratos

se apresentaram parcialmente colonizados no décimo dia de incubação, e obtiveram colonização completa da biomassa com 22 dias de incubação e, produzindo cogumelos, consequentemente.

Estudos realizados com o *Pleurotus* ssp. cultivados em gramíneas apresentam tempos de incubação de 16 a 22 dias para os substratos taboa, junco, capim elefante, *Panicum maximum*, *Panicum virgatum* (NARAIAN, 2017; KARUPPURAJ, et al 2014; OLIVEIRA et al., 2018; TIRKEY et al., 2017; PRASAD et al., 2018).

Figura 7. Substratos S1 e S2 (a) 10 dias de incubação, colonização incompleta e (b) 22 dias de incubação, colonização completa



Fonte: A autora, 2022.

Os cogumelos provenientes dos cultivos nas misturas de resíduos, substratos S1 e S2, apresentaram bom aspecto visual, sendo considerados ideais para a comercialização. A Figura 8 apresenta os cogumelos *Pleurotus ostreatus* cultivados em ambos os substratos no segundo ciclo de cultivo.

Figura 8. Cogumelos produzidos a partir dos substratos S1 e S2

Fonte: A autora, 2022.

Os corpos de frutificação apresentaram píleos arredondados e estipe proporcional, um indicativo da qualidade dos cogumelos para consumo e comercialização. A colheita dos cogumelos pôde ser realizada oito dias após o procedimento de indução à frutificação. Os cogumelos foram colhidos antes que seus píleos se tornassem planos, evitando a liberação de esporos (URBEN, 2017). O tempo de colheita foi definido levando em consideração a durabilidade e conservação dos cogumelos em prateleira, reproduzindo o modelo utilizado por produtores de cogumelos para comercialização. Os resultados dos aspectos biológicos de cultivo do fungo estão dispostos na Tabela 3.

Tabela 3 - Avaliação de aspectos biológicos dos cultivos realizados nos diferentes substratos *in natura* (n=3)

Identificação	TC	TEP	TFC	TT	NC	EB (%)
S1	22	4	8	58	81±6a	106,6±7,9a
S2	22	4	8	58	74±4a	103,7±5,2a

Médias com letras iguais na mesma coluna não tiveram 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);

NC: Número de cogumelos;

EB: Eficiência Biológica (%).

Fonte: A autora, 2022.

Os TEP, TFC e TT de ambos os substratos foram de 4, 8 e 58 dias, respectivamente. Não apresentando variação nos parâmetros avaliados de incubação e frutificação dos cogumelos. Em estudo realizado por Figueiró e Gracioli (2011), diferentes substratos provenientes da agricultura apresentaram valores de TEP variando de acordo com cada tipo de substrato, entre 1 e 9 dias, dessa forma, os valores encontrados neste estudo são coerentes com a literatura. O tempo para obtenção do primeiro fluxo de cogumelos foi de 30 dias, e corresponde ao período de 30 a 31 dias, obtido para os substratos de palha de arroz, palha de feijão e palha de sorgo, para a espécie *Pleurotus florida*.

Quanto ao NC, o substrato S1 foi capaz de proporcionar maior média de cogumelos (81 ± 6) em relação ao S2 (74 ± 4). Porém, o NC não apresentou diferença estatística entre si, quando submetidos ao teste Tukey a uma probabilidade de 5,0%.

O substrato S1 demonstrou maior valor de EB ($106,6 \pm 7,9\%$) quando comparado ao S2 ($103,7 \pm 5,2\%$). Apesar da diferença nas médias, ambos os substratos não apresentaram diferença estatística entre si no Teste Tukey a 5,0% de probabilidade. Dessa forma, ambos os substratos foram considerados adequados para a produção de cogumelos comestíveis da espécie *Pleurotus ostreatus*.

Diferentes estudos apontam valores de EB distintos para o cultivo de *Pleurotus spp.* em gramíneas que variam de 26,4 a 100,3%. (NARAIAN, 2017; KARUPPURAJ, et al 2014; OLIVEIRA et al., 2018; TIRKEY et al., 2017; PRASAD et al., 2018). Em estudo realizado por Prasad e colaboradores (2018), as gramíneas *Panicum maximum* e *Panicum virgatum* apresentaram EB de 26,4 e 32,1%, respectivamente. Porém, a associação das gramíneas à palha de trigo, que possui características nutricionais distintas, foi capaz de contribuir para um aumento na EB para 54,0 e 68,4% para a mistura 25,0% *Panicum virgatum* + 75,0% palha de trigo, e para 50,0% *Panicum maximum* + 50,0% palha de trigo, respectivamente.

Em estudo realizado por Salmones et al. (2005) utilizando borra de café para o cultivo de *Pleurotus ostreatus*, a EB foi de 71,6 e 86,5%. Os autores destacaram o baixo custo para obtenção desse substrato e elencam que este é adequado e nutritivo para o desenvolvimento de tal espécie. Além disso, eles apontam para uma dificuldade de encontrar cepas que sejam capazes de se adaptar aos compostos fenólicos presentes na borra do café. A produção de *Pleurotus* também foi avaliada por FAN e SOCCOL (2003)

em borras de café, que produziram três fluxos de cogumelos, totalizando 60 dias de cultivo, e apresentou EB que variou entre 75,6 e 91,6%.

Os valores de EB estão associados ao bom desenvolvimento do micélio no substrato, que deve apresentar umidade e poros suficientes para que haja as trocas gasosas e o desenvolvimento do micélio em toda a superfície do substrato. Nesse sentido, a mistura de borras de café, que possuem pequena granulometria, e substratos com partículas maiores, como as gramíneas, o tamanho dos poros na região interna do substrato é aumentado, promovendo, além de características nutricionais diversificadas, melhor estrutura para o desenvolvimento do fungo (BELLETTINI et al., 2016). Neste estudo, para ambos os substratos a EB foi superior àqueles encontrados na literatura para borra de café e gramíneas, sugerindo a viabilidade da utilização da mistura desses para a ampla produção de cogumelos comestíveis da espécie *Pleurotus ostreatus*. Cabe ressaltar que o S1 foi composto integralmente por resíduos. Esse fator incide em menores custos de produção dos cogumelos e promove a destinação adequada de resíduos de cafeterias e de podas de jardins.

5.3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS RESÍDUOS PÓS-CULTIVO

Após os três ciclos de cultivo de cogumelos, os resíduos pós-cultivo foram secos e, a partir deles, foi realizada a determinação de SF, SV, CT, N, C/N, proteínas, glicídios, lipídios e fibras. Os resultados de tais parâmetros podem ser observados na Tabela 4.

Tabela 4 - Caracterização química dos substratos pós-cultivo de *Pleurotus ostreatus*. Valores obtidos a partir da caracterização em g/100g (n=3)

Amostras	Sólidos Fixos	Sólidos Voláteis	CT	N	C/N	Proteínas	Glicídios	Lipídios	Fibras
R1	6,0±0,3a	94,0±0,3a	44,8±0,2a	1,0±0,1a	45a	6,6±0,1b	50,7±1,9b	1,5±0,1a	35,2±1,9a
R2	6,4±0,1a	93,6±0,1a	44,6±0,1a	1,1±0,0a	41b	7,1±0,1a	60,3±1,3a	0,6±0,1b	25,7±1,4b

Médias com letras iguais na mesma coluna não tiveram diferença estatística entre si segundo Teste Tukey a 5,0% de probabilidade.

Fonte: A autora, 2022.

Os substratos S1 e S2 apresentaram teores similares nos ensaios de SF, SV, CT e N, e não apresentaram diferença estatística entre si. Porém, diferente da

caracterização dos substratos pré-cultivos, os substratos pós-cultivo apresentaram valores diferentes para N, C/N, proteínas, glicídios, lipídios e fibras, para R1 e R2, respectivamente. Isso indica que, apesar do mesmo método de cultivo, cada substrato após o cultivo terá uma característica química final, devido à ação específica dos fungos. A relação C/N, por sua vez, manteve-se igual na amostra S1, quando comparada ao seu resíduo R1. Já a amostra S2 apresentou um decaimento nessa relação, de 46 para 41, indicando diferenças nesse parâmetro quando observado o substrato antes e após o cultivo.

Para a produção de biogás é necessário que o substrato tenha uma relação C/N entre 20 e 30. A correção de tal relação pode ser realizada a partir da codigestão, a qual utiliza substratos diferentes para equilibrar as características nutricionais consideradas essenciais para a digestão anaeróbia (KARLSSON, 2014).

A amostra R1, que resultou em maior produção de cogumelos, apresentou menores teores de proteínas (6,6 g/100g) e glicídios (50,7 g/100g), além de maiores concentrações de lipídios (1,5 g/100g) e fibras (35,2 g/100g), quando comparada à amostra R2, o que torna os resultados coerentes.

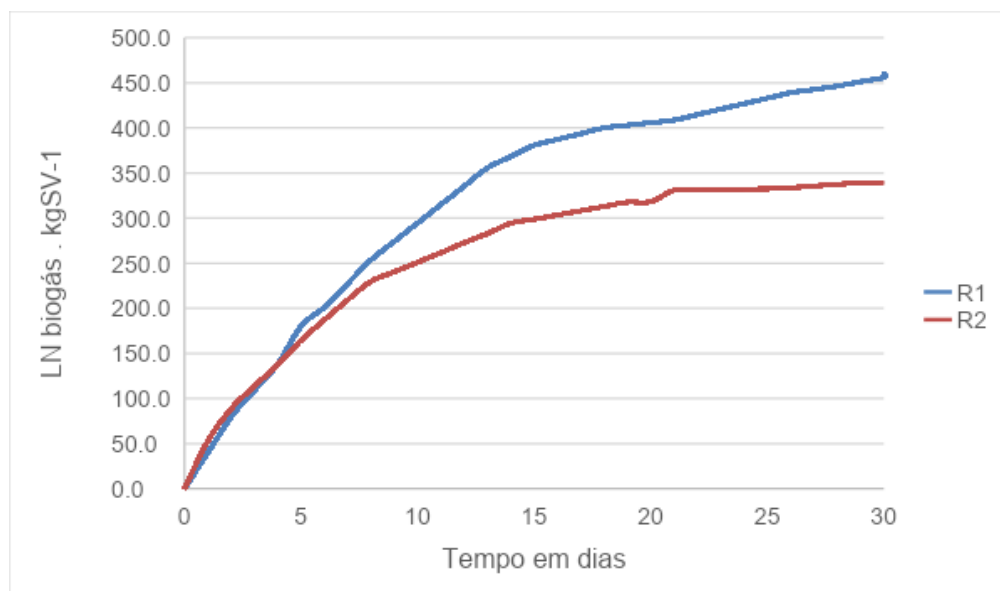
Ao avaliar a condição inicial dos substratos, ambas amostras apresentaram um decaimento significativo no teor de lipídios, de 7,2 (S1) para 1,5 (R1), e de 6,7 (S2) para 0,6 (R2), indicando o consumo desses durante a degradação da biomassa pelos fungos. Além disso, a amostra R1 apresentou maior concentração de fibras quando comparada à R2 e ao seu substrato inicial (S1), isso provavelmente se deve à não degradação de algum composto específico presente na estrutura da gramínea utilizada para cultivo.

5.4 ENSAIOS DE PBM NO RESÍDUOS PÓS-CULTIVO

Os ensaios foram realizados conforme procedimento descrito no item 4.5 e demonstram a possibilidade de produção de biogás a partir de resíduos obtidos na produção de *Pleurotus ostreatus* em substratos residuais compostos de gramíneas e borra de café. O inóculo utilizado para a produção de biogás em todos os ensaios apresentou 3,4 g/100g de ST e 2,1 g/100g de SV. Na celulose microcristalina foi quantificado 95,6 g/100g de SV, utilizando-se essa amostra como padrão positivo, a fim de garantir a qualidade do inóculo utilizado. A produção de biogás na celulose foi de 623 ± 6 L_N.kg_{SV}⁻¹, com concentração de 58,0% de metano, o qual resultou numa produção de metano de

$361 \pm 4 \text{ L}_N \cdot \text{kg}_{\text{SV}}^{-1}$. Esses resultados indicam a capacidade do inóculo de promover a digestão anaeróbia para a produção de biogás. A Figura 9 apresenta as curvas de produção de biogás para os resíduos pós-cultivo R1 e R2.

Figura 9 – Média de produção específica acumulada de biogás nos resíduos pós-cultivo R1 e R2 (n=3)



Fonte: A autora, 2022.

A biomassa R1 apresentou uma produção de biogás de $462,4 \pm 13,2 \text{ L}_N \cdot \text{kg}_{\text{SV}}^{-1}$, totalizando 32 dias de digestão. Enquanto que, a partir do substrato R2, pode-se obter uma produção de biogás de $339,2 \pm 20,7 \text{ L}_N \cdot \text{kg}_{\text{SV}}^{-1}$ e um tempo de digestão anaeróbia de 30 dias (Figura 9). Ambos procedimentos seguiram os procedimentos descritos na VDI 4630 para definir os critérios necessários para o fim do procedimento de digestão anaeróbia. Os demais valores relativos aos ensaios de PBM estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Dados da produção de biogás e metano para os resíduos pós-cultivo R1 e R2

Amostras	ST (g/100g)*	SV (g/100g)*	Tempo Digestão Anaeróbia (dias)	$\text{L}_N \text{ biogás} \cdot \text{kg}_{\text{SV}}^{-1}$	Metano (%)	$\text{L}_N \text{ metano} \cdot \text{kg}_{\text{SV}}^{-1}$
R1	$91,5 \pm 0,1a$	$85,6 \pm 0,1a$	32	$462,4 \pm 13,2a$	$60,0 \pm 2,0a$	$277,4 \pm 7,9a$
R2	$91,1 \pm 0,2b$	$84,5 \pm 0,1b$	30	$339,2 \pm 20,7b$	$58,0 \pm 0,1a$	$196,8 \pm 12,0b$

*ST e SV avaliados em relação a massa fresca.

Médias com letras iguais na mesma coluna não tiveram diferença estatística entre si segundo Teste Tukey a 5,0% de probabilidade.

Fonte: A autora, 2022.

O substrato R1 apresentou maior teor de ST e SV ($91,5 \pm 0,1$ e $85,6 \pm 0,1$), quando comparado ao substrato R2 ($91,1 \pm 0,2$ e $84,5 \pm 0,1$). Dessa forma, o substrato R1 apresenta uma maior disponibilidade de matéria orgânica para a degradação por digestão anaeróbia. Sabe-se que a composição físico-química da biomassa utilizada para a digestão anaeróbia tem influência na produção de biogás, tanto nos aspectos cinéticos, quanto na quantidade e qualidade do gás produzido (MONTEGOMERY; BOCHMANN, 2014). Além disso, a estrutura química e as moléculas recalcitrantes na composição desses, como a lignina, podem levar à uma maior dificuldade de acesso ao interior das estruturas de substrato e à uma produção inferior de biogás (PÉREZ-CHÁVEZ et al., 2019; MUSTAFA et al., 2017).

Nota-se que os desvios padrão do R1 e R2 foram de 13,2 e 20,7 LN.kgSV^{-1} para o biogás e de 7,9 e 12,0 LN.kgSV^{-1} para o metano, respectivamente. Esses valores representam um coeficiente de variação (CV) de 2,8 e 6,1% (R1 e R2), os quais são considerados baixos por se tratarem de ensaios realizados pela ação de microorganismos.

O biogás produzido apresentou uma pequena diferença nos valores de metano, 60 ± 2 e 58 ± 0 , para R1 e R2, respectivamente, porém essas amostras não demonstraram diferença estatística entre si (pelo teste Tukey com $p \leq 0,05$). Com base no percentual de metano foi possível o cálculo da produção de metano, que foi de $277,4 \pm 7,9$ e $196,8 \pm 12,0$ LN.kgSV^{-1} para as amostras R1 e R2, respectivamente (Tabela 4). Esses resultados indicam que o substrato R1, que possui em sua composição 50,0% borra de café e 50,0% *Zoysia japonica* (100,0% residual), apresenta maior degradabilidade na digestão anaeróbia em relação ao substrato R2, composto por 50,0% borra de café e 50,0% *Cynodon spp.* cv. Tifton 85 (50,0% residual) e, conseqüentemente, maior produção de biogás e metano. Apesar do substrato R1 apresentar digestão anaeróbia mais longa em 2 dias, 6,5% de acréscimo em relação à R2, obteve-se uma produção superior de metano, em 29,1%.

A literatura apresenta diversos estudos com a utilização de fungos na obtenção de biogás (PÉREZ-CHÁVEZ et al., 2019), porém, a maioria deles são voltados ao uso dos fungos como pré-tratamento de substratos e poucos apresentam a utilização de resíduos pós-produção de cogumelos.

Os resíduos provenientes do cultivo do gênero *Pleurotus* se destacam em relação aos outros gêneros devido à sua grande versatilidade de produção em uma ampla gama de resíduos lignocelulósicos, e por ser o segundo cogumelos comestível mais consumido

no mundo (SÁNCHEZ; ROYSE, 2017; URBEN, 2017).

Para o gênero *Pleurotus*, duas pesquisas apontaram o uso do resíduo de produção na digestão anaeróbia. Mehta et al. (1990) utilizou resíduos de cultivos de *Pleurotus florida* realizados em palha de arroz, com três ciclos de frutificação e apresentou uma produção de 141,0 g de cogumelos a cada 500,0 g de substrato. Com base nesses dados, pode-se calcular um rendimento de produção de 28,0%, o que leva em consideração a massa fresca de cogumelos em relação ao substrato úmido. Esses dados não são suficientes para calcular a EB, uma vez que os autores não especificaram a umidade do substrato para o cultivo. Neste estudo foi obtido $L_N.kg_{ST}^{-1}$ de biogás e o percentual de metano não foi apresentado, esses valores são inferiores aos obtidos neste estudo (Tabela 1). Já Covalope et al. (2012) produziu três ciclos de cogumelos *Pleurotus ostreatus* em palha de trigo, porém não apresentou dados de produção e destinou os resíduos para a digestão anaeróbia por 44 dias. Obteve-se $402,0 L_N.kg_{ST}^{-1}$ de biogás e o estudo não apresentou dados para qualificação do gás (Tabela 1). Em ambos os trabalhos anteriores, os resultados foram expressos em ST, o que se difere do indicado na VDI 4630 (2016). Essa recomendação sugere a utilização de SV, pois a matéria orgânica do substrato que pode ser degradada pela digestão anaeróbia é expressa pelos SV, os quais correspondem a uma parcela dentro dos ST.

Em estudo recente, a reutilização de resíduos da produção comercial de *Agaricus bisporus* foi utilizada para a obtenção de biogás, e apresentou uma produção expressiva de 306 e 157 $L_N.kg_{SV}^{-1}$ de biogás e metano, respectivamente. Esses valores se aproximam dos valores encontrados para o R1 avaliado nesse estudo (339 e 196 $L_N.kg_{SV}^{-1}$). Embora as características do substrato e a ação do fungo sejam diferentes dos estudados neste trabalho, houveram resultados positivos quanto à reutilização dos substratos pós-cultivo. A pesquisa citada não apresentou dados da EB de produção de cogumelos obtida por tais substratos (Tabela 1). Sabe-se que a comercialização de cogumelos é rentável e apresenta altos custos de produção relacionados ao uso de eletricidade, utilizada para manter as temperaturas adequadas de cultivo. O estudo apresentou uma alternativa de valorização dos resíduos do cultivo e o aumento da rentabilidade do processo produtivo demonstrando um estudo da viabilidade de produção de biogás para utilização no próprio ciclo produtivo. Dessa forma, além de contribuir para a economia circular, pode-se reduzir custos com eletricidade no processo de produção (VIEIRA, 2021).

Em contrapartida, há um considerável número de pesquisas que utilizam *Pleurotus ssp.* apenas como alternativa de pré-tratamento biológico de substratos, com a finalidade de otimizar o processo produtivo de biogás e metano. Nota-se que em grande maioria dos estudos há uma diminuição do tempo de digestão do substrato e, dentre esses estudos, destacam-se aqueles que obtiveram um aumento de produção de biogás, entre 4,0 e 80,0%, e metano até 1,6 vezes superior, quando comparados aos substratos sem tratamento (ALBORNOZ et al., 2018; MUSTAFA et al., 2016; MUSTAFA et al., 2017; TUYEN et al., 2013; MÜLLER; TRÖSCH, 1986). No presente estudo, ambos resíduos avaliados foram considerados adequados para a produção de biogás. Porém, observa-se que, caso haja a opção de escolha do substrato para o cultivo de cogumelos, deve-se optar por aquele que traga maior benefício econômico e ambiental. Dessa forma, dentre os substratos avaliados, o substrato S1, 100,0% residual, apresentou maior efetividade na produção de cogumelos e melhores resultados na produção de biogás e metano.

6 CONCLUSÃO

Os substratos avaliados foram capazes de produzir com qualidade os cogumelos comestíveis da espécie *Pleurotus ostreatus*. Obteve-se EB de 106,6 e 103,7 para os substratos S1 e S2, respectivamente. Pode-se dizer que cada quilograma de substrato residual seco, compostos por 50,0% borra de café e 50,0% gramíneas, foi capaz de produzir entre 1,04 e 1,07 quilogramas de cogumelos com características adequadas à comercialização.

Apesar das variações na caracterização dos resíduos desses cultivos, ambos foram considerados adequados para a reutilização na produção de biogás e metano. A biomassa R1, proveniente do substrato S1, composto integralmente de resíduos, apresentou melhores resultados na digestão anaeróbia, $462,4 \pm 13,2$ e $277,4 \pm 7,9$ L_N.kg_{SV}⁻¹, para biogás e metano, respectivamente. Enquanto que a biomassa R2, advinda de S2 é composta por 50,0% resíduos, apresentou produção de $339,2 \pm 20,7$ e $196,8 \pm 12,0$ L_N.kg_{SV}⁻¹ para biogás e metano, respectivamente.

O substrato constituído integralmente de resíduos se mostrou eficiente na produção de biogás, levantando a discussão da importância de estudos que visem a otimização do aproveitamento máximo de tais recursos, gerando alimentos de qualidade, mitigando impactos ambientais relacionados à destinação de resíduos e produzindo energia limpa. Dessa forma, a bioconversão da borra de café associada às gramíneas, torna-se uma alternativa viável para a produção de produtos com valor agregado (cogumelos e biogás), além de promover a sustentabilidade e a economia circular. Todos esses aspectos contribuem com os objetivos da Agenda 2030, a qual busca alcançar a fome zero (2), a produção de energia limpa e acessível (7), a promoção de cidades e comunidades sustentáveis (11) o consumo e produção responsáveis (12), ações contra as mudanças climáticas (13) e preservação da vida terrestre (15).

REFERÊNCIAS

ABREU, Carlos Godinho. Utilização do substrato pós-cultivo (SMS) de *Agaricus subrufescens* e *Pleurotus ostreatus* na produção de alface e rúcula. 79 f. Dissertação (Mestrado) Mestrado em Microbiologia Agrícola - Universidade Federal de Lavras, 2019.

ALBORNOZ, Sandra. et al. Understanding of the contribution of the fungal treatment conditions in a wheat straw biorefinery that produces enzymes and biogas. **Biochemical Engineering Journal**, v.140, p.140–147, dezembro, 2018.

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**, v. 59, nº. 5, p. 927-934, 2009.

ANEEL - Agência Nacional de Energia Elétrica, 2020. **Geração Distribuída**. Acesso em 29 de janeiro de 2022. Disponível em: http://www2.aneel.gov.br/scg/gd/gd_fonte_detalhe.asp?Tipo=2

ANEEL - Resolução normativa nº 482, de 17 de abril de 2012. Agência nacional de energia elétrica, 2012. Acesso em 22 de fevereiro de 2022. Disponível em: <https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=342518>.

ANPC - Agência Nacional dos Produtores de Cogumelos. 2018. **Cogumelos no Brasil**. Disponível em: <<https://www.anpccogumelos.org/>>. Acesso em 20 de fevereiro de 2022. Disponível em: <https://www.anpccogumelos.org/>

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**, 14 ed., 1984.

BELLETTINI, Marcelo Barba et al. Factors affecting mushroom *Pleurotus spp.* **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.26, nº 4, p. 633-646, dezembro, 2016.

BRÉMOND, Ulysse et al. Biological pretreatments of biomass for improving biogas production: an overview from lab scale to full-scale. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v..90, 583–604, abril, 2018.

CÁRDENAS-CLEVES, Lina Marcela et al. Perspectivas del ensayo de Potencial Bioquímico de Metano - PBM para el control del proceso de digestión anaerobia de residuos. **Revista ION**, v. 29, nº 1, p. 95-108, julho, 2016.

CARMO, Davi Lopes; SILVA, Carlos Alberto. Métodos de quantificação de carbono e matéria orgânica em resíduos orgânicos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, p.1211-1220, agosto, 2011.

CARVALHO, Cristiane Suely Melo et al. Applicability of the use of waste from different banana cultivars for the cultivation of the oyster mushroom. **Brazilian Journal Microbiology**, v.43, p. 819–826, junho, 2012.

CIBIOGÁS - Centro Internacional de Energias Renováveis. **Conceitos básicos e digestão anaeróbia**. Curso de Biogás: fundamentos e aplicações do Biogás. Foz do Iguaçu, 2018.

CIBIOGÁS - Centro Internacional de Energias Renováveis. **Características e aplicações do biogás e do digestato**. Curso de Biogás: fundamentos e aplicações do CIBiogás. Foz do Iguaçu, 2018.

CIBIOGÁS. Nota Técnica: **Nº 002/2010 – Panorama do Biogás no Brasil em 2019**. Foz do Iguaçu, 2020.

ĆILERDŽIĆ, Jasmina et al. Potential of selected fungal species to degrade wheat straw, the most abundant plant raw material in Europe. **BMC Plant Biology**, v. 17, p. 249, agosto, 2017.

CHERNICHARO, Carlos Augusto de Lemos. **Reatores anaeróbios**. 2. ed. Belo Horizonte: UFMG, 2007.

CHERUBIN, Maurício Roberto et al. Crop residue harvest for bioenergy production and its implications on soil. **Scientia Agricola**, v. 75, nº 1, p. 255–272, fevereiro, 2017.

COLLELA, Carolina Figueiredo et al. Potential utilization of spent agaricus bisporus mushroom substrate for seedling production and organic fertilizer in tomato cultivation. **Ciencia e Agrotecnologia**, vol. 43, n 1, p. 1 -7, 2019.

CORDIS - Community Research and Development Information Service. **Smart Management of spent mushroom substrate to lead the mushroom sector towards a circular economy**. Disponível em: <<https://cordis.europa.eu/project/id/820352>>.

CORRAL--BOBADILLA, Marina et al. Bioremediation of waste water to remove heavy metals using the spent mushroom substrate of Agaricus bisporus. **Water (Switzerland)**, vol. 11, nº. 3, p. 454, janeiro, 2019.

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

DEUBLEIN, Dieter; STEINHAUSER, Angelika. **Biogas from waste and renewable resources: An introduction**. Ed. Wiley-VCH, 2011.

DENG, Liangwei; LIU, Yi; WANG, Wenguo. Anaerobic Digestion Microorganisms. **Biogas Technology**. Singapore: Springer Singapore, 2020.

DINARDO-MIRANDA, Leila Luci; FRACASSO, Juliano Vilela. Sugarcane straw and the populations of pests and nematodes. **Scientia Agricola**, v. 70, nº 5, 305–310, março, 2013.

DUBOIS, Michel et al. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350 - 356, março, 1956.

EDWIGES, Thiago. Comparison of various pretreatment techniques enhance biodegradability of lignocellulosic biomass for methane production. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, p. 1 - 8, outubro, 2019.

EPE.EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA (BRASIL). RenovaBio: Biocombustíveis 2030.

Nota técnica: regras de comercialização. Rio de Janeiro: EPE, p. 7, 2017.

EPE. EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA (BRASIL). **Balanço Energético Nacional 2020: Ano base 2019.** Rio de Janeiro: EPE, p. 264, 2020.

ESTRADA, Alma Rodriguez; PECCHIA, John. Cultivation of *Pleurotus ostreatus*. In: CUNHA, Zied Diego. **Edible and Medicinal Mushrooms.** John Wiley & Sons, 2017.

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

FANG, W et al. Solid-state anaerobic fermentation of spent mushroom compost for volatile fatty acids production by pH regulation. **International Journal Hydrogen Energy**, v.42, p.295–300, 2017.

FAOSTAT. Food and agriculture organization of the united nations statistics, 2014. Disponível em: <http://faostat.fao.org/>. Acesso em 01 de março de 2022.

FEENEY, Mary Jo et al. Mushrooms and health summit proceedings. **The Journal Nutrition**. v. 144, nº 7, p.1128–1136, maio, 2014.

FERREIRA, Danilo. Contribution of N from green harvest residues for sugarcane nutrition in Brazil. **GCB Bioenergy** v. 8, p. 859–866, julho, 2015.

FIGUEIRÓ, Gláucia Garcia; GRACIOLLI, Luiz Antônio. Influência da composição química do substrato no cultivo de *Pleurotus florida*. **Ciência Agrotecnologia**, v. 35, p. 924-930, outubro, 2011.

FRANZLUEBBERS, Alan J. Farming strategies to fuel bioenergy demands and facilitate essential soil services. **Geoderma**, v. 259, p. 251–258, dezembro, 2015.

FREITAS, Ana 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 and Technology**, v. 53, p. 1914-1924, agosto, 2018.

GASECKA M, MLECZEK M, SIWULSKI M, et al. Phenolic composition and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* enriched with selenium and zinc. **Eur Food Res Technol**. v. 242, p.723–732, 2016.

GOLAK-SIWULSKA, Iwona et al. Bioactive compounds and medicinal properties of Oyster mushrooms (*Pleurotus sp*). **Folia Horticulturae**, v. 30, nº 2, p.191–201, 2018.

HERNÁNDEZ-BELTRÁN, Javier Ulisses et al. Insight into Pretreatment Methods of Lignocellulosic Biomass to Increase Biogas Yield: Current State, Challenges, and Opportunities. **Applied Sciences**, v. 9, p. 3721-3750, agosto, 2019.

HO, Dang P; NGO, Huu Hao; GUO, Wenshan. A mini review on renewable sources for biofuel. **Bioresource Technology**, vol. 169, p. 742–749, julho, 2014.

INDUSTRY ARC. Mushroom Market - Global Industry Analysis, Size, Share, Growth, Trends, and Forecast 2021 - 2026. Disponível em: https://www.industryarc.com/Report/16679/mushroom-market.html?https://www.industryarc.com/Report/16679/mushroom-market.html&gclid=CjwKCAiAgvKQBhBbEiwAaPQw3LdFQ6RPiddEi271ZxhCWF9XXqiBwWxfvRonRFuczh3HmUMbqY2-3xoCNnIQAvD_BwE#. Acesso em 01 de março de 2022.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**, v.1: Métodos químicos e físicos para análises de alimentos, 3. Ed. São Paulo: IMESP, p.27, 1985.

IEA. INTERNATIONAL ENERGY AGENCY. **Total primary energy supply (TPES) by source, World 1990-2017**. Disponível em: <https://www.iea.org/data-and-statistics/charts/total-primary-energy-supply-by-fuel-1971-and-2019>. Acesso em 20 de fevereiro de 2022.

JATWA, Tarun K et al. Evaluation of various Agro-Wastes for Production of *Pleurotus* ssp. (*P. florida*, *P. sajor-caju* and *P. eous*). *Journal of Pure and Applied Microbiology*, v. 10, p. 2783-2792, dezembro, 2016.

JIN, Virginia L et al. Soil greenhouse gas emissions in response to corn stover removal and tillage management across the US corn belt. **BioEnergy Research**, v. 7, p.517–527, fevereiro, 2014.

KAINTHOLA, Jyoti; KALAMDHAD, Ajay S.; GOUD, Vaibhav V. A review on enhanced biogas production from anaerobic digestion of lignocellulosic biomass by different enhancement techniques. **Process Biochemistry**, vol. 84, p. 81–90, maio, 2019.

KARLSSON, Tommy. Manual básico de biogás / Tommy Karlsson [et al]. - Lajeado: Ed. da Univates, 2014.

KARUPPURAJ, V. et al. Yield improvement of *Pleurotus florida* fruiting bodies from locally available unexplored lignocellulosic substrates. **Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci**, v. 3, nº 10, p.985–990, 2014.

KNOP, Doriv; YARDEN, Oded; HADAR, Yitzhak. The ligninolytic peroxidases in the genus *Pleurotus*: divergence in activities, expression, and potential applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, nº 3, p.1025–1038, fevereiro, 2015.

KOUPAIE, E. H. et al. Enzymatic pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biomethane production-A review. **Journal of Environmental Management**, 2018.

KONRAD, Odorico; et al. Produção de biogás a partir de biomassas residuais provenientes do setor agroindustrial. *Boletim técnico Univates*, 2018.

KORRES, Nicholas E et al. **Bioenergy Production by Anaerobic Digestion**. Londres, Routledge, 2013.

KUMARI, Dolly; SINGH, Radhika. Pretreatment of lignocellulosic wastes for biofuel production: A critical review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, vol. 90, no. May 2017, p. 877–891, 2018.

KUNZ, Airton; STEINMETZ, Ricardo Luiz Radis; AMARAL, André Cestonaro. **Fundamentos da digestão anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento do digestato**. Concórdia: Sbera: Embrapa Suínos e Aves, 2019.

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**, v. 6, nº 4, p. 366–370, dezembro, 1990.

MEYER, Vera et al. Growing a circular economy with fungal biotechnology: a white paper. **Fungal Biology And Biotechnology**, v. 7, nº 5, p.1-24, 2020.

MONTEGOMERY, Lucy. F. R. e BOCHMANN Günther. **Pretreatment of feedstock for enhanced biogas production**. IEA Bioenergy, 2014.

MÜLLER, H. W. e TRÖSCH, W. Screening of white-rot fungi for biological pretreatment of wheat straw for biogas production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 24, nº 2, p. 180–185, maio, 1986.

MUSTAFA, Ahmed. M.; POULSEN, Tijalfe. G.; SHENG, Kuichuan. Fungal pre-treatment of rice straw with *Pleurotus ostreatus* and *Trichoderma reesei* to enhance methane production under solid-state anaerobic digestion. **Applied Energy**, v. 180, p. 661–671, outubro, 2016.

MUSTAFA, Ahmed. M et al. Combinations of fungal and milling pre-treatments for enhancing rice straw biogas production during solid-state anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 224, p. 174–182, janeiro, 2017.

MUSSATO, Solange I et al. Production, Composition, and Application of Coffee and Its Industrial Residues, review paper. **Food Bioprocess Technol** v. 4, p. 661-672, março, 2011.

NARAIAN, Ram; DIXIT, Bharti. Nutritional Value of Three Different Oyster Mushrooms Grown on Cattail Weed Substrate. **Archives of Biotechnology and Biomedicine**, v. 1, nº 1, p.061–066, agosto, 2017.

OLIVEIRA, Reginaldo et al. Produção de *Pleurotus florida* em diferentes substratos da Amazônia meridional. **Revista Agrotecnologia**, v.9, n.2, p.28-35, setembro, 2018.

ONU. Organização das Nações Unidas. Transformando Nosso Mundo: a Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável. Disponível em: <https://odsbrasil.gov.br/home/agenda>. Acesso em: 10 julho de 2021.

OWAID, Mustafa Nadhim; ABED Idaham Ali, AL-SAEEDI, Sajid Salahuddin Saleem. Applicable properties of the bio-fertilizer spent mushroom substrate in organic systems as a byproduct from the cultivation of *Pleurotus* spp. **Information Processing Agriculture**, v. 4, nº 1, p.78–82, março, 2017.

PARAMJEET, Saroj; MANASA, P; KORRAPATI, Nahassimhulm. Biofuels: Production of fungal-mediated ligninolytic enzymes and the modes of bioprocesses utilizing agro-based residues. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 14, p. 54-71, 2018.

PAREDES JUNIOR, Francisco Pereira; PORTILHO, Irzo Isaac Rosa; MERCANTE, Fábio Martins. Microbiological attributes of the soil under cultivation of sugar cane with and without burning straw. **Seminário de Ciências Agrárias**, v.36, nº 1, p.151–164, janeiro, 2015.

PATEL, Yashvant; NARAIAN, Ram; SINGH, Vinod Kumar. Medicinal properties of *Pleurotus* species (*Oyster mushroom*): a review. **World Journal Fungal Plant Biol**, v.3, nº1, p. 1–12, janeiro, 2012.

PÉREZ-CHÁVEZ, Ana Marión; MAYER, Leopoldo; ALBERTÓ, Edgardo. Mushroom cultivation and biogas production: A sustainable reuse of organic resources. **Energy for Sustainable Development**, v. 50, p. 50–60, abril, 2019.

POEPLAU, Chistopher; DON, Axel. Carbon sequestration in agricultural soils via cultivation of cover crops-A meta-analysis. **Agriculture Ecosystems e Environment**, v. 200, p. 33–41, fevereiro, 2015.

PRASAD, Shalineet et al. Yield and proximate composition of *Pleurotus florida* cultivated on wheat straw supplemented with perennial grasses Nutraceutical potential of Indian mushrooms View project Organic agriculture and waste management View project. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 88 nº 1, p. 91-91, janeiro, 2018.

RAMAN, Jegadeesh et al. Cultivation and Nutritional Value of Prominent *Pleurotus* spp.: An Overview. **Mycobiology**, v. 49, nº 1, p. 1-14, novembro, 2021.

RANI, P.; KALYANI N; PRATHIBA K. Evaluation of lignocellulosic wastes for production of edible mushrooms. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 151, nº 1, p.151–159, março, 2008.

ROUCHES, E et al. Improvement of anaerobic degradation by white-rot fungi pretreatment of lignocellulosic biomass: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 59, 179–198, Junho, 2016.

SAAD, André Luiz Merthan et al. Aproveitamento de resíduos agrícolas no cultivo do cogumelo medicinal *Ganoderma lucidum* utilizando a tecnologia chinesa “JunCao” Use of agricultural residues in the cultivation of the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* using the “JunCao” Chinese technology. **Ambiência**, v. 13, n. 3, p. 572-582, setembro, 2017.

SALAMI, A, O. Nutrient and Mineral Content of Oyster Mushroom (*Pleurotus florida*) Grown on Selected Lignocellulosic Substrates. **Journal of Advances in Biology & Biotechnology**, v.15, nº1, p. 1–7, setembro, 2017.

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

SCHIMPF, Ulrike; SCHUTZ, Ronald. Industrial by-products from white-rot fungi production. Part I: Generation of enzyme preparations and chemical, protein biochemical and molecular biological characterization. **Process Biochemistry**, vol. 51, no. 12, p. 2034–2046, 2016.

SINGH, Buta; SZAMOSI, Zoltán; SIMÉNFAI, Zoltán. Impact of mixing intensity and duration on biogas production in an anaerobic digester: a review. **Critical Reviews in Biotechnology**, vol. 40, no. 4, p. 508–521, junho 2020.

SOCCOL, Carlos Ricardo 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: **Biotecnologia Aplicada à Agro & Indústria**, Vol. 4. São Paulo: Blucher, 2017.

SÖZBİR, Gonca Duzkale; BEKTAŞ Ibrahim; ZÜLKADIR Ayhan. Lignocellulosic wastes used for the cultivation of *Pleurotus ostreatus* mushrooms: effects on productivity. **BioResources**, v.10, nº 3, p. 4686–4693, 2015.

STRIPPEL, Florian et al. **Biowaste to biogas**. Disponível em Biowaste to biogas: Disponível em: [https:// www.biogas.org/edecom/web.fvb.nfs/id/de_homepage](https://www.biogas.org/edecom/web.fvb.nfs/id/de_homepage). Acesso em 14 de fevereiro de 2022.

TANIGUCHI, Masayuki et al. Evaluation of pre-treatment with *Pleurotus ostreatus* for enzymatic hydrolysis of rice straw. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 110, nº 6, p. 637–643, dezembro, 2005.

TIRKEY, Vidya Jyoti; SIMON, Sobita; LAL, Abhilasha. Efficacy of different substrates on the growth, yield and nutritional composition of oyster mushroom-*Pleurotus florida* (Mont.) Singer. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 6, nº 4, p. 1097–1100, junho, 2017.

TOCI, Aline Theodoro et al. Changes in triacylglycerols and free fatty acids composition during storage of roasted coffee. **Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie / Food Science + Technology**, v.50, p.581 - 10, março, 2013.

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**, v.129, p. 256–263, fevereiro, 2013.

URBEN, Araújo Fontes. **Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada: biotecnologia e aplicações na agricultura e saúde**. 3. Ed. Brasília-DF. Embrapa, 2017.

VDI 4630. Fermentation of Organic Materials. Characterisation of the Substrates, Sampling, Collection of Material Data, Fermentation Tests. VDI Handbuch Energietechnik. p. 92, 2006.

VEGA, Aracelly; FRANCO, Heriberto. Productividad y calidad de los cuerpos fructíferos de los hongos comestibles *Pleurotus pulmonarius* RN2 y *P. djamor* RN81 y RN82 cultivados sobre sustratos lignocelulósicos. **Información tecnológica**, v. 24, p.69–78, janeiro, 2013.

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.

WOBIWO, Awedem. Valorization of spent coffee ground with wheat or miscanthus straw: Yield improvement by the combined conversion to mushrooms and biomethane. **Energy for Sustainable Development**, v. 45, p. 171–179, 2018.

ZÁRATE-SALAZAR, Jhonatan Rafael et al. Use of lignocellulosic corn and rice wastes as substrates for oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus* Jacq.) cultivation. **SN Applied Sciences**, v. 2. Nº 11, novembro, 2020.