

**UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL**  
**ÁREA DO CONHECIMENTO DE CIÊNCIAS EXATAS**  
**E ENGENHARIAS**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE**  
**PROCESSOS E TECNOLOGIAS**

**DESENVOLVIMENTO DE BIOESPUMAS EMPREGANDO RESÍDUOS**  
**AGROINDUSTRIAIS E MACROFUNGOS REGIONAIS**

**Cláudia Bruscato**

Caxias do Sul, 2017

**Cláudia Bruscato**

**DESENVOLVIMENTO DE BIOESPUMAS EMPREGANDO  
RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS E MACROFUNGOS REGIONAIS**

Dissertação apresentada no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos e Tecnologias da Universidade de Caxias do Sul, visando à obtenção de grau de mestre em Engenharia de Processos, orientada por Dr<sup>a</sup>. Marli Camassola e coorientada por Dr<sup>a</sup>. Eloane Malvessi e Dr<sup>a</sup>. Rosmary Nichele Brandalise.

Caxias do Sul, 2017

B912d Bruscato, Cláudia

Desenvolvimento de bioespumas empregando resíduos agroindustriais e macrofungos regionais / Cláudia Bruscato. – 2017.  
98 f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos e Tecnologias, 2017.

Orientação: Marli Camassola.

Coorientação: Eloane Malvessi, Rosmary Nichele Brandalise.

1. Macrofungos. 2. Bioespumas. 3. Poliestireno expandido. 4. Compósitos biodegradáveis. 5. Propriedades térmicas. I. Camassola, Marli, orient. II. Malvessi, Eloane, coorient. III. Brandalise, Rosmary Nichele, coorient. IV. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UCS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

# **“Desenvolvimento de bioespumas empregando resíduos agroindustriais e macrofundos regionais.”**

**Cláudia Bruscato**

Dissertação de Mestrado submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos e Tecnologias da Universidade de Caxias do Sul, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Processos e Tecnologias, Área de Concentração: Desenvolvimento de Processos e Produtos Industriais.

Caxias do Sul, 14 de setembro de 2017

## Banca Examinadora:

Dra. Marli Camassola  
Orientadora  
Universidade de Caxias do Sul

Dra. Eloane Malvessi  
Coorientadora  
Universidade de Caxias do Sul

Dra. Rosmary Nichele Brandalise  
Coorientadora  
Universidade de Caxias do Sul

Dr. Ademir José Zattera  
Universidade de Caxias do Sul

Dra. Lorena Benathar Ballod Tavares  
Fundação Universidade Regional de Blumenau

Dr. Matheus Poletto  
Universidade de Caxias do Sul

*“Nunca algo tão grande se fez tão pequeno para tornar grandes os pequenos.”*

Augusto Cury

*“Sem amor, nem uma gota sequer se transformaria em pérola.”*

Rumi

*“Nós não sabemos o que somos até vermos o que podemos fazer. Quando você encara o medo e continua, uma coisa muda em você. Torna-se quem você nunca foi para fazer o que nunca fez. Quando você sabe o que quer pode conseguir enfrentar obstáculos fora e dentro de você!”*

Autor desconhecido

*Dedico este trabalho com todo meu amor e respeito aos meus abençoados pais Nadir e Belomi, aos meus avós Luís e Maria Antônia in memoriam, Edolório e Quintina in memoriam, à todos os meus antepassados in memoriam e às minhas queridas irmãs, tesouros que tanto amo Ketry e Edina.*

## AGRADECIMENTOS

No decorrer deste percurso, encontrei e tive o prazer de conhecer muitas pessoas que fizeram grande diferença nesta etapa da minha vida, pessoas essenciais na realização deste sonho e que mudaram todo um contexto do meu Eu. Registro aqui toda minha gratidão à elas.

À minha orientadora Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Marli Camassola e minhas coorientadoras Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Eloane Malvessi e Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Rosmary Nichele Brandalise, obrigada pela oportunidade em desenvolver este trabalho, obrigada por todo apoio e confiança, por todo empenho e dedicação que tiveram, por todos os ensinamentos e paciência, e obrigada principalmente, por fazerem parte da realização deste sonho.

À Universidade de Caxias do Sul e ao CNPq, pelo apoio estrutural, financeiro e concessão da bolsa de mestrado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos e Tecnologias, e à todos os professores de pós-graduação que contribuíram com minha formação.

À todos os colegas do Laboratório de Enzimas e Biomassas pelos momentos alegres e de descontração, pelos momentos de seriedade e de aprendizados, por estarem ao meu lado quando os resultados eram bons ou não, vocês tornaram tudo mais intenso e leve com teorias, café, músicas e com todo o companheirismo, eu os levarei em meu coração. Obrigada em especial, à Roselei Claudete Fontana, por todo auxílio, ensino, pela dedicação e pela paciência em cada dúvida ou teoria que surgia.

Aos técnicos do Laboratório de Polímeros e do Laboratório Central de Microscopia pela realização dos ensaios e análises.

À equipe do Laboratório de Bioprocessos pela disponibilização de equipamento para a realização de cultivos preliminares.

À equipe do Laboratório de Sementes e Fitopatologia pela disponibilização de local em estufa para a avaliação dos testes de cultivo de alface. Obrigada em especial à Paula, por toda a atenção e auxílio.

Ao Prof. Dr. Maurício Moura da Silveira e Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Eloane Malvessi, que acreditaram em meu potencial e que abriram as portas para o mundo da Pesquisa, gratidão pelo incentivo, apoio e pela minha inclusão na Iniciação Científica.

Aos meus colegas e amigos de pós-graduação, todos tão importantes nesta caminhada. Obrigada pela troca de conhecimento, pelo companheirismo em aula e fora dela, pelo apoio em todos os sentidos. Em especial à Alessandra, Michele, Marlova e Jhonattás pela disponibilização de tempo e paciência, obrigada por toda a ajuda; Márcia, Daniela, Fernanda, Eduardo, Dionísio, Bruna, Matheus, Marielen, Raphael, Karina, Bianca e Jayna, muito obrigada pela amizade, ensinamentos e por ter compartilhado essa etapa com vocês.

À minha colega e amiga, Simone Zaccaria, por estar ao meu lado, me ouvir, me ajudar. Obrigada pelo teu apoio, pela tua amizade, pelas tuas palavras em momentos difíceis e pelos risos em momentos tranquilos, pela companhia de um café repleto de teorias na madrugada e por toda a força no decorrer deste caminho até o último segundo. Conta sempre comigo.

Às minhas amigas Giana Reche e Monize Bisatto, pelo apoio e incentivo, por compreenderem a minha distância e permanecerem perto. Taís Pertile, por toda força e amizade quando tudo parecia não ter fim. Betina Salvador, pela luz e confiança, por tornar o peso mais leve e por estar ao meu lado. Obrigada pela amizade e por me fazerem acreditar.

Ao Tchydjo, Tkaynã, Kaway, Ricardo Fialho e Naides de Azeredo, por todo o aprendizado, por toda convivência que tive e tenho com vocês, por me auxiliarem nesta etapa e estarem comigo nas que virão. Obrigada pelo auxílio, cuidados e sabedoria passados com tanta delicadeza e maestria. Ahow.

À minha prima Manoela Bruscatto, por estar firme ao meu lado com todo o apoio, amor, incentivo e benevolência. Obrigada por superar comigo a distância, por me acolher com sorrisos e café, por contar comigo e por saber que posso contar com você.

Às minhas irmãs Ketry Bruscatto e Édina Bruscatto, por todo apoio, por toda força e por todo amor que vocês me proporcionam, por sempre me ouvir, por me compreenderem quando eu mesma não me compreendo e por terem sempre um motivo para me fazer sorrir. Obrigada por vocês e a Mili estarem ao meu lado em todos os momentos, com todo carinho e irmandade, estou com vocês para o que der e vier.

Aos meus avós paternos Luís Bruscatto e Maria Antônia Pancotto Bruscatto *in memoriam*, e avós maternos Edolório Antunes e Quintina Santos da Silva *in memoriam* e à todos os meus antepassados *in memoriam*, que possibilitaram minha estada aqui. Obrigada à todo ensinamento concedido.

Aos meus abençoados pais, Nadir Bruscatto e Belomi Bruscatto que apoiaram e respeitaram meu seguir nesta caminhada sempre com tanto carinho, amor, com cuidados e preocupações. Gratidão por percorrerem este percurso junto a mim, pelas angústias e anseios que sentiram, pela paciência que tiveram em situações delicadas, por estarem firmes em momentos e dias difíceis, e acima de tudo, gratidão por permanecerem de braços abertos à todo o momento.

À Mãe Terra por nos proporcionar tamanhas belezas e por conter as ferramentas que nos possibilitam optar pela construção de um mundo mais sustentável, conscientizando-se do que se devolve à ela.

À Deus, Grande Espírito, essência em mim, que me orienta, me guia, me ilumina, me dá toda a força, sabedoria e discernimento para seguir em frente na presença, no amor, na gratidão e no sentir.



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>17</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>19</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	19
<b>3. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>20</b>
3.1 POLIESTIRENO E POLIESTIRENO EXPANDIDO .....	20
3.2 PRODUÇÃO DE BIOESPUMAS EMPREGANDO FUNGOS .....	22
3.3 SUBSTRATOS PARA A PRODUÇÃO DAS BIOESPUMAS UTILIZANDO MACROFUNGOS .....	24
<b>3.3.1 Serragem</b> .....	<b>25</b>
<b>3.3.2 Grão e farelo de trigo</b> .....	<b>25</b>
3.4 FUNGOS LIGNOCELULOLÍTICOS .....	26
<b>3.4.1 <i>Trametes villosa</i></b> .....	<b>27</b>
<b>3.4.2 <i>Lentinus velutinus</i></b> .....	<b>28</b>
<b>3.4.3 <i>Pycnoporus sanguineus</i></b> .....	<b>29</b>
<b>3.4.4 <i>Pleurotus djamor</i></b> .....	<b>30</b>
<b>3.4.5 <i>Pleurotus albidus</i></b> .....	<b>31</b>
<b>3.4.6 <i>Xylaria sp.</i></b> .....	<b>32</b>
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>34</b>
4.1 MATERIAIS .....	34
4.2 MÉTODOS .....	34
<b>4.2.1 Meio de cultivo para manutenção das linhagens</b> .....	<b>34</b>
<b>4.2.2 Meio de cultivo e desenvolvimento do micélio para a produção das bioespumas         BS3</b> .....	<b>35</b>
<b>4.2.3 Meio de cultivo e desenvolvimeto do micélio para a produção das bioespumas         BS25</b> .....	<b>35</b>
4.3. PREPARAÇÃO DAS BIOESPUMAS .....	35
<b>4.3.1 Bioespuma BS3</b> .....	<b>36</b>
<b>4.3.2 Bioespumas BS25</b> .....	<b>37</b>

4.4 CARACTERIZAÇÃO DAS BIOESPUMAS.....	39
4.4.1 Avaliação do crescimento micelial das bioespumas .....	39
4.4.2 Análise morfológica das bioespumas .....	39
4.4.3 Determinação da densidade das bioespumas.....	39
4.4.4 Avaliação da propriedade mecânica de resistência à compressão .....	39
4.4.5 Determinação das propriedades térmicas.....	40
4.4.6 Avaliação da composição química .....	40
4.4.7 Avaliação da incorporação das bioespumas BS25 em solo sob cultivo de alface	41
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	43
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>44</b>
5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS SUBSTRATOS .....	44
5.1.1 Caracterização da estrutura química dos substratos.....	44
5.1.2 Propriedades térmicas dos substratos .....	45
5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS BIOESPUMAS BS3 .....	46
5.2.1 Crescimento micelial das bioespumas BS3 .....	49
5.2.2 Propriedades morfológicas das bioespumas BS3 .....	51
5.2.3 Caracterização da estrutura química das bioespumas BS3 .....	54
5.2.4 Propriedades térmicas das bioespumas BS3.....	56
5.2.5 Propriedades mecânicas das bioespumas BS3.....	58
5.3 CARACTERIZAÇÃO DAS BIOESPUMAS BS25 .....	59
5.3.1 Propriedades morfológicas das bioespumas BS25 .....	60
5.3.2 Caracterização da estrutura química das bioespumas BS25 .....	63
5.3.3 Propriedades térmicas das bioespumas BS25.....	65
5.3.4 Propriedades mecânicas das bioespumas BS25.....	66
5.4 INCORPORAÇÃO DAS BIOESPUMAS BS25 EM MSOLO NO CULTIVO DE ALFACE .....	68
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>81</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>83</b>
<b>APÊNDICE - ANÁLISE GRANULOMÉTRICA DOS SUBSTRATOS.....</b>	<b>96</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Substratos utilizados para a avaliação das bioespumas BS25 em solo no cultivo de alface.....	42
<b>Tabela 2</b> - Atribuição das bandas de FTIR do CaCO <sub>3</sub> , do farelo de trigo e da serragem.....	45
<b>Tabela 3</b> - Densidade das BS3 de <i>Pleurotus albidus</i> , <i>Pleurotus djamor</i> , <i>Trametes villosa</i> e do EPS. ....	53
<b>Tabela 4</b> - Atribuição das bandas de FTIR de polissacarídeos de <i>Pleurotus albidus</i> .....	55
<b>Tabela 5</b> - Atribuição das bandas de FTIR das BS3 de <i>Pleurotus albidus</i> , <i>Pleurotus djamor</i> , <i>Trametes villosa</i> .....	56
<b>Tabela 6</b> - Densidade das bioespumas BS25 <i>Pycnoporus sanguineus</i> , <i>Pleurotus albidus</i> , <i>Lentinus velutinus</i> e do EPS. ....	62
<b>Tabela 7</b> - Atribuição das bandas de FTIR das BS25 de <i>Pycnoporus sanguineus</i> , <i>Pleurotus albidus</i> e <i>Lentinus velutinus</i> .. ....	64
<b>Tabela 8</b> - Valores médios da Altura da Raiz (H), Massa Fresca da Raiz (MFR), Massa Seca da Raiz (MSR), Altura da Parte Aérea (HPA), Massa Fresca da Parte Aérea (MFPA), Massa Seca da Parte Aérea (MSPA) e Número de Folhas das mudas de alface transportadas para o cultivo e das mudas de alface no final do cultivo .....	68
<b>Tabela 9</b> - Teste de Dunnet T3 para a variável Raiz_HR.....	74
<b>Tabela 10</b> - Teste de Dunnet T3 para a variável Aereo_HPA .....	75
<b>Tabela 11</b> - Teste de Kruskal-Wallis para a variável Raiz_MFR.....	76
<b>Tabela 12</b> - Teste de Kruskal-Wallis para a variável Raiz_MSR.....	77
<b>Tabela 13</b> - Teste de Kruskal-Wallis para a variável Aereo_MFPA .....	78

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Representação do monômero e do mero do PS ..... 20
- Figura 2** - Aplicações dos bioespumas desenvolvidos a partir da biomassa fúngica; (A) embalagens para bebidas; (B) chapas para construção civil; (C) cantoneiras para embalagens de eletrodomésticos; (D) bases para o crescimento de mudas de interesse agrônômico..... 23
- Figura 3** - *Trametes villosa* coletado na cidade de Caçapava do Sul, RS/Brasil..... 28
- Figura 4** - *Lentinus velutinus* coletado em Bom Jesus, RS/Brasil..... 29
- Figura 5** - *Pycnoporus sanguineus* coletado em São Francisco de Paula, RS/Brasil..... 30
- Figura 6** - *Pleurotus djamor* ..... 31
- Figura 7** - *Pleurotus albidus* RS coletado em São Francisco de Paula, RS/Brasil..... 32
- Figura 8** - *Xylaria* sp. RS coletado em São Francisco de Paula, RS/Brasil..... 33
- Figura 9** – Representação esquemática das bioespumas produzidas..... 36
- Figura 10** – Processo de produção da bioespuma BS3 FT. (A) placas com meio de farelo de trigo e placas com meio MS com micélio crescido; (B) detalhe de uma placa com o micélio desenvolvido; (C) placa com meio de farelo de trigo e inóculo, um disco de 1,5 cm contendo o micélio de cada macrofungo; (D) vista superior do desenvolvimento da bioespuma BS3 FT de *Pleurotus albidus* em 7 dias de cultivo e (E) vista inferior do desenvolvimento da bioespuma BS3 FT de *Pleurotus albidus* em 7 dias de cultivo. .... 37
- Figura 11** – Representação da colonização do substrato da bioespuma BS3 SE. (A) vista superior da BS3 SE de *Pycnoporus sanguineus*; (B) vista superior da BS3 SE de *Pleurotus albidus* e (C) vista inferior da BS3 SE de *Pleurotus albidus*. .... 37
- Figura 12** – Processo de produção das bioespumas BS25. (A) placa com meio MS contendo o micélio desenvolvido; (B) frascos contendo grão de trigo e inóculo (50% do meio MS contendo o micélio) incubados em estufa; (C) detalhe do crescimento do macrofungo *Pycnoporus sanguineus*; (D) detalhe do crescimento de *Pleurotus djamor*; (E) detalhe do pré-inóculo de *Trametes villosa*; (F) disposição dos meios da BS25 nos moldes plásticos, vista lateral e superior; (G) meio de BS25 inoculados com 5% do pré-inóculo e incubados em estufa e (H) detalhe das BS25 obtidas ao final do cultivo..... 38
- Figura 13** – Corpos de prova utilizados para o ensaio de resistência à compressão. (A) amostra de BS3 FT de *Pleurotus albidus*; (B) amostra de BS3 FT de *Pleurotus djamor*; (C) amostra de BS3 FT de *Trametes villosa*; (D) amostra de EPS comercial com 3 mm de espessura; (E) amostra de BS25 de *Pycnoporus sanguineus*; (F) amostra de BS25 de *Pleurotus albidus*; (G) amostra de BS25 de *Lentinus velutinus* e (H) amostra de EPS comercial com 25 mm de espessura. .... 40
- Figura 14** – Avaliação do comportamento das bioespumas em cultivo de alface *Lactuca sativa* em estufa localizada na Universidade de Caxias do Sul, durante 35 dias ..... 41
- Figura 15** – Processo do experimento da avaliação do comportamento da bioespuma em cultivo de alface *Lactuca sativa*. (A) detalhe dos furos nos potes para a drenagem; (B) preparação dos substratos para o plantio das mudas; (C) mudas de *Lactuca sativa*; (D) mudas

de alface transplantadas nos diferentes substratos; (E) plantio de alface conduzido em estufa e (F) detalhe da utilização de tela sombrite para proteção solar. ....	43
<b>Figura 16</b> – Espectro no FTIR do CaCO <sub>3</sub> , do farelo de trigo e da serragem.....	44
<b>Figura 17</b> – Curva TG do CaCO <sub>3</sub> , do farelo de trigo e da serragem .....	45
<b>Figura 18</b> – Vista superior, inferior e lateral/perspectiva das bioespumas BS3 FT obtidas em cultivo de 15 dias das linhagens de <i>Trametes villosa</i> , <i>Lentinus velutinus</i> , <i>Pycnoporus sanguineus</i> , <i>Pleurotus djamor</i> , <i>Pleurotus albidus</i> e <i>Xylaria</i> sp.. ....	47
<b>Figura 19</b> - Vista superior, inferior e lateral/perspectiva das bioespumas BS3 FT obtidas em cultivo de 15 dias, para as linhagens: <i>Trametes villosa</i> , <i>Lentinus velutinus</i> , <i>Pycnoporus sanguineus</i> , <i>Pleurotus djamor</i> , <i>Pleurotus albidus</i> e <i>Xylaria</i> sp .....	48
<b>Figura 20</b> - Crescimento micelial dos diferentes macrofungos meio de farelo de trigo para a obtenção de bioespumas BS3 em cultivo de 15 dias .....	49
<b>Figura 21</b> - Crescimento micelial dos diferentes macrofungos para a obtenção de bioespumas BS3 em 9 dias de cultivo. <sup>a, b, c</sup> Valores foram determinados em 16 amostras cada linhagem. Letras iguais indicam que não há diferença significativa a 5% (p<0,05 teste de Tukey). ....	50
<b>Figura 22</b> - Registro fotografico das Bioespumas BS3 e suas respectivas micrografias no MEV, obtidas nos cultivos dos macrofungos <i>Pleurotus albidus</i> (a), <i>Pleurotus djamor</i> (b) e <i>Trametes villosa</i> (c) .....	52
<b>Figura 23</b> - Micrografias no MEV das BS3 <i>Pleurotus albidus</i> (a), <i>Pleurotus djamor</i> (b), <i>Trametes villosa</i> (c) e EPS (d).....	54
<b>Figura 24</b> - Espectro no FTIR das amostras das bioespumas BS3 de <i>Pleurotus albidus</i> , <i>Pleurotus djamor</i> e <i>Trametes villosa</i> e atribuição das bandas.....	55
<b>Figura 25</b> - Curva TG das bioespumas BS3 de <i>Pleurotus albidus</i> , <i>Pleurotus djamor</i> , <i>Trametes villosa</i> e do EPS .....	57
<b>Figura 26</b> – Resistência à compressão das bioespumas BS3 de <i>Pleurotus albidus</i> , <i>Pleurotus djamor</i> e <i>Trametes villosa</i> em comparação com EPS. <sup>a, b, c</sup> Valores foram determinados em 3 amostras de cada bioespuma. Letras iguais indicam que não há diferença significativa a 5% (p<0,05 teste de Tukey). ....	58
<b>Figura 27</b> - Vista superior, inferior e lateral das bioespumas BS25 obtidas em cultivo de 35 dias para as linhagens de <i>Trametes villosa</i> , <i>Lentinus velutinus</i> , <i>Pycnoporus sanguineus</i> , <i>Pleurotus djamor</i> , <i>Pleurotus albidus</i> e <i>Xylaria</i> sp. ....	59
<b>Figura 28</b> - Registro fotográfico das bioespumas BS25 e suas respectivas micrografias no MEV, obtidas nos cultivos dos macrofungos <i>Pycnoporus sanguineus</i> (a), <i>Pleurotus albidus</i> (b) e <i>Lentinus velutinus</i> (c) .....	61
<b>Figura 29</b> - Micrografias no MEV das BS25 <i>Pycnoporus sanguineus</i> (a), <i>Pleurotus albidus</i> (b), <i>Lentinus velutinus</i> (c) e do EPS (d).....	63
<b>Figura 30</b> - Espectro no FTIR das amostras das bioespumas BS25 de <i>Pycnoporus sanguineus</i> , <i>Pleurotus albidus</i> , <i>Lentinus velutinus</i> .....	64

<b>Figura 31</b> - Curva TG das bioespumas BS25 de <i>Pycnopoprus sanguineus</i> , <i>Pleurotus albidus</i> , <i>Lentinus velutinus</i> e do EPS .....	65
<b>Figura 32</b> - Resistência à compressão das bioespumas BS25 de <i>Pycnoporus sanguineus</i> , <i>Pleurotus albidus</i> , <i>Lentinus velutinus</i> em comparação com EPS. <sup>a, b, c</sup> Valores foram determinados em 3 amostras de cada bioespuma. Letras iguais indicam que não há diferença significativa a 5% (p<0,05 teste de Tukey). .....	67
<b>Figura 33</b> - Mudanças de alface do controle I* após condição de <i>stress</i> .....	69
<b>Figura 34</b> - Mudanças de alface do controle II* após situação de <i>stress</i> .....	69
<b>Figura 35</b> - Cultivo de alface após 25 dias de plantio. (A) Mudanças de alface na condição bioespuma <i>L. velutinus</i> 50% e solo 50%; (B) condição bioespuma <i>L. velutinus</i> 100%; (C) condição bioespuma <i>Xylaria</i> sp. 50% e solo 50%; (D) condição bioespuma <i>Xylaria</i> sp. 100%; (E) condição bioespuma <i>T. villosa</i> 50% e solo 50%; (F) condição bioespuma <i>T. villosa</i> 100%; (G) condição bioespuma <i>P. sanguineus</i> 50% e solo 50%; (H) condição bioespuma <i>P. sanguineus</i> 100%; (I) condição bioespuma <i>P. albidus</i> 50% e solo 50%; (J) condição bioespuma <i>P. albidus</i> 100%; (K) condição bioespuma <i>P. djamor</i> 50% e solo 50%; (L) condição bioespuma <i>P. djamor</i> 100%. .....	70
<b>Figura 36</b> - Mudanças de alface na condição Bioespuma <i>P. djamor</i> 50% e solo 50%, e Bioespuma <i>P. djamor</i> 100% após 5 e 8 dias de plantio .....	71
<b>Figura 37</b> - Corpos de frutificação nas mudanças de alface na condição Bioespuma <i>P. djamor</i> 100% após 8 dias de plantio. A) vista superior; (B) vista inferior e (C) vista lateral/perspectiva .....	71
<b>Figura 38</b> - Final do plantio de alface na condição bioespuma <i>L. velutinus</i> 100%. (A) vista externa da bioespuma. (B) vista interna da bioespuma. ....	72
<b>Figura 39</b> - Final do plantio de alface na condição Bioespuma <i>P. sanguineus</i> 100% .....	73
<b>Figura 40</b> - Teste de Dunnett T3 para a variável Raiz_HR .....	74
<b>Figura 41</b> - Teste de Dunnett T3 para a variável Aereo_HPA .....	75
<b>Figura 42</b> - Teste de Kruskal-Wallis para a variável Raiz_MFR .....	77
<b>Figura 43</b> - Teste de Kruskal-Wallis para a variável Raiz_MSR .....	78
<b>Figura 44</b> - Teste de Kruskal-Wallis para a variável Aereo_MFPA .....	79
<b>Figura 45</b> - Teste de Kruskal-Wallis para a variável Aereo_MSPA .....	79
<b>Figura 46</b> - Teste de Kruskal-Wallis para a variável nº de Folhas .....	80

## RESUMO

A crescente busca por materiais biodegradáveis tem despertado o interesse do mundo científico para o desenvolvimento de produtos que tenham essa característica. Estes materiais podem substituir produtos sintéticos, provenientes do petróleo, como o poliestireno expandido (EPS), o qual se apresenta em uma grande variedade de formas e aplicações. Muitos macrofungos desenvolvem micélios com elevada degradação biológica e resistência mecânica e, quando desidratados, além da baixa densidade, tornam-se uma alternativa para a produção de materiais biodegradáveis com potenciais propriedades para substituir, em algumas aplicações, o EPS. O presente trabalho tem como objetivo desenvolver um material biodegradável como potencial alternativa ao uso de EPS (Isopor®), empregando micélio de macrofungos regionais da região Sul do Brasil, cultivados em meios contendo serragem e farelo de trigo e/ou misturas desses substratos. Os meios inoculados com os macrofungos foram dispostos em recipientes de forma a permitir um formato regular para a bioespuma produzida. Após a colonização do substrato pelo macrofungo, a bioespuma foi desidratada com o emprego de calor para a caracterização do material. As bioespumas são caracterizadas neste estudo pelas suas propriedades morfológicas, térmicas, mecânicas e quanto à estrutura química em comparação ao EPS. Como resultados, destaca-se a existência de interação entre a matriz e as partículas do meio de cultivo, serragem e farelo de trigo, estabelecida pela formação das hifas, identificada por microscopia eletrônica de varredura. Essa morfologia proporciona a obtenção de uma estrutura densa e compacta, o que justifica os resultados de resistência à compressão obtidos serem superiores em relação ao EPS. Com relação às propriedades térmicas, determinadas por termogravimetria, a temperatura máxima de degradação das bioespumas foi cerca de 40°C inferior em relação ao EPS. Os resultados de densidade foram superiores para as bioespuma com 3 mm de espessura e bioespuma com 25 mm de espessura, com média de 0,4 e 0,3 g.cm<sup>-3</sup>, respectivamente, comparados aos valores de 0,08 e 0,03 g.cm<sup>-3</sup> das amostras de EPS. Os resultados indicam que, apesar da menor estabilidade térmica, cerca de 14% inferior à estabilidade do EPS, as bioespumas de macrofungos possuem resistência à compressão 60% superior à do EPS. Salientam-se, ainda, as características biodegradáveis do material obtido, pois tem-se um produto de menor tempo de degradação que, pos-uso, pode ser aproveitado como fertilizante agrícola-potencializando seu uso como alternativa ao EPS em algumas aplicações.

**Palavras-chave:** macrofungos, bioespumas, poliestireno expandido, compósitos biodegradáveis, propriedades térmicas.

## ABSTRACT

The growing search for biodegradable materials has awakened the interest of the scientific world to the development of products that have this characteristic. These materials can replace synthetic products that come from petrol, such as expanded polystyrene (PS), which presents itself in a great variety of shapes and applications. Many macrofungi develop mycelium with high biological degradation rate and mechanical resistance, and, when dehydrated, beyond the low density, they become an alternative for the production of biodegradable with potential properties to replace in some applications, the PS. The present work aims to produce a biodegradable material as a potential alternative to PS (Isopor®), making use of mycelium macrofungi that come from the south of Brazil, cultured in media containing sawdust and wheat bran and/or mixtures of those substrates. The media inoculated with the macrofungi were arranged in containers so as to allow a regular shape for the bio-foam produced. After the total colonization of the macrofungi, the biofoam was dehydrated at 45°C. The biofoams are characterized by morphological, thermal, mechanical and chemical structure properties compared to PS. As a result, the existence of interaction between the matrix and the particles of the culture, established by the formation of hyphae, are identified by the electronic microscopic scanning. This morphology provides the obtention of a dense and compact structure, which justifies the results of resistance to compression obtained, superiors to the PS. In relation the thermal properties determined by thermogravimetry, the maximum temperature of degradation of the biofoams was around 40 degrees Celsius lower in relation to the PS. The results of density were superior to biofoam with 3mm thick and biofoam with 3mm thick, with average of 0.4 and 0.3 g.cm<sup>-3</sup>, respectively to the values of 0.08 and 0.03 g.cm<sup>3</sup> of the PS samples. The results indicate that, in spite the lower thermal stability, about 14% less than the stability PS, the biofoams of macrofungi have compression resistance 60% higher in comparison to PS. It is also emphasized the biodegradable characteristics, since the material developed has a shorter degradation time and, after its use, can be used as agricultural fertilizer, potentializing its use as an alternative to PS in some applications.

**Keywords:** macrofungi, biofoams, expanded polystyrene, biodegradable composites, thermal properties.



## 1. INTRODUÇÃO

O crescente aumento da população ocasiona uma demanda por diferentes tipos de materiais para a manutenção da qualidade de vida da sociedade. Em virtude disso, os materiais poliméricos têm se destacado. Seu fácil processamento, leveza e resistência a degradação faz com que eles tenham ampla aplicação. Porém, o baixo valor agregado dos materiais poliméricos não torna o processo de reciclagem economicamente viável, uma vez que o custo da reciclagem é superior àquele referente ao processo de produção de um novo material com a mesma finalidade (SANTOS *et al.*, 2012).

O poliestireno é um polímero de ampla utilização, sendo produzido em menor proporção que os polietilenos – poli (tereftalato de etileno) (PET) e polipropileno (PP). Na forma expandida, o poliestireno (EPS), comercialmente conhecido como Isopor®, é utilizado na forma de placas ou blocos na confecção de lajes, em embalagens de proteção de equipamentos domésticos, em capacetes de proteção, como isolante elétrico ou térmico em residências, entre outras aplicações (ABRAPEX, 2016). Contudo, possui desvantagens por ser derivado do petróleo, que é um recurso não renovável, não é biodegradável, o que significa que pode levar anos para se decompor na natureza (DE PAOLI *et al.*, 2008).

Além disso, pós-uso, acumula-se em aterros sanitários ou até mesmo no ambiente, tendo como consequências a contaminação do solo, uma vez que as propriedades de determinados compostos presentes nas cadeias poliméricas podem atuar como barreira na degradação de compostos orgânicos.

Visando à redução dos impactos ambientais causados pela presença de resíduos poliméricos no meio ambiente, torna-se essencial o desenvolvimento de materiais de degradação pós-uso facilitada, cujos subprodutos da degradação não afetem os ciclos dos ecossistemas (SOUZA, 2004). A obtenção de materiais biodegradáveis, com apelo de responsabilidade ambiental e social, consiste em uma alternativa ao uso de EPS. A obtenção destes tipos de materiais biodegradáveis se dá pela capacidade de metabolização de subprodutos agroindustriais por alguns tipos de macrofungos em um produto de maior valor. Com este aspecto, destaca-se a redução da necessidade de materiais oriundos do petróleo e conseqüentemente, geração de resíduos, atuando diretamente na sustentabilidade ambiental (CALEGARI & OLIVEIRA, 2016). Diversos macrofungos possuem a capacidade de desenvolver micélios com elevada resistência mecânica. Após processo de desidratação por calor, apresentam baixa densidade e tornam-se uma opção para a obtenção de materiais biodegradáveis, isto é, a obtenção de bioespumas.

Neste contexto, o foco deste trabalho foi o desenvolvimento e caracterização de bioespumas, obtidas a partir do micélio de macrofungos da região Sul do Brasil crescidos em resíduos agroindustriais, como alternativa ao EPS para diversificadas aplicações tais como em embalagens para acondicionamento de equipamentos e alimentos.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar bioespumas produzidas com macrofungos regionais crescidos em meios formulados com resíduos agroindustriais e avaliar os efeitos de sua incorporação no solo em cultivo de alface.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

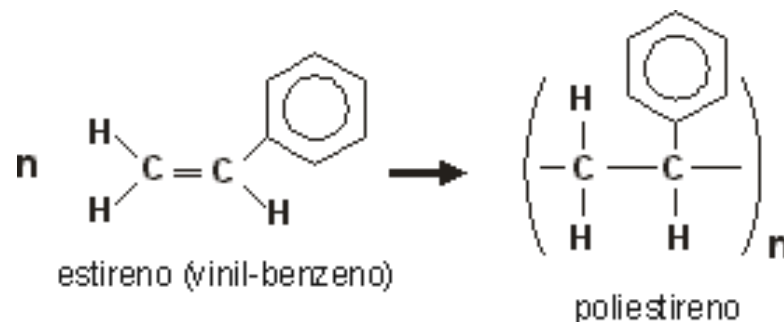
Os seguintes objetivos específicos estão previstos para este estudo:

- avaliar a influência de diferentes misturas de serragem e farelo de trigo como substrato para o cultivo, em estado sólido, dos macrofungos *Trametes villosa*, *Lentinus velutinus*, *Pycnoporus sanguineus*, *Pleurotus albidus*, *Pleurotus djamor* e *Xylaria* sp.
- determinar a condição de produção mais promissora de bioespuma obtida entre os diferentes macrofungos considerando menores tempos de produção e as propriedades físicas, morfológicas e mecânicas em comparação ao EPS, e;
- avaliar o efeito da incorporação da bioespuma no solo sobre o cultivo de alface.

### 3. REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 POLIESTIRENO E POLIESTIRENO EXPANDIDO

O poliestireno (PS) é um homopolímero formado por monômeros de estireno (Figura 1). Entre as características físicas, apresenta coloração transparente e odor adocicado quando seu grau de pureza é alto. Quando contaminado por aldeídos, pode apresentar odor irritante. Essa condição de mudança de odor se dá em função da exposição ao ar livre (CITADIN, 2007; CORAZZA, 1995).



**Figura 1-** Representação do monômero e do mero do PS (adaptada de CANEVAROLO & SEBATIÃO, 2002).

Devido ao baixo custo de processamento e obtenção, o poliestireno é um dos polímeros termoplásticos mais utilizados no dia a dia. Entre as aplicações, podem ser relacionadas à produção de utensílios domésticos rígidos, material isolante, acondicionamento de equipamentos, embalagens de alimentos entre outras (CITADIN, 2007). No caso de uso em materiais isolantes, acondicionamento de equipamentos e embalagem de alimentos, é empregado o poliestireno expandido (EPS), um derivado do PS que possui 98% de ar em sua constituição (ARAÚJO, 2007).

O EPS é desenvolvido a partir da polimerização do estireno em água. Sua expansão ocorre a partir do vapor de água em contato com o polímero. Segundo Oliveira (2013), o EPS é conhecido comercialmente como "Isopor®", sendo sua descoberta descrita em 1949.

Além das aplicações citadas para o poliestireno, o EPS pode ser utilizado em diversos setores da indústria. Na construção civil, tem sido usado no isolamento térmico de telhados, em lajes, em dutos de ar, em câmaras frigoríficas, no isolamento acústico, em pisos leves e em painéis divisórios. No setor de embalagens, é empregado em caixas térmicas para alimentos e

bebidas, para eletrodomésticos e outros produtos e também na agroindústria, em caixas para mudas, proporcionando aeração de solo, drenagem e produtividade (ABRAPEX, 2016).

O PS e seus derivados ocupam a quinta posição em termos de termoplásticos mais consumidos no mundo, representando cerca de 7,8%, sendo superado pelo polietileno (29,1%), poli(tereftalato de etileno) (20%), polipropileno (18%) e poli(cloreto de vinila) (15,3%) (MAACK BUSINESS SERVICES, 2013). Tem como origem sintética o petróleo e se caracteriza por ser extremamente leve em comparação aos demais polímeros commodities, considerando que, quando expandidas, as estruturas esféricas consistem em até 98% de ar e apenas 2% de poliestireno. Em 1 m<sup>3</sup> de EPS existem de 3 a 6 bilhões de células fechadas e cheias de ar (ABRAPEX, 2016).

Estudos realizados na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) indicam que são consumidos cerca de 2,5 milhões de toneladas/ano de poliestireno em todo o mundo (BERNARDY *et al.*, 2015). Segundo Abrapex (2016), no Brasil são produzidas em torno de 60 mil toneladas/ano de EPS e apenas 5 mil destes recebem a destinação adequada, recomendada pela Política Nacional de Resíduos Sólidos (Lei nº 12.305, 2010) após o uso.

O PS pode levar anos para ser totalmente degradado pós-uso, e sua degradação, por despolimerização dá origem ao microplásticos, com capacidade de absorver compostos químicos tóxicos como agrotóxicos, pesticidas e metais pesados presentes principalmente nos rios, lagos e oceanos (DE PAOLI, 2008; BERNARDY *et al.*, 2015).

Com base no exposto verifica-se o anseio na busca do desenvolvimento de produtos e materiais alternativos que possam vir a substituir o EPS, minimizando a sua elevada produção e os impactos gerados ao meio ambiente após o seu descarte.

### 3.2 PRODUÇÃO DE BIOESPUMAS EMPREGANDO MACROFUNGOS

O termo bioespuma refere-se a um material de origem natural e biodegradável, desenvolvido para substituir o EPS. Um composto, com esta denominação, foi desenvolvido e patenteado pela empresa Kehl, produzido à base de biomassa – resinas obtidas de milho, arroz, caju, cana-de-açúcar, soja e mamona – sendo uma espuma poliuretana biodegradável, onde a ligação uretana é a principal responsável pelas propriedades de textura, densidade e resistência à compressão, semelhantes às do EPS. A grande vantagem do material desenvolvido é o tempo de degradação na natureza, pois no solo e na presença de oxigênio, degrada em dois anos; sem oxigênio, por sua vez, pode levar até três anos para completa degradação (ERENO, 2007).

A produção de bioespumas empregando macrofungos vem sendo vista como uma alternativa para a substituição de plásticos sintéticos expandidos. Nos Estados Unidos, em 2011, a empresa Ecovative Design LLC patenteou um processo de produção de bioespumas com fungos. Nessa patente, é relatado o emprego dos fungos *Pleurotus ostreatus*, *Fomes fomentarius*, *Ganoderma applanatum*, *Inonotus obliquus* entre outros, tendo como substratos resíduos agrícolas, como a casca de arroz, trigo ou sementes do algodão (BAYER & MCINTYRE, 2011).

Os produtos desenvolvidos pela Ecovative são apresentados na Figura 2, sendo embalagens (Figura 2A), placas para isolamento acústico (Figura 2B), cantoneiras para eletrodomésticos (Figura 2C) e bandejas para o cultivo e para o desenvolvimento de mudas de interesse agroindustrial (Figura 2D).

Segundo os pesquisadores da Ecovative, este material foi desenvolvido com o intuito de competir com materiais produzidos a partir de petróleo e gás natural, aproveitando material de agroindústria sem a devida utilização, tornando-se uma alternativa ecologicamente vantajosa em relação ao EPS. Além disso, estes materiais podem ser moldados de qualquer forma, possuem baixo custo de produção e podem ser reutilizados ou aplicados como fertilizante (BAYER & MCINTYRE, 2011).



**Figura 2** - Aplicações das bioespumas desenvolvidas a partir da biomassa fúngica (A) embalagens para bebidas; (B) chapas para construção civil; (C) cantoneiras para embalagens de eletrodomésticos; (D) bases para o crescimento de mudas de interesse agrônômico.

**Fonte:** Ecovative®

A bioespuma desenvolvida pela Kehl possui diversas aplicações direcionadas para a agricultura e jardinagem. Pode ser usada como suporte com nutrientes agregados para o plantio de mudas e sementes, onde são plantadas na própria bioespuma e a planta absorve desta os nutrientes, os quais são agregados durante o desenvolvimento da mesma. Depois que a planta já está crescida, pode ser transplantada diretamente para o solo com a própria espuma onde foi plantada; a bioespuma se degrada no solo e acaba servindo como adubo. Porém, segundo Ereno (2007), a bioespuma é produzida pela combinação de biomassa das resinas vegetais e de derivados de petróleo, que entram, em até 50% da composição, não extinguindo a utilização do mesmo.

Em contrapartida, as bioespumas de macrofungos, além de não possuir derivados de petróleo em sua constituição, podem ser empregadas como um fertilizante agrícola após seu uso. Isto porque o substrato utilizado para o crescimento dos micélios fúngicos é de origem agroindustrial e, associado ao desenvolvimento do macrofungo, torna-se uma bioespuma totalmente natural, sem adição de produtos nocivos ao meio ou de fonte não renovável.

A utilização do composto após o seu uso como fertilizante agrícola possibilita o fornecimento de nutrientes para as plantas e, como condicionador do solo, melhora suas propriedades físicas e químicas, reduzindo a perda de água por infiltração, aumentando a

capacidade de retenção de umidade, melhorando a densidade e a aeração (MAFF, 2004 apud RIBAS, 2009). A adição de composto residual no meio aumenta a quantidade de matéria orgânica melhorando a estrutura dos solos (CHANG, 1987; GUO; CHOROVER; FOX, 2001; MAHER *et al.*, 2000).

Segundo Chang (1987), a matéria orgânica, composta por lignocelulose parcialmente degradada, quando incorporada ao solo, é degradada pelos microrganismos nativos, resultando em húmus, constituinte fundamental na fertilidade de solos. Desse modo, devido à bioespuma conter essas características, mostra-se uma alternativa após seu uso na realização desse processo.

Com base no exposto, verifica-se a viabilidade de incorporação das bioespumas em solo, tanto para avaliar o comportamento do material no meio, quanto para avaliar o potencial de fertilização atribuído ao vegetal em estudo, além de facilitar no descarte final do material produzido.

### 3.3 SUBSTRATOS PARA A PRODUÇÃO DAS BIOESPUMAS UTILIZANDO MACROFUNGOS

Estima-se que 50% de toda a biomassa disponível no mundo seja composta por complexo lignocelulósico, o que comprova seu potencial como matéria-prima para o desenvolvimento de produtos biotecnológicos (SINGHANIA *et al.*, 2010). Entre as fontes de biomassa lignocelulósica disponíveis estão os resíduos agrícolas, como palhas de milho, de arroz e de trigo, bagaço de cana-de-açúcar, sabugo de milho, resíduos florestais, como a madeira, resíduos industriais como a celulose do processamento de papel, resíduos orgânicos urbanos e culturas energéticas, como gramíneas (KNAUF & MONIRUZZAMAN, 2004).

A celulose, a hemicelulose e a lignina, os três maiores constituintes da parede celular dos vegetais, unidos entre si por ligações covalentes, formam uma rede complexa resistente aos ataques microbianos. Esses componentes constituem de 97 a 99% da massa seca dos lignocelulósicos, cujas proporções podem ser distintas, dependendo do vegetal (MOSIER *et al.*, 2005). Outros componentes poliméricos como pectina e extratos estão presentes em menores quantidades nas paredes celulares vegetais (MARTÍN *et al.*, 2007).

Cabe considerar que é notável o aumento na geração de resíduos lignocelulósicos por atividades da agricultura e agroindústrias nos últimos anos (SPÅNGBERG *et al.*, 2014). A modernização dos processos industriais promoveu incrementos na produção e, em



consequência, o aumento na geração de resíduos. Nesse sentido, o interesse na utilização de matérias-primas agroindustriais proporcionou o desenvolvimento de bioprocessos baseados no emprego dessas fontes como substratos para a produção de proteínas isoladas, ácidos orgânicos, etanol, cogumelos comestíveis, enzimas e metabólitos secundários biologicamente importantes (PANDEY *et al.*, 1999; MASSADEH *et al.*, 2001; ROSALES *et al.*, 2002; LAUFENDERG *et al.*, 2003; ORTIZ e OLIVEIRA, 2014).

As fibras lignocelulósicas apresentam entre suas propriedades, a de ser higroscópica (d'Almeida *et al.*, 2013), uma característica relevante no que diz respeito à produção de bioespumas em que a matriz é constituída por micélio de fungos basidiomicetos. Segundo Tavares *et al.* (2013), para o fungo colonizar a fibra, é necessário haver baixa umidade no sistema e uma atividade de água inferior a 0,99.

### **3.3.1 Serragem**

A serragem constitui um dos resíduos gerados em grandes quantidades, no Brasil, são geradas aproximadamente 620 mil toneladas de serragem por ano o que, em sua imensa maioria, é queimada a céu aberto, descartadas no ambiente ou removidas para aterros inadequados, provocando danos ao meio ambiente, principalmente em córregos, rios e mananciais de uso municipal (SILVA, 2004). Estudos mostram que a perda econômica, considerando apenas o potencial energético do resíduo gerado em forma de serragem, pode chegar a US\$ 12 por metro cúbico de madeira serrada (WANDER, 2001).

De acordo com dados do Sindicato Intermunicipal das Indústrias Madeireiras, Serrarias, Carpintarias, Tanoarias, Esquadrias, Marcenarias, Móveis, Madeiras Compensadas e Laminadas e Chapas de Fibras de Madeiras do Estado do Rio Grande do Sul, estima-se que uma serraria de porte médio, por exemplo, destinada a produzir 2000 metros cúbicos de madeira serrada de eucalipto por mês, gera, aproximadamente, 78 toneladas de serragem e 132 toneladas de cascas (SINDIMADEIRAS, 2015).

### **3.3.2 Grão e farelo de trigo**

O trigo é uma gramínea de ciclo anual. Em razão da necessidade de temperaturas mais amenas para o desenvolvimento, sua produção no Brasil oscila próximo a 6 milhões de

toneladas, com cultivo nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste. Segundo EMBRAPA (2016), cerca de 90% da produção de trigo concentra-se na região Sul.

O grão de trigo, como nutriente na composição de meios de cultivo sólido, é fonte de carboidratos solúveis e carboidratos totais, em torno de 2,0 e 68,2 g para cada 100 gramas de trigo, respectivamente, 1716,0 mg.kg<sup>-1</sup> de nitrogênio e 4,8 g kg<sup>-1</sup> de fósforo (PENARIOL, 2006).

No processo de moagem do grão de trigo, é originada a farinha (75%) e ao farelo de trigo (25%). O farelo de trigo é a parte externa do grão de trigo, e atualmente, é muito utilizado na indústria alimentícia (ABITRIGO, 2016). Sua composição nutricional em meios de cultura sólidos elaborados com resíduos agroindustriais é caracterizada pela presença de 3,8 e 21,1 g para cada 100 gramas de farelo de trigo de carboidratos solúveis e carboidratos totais, respectivamente, com 0,54 mg kg<sup>-1</sup> de nitrogênio e 5,5 g kg<sup>-1</sup> de fósforo, apresentando diversas aplicações no cultivo de microrganismos (PENARIOL, 2006).

Entre as aplicações, o farelo de trigo é utilizado em cultivos microbianos em estado sólido e submerso, com objetivo de produção de enzimas e outros metabólitos. Fontana (2009) destaca a produção de poligalacturonase por *Aspergillus niger* em meio formulado com farelo de trigo em cultivo submerso, justificado pela composição do substrato, rico em carboidratos solúveis e insolúveis e proteínas (MALVESSI & SILVEIRA, 2004). Estudos avaliaram a produção de lípases a partir de fermentação em estado sólido em meio de farelo de trigo, onde satisfatórios valores de atividade foram obtidos (MESSIAS, *et al.*, 2011).

### 3.4 FUNGOS LIGNOCELULOLÍTICOS

Os macrofungos possuem o importante papel de decompositores na natureza, desenvolvendo-se sobre material orgânico, restos de animais e vegetais, levando à formação de substâncias mais simples, possibilitando a decomposição e posterior utilização de seus compostos pelos vegetais, o que favorece o desenvolvimento de diversas formas de vida (BONONI *et al.*, 1999).

A produção de macrofungos utilizando resíduos agroindustriais de natureza lignocelulósica vem se expandindo em todo o mundo, inclusive no Brasil (RIBAS, 2009). Estudos indicam diversas aplicações tecnológicas potenciais, que vão desde a produção de cogumelos comestíveis, medicinais, produção de enzimas (lacases, fitases) até a obtenção de substâncias com atividades farmacêuticas, através do cultivo micelial em meios sólidos e

líquidos (KARP *et al.*, 2012; NAVEGANTES *et al.*, 2012; SALMON *et al.*, 2012; SPIER *et al.*, 2012).

Fungos basidiomicetos lignocelulolíticos são capazes de degradar uma série de compostos orgânicos persistentes, tais como a lignina e diversas classes de poluentes com pouca ou nenhuma homologia estrutural com a lignina. A degradação da lignina e de outros compostos recalcitrantes por basidiomicetos é um processo de co-metabolismo, mediado pela ação coordenada de um sistema enzimático e de vários metabólitos de baixa massa molecular (TUOMELA *et al.* 2000).

Segundo Bellettini (2014), o cultivo de macrofungos é de extrema importância na área biotecnológica, destacando a produção de fármacos, alimentos e enzimas. Além destas aplicações, cabe ressaltar a sua importância na produção de bioespuma, onde diversos fungos basidiomicetos lignocelulolíticos podem ser empregados. Neste contexto, algumas espécies regionais de macrofungos foram selecionadas e são descritas a seguir.

#### **3.4.1 *Trametes villosa***

*Trametes villosa* (Sw.) Kreisel (Figura 3) é um fungo basidiomiceto lignícola, comumente encontrado no Brasil, pertencente ao reino Fungi, Filo Basidiomycota e Família Polyporaceae.

Na literatura, esse fungo é referenciado como potencial para a produção de enzimas, biodegradação de pentaclorofenol e em processos de biorremediação de solos contaminados com organoclorados (BUKH, *et al.*, 2006; BASTO, *et al.*, 2007). Estudos demonstraram a capacidade do gênero *Trametes* para a produção de enzimas ligninolíticas extracelulares e para descolorir corantes de efluentes provenientes da indústria de couro (ORTIZ-MONSALVE, 2015).

Estudos prévios realizados no Laboratório de Enzimas e Biomassa da Universidade de Caxias do Sul (UCS) indicam que esse fungo apresenta rápido crescimento em meio artificial (ROSA, 2013). Entre os macrofungos que apresentam uma efetiva biodegradação de materiais lignocelulósicos, devido à síntese de enzimas oxidativas capazes de degradar constituintes primários da madeira (FERRAZ, 2004) destaca-se o *Trametes villosa* (OKINO *et al.*, 2007). Segundo Costa *et al.* (2011), os materiais lignocelulósicos degradados por essa linhagem adquirem uma aparência esbranquiçada e se rompem facilmente no sentido das fibras.

São reportados pela intrínseca participação na decomposição e nos ciclos biogeoquímicos da biomassa lignocelulósica, essencial para o funcionamento dos ecossistemas (TUOMELA, 2000). Conforme Kirk & Cullen (1998), possuem a capacidade de despolimerizar e mineralizar completamente a lignina em CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O: ligninólise, favorecendo o ciclo do carbono nos ecossistemas terrestres.



**Figura 3** - *Trametes villosa* coletado em Caçapava do Sul, RS/Brasil.

**Foto:** Letícia Osório da Rosa

### 3.4.2 *Lentinus velutinus*

O fungo *L. velutinus* Fr. (Lentinaceae – Poriales) (Hawksworth, *et al.*, 2001) se desenvolve em lugares sombreados, em selvas tropicais e subtropicais. Apresenta um estipe central e um píleo marrom escuro a marrom-chocolate, em forma de funil (Figura 4).

Os corpos de frutificação de *L. velutinus* se desenvolvem a partir de um pseudosclerócio, constituído por troncos de madeira e raízes, irregularmente fusionados com hifas, que são geralmente ocultas sob o solo. O pseudoesclerócio de *L. velutinus* é resistente à combustão, fato este atribuído à ação do fungo, uma vez que este retarda a putrefação da madeira, permitindo que o pseudoscleródio permaneça indelével no manto orgânico, mesmo após a completa decomposição da árvore da qual pertencia (KELLER, 2008).

Estudos comprovaram a ocorrência de enzimas com potencial biotecnológico em isolados da linhagem, sendo identificada a produção de proteases e lipases (SANTOS *et al.*, 2015).



**Figura 4** - *Lentinus velutinus* coletado em Bom Jesus, RS/Brasil.

**Foto:** Letícia Osório da Rosa

### 3.4.3 *Pycnoporus sanguineus*

*P. sanguineus* (Figura 5) é popularmente conhecido por “orelha-de-pau” e pertence à família Polyporaceae. Essa espécie tem ampla ocorrência, sendo muito comum no Rio Grande do Sul/Brasil. Desenvolvem-se em locais ensolarados, sobre postes, troncos caídos, madeiras de construção, podendo crescer tanto em plantas vivas como mortas. É facilmente reconhecível por sua intensa cor laranja avermelhada e a madeira tingem-se da mesma cor do píleo devido à parte vegetativa (micélio) que nela se alastra (GERRERO & HOMRICH, 1999).

Segundo Castilho & Dermoulin (1997), *P. sanguineus* é muito sensível à salinidade, porém, é tolerante a amplas variações de temperatura, suportando, inclusive, temperaturas superiores a 50°C. *P. sanguineus* é uma espécie eutérmica, o que explica sua ocorrência em todas as estações do ano.

Na literatura são relatados estudos sobre a produção do antibiótico cinabarina por este macrofungo, em meio composto por resíduos lignocelulósicos como substrato (BAUMER, 2009). Outras aplicações estão relacionadas à produção de lacase e descolorimento de corantes em efluentes (PINKOSKI, 1997), no tratamento de efluente da indústria farmacêutica (WATANABE *et al.*, 2006), na produção de lacase para utilização em biorremediação do 17- $\alpha$ -etinilestradiol (GOLVEIA, 2016).

Destaca-se seu uso por ter atividade antimicrobiana e na indução de resistência e ativação de enzimas de defesa em feijoeiro (VIECELLI *et al.*, 2010), como peroxidase, polifenoloxidase e  $\beta$ -1,3-glucanase, além de sua influência nos teores de proteínas e clorofilas

(GOLVEIA, 2016). Gil *et al.* (2008), relatam o uso extrato enzimático bruto obtido de culturas de *P. sanguineus* em biossensores de pasta de carbono modificados com aplicabilidade em águas residuárias na detecção de compostos fenólicos.



**Figura 5** - *Pycnoporus sanguineus* coletado em São Francisco de Paula, RS/Brasil.

**Foto:** Letícia Osório da Rosa.

#### 3.4.4 *Pleurotus djamor*

Também denominado de *Pleurotus ostreato-roseus* (Figura 6), é um macrofungo cujos basidiocarpos dessa variedade são rosados ou rosa-salmão quando jovem e descolorem-se à rosa pálido, de esbranquiçado ao amarelado com o passar do tempo. Esse macrofungo é um representante que ocorre em remanescentes da Mata Atlântica, no estado de Pernambuco e também na mata atlântica do RS (OLIVEIRA *et al.*, 2004).

*P. djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn é uma espécie de rápido crescimento, comestível e muito utilizada na culinária, com destaque na decoração de pratos. Cogumelos comestíveis se caracterizam por serem macrofungos com alto valor nutricional, possuindo, ainda, propriedades terapêuticas e aplicações biotecnológicas. Polissacarídeos sintetizados pelo gênero *Pleurotus*, entre estes, os  $\beta$ -glucanos, são considerados os principais responsáveis por suas propriedades terapêuticas, como a atividade antitumoral (DE BARBA, 2010). Os polissacarídeos pertencem a uma classe de imunoterapêuticos que inibem ou eliminam o crescimento de células cancerígenas, ativando e reforçando as funções imunológicas do hospedeiro (POLI, 2013).

O gênero *Pleurotus* possui um complexo enzimático lignocelulolítico com enzimas como celulase, ligninase, celobiase, lacase e hemicelulase (PERALTA, 2008). Este complexo

enzimático pode ser utilizado na indústria de fármacos, na biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos aromáticos, na degradação de poluentes ambientais e no tratamento de efluentes industriais (ELISASHVILI *et al.*, 2007).

Em estudos de avaliação de potencial nutricional, foi verificado que o macrofungo *P. djamor* pode ser considerado fonte de P, K e Cr. Ainda, apresenta baixo teor de carboidratos, não contém gordura e pode contribuir com o aporte de vitaminas B1 e B2 (RAMPINELLI, 2009).

Na literatura, há diversos relatos de que extratos contendo substâncias de fungos dessa espécie apresentam atividade antilipídica (JEGADEESH *et al.*, 2014), ou seja, são capazes de incrementar o número de células do sistema imunológico (RAAMAN *et al.*, 2011 e 2012) e também para a produção de enzimas (PERIASAMY e NATARAJAN, 2004).

O gênero de *P. ostreatus* foi o primeiro macrofungo a ser testado pela empresa Ecovative para a produção de bioespumas, tendo como substrato, farinha de trigo integral e vermiculita (ZELLER & ZOCHER, 2012).



**Figura 6 - *Pleurotus djamor***  
**Foto:** Letícia Osório da Rosa.

#### **3.4.5 *Pleurotus albidus***

*P. albidus*, segundo Lechner & Albertó (2011), *P. albidus* (Berk) Pegler (Figura 7) trata-se de uma espécie saprófita e comestível, pertencente à família Pleurotaceae, da ordem Agaricales. Fungos basidiomicetos do gênero *Pleurotus* sintetizam diferentes enzimas hidrolíticas e oxidativas. As enzimas ligninocelulolíticas têm aplicações nas indústrias de papel, têxtil, alimentos, ração animal, dentre outras. Além de serem empregadas em processos de produção, essas enzimas têm sido utilizadas na degradação de uma variedade de

compostos, como pesticidas, corantes têxteis, efluentes e poluentes com efeitos endócrinos (COHEN *et al.*, 2002, DELLAMATRICE & MONTEIRO, 2006).

Moreno-Fuentes & Bautista-Nava (2006), realizaram estudos etnomicológicos com espécies como *P. albidus*. Há relatos da degradação de compostos poluentes utilizando enzimas lignocelulolíticas como lacase, peroxidase e manganês peroxidase sintetizadas pelo macrofungo *P. albidus* cultivados em vinhaça (Souza & Monteiro, 2015).

Na literatura, há relatos da identificação da espécie e de seu aproveitamento para produção de fenol-oxidases (ROSA, 2013) e também na composição de barras de cereais (KIRSCH, 2013). Ocorre no nordeste e no centro da Argentina e, no Brasil, no norte (Amazonas) e no sudeste (Minas Gerais), conforme Capelari *et al.* (2012) e também no Rio Grande do Sul (ROSA, 2013).



**Figura 7** - *Pleurotus albidus* RS coletado em São Francisco de Paula, RS/Brasil.

**Foto:** Letícia Osório da Rosa.

#### **3.4.6 *Xylaria* sp.**

*Xylaria* (Figura 8) é um gênero de fungos ascomicetos decompositores de madeira, do filo Ascomycota e pertencente à família Xylariaceae. Na literatura, há relatos do emprego de fungos desse gênero para decomposição de madeira (NEGRÃO *et al.*, 2014), produção de substâncias antibacterianas (RATNAWEERA *et al.*, 2014), como endofíticos na agricultura (HIGGINBOTHAM *et al.*, 2013; SANTOS & VARAVALLO, 2011), na produção de fitase em cultivo em estado sólido em meio de farelo de trigo (CUNHA *et al.*, 2015), na produção de metabólitos com atividade antifúngica em potencial, conduzidos em cultivo sólido em meio baseado em milho (CAFÊU, *et al.*, 2005).





**Figura 8** - *Xylaria* sp. RS coletado em São Francisco de Paula, RS/Brasil  
**Foto:** Letícia Osório da Rosa.

Considerando os macrofungos apresentados e os substratos normalmente utilizados para seu desenvolvimento micelial, este estudo se propõe a obter e posteriormente a caracterizar bioespumas empregando os diferentes macrofungos, em comparação ao poliestireno expandido. Adicionalmente, considerando também o diferencial das bioespumas como compostos biodegradáveis e com potencial para serem aproveitadas como fertilizantes, realizou-se estudo da incorporação destas no solo em plantio de alfaces.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAIS

As linhagens fúngicas são procedentes da Coleção de Macrofungos do Laboratório de Enzimas e Biomassas da Universidade de Caxias do Sul, incorporados no acervo da Micoteca da Universidade de Caxias do Sul (MIUCS)/Herbário da Universidade de Caxias do Sul (HUCS). Foram selecionadas a partir de suas características, por serem linhagens regionais e por alguns serem espécies comestíveis.

Os macrofungos *T. villosa* - 82I.6 (MIUCS 2081), *L. velutinus* - 108H.18 (MIUCS 1196), *P. sanguineus* - 14G (MIUCS 778), *P. albidus* - 88F.13 (MIUCS 1586), *Xylaria* sp. - 158F.16 (MIUCS 1586) foram isolados no parque da Pedra do Segredo, Caçapava do Sul, RS; na Fazenda do Cilho/Família Borges, em Bom Jesus, RS; e na Fazenda dos Novilhos/Família Osório, em São Francisco de Paula, RS (ROSA, 2013) respectivamente, no Brasil. Para os testes com macrofungo *P. djamor*, a linhagem utilizada foi comercial.

A serragem utilizada foi doada por uma madeireira de Caxias do Sul, como resíduo de processo, proveniente de madeira de *Pinus* sp. não tratada. O trigo foi adquirido comercialmente, bem como o carbonato de cálcio e o EPS.

O solo comercial utilizado na mistura das bioespumas foi da marca Beifort S-10<sub>B</sub> adquirido em uma agropecuária de Caxias do Sul.

### 4.2 MÉTODOS

#### 4.2.1 Meio de cultivo para a manutenção das linhagens

As linhagens foram mantidas em meio ágar serragem (MS) de *Pinus* sp., composto por: 2% (m/m) de serragem moída (*Pinus* sp.), 2% (m/m) de farelo de trigo moído, 2% (m/m) de ágar-ágar e 0,2% (m/m) de carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>), tendo o volume completado com água destilada. O meio foi esterilizado em autoclave por 30 min, a 1 atm.

Após resfriamento a temperatura ambiente, os meios foram vertidos em placas de Petri e inoculados com um disco de 1,5 cm contendo o micélio das respectivas culturas, sendo incubadas em câmara de germinação, marca Oxylab®, a 28°C. Posterior ao período de

crescimento micelial (~10 dias), as placas foram armazenadas a 4°C em geladeira (Eletrolux®, modelo R270 Smile).

Todas as linhagens foram mantidas em meio MS e empregadas para a produção de bioespumas em duas espessuras diferentes. Com o intuito de compará-las ao poliestireno expandido, levaram-se em conta as espessuras do EPS existentes no mercado. Assim, foram utilizados 3 e 25 mm de espessura, denominados como BS3 e BS25, respectivamente.

#### **4.2.2 Meio de cultivo e desenvolvimento do micélio para produção das bioespumas BS3**

O meio de cultivo utilizado para a produção da bioespuma BS3, se constituiu de farelo de trigo ou serragem água destilada na proporção 1:2 (m.v<sup>-1</sup>) e 1% de carbonato de cálcio.

O inóculo foi realizado a partir de um disco de 1,5 cm contendo o micélio do respectivo macrofungo, para todas as linhagens em estudo.

#### **4.2.3 Meio de cultivo e desenvolvimento do micélio para produção das bioespumas BS25**

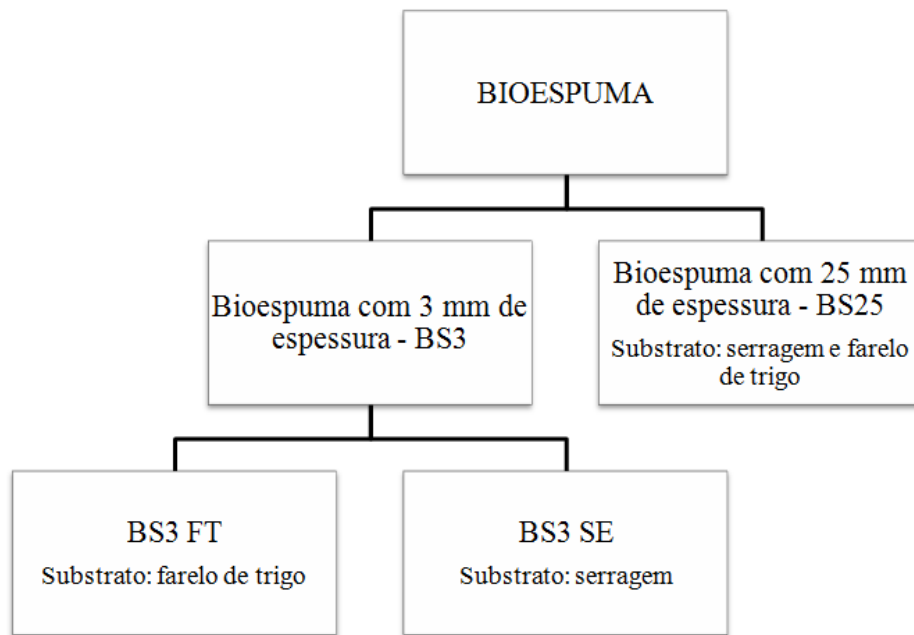
O meio de pré-inóculo utilizado para o desenvolvimento dos microrganismos se constituiu de grão de trigo, carbonato de cálcio, água destilada e 50% do meio contendo o respectivo micélio para todas as linhagens em estudo.

O meio de cultivo para o desenvolvimento do micélio e para a produção da bioespuma foi preparado com serragem e farelo de trigo, em estado sólido, a partir do meio de cultivo básico (TAN & WAHAB, 1997), descrito a seguir:

- 94% (m.m<sup>-1</sup>) de serragem de *Pinus* spp.;
- 5% (m.m<sup>-1</sup>) de farelo de trigo;
- 1% (m.m<sup>-1</sup>) de carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>);
- umidade da mistura ajustada para 66%.

### **4.3 PREPARAÇÃO DAS BIOESPUMAS**

Foram desenvolvidas duas modalidades diferentes para a bioespuma BS3 alterando o substrato base, sendo o farelo de trigo (FT) ou a serragem (SE). Para a produção da bioespuma BS25 o meio utilizado foi a mistura destes constituintes (Figura 9).



**Figura 9** – Representação esquemática das bioespumas produzidas.

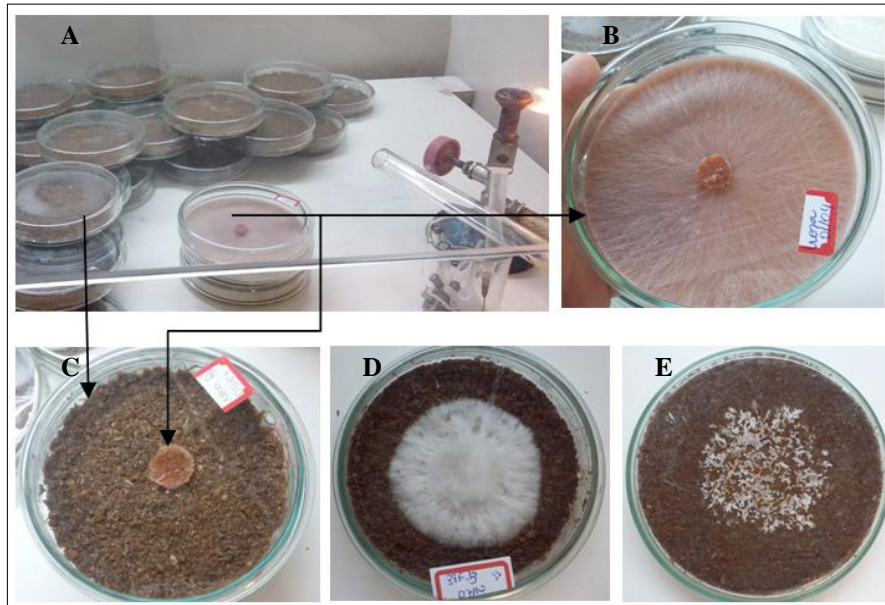
A produção de bioespumas foi obtida conforme os métodos descritos a seguir.

#### 4.3.1 Bioespuma BS3

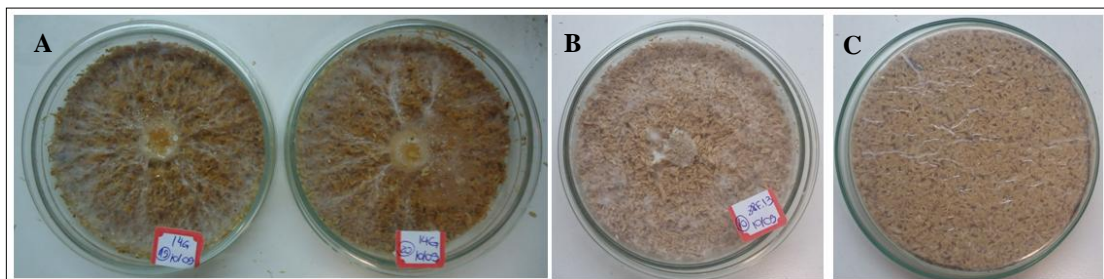
Após a homogeneização manual do farelo de trigo ou serragem, da água destilada e do carbonato de cálcio, os meios foram dispostos em placas de Petri de 98 mm × 19 mm (diâmetro × espessura) e esterilizados por 120 minutos, a 1atm. Foi inserida na placa uma quantidade de meio correspondente a 3 mm de altura, em torno de 8 g de meio.

Após o resfriamento a temperatura ambiente,  $18 \pm 2^\circ\text{C}$ , foi realizada a inoculação, onde foi inserido sobre a superfície do meio um disco de 1,5 cm do meio MS contendo o micélio (Figura 10). Na sequência, os meios foram incubados em estufa a  $24^\circ\text{C}$ , até a total colonização do substrato (Figura 11). A colonização foi avaliada a partir da análise da área de crescimento micelial medida a cada três dias de cultivo, utilizando paquímetro.

O experimento foi realizado com vinte repetições para cada linhagem de micorganismos.



**Figura 10** – Processo de produção da bioespuma BS3 FT. (A) placas com meio de farelo de trigo e placas com meio MS com micélio crescido; (B) detalhe de uma placa com o micélio desenvolvido; (C) placa com meio de farelo de trigo e inóculo, um disco de 1,5 cm contendo o micélio de cada macrofungo; (D) vista superior do desenvolvimento da bioespuma BS3 FT de *Pleurotus albidus* em 7 dias de cultivo e (E) vista inferior do desenvolvimento da bioespuma BS3 FT de *Pleurotus albidus* em 7 dias de cultivo.

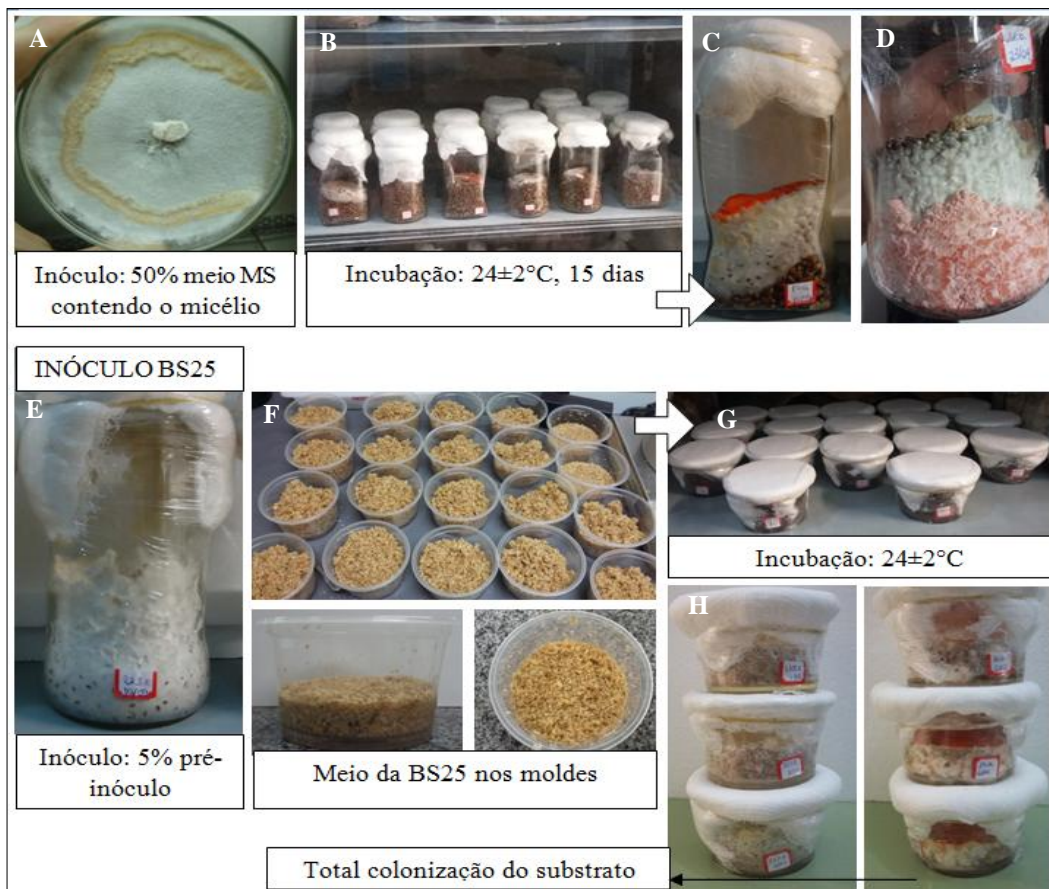


**Figura 11** – Representação da colonização do substrato da bioespuma BS3 SE. (A) vista superior da BS3 SE de *Pycnoporus sanguineus*; (B) vista superior da BS3 SE de *Pleurotus albidus* e (C) vista inferior da BS3 SE de *Pleurotus albidus*.

#### 4.3.2 Bioespuma BS25

Para o desenvolvimento do micélio foi realizado o pré-inóculo com grão de trigo como substrato, onde o meio foi disposto em frascos de vidro e esterilizados por 180 minutos, a 1atm. Após o resfriamento à temperatura ambiente, foi realizado o inóculo, dispondo-se 50% do meio MS contendo o micélio de cada linhagem de macrofungo sobre a superfície do meio contido nos frascos de vidro. Posteriormente, as culturas foram incubadas a  $24 \pm 2^\circ\text{C}$  por um período de 15 dias.

Os meios de cultivo para o desenvolvimento do micélio e para a produção da bioespuma foram dispostos em moldes plásticos de 10 cm × 6 cm (diâmetro × espessura), contemplando massa média de 70 g de meio, o que corresponde a 25 mm de altura. Os meios foram esterilizados em autoclave por 180 minutos, a 1atm. A inoculação foi realizada após o resfriamento a temperatura ambiente, inserindo-se 5% (m/m) do pré-inóculo contendo o micélio e, posteriormente, incubados a  $24 \pm 2^\circ\text{C}$  até a total colonização do substrato. A Figura 12 mostra o fluxograma do processo de produção das bioespumas BS25.



**Figura 12** – Processo de produção das bioespumas BS25. (A) placa com meio MS contendo o micélio desenvolvido; (B) frascos contendo grão de trigo e inóculo (50% do meio MS contendo o micélio) incubados em estufa; (C) detalhe do crescimento do macrofungo *Pycnoporus sanguineus*; (D) detalhe do crescimento de *Pleurotus djamor*; (E) detalhe do pré-inóculo de *Trametes villosa*; (F) disposição dos meios da BS25 nos moldes plásticos, vista lateral e superior; (G) meio de BS25 inoculados com 5% do pré-inóculo e incubados em estufa e (H) detalhe das BS25 obtidas ao final do cultivo.

## 4.4 CARACTERIZAÇÃO DAS BIOESPUMAS

As bioespumas produzidas foram caracterizadas pelas suas propriedades físicas, morfológicas, químicas, térmicas e mecânicas.

### 4.4.1 Avaliação do crescimento micelial das bioespumas

Para avaliar o crescimento micelial das bioespumas foi utilizado um paquímetro para a medição da área de crescimento do macrofungo. A análise foi realizada diariamente para as BS3. O período de monitoramento foi de agosto 2014 a dezembro 2015, no Laboratório de Enzimas e Biomassa, na Universidade de Caxias do Sul.

### 4.4.2 Análise morfológica das bioespumas

A análise morfológica foi realizada com o intuito de avaliar a microestrutura das bioespumas e do EPS. Foi empregado um microscópio eletrônico de varredura de emissão de campo (MEV-FEG) da marca TESCAN, modelo MIRA3, do Laboratório Central de Micrografia Prof. Israel Baumvol da Universidade de Caxias do Sul. Todas as amostras foram recobertas com uma fina camada de ouro antes da análise, e aplicada uma tensão de aceleração de 15kV.

### 4.4.3 Determinação da densidade das bioespumas

A densidade de cada corpo de prova foi calculada utilizando a Equação 1, sendo expressa com base no valor médio de três corpos de prova de cada bioespuma produzida em comparação com a densidade do EPS.

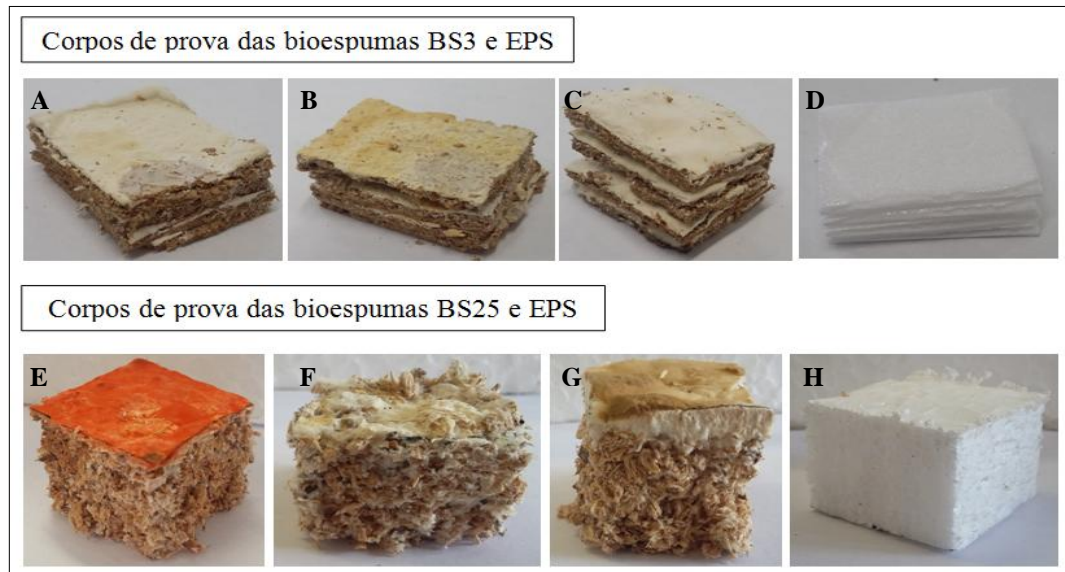
$$d = \frac{m}{v} \quad (1)$$

Sendo  $d$  a densidade em  $\text{g.cm}^{-3}$ ,  $m$  a massa do compósito em g e  $v$  o volume da amostra em  $\text{cm}^3$ .

### 4.4.4 Avaliação da propriedade mecânica de resistência à compressão

A avaliação da resistência à compressão para as BS3 foram realizadas por empilhamento com 4 corpos de prova, totalizando  $25 \times 25 \times 12$  (comprimento  $\times$  largura  $\times$

espessura). Para as BS25 o ensaio foi executado a partir de corpos de provas de  $25 \times 25 \times 25$  mm (comprimento  $\times$  largura  $\times$  espessura), em um equipamento de ensaio universal modelo EMIC DL-2000, na velocidade foi de  $50 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$  do Laboratório de Polímeros da UCS. Os ensaios para o poliestireno expandido e para as bioespumas foram realizados em triplicatas com célula de carga de 100 kg. A Figura 13 apresenta os corpos de prova utilizados para o ensaio de resistência à compressão.



**Figura 13** – Corpos de prova utilizados para os ensaios de resistência à compressão. (A) amostra de BS3 FT de *Pleurotus albidus*; (B) amostra de BS3 FT de *Pleurotus djamor*; (C) amostra de BS3 FT de *Trametes villosa*; (D) amostra de EPS comercial com 3 mm de espessura; (E) amostra de BS25 de *Pycnoporus sanguineus*; (F) amostra de BS25 de *Pleurotus albidus*; (G) amostra de BS25 de *Lentinus velutinus* e (H) amostra de EPS comercial com 25 mm de espessura.

#### 4.4.5 Determinação das propriedades térmicas

As propriedades térmicas foram avaliadas por termogravimétrica (TG) em um equipamento Shimadzu modelo TGA-50, a uma taxa de aquecimento de  $10^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ , em um intervalo de temperatura de  $28^\circ\text{C}$  a  $810^\circ\text{C}$ , em atmosfera de  $\text{N}_2$ . A massa para cada amostra foi de aproximadamente 10 mg. O equipamento de análise térmica pertence ao Laboratório de Polímeros da UCS.

#### 4.4.6 Avaliação da composição química

Para avaliar a composição química das bioespumas e confirmar os grupos presentes no EPS, foi realizada a técnica de Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier



(FTIR) em um equipamento da marca Nicolet, modelo IS10, Termo Scientific. A faixa de número de onda utilizada foi de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ , utilizando-se a técnica de refletância total atenuada (ATR).

#### 4.4.7 Avaliação da incorporação das bioespumas BS25 em solo sob cultivo de alface

O experimento foi conduzido em uma estufa coberta situada na Universidade de Caxias do Sul, RS, localizada geograficamente sob as coordenadas latitude S 29°16'32", longitude O 51°14'37" e altitude de 732 m. O experimento foi realizado durante o período do verão de 24 de fevereiro de 2016 a 29 de março de 2016.

Para realizar o teste de avaliação da bioespuma sob o cultivo de alface, foram utilizadas mudas de *Lactuca sativa* com aproximadamente 20 dias, adquiridas comercialmente.

Foram utilizadas as bioespumas produzidas a partir das espécies de macrofungos regionais *T. villosa*, *L. velutinus*, *P. sanguineus*, *P. albidus*, *P. djamor* e *Xylaria* sp. no cultivo de alface *L. sativa*.

Foi avaliado o crescimento de alface em meio contendo 100% de bioespuma de todas as espécies de macrofungos estudadas e em meio contendo 50% de bioespuma e 50% de solo comercial. Dois controles foram empregados: o crescimento de alface em solo comercial e o outro em meio de cultivo da bioespuma sem a colonização pelo micélio. Foram realizadas 4 repetições para cada condição, totalizando 56 vasos para cultivo (Figura 14).



**Figura 14** – Avaliação do comportamento da bioespuma em cultivo de alface *Lactuca sativa* em estufa localizada na Universidade de Caxias do Sul, durante 35 dias.

Os substratos utilizados para o experimento estão apresentados na Tabela 1 juntamente com a sua codificação.

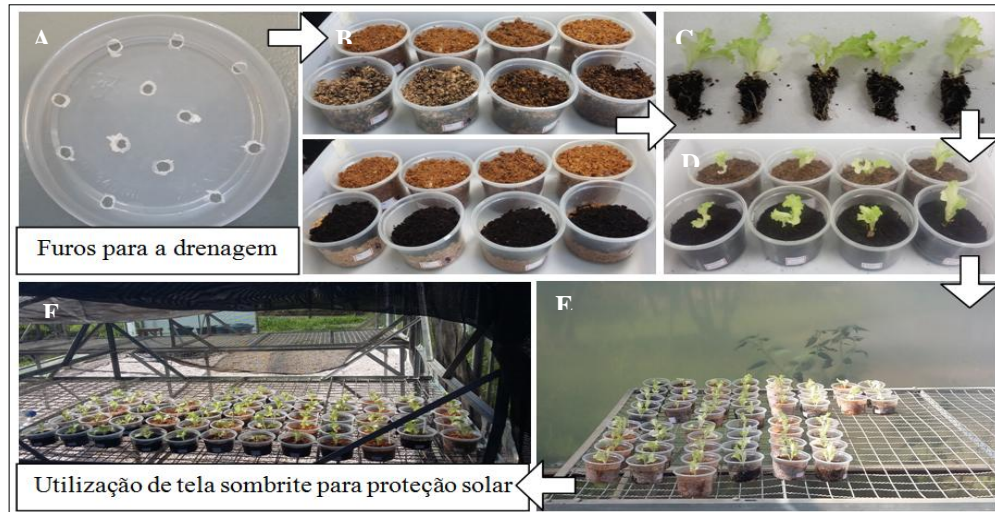
Os substratos foram colocados em potes de polipropileno de 270 mL adicionando-se 90 g de solo comercial; solo/bioespuma (50% cada) ou bioespuma. A alface utilizada foi *L.*

*sativa*, selecionada por ser padrão e líder de mercado, com plantas de porte grande, com folhas de coloração verde claro e apresentando alta resistência ao pendoamento precoce (BELLETTINI, 2014).

Após o preparo das diferentes condições para o cultivo e transplantadas as mudas de alface, a mistura foi mantida por um período 35 dias com regas frequentes (Figura 15), aumentando-se a umidade do substrato como indicado em estudo de Ribas *et al.*, 2009.

**Tabela 1** – Substratos utilizados para a avaliação das bioespumas BS25 no cultivo de alface.

<b>Substrato</b>	<b>Quantidade de componentes/vaso</b>
Controle I	90 g de solo comercial
Controle II	90 g de meio de cultivo da bioespuma sem a colonização pelo micélio
<b>A</b> - Bioespuma <i>T. villosa</i> 100%	90 g de BS25 <i>T. villosa</i>
<b>B</b> - Bioespuma <i>T. villosa</i> 50% + solo 50%	45 g de BS25 <i>T. villosa</i> 45 g de solo comercial
<b>C</b> - Bioespuma <i>P. sanguineus</i> 100%	90 g de BS25 <i>P. sanguineus</i>
<b>D</b> - Bioespuma <i>P. sanguineus</i> 50% + solo 50%	45 g de BS25 <i>P. sanguineus</i> 45 g de solo comercial
<b>E</b> - Bioespuma <i>P. albidus</i> 100%	90 g de BS25 <i>P. albidus</i>
<b>F</b> - Bioespuma <i>P. albidus</i> 50% + solo 50%	45 g de BS25 <i>P. albidus</i> 45 g de solo comercial
<b>G</b> - Bioespuma <i>P. djamor</i> 100%	90 g de BS25 <i>P. djamor</i>
<b>H</b> - Bioespuma <i>P. djamor</i> 50% + solo 50%	45 g de BS25 <i>P. djamor</i> 45 g de solo comercial
<b>I</b> - Bioespuma <i>L. velutinus</i> 100%	90 g de BS25 <i>L. velutinus</i>
<b>J</b> - Bioespuma <i>L. velutinus</i> 50% + solo 50%	45 g de BS25 <i>L. velutinus</i> 45 g de solo comercial
<b>K</b> - Bioespuma <i>Xylaria</i> sp. 100%	90 g de BS25 <i>Xylaria</i> sp.
<b>L</b> - Bioespuma <i>Xylaria</i> sp. 50% + solo 50%	45 g de BS25 <i>Xylaria</i> sp. 45 g de solo comercial



**Figura 15** – Processo do experimento da avaliação do comportamento da bioespuma em cultivo de alface *Lactuca sativa*. (A) detalhe dos furos nos potes para a drenagem; (B) preparação dos substratos para o plantio das mudas; (C) mudas de *Lactuca sativa*; (D) mudas de alface transplantadas nos diferentes substratos; (E) plantio de alface conduzido em estufa e (F) detalhe da utilização de tela sombrite para proteção solar.

Os parâmetros avaliados no desenvolvimento dos espécimes foram: matéria úmida total para cada condição; matéria úmida da parte aérea e das raízes; matéria seca total para cada condição; matéria seca da parte aérea e das raízes; número de folhas por planta; comprimento/altura da parte superior e comprimento das raízes (SANTOS *et al.*, 2013)

A massa fresca das plantas foi realizada individualmente, utilizando uma balança analítica da Marte, modelo AL500 com precisão de 0,001 g. O número de folhas foi contado separadamente e, em seguida, determinou-se a altura média de cada planta com auxílio de uma régua. A massa seca foi obtida colocando-se as plantas em estufa de circulação forçada, à 65°C durante 72 h e, posteriormente, a massa foi avaliada (LIMA, 2007).

#### 4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados de crescimento micelial foram submetidos ao teste de análise de variância (ANOVA) e comparados pelo pós-teste de Tukey, com intervalo de confiança  $p \leq 0,05$ , utilizando o programa GraphPadPrism® (GraphPad Software, San Diego, USA).

No cultivo de alface, a comparação entre os diferentes substratos foi realizada por meio dos testes ANOVA, Dunnett T3 e Kruskal-Wallis, após verificação da normalidade dos dados. As análises de Normalidade, ANOVA, Dunnett T3 e Kruskal-Wallis (H) foram realizadas no software SPSS versão 22 (SPSS Inc. Released 2008. SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Chicago: SPSS Inc).

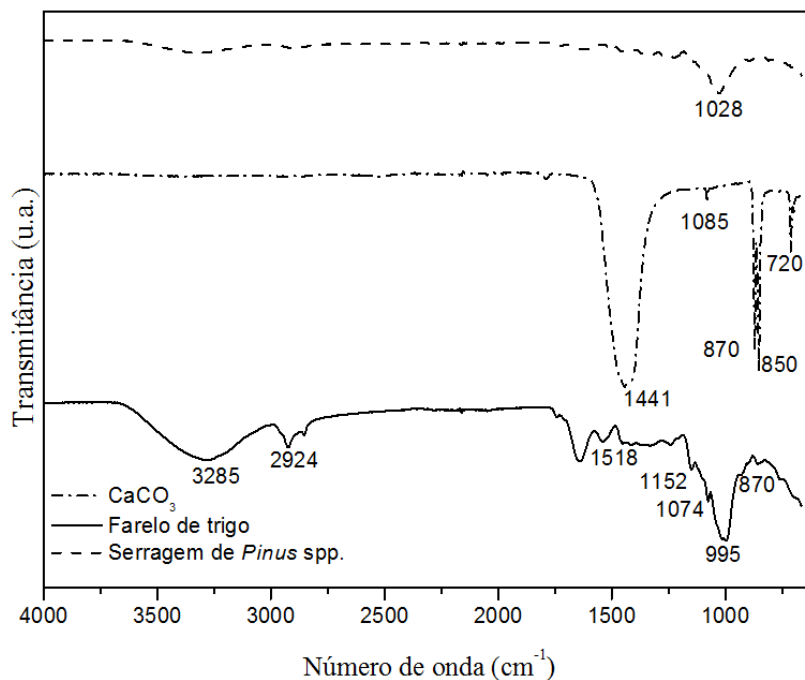
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados obtidos no desenvolvimento deste trabalho, iniciando com a caracterização dos substratos. Posteriormente, são apresentadas a caracterização das propriedades das bioepumas em comparação ao poliestireno expandido.

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS SUBSTRATOS

#### 5.1.1 Caracterização da estrutura química dos substratos

A estrutura química dos substratos foi avaliada a partir da análise de FTIR (Figura 16).



**Figura 16** – Espectro no FTIR do CaCO<sub>3</sub>, do farelo de trigo e da serragem.

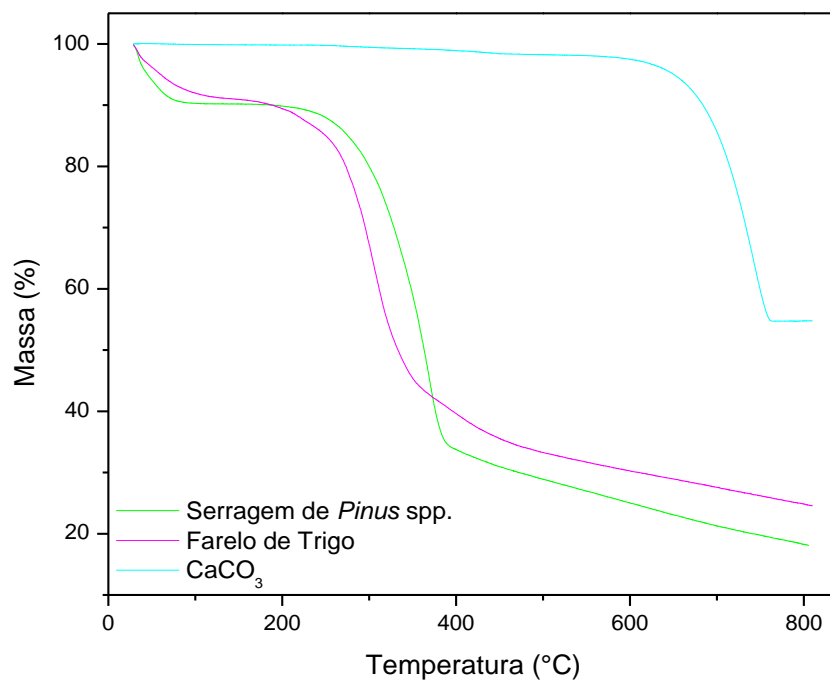
Para o CaCO<sub>3</sub> são identificados as bandas referentes às vibrações das ligações relacionadas ao ânion CO<sub>3</sub><sup>-2</sup>, para o farelo de trigo são identificados as bandas referentes às vibrações dos grupos C-C, -OH, C-H do anel e dos grupos laterais da celulose e hemicelulose, ambas são apresentadas na Tabela 2. Para a serragem de *Pinus* spp. um único pico é observado em 1028 cm<sup>-1</sup>, que é relacionado ao estiramento da ligação C-O da estrutura da celulose (CHUPIN *et al.*, 2013).

**Tabela 2** – Atribuição das bandas de FTIR do CaCO<sub>3</sub>, do farelo de trigo e da serragem.

Aditivos	Frequência vibracional (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição	Referência
CaCO <sub>3</sub>	1441	Deformação no plano	Al-Hosney & Grassian, 2005.
	1085	Estiramento do CO <sub>3</sub> <sup>-2</sup>	
	870	Estiramento do CO <sub>3</sub> <sup>-2</sup>	
	720	Deformação fora do plano do CO <sub>3</sub> <sup>-2</sup>	
Farelo de trigo	3285	Estiramento da ligação O-H (celulose ou água absorvida)	Ghaffar & Fan, 2015.
	2924	Estiramento da ligação C-H em CH <sub>3</sub> e CH <sub>2</sub>	
	995	Vibração dos grupos C-C, -OH, C-H do anel e dos grupos laterais da celulose e hemicelulose	
Serragem	1028	Estiramento da ligação C-O da estrutura da celulose	Chupin <i>et al.</i> , 2013

### 5.1.2 Propriedade térmica dos substratos

As propriedades térmicas dos substratos foram avaliadas por TG e DSC. Na Figura 17 são apresentadas os termogramas dos aditivos CaCO<sub>3</sub>, farelo de trigo e serragem.

**Figura 17** – Curva TG do CaCO<sub>3</sub>, do farelo de trigo e da serragem.

O carbonato de cálcio possui um evento de perda de massa na temperatura monitorada de 800°C, com *Tonset* em 610°C, *Tmáx* de 725°C e *Tendset* de 745°C, onde a partir de 700°C, as moléculas de CaCO<sub>3</sub> são quebradas formando-se o CaO (óxido de cálcio) e o CO<sub>2</sub> (dióxido de carbono) (HUANG & WANG, 2009).

O farelo de trigo apresentou três eventos de perda de massa, o primeiro com  $T_{máx}$  de 37°C, evento atribuído à perda de água. O segundo evento com  $T_{onset}$  em 283°C,  $T_{máx}$  de 310°C e  $T_{endset}$  de 382°C, corroborando os resultados descritos por Sánchez *et al.* (2016). O terceiro evento foi atribuído a um residual de 25%.

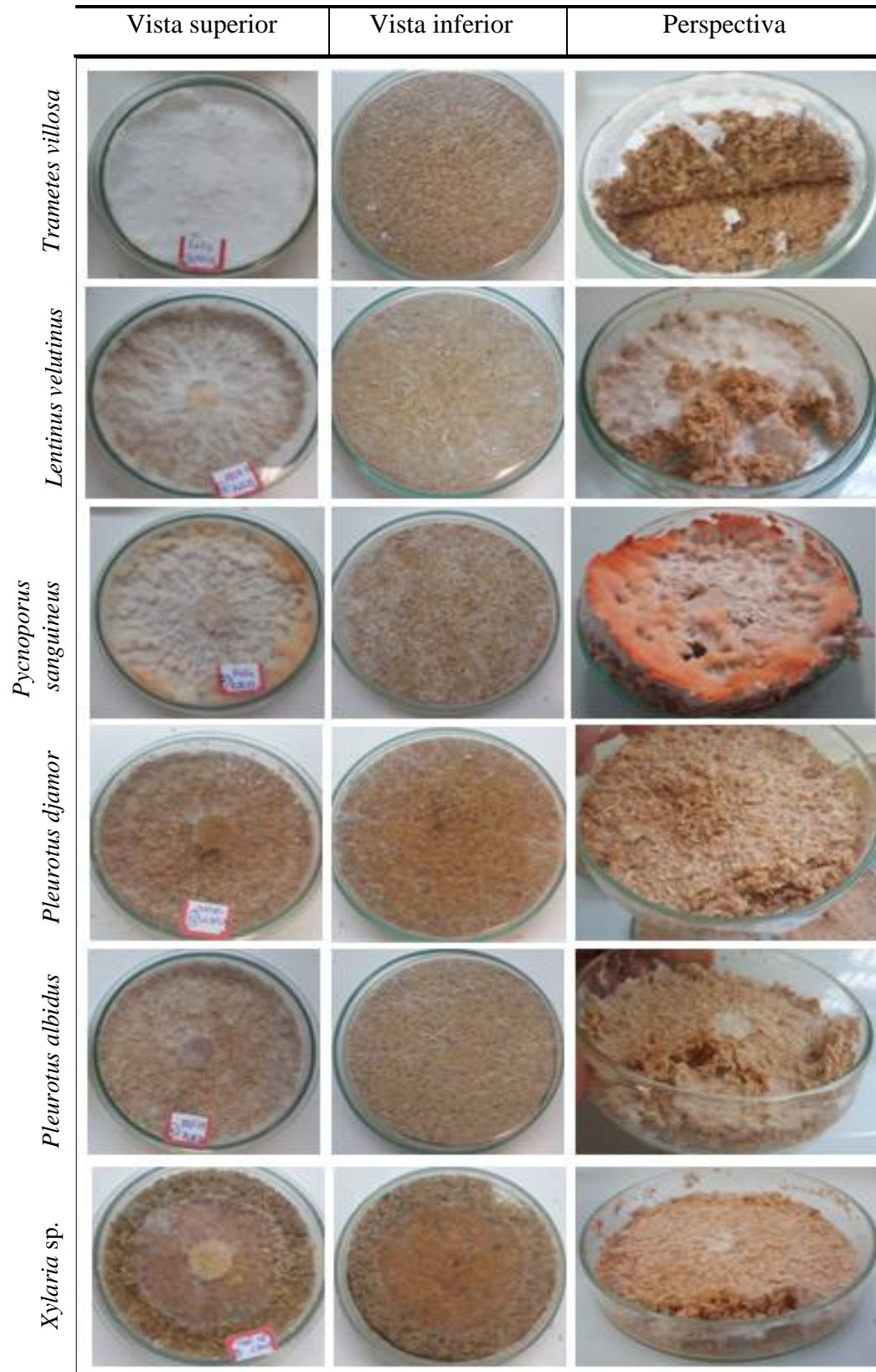
Na análise de TG da serragem observou-se três eventos, o primeiro evento apresentou  $T_{máx}$  de 54°C, evento atribuído à evaporação da água presente na amostra (SHEBANI *et al.*, 2009). O segundo, com  $T_{máx}$  de 370°C está associado a degradação dos polissacarídeos, hemicelulose, celulose e a lenta degradação da lignina (TSERKI *et al.*, 2005). A degradação de lignina e a evaporação de componentes voláteis formados ocorrem acima de 400°C (MARCOVIVH *et al.*, 2001; TSERKI *et al.*, 2005). O terceiro evento corresponde a um residual de 19%. Poletto (2013) relata a análise termogravimétrica de pó de madeira de *Pinus elliottii* não tratada, com  $T_{máx}$  de 50 e 354°C para a primeira e segunda perda de massa, respectivamente.

## 5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS BIOESPUMAS BS3

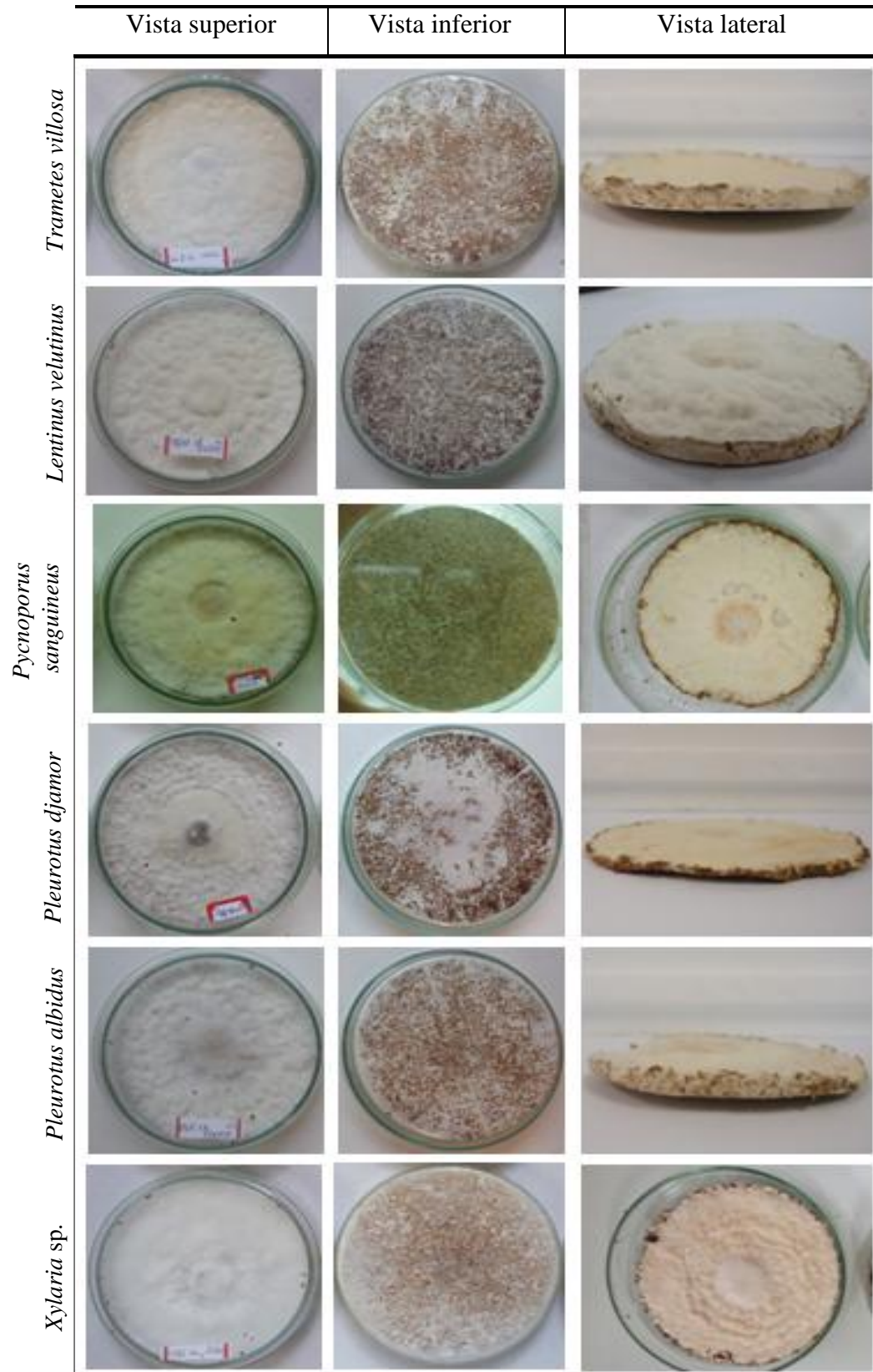
As bioespumas BS3 foram produzidas de modo a obter um material com a mesma espessura (3 mm) do EPS encontrado comercialmente, o qual é utilizado principalmente para a produção de bandejas alimentícias termoformadas. Conforme a representação, Figura 9, foram testados dois meios de crescimento, onde o diferencial foi o substrato base utilizado para produzir o material. A bioespuma BS3 SE, continha serragem como substrato, e a bioespuma BS3 FT, continha farelo de trigo como substrato.

As bioespumas BS3 SE apresentaram um crescimento mais acelerado em relação as BS3 FT, porém, esse crescimento foi superficial e a bioespuma mostrou-se frágil ao manuseio. As bioespumas BS3 SE não apresentaram uma matriz compacta, com interação entre o fungo e a serragem como quando utilizado o farelo de trigo. A Figura 18 ilustra as bioespumas BS3 SE obtidas em cultivo de 12 dias.

A Figura 19 ilustra as bioespumas BS3 FT obtidas em cultivo de 12 dias, as quais apresentaram uma matriz com alta compactação, que proporcionou a remoção da bioespuma de forma íntegra do molde de produção. Com base nestes resultados iniciais obtidos, o substrato utilizado para produzir as bioespumas BS3 foi o farelo de trigo, e a devida caracterização é apresentada na sequência.



**Figura 18** – Vista superior, inferior e lateral/perspectiva das bioespumas BS3 FT obtidas em cultivo de 15 dias das linhagens de *Trametes villosa*, *Lentinus velutinus*, *Pycnoporus sanguineus*, *Pleurotus djamor*, *Pleurotus albidus* e *Xylaria sp.*

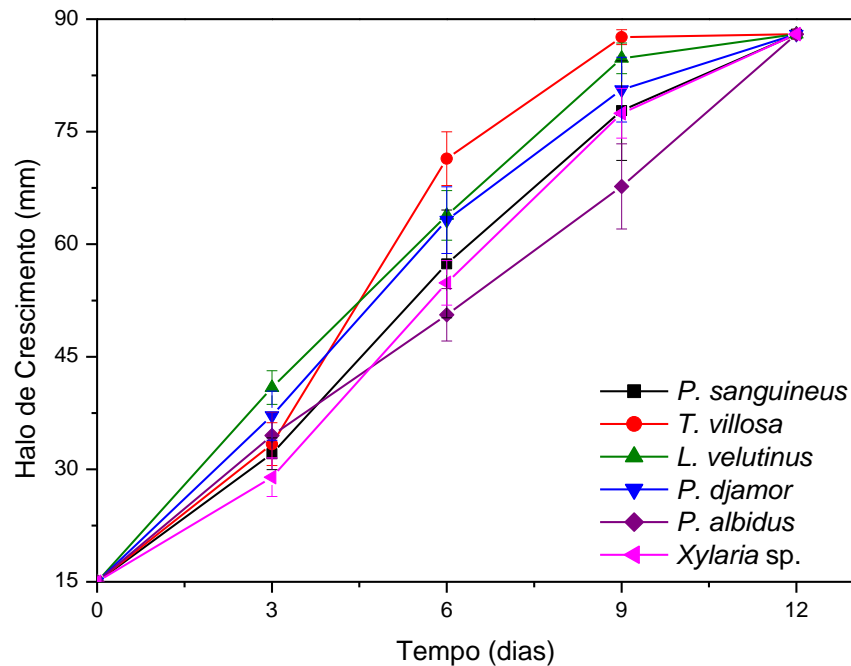


**Figura 19** – Vista superior, inferior e lateral/perspectiva das bioespumas BS3 FT obtidas em cultivo de 15 dias das linhagens de *Trametes villosa*, *Lentinus velutinus*, *Pycnoporus sanguineus*, *Pleurotus djamor*, *Pleurotus albidus* e *Xylaria sp.*



### 5.2.1 Crescimento micelial das bioespumas BS3

O crescimento micelial para a formação de bioespumas BS3 a partir das seis linhagens de macrofungos está apresentado na Figura 20.



**Figura 20** – Crescimento micelial dos diferentes macrofungos meio de farelo de trigo para a obtenção de bioespumas BS3 em cultivo de 12 dias.

Para o tempo 0 h de todas as linhagens, o inóculo foi igual, partindo de um disco de 15 mm de diâmetro. Os cultivos foram mantidos sob incubação por 15 dias, porém apresentaram um crescimento mais efetivo no período entre 9 e 12 dias – crescimento total (88 mm de diâmetro).

A partir dos resultados apresentados, identificou-se que a linhagem *T. villosa*, apesar de apresentar um crescimento mais lento até o terceiro dia, em 9 dias atingiu crescimento total de 88 mm de diâmetro, superior aos demais macrofungos.

O macrofungo *L. velutinus* apresentou o maior crescimento ao terceiro dia, com um halo de aproximadamente 40 mm, mantendo-se em perfil linear e constante até o nono dia, no qual foi obtido halo de 85 mm.

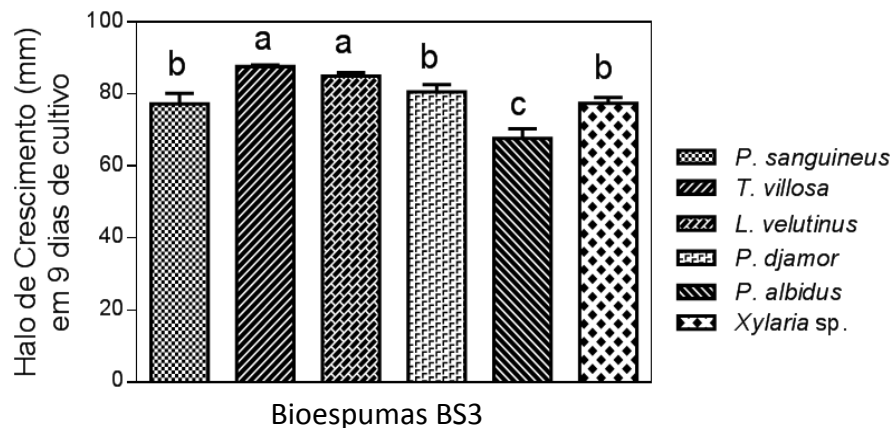
No caso da linhagem *P. djamor*, em nove dias de cultivo, foi atingido 81 mm de halo de crescimento. Seu comportamento em termos de crescimento em função do tempo foi semelhante ao observado no cultivo de *L. velutinus*, porém em proporção inferior.

Para as linhagens de *P. sanguineus* e *Xylaria* sp., comportamentos similares em termos de crescimento foram observados no nono dia, ambos com crescimento total em 12 dias, porém *Xylaria* sp. mostrou uma fase de crescimento inicial mais lenta em relação a *P. sanguineus*.

No cultivo de *P. albidus*, apesar de aumento linear do crescimento com o tempo, nas condições avaliadas, demonstrou o menor halo entre todos os macrofungos testados ao final de nove dias, de 68 mm.

A velocidade de crescimento micelial é variável entre os macrofungos. Fungos que possuem maiores e mais rápido crescimento das hifas acarretam maior formação de metabólitos secundários, viabilizando a produção em larga escala de um produto comercial (OLIVEIRA, 2008). Com isso, pode-se destacar o macrofungo *T. villosa* como o a linhagem de crescimento micelial mais rápido entre os macrofungos em estudo.

A Figura 21 mostra o crescimento micelial, particularmente no nono dia de cultivo, para todos os macrofungos em estudo, no qual a linhagem *T. villosa* apresentou crescimento máximo (88 mm). Entretanto, no caso das demais linhagens, este perfil foi atingido em 12 dias de cultivo. Em resumo, o maior crescimento de *T. villosa* foi acompanhado, em ordem decrescente, por *L. velutinus*, *P. djamor*, *P. sanguineus* e *Xylaria* sp. e por último, *P. albidus*.



**Figura 21** – Crescimento micelial dos diferentes macrofungos para a obtenção de bioespumas BS3 em 9 dias de cultivo.<sup>a, b, c</sup> Valores foram determinados em 16 amostras cada linhagem. Letras iguais indicam que não há diferença significativa a 5% ( $p < 0,05$  teste de Tukey).

Foi possível verificar que o crescimento micelial apresentado pelos macrofungos *T. villosa* e *L. velutinus* não mostraram diferença significativa entre si, o mesmo foi obtido entre os macrofungos *P. sanguineus*, *P. djamor* e *Xylaria* sp. Em nove dias de cultivo, o

macrofungo *P. albidus* apresentou diferença significativa em relação à todas as demais linhagens utilizadas no estudo.

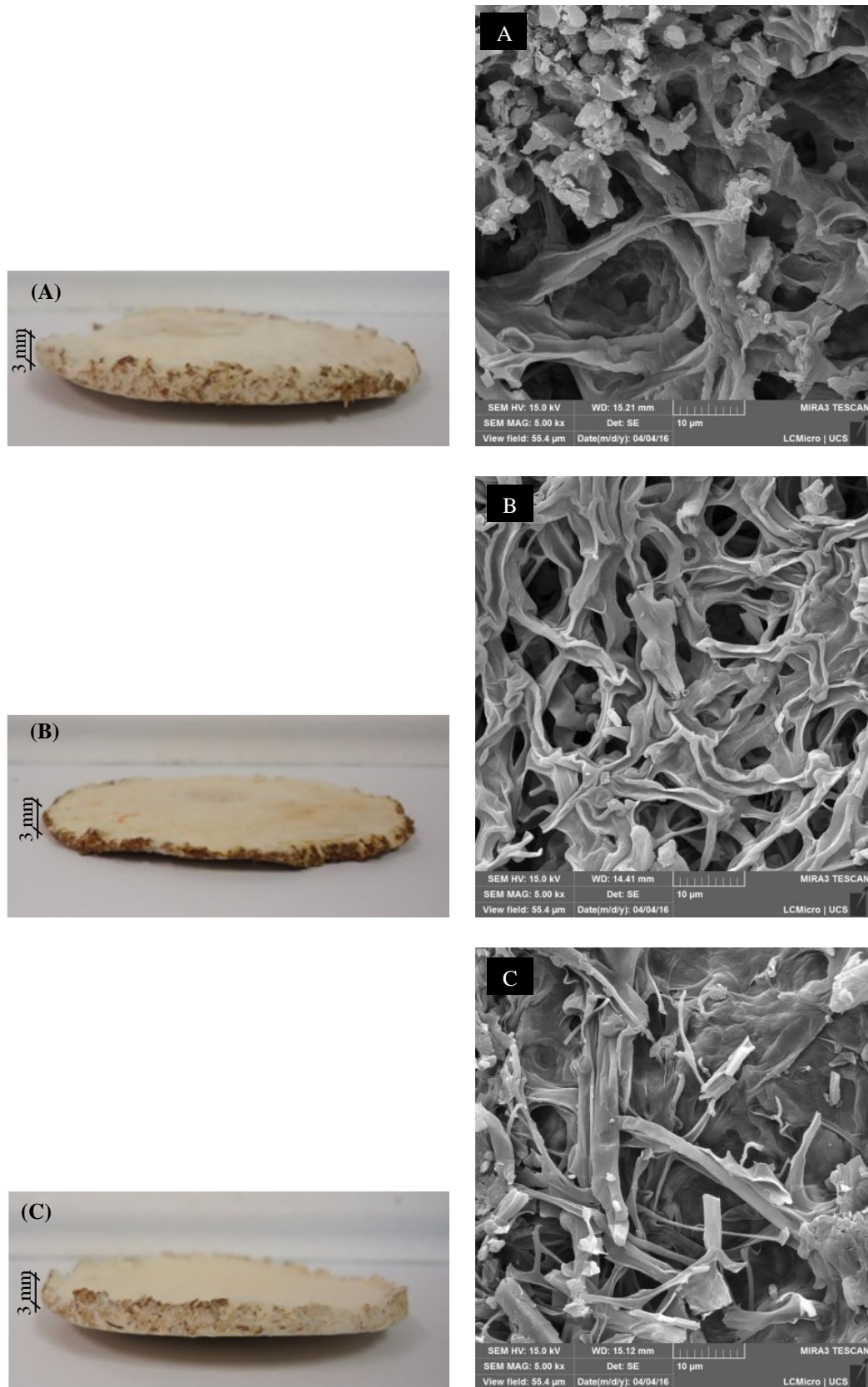
A partir desta etapa, foram selecionadas três linhagens para realizar o estudo das bioespumas. Para a seleção dos macrofungos para a produção das bioespumas BS3, inicialmente foram avaliados as características visuais e o tempo de crescimento. Na sequência, foi levado em consideração o fato de se tratarem de gêneros comestíveis, o que potencializaria o uso destes produtos na indústria alimentícia, como em embalagens comestíveis e/ou biodegradáveis.

### 5.2.2 Propriedades morfológicas das bioespumas BS3

Diante dos resultados obtidos, os demais testes para a caracterização foram realizados somente para bioespumas BS3 obtidas a partir das linhagens selecionadas dos macrofungos *P. albidus*, *P. djamor* e *T. villosa*. As bioespumas BS3 obtidas através destas linhagens, bem como suas respectivas micrografias estão apresentadas na Figura 22. Verificam-se as estruturas homogêneas e maciças proporcionadas pela matriz da bioespuma BS3.

Para os três macrofungos, observa-se o aspecto compactado das hifas entre as partículas de farelo de trigo, com espesso crescimento entre os interstícios do substrato. A Figura 22B (BS3 *P. djamor*) apresentou uma distribuição mais regular de interstícios que as outras, a Figura 22C (BS3 *T. villosa*) apresentou hifas mais alongadas entre as três BS3 e a Figura 22A (BS3 *P. albidus*) apresentou uma irregularidade na distribuição de interstícios e de estruturas.

Entre as BS3, verificou-se uma maior quantidade de hifas e maior crescimento micelial aparente, na Figura 22C (BS3 *T. villosa*), o mesmo resultado foi obtido para os valores de densidade, onde se destacou a BS3 *T. villosa*.



**Figura 22** – Registros fotográficos das bioespumas BS3 e suas respectivas micrografias no MEV, obtidas nos cultivos dos macrofungos (A) *Pleurotus albidus*, (B) *Pleurotus djamor* e (C) *Trametes villosa*.

A Tabela 3 apresenta a densidade das bioespumas e do EPS como comparação.

**Tabela 3** - Densidade das BS3 de *Pleurotus albidus*, *Pleurotus djamor*, *Trametes villosa* e do EPS.

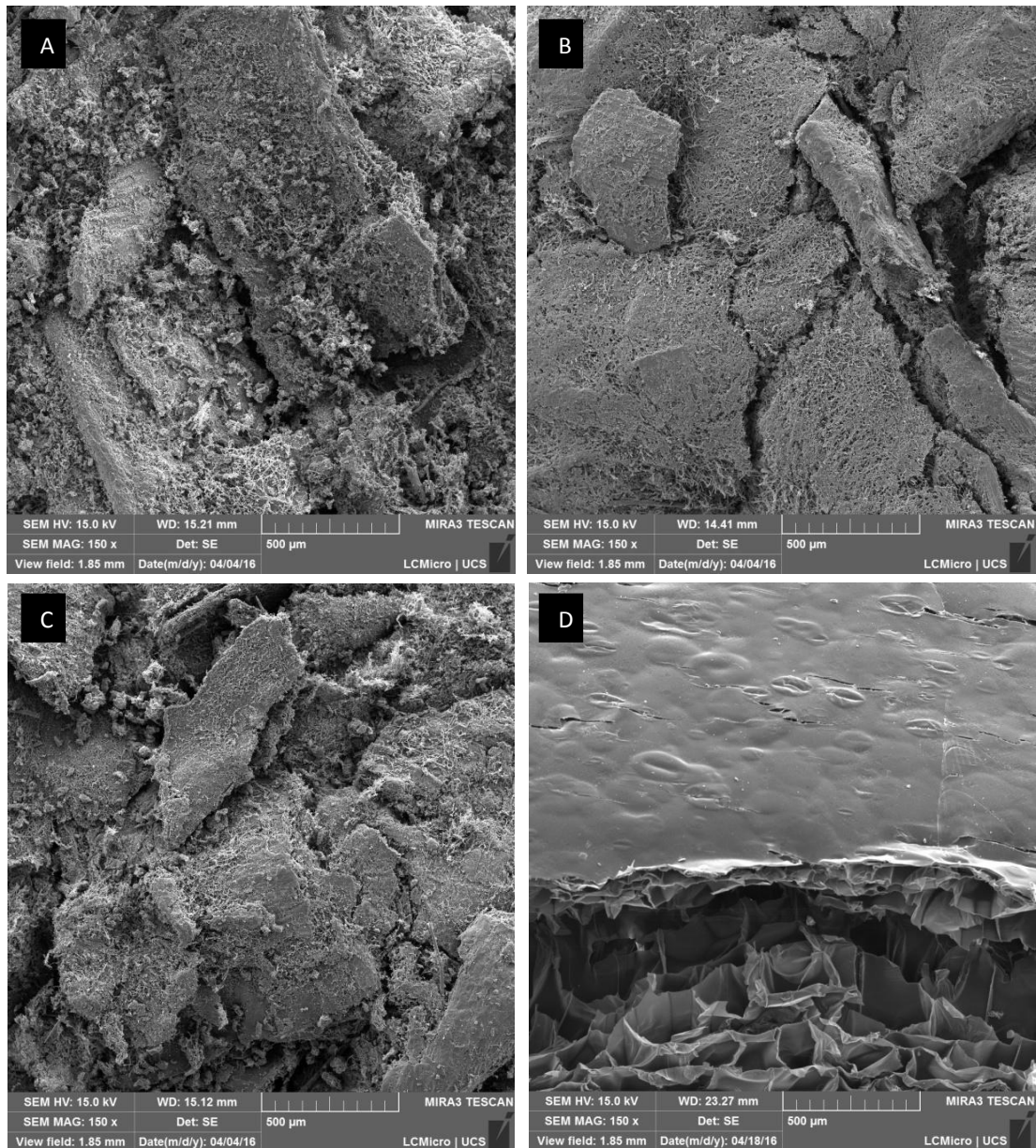
<b>Amostra</b>	<b>Densidade (g/cm<sup>3</sup>)</b>
BS3 <i>Pleurotus albidus</i>	0,39
BS3 <i>Pleurotus djamor</i>	0,41
BS3 <i>Trametes villosa</i>	0,42
EPS	0,08

Os resultados de densidade foram superiores para as bioespumas BS3 em comparação com o EPS, fato esse que foi atribuído à composição do material. Entre as três bioespumas, foi identificada uma diferença de 0,01 e 0,02 g.cm<sup>-3</sup> não significativa, que poderia ser devido ao fato de o macrofungo *T. villosa* ter se desenvolvido de forma mais pronunciada (Figura 20), seguido pelo BS3 de *P. djamor* e BS3 de *P. albidus*, conforme observado na Figura 21.

As Figuras 22A (BS3 *P. albidus*) e 22B (*P. djamor*) apresentam mais espaços entre as hifas, onde as mesmas linhagens apresentaram uma velocidade de crescimento inferior à linhagem *T. villosa* (Figura 20), sendo assim, menor a quantidade de hifas menor a densidade do material, o que justifica a diferença entre os valores, mesmo não sendo significativa.

Na Figura 23 são apresentadas as micrografias no MEV para as BS3 obtidas nos cultivos de *P. sanguineus*, *P. albidus*, *L. velutinus* e para o EPS.

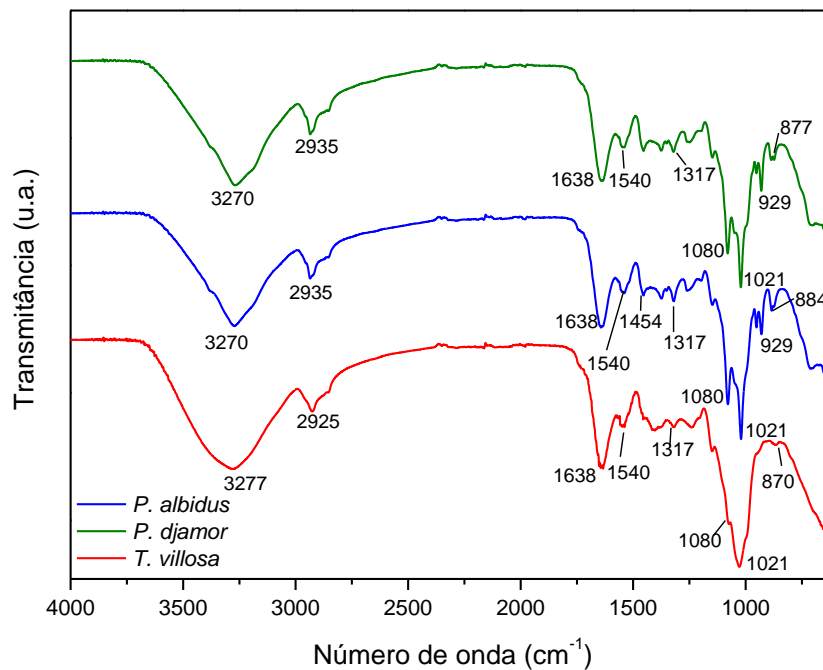
De acordo com as micrografias da Figura 23, verificou-se o desenvolvimento das hifas na superfície do material e também aderidas às partículas de farelo de trigo, proporcionando, com esta interação, a obtenção de um material compacto. Foram observados espaços vazios nas Figuras 23A e 23B, enquanto na Figura 23C observou-se uma quantidade maior de hifas, as quais, na medida em que foram se desenvolvendo, foram preenchendo os espaços vazios existentes no material, o que pode-se dizer, que este fato atribui características de maior compactação e densidade quanto maior for o crescimento micelial.



**Figura 23** - Micrografias no MEV das BS3 (A) *Pleurotus albidus*, (B) *Pleurotus djamor*, (C) *Trametes villosa* e (D) EPS.

### 5.2.3 Caracterização da estrutura química das bioespumas BS3

As análises de FTIR da bioespumas BS3, apresentadas na Figura 24, foram realizadas visando identificar os picos e as bandas que representam os respectivos materiais.



**Figura 24** – Espectro no FTIR das amostras das bioespumas BS3 de *Pleurotus albidus*, *Pleurotus djamor* e *Trametes villosa* e atribuição das bandas.

Baseado nos relatos da literatura especializada, os macrofungos utilizados no estudo possuem alguns polissacarídeos e, conseqüentemente, as bioespumas também o apresentam. O espectro base de todas as bioespumas é exatamente o mesmo. Pode-se perceber que uma das bandas do carbonato desaparece completamente, e não há sobreposição. Na região entre 1600 e 1100  $\text{cm}^{-1}$ , verificou-se várias bandas, que concluiu-se serem de origem de ruídos ou contaminantes. Na literatura não foram identificados estas bandas apresentadas por FTIR dos polissacarídeos dos fungos em estudo.

A Tabela 4 apresenta a atribuição das bandas de FTIR de polissacarídeos de *P. albidus*.

**Tabela 4** – Atribuição das bandas de FTIR de polissacarídeos de *Pleurotus albidus*.

Frequência vibracional ( $\text{cm}^{-1}$ )	Atribuição	Referência
3277	Estiramento da ligação O-H	
2925	Estiramento ligação C-H	
1638	Banda de água absorvida	Castro-Alves <i>et al.</i> (2017)
1021	Entre 915-1110 $\text{cm}^{-1}$ : referente à unidade D-glucopiranosose	
884	Configuração beta das unidades de açúcar no polissacarídeo	

Na análise das bioespumas BS3 de *P. albidus*, *P. djamor* e *T. villosa* foram identificadas as bandas cujas atribuições estão apresentadas na Tabela 5.

**Tabela 5** – Atribuição das bandas de FTIR das BS3 de *Pleurotus albidus*, *Pleurotus djamor* e *Trametes villosa*.

Atribuição	Frequência vibracional (cm <sup>-1</sup> )		
	<i>P. albidus</i>	<i>P. djamor</i>	<i>T. villosa</i>
Estiramento da ligação O-H	3270	3270	3277
Estiramento ligação C-H	2935	2935	2925
Banda de água absorvida	1638	1638	1638
Entre 915-1110 cm <sup>-1</sup> : referente à unidade D-glucopiranosose	1021, 929	1021, 929	1021
Configuração beta das unidades de açúcar no polissacarídeo	884	877	870

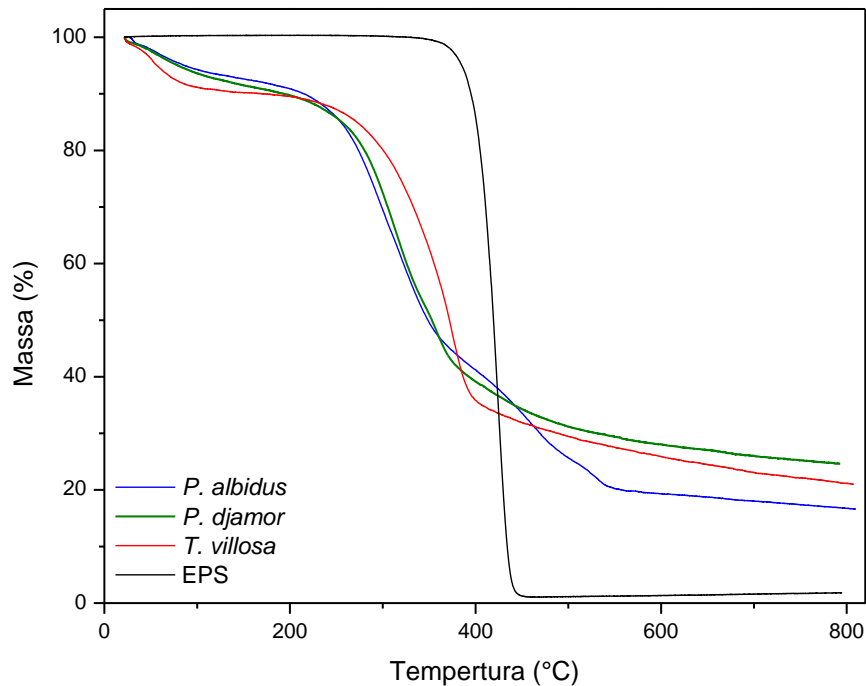
Castro-Alves *et al.* (2017).

Foi possível notar que os espectros apresentados são similares para as três BS3. Castro-Alves *et al.* (2017) analisaram o perfil dos polissacarídeos que compõe as espécies de fungo *P. albidus*, e obtiveram o espectro no FTIR dos polissacarídeos extraídos. Os resultados aqui apresentados são similares aos relatados pelos autores, supondo-se assim a presença majoritária destas bandas nas espécies de fungos estudadas nas bioespumas. Ainda, analisando a Figura 16, foram observadas as bandas comuns ao espectro FTIR do farelo de trigo em 884, 887 e 870 cm<sup>-1</sup> para as BS3 *P. albidus*, *P. djamor* e *T. villosa*. A frequência vibracional 1080 cm<sup>-1</sup> apenas para a BS3 *P. albidus* e BS3 *P. djamor*, porém, não foi detectada para a amostra de BS3 *T. villosa*, possivelmente devido ao consumo do farelo pelo macrofungo ou à sobreposição de bandas comuns às da celulose, hemicelulose e lignina. Nota-se, também, que a banda referente ao CaCO<sub>3</sub>, em 1441 cm<sup>-1</sup>, não foi identificado em nenhuma amostra de bioespuma, evidenciando sua pequena proporção inserida no material.

#### 5.2.4 Propriedades térmicas das bioespumas BS3

Na Figura 25 são apresentadas as propriedades térmicas das bioespumas BS3 de *P. albidus*, *P. djamor* e de *T. villosa* por TG.





**Figura 25** – Curva TG das bioespumas BS3 de *Pleurotus albidus*, *Pleurotus djamor*, *Trametes villosa* e do EPS.

Esta técnica foi utilizada a fim de avaliar a estabilidade térmica da bioespuma. Segundo Mano *et al.*, (2003), esta análise auxilia na determinação do limite máximo de temperatura de processamento que pode ser utilizado sem ocorrer a decomposição do material.

Nas curvas termogravimétricas das BS3 foram identificados três eventos de perda de massa, sendo o primeiro evento com  $T_{m\acute{a}x}$  em aproximadamente 55°C e perda de massa de 10%, evento atribuído à perda de água. O segundo evento de perda de massa com  $T_{onset}$  para *P. albidus*, *P. djamor*, *T. villosa* de 271°C, 278°C, e 277°C e  $T_{m\acute{a}x}$  em 319°C, 320°C, 316°C, respectivamente, caracterizando a degradação da celulose e da hemicelulose (SANCHÉZ *et al.*, 2016). O terceiro evento está associado a um residual de 17% para o BS3 de *P. albidus* e de 25 % para as bioespumas BS3 de *P. djamor* e *T. villosa*. Quanto maior a quantidade de fibras no material, maior será a perda de massa, acarretando maior porcentagem de cizas e resíduos inorgânicos serão formados (RAMÍREZ, 2011).

A BS3 de *P. albidus* possui mais eventos de perda de massa, mas observou-se que ela tem um comportamento e uma resistência térmica similar as demais. Entretanto, a bioespuma de maior estabilidade térmica foi a BS3 de *T. villosa*. Os valores de resíduo correspondente ao terceiro evento, associado ao resíduo de farelo de trigo, o fato de haver diferença entre a análise dos aditivos e das BS3, é pelo farelo ser o substrato para os macrofungos.

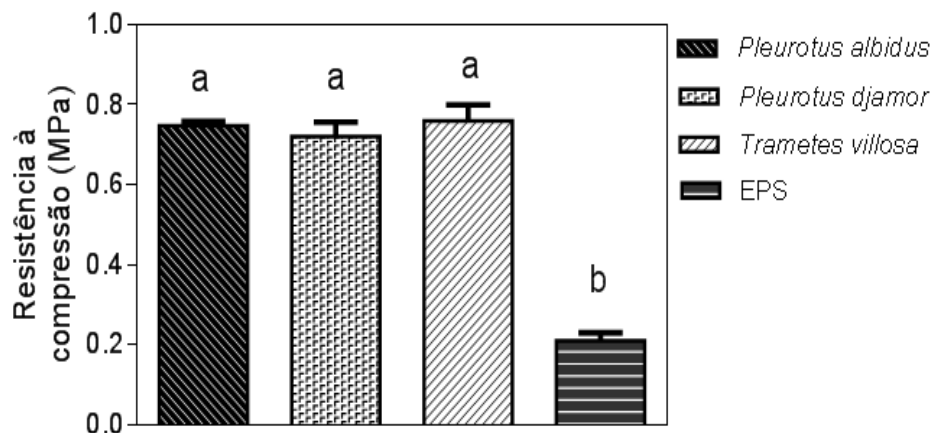
O EPS apresentou um único evento de perda de massa com *Tonset* em 318 °C, *T<sub>máx</sub>* de 440 °C e *Tendset* de 450 °C com perda de 99%.

Constatou-se que o EPS tem uma estabilidade térmica superior a das bioespumas, esta menor resistência das bioespumas foi atribuída à natureza química, pois os macrofungos são proteínas, e a celulose tem menor estabilidade térmica comparado a macromoléculas poliméricas. Entre as bioespumas BS3 a de maior estabilidade térmica foi a BS3 de *T. villosa*.

### 5.2.5 Propriedades mecânicas das bioespumas BS3

A partir das micrografias apresentadas anteriormente, na Figura 27, foi identificado o desenvolvimento das hifas no entorno e aderidas às partículas de farelo de trigo, proporcionando assim um material compacto.

Na Figura 26 pode ser observado o perfil de resistência à compressão nos testes com as bioespumas BS3 de *P. albidus*, *P. djamor*, *T. villosa* e de EPS. Os resultados obtidos das bioespumas foram de 0,75, 0,72 e 0,76 MPa, respectivamente, cerca de 70% superior ao obtido para o EPS.

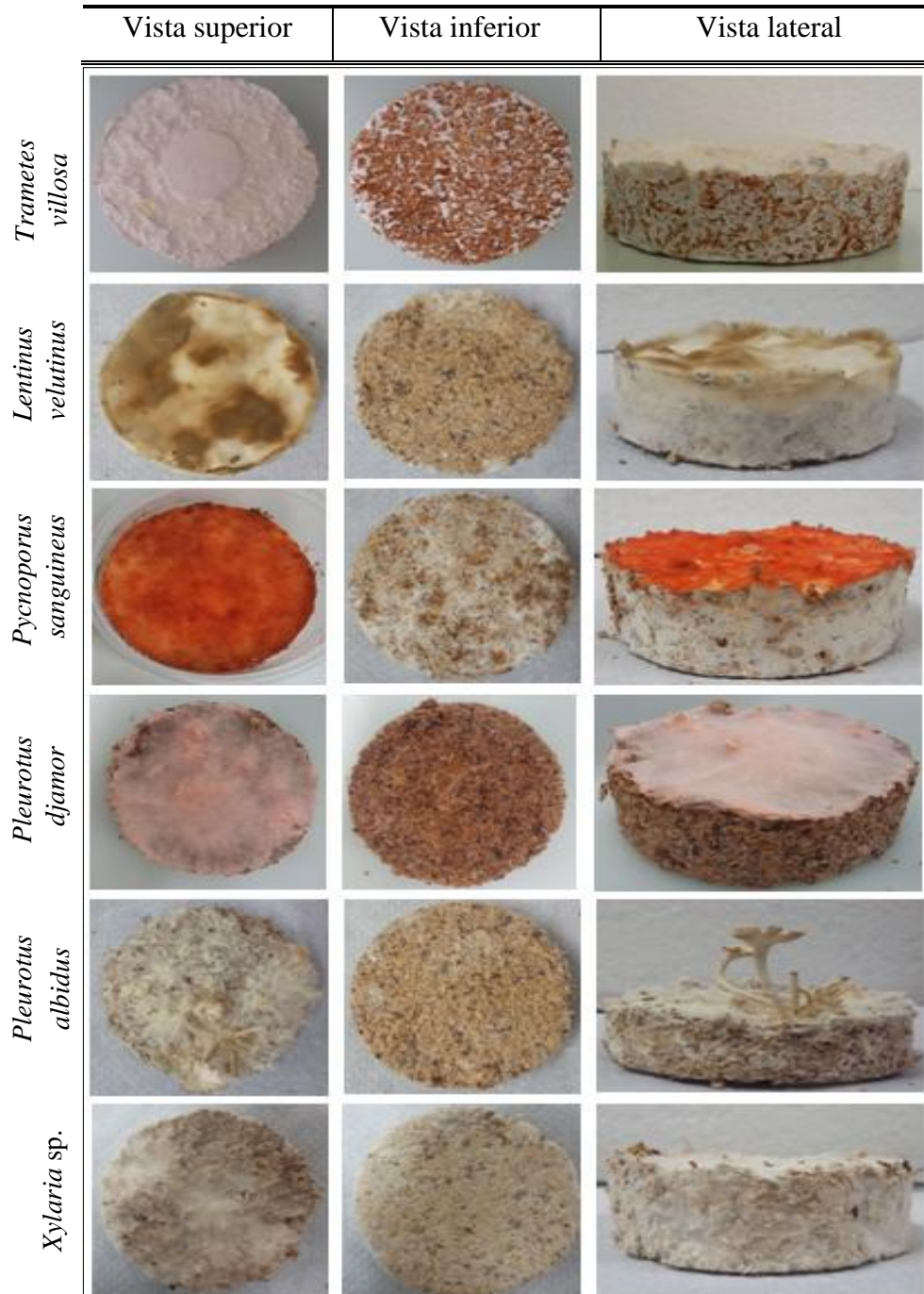


**Figura 26** – Resistência à compressão das bioespumas BS3 de *Pleurotus albidus*, *Pleurotus djamor* e *Trametes villosa* em comparação com EPS. <sup>a, b, c</sup> Valores foram determinados em 3 amostras de cada bioespuma. Letras iguais indicam que não há diferença significativa a 5% ( $p < 0,05$  teste de Tukey).

Os resultados indicam que o crescimento dos macrofungos em farelo de trigo produziu um material de maior resistência à compressão comparado a do EPS. Verificou-se que as bioespumas não apresentam diferenças significativas entre si. Devido à escassez de dados na literatura relacionados a esta proposta de obtenção de bioespumas a partir de macrofungos, há uma dificuldade na comparação dos resultados de resistência à compressão em materiais que apresentam farelo de trigo como reforço.

### 5.3 CARACTERIZAÇÃO DAS BIOESPUMAS BS25

As bioespumas BS25 foram produzidas de modo a obter um material com a mesma espessura (25 mm) do EPS comercial. A Figura 27 apresenta as bioespumas BS25 obtidas para os seis macrofungos em estudo, em cultivo de 35 dias.



**Figura 27** – Vista superior, inferior e lateral das bioespumas BS25 obtidas em cultivo de 35 dias para as linhagens de *Trametes villosa*, *Lentinus velutinus*, *Pycnoporus sanguineus*, *Pleurotus djamor*, *Pleurotus albidus* e *Xylaria sp.*

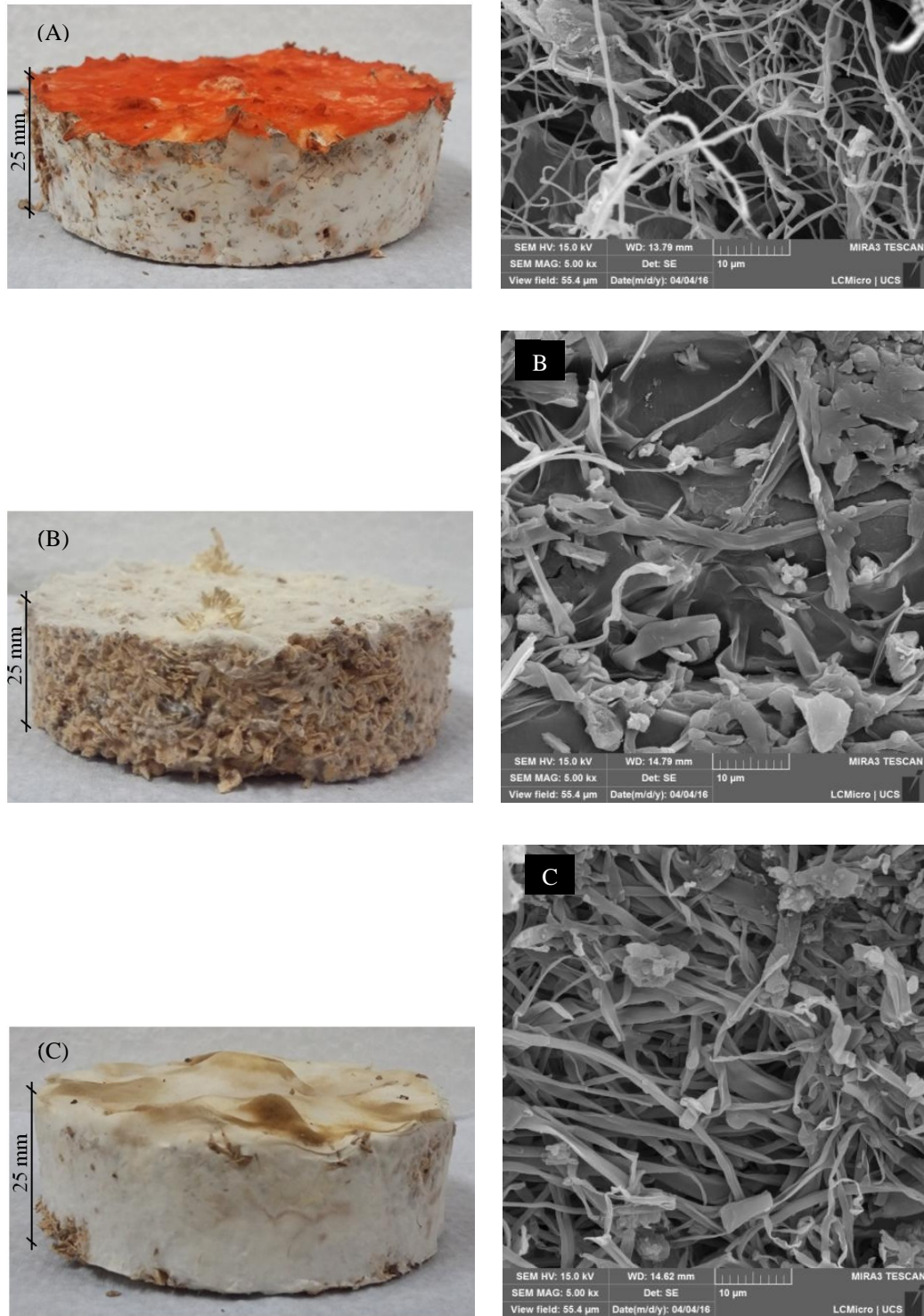
Para a seleção dos macrofungos para a produção das bioespumas BS25, foram avaliadas as características visuais e as quais apresentavam uma compactação e resistência maiores. As linhagens selecionadas foram *P. sanguineus*, *P. albidus* e *L. velutinus*.

### 5.3.1 Propriedades morfológicas das bioespumas BS25

As bioespumas BS25, obtidas como resultado do crescimento dos macrofungos regionais *P. sanguineus*, *P. albidus* e *L. velutinus*, apresentaram uma composição homogênea e densa. Na Figura 28 é apresentado o aspecto macroscópico de cada bioespuma e as suas correspondentes micrografias.

Nas Figuras 28A e 28C, correspondentes às bioespumas de *P. sanguineus* e de *L. velutinus*, pode ser verificada a formação de uma “capa” micelial no entorno do material, onde observou-se boa compatibilidade entre os componentes, segundo Petri (2014), para o fungo formar uma rede de hifas, deve ocorrer a similaridade química entre a matriz e as fibras. O mesmo não foi observado na Figura 28B, de *P. albidus*, o qual aparenta uma maior espaçamento entre as hifas no material colonizado.

Na Tabela 6 são apresentados os valores de densidade obtidos para as bioespumas BS25 e para o EPS. Verificou-se um valor de densidade maior nas bioespumas, provavelmente devido à composição do material produzido. Além disso, observa-se que entre estes houve uma diferença, não significativa, mas atribuída ao fato de *P. albidus* ter se desenvolvido mais entre os interstícios entorno das partículas de serragem e do farelo de trigo do que no envoltório de todo o aglomerado, formando uma capa, como observado para os outros macrofungos nas Figuras 28A e 28C.



**Figura 28** – Registros fotográficos das bioespumas BS25 e suas respectivas micrografias no MEV, obtidas nos cultivos dos macrofungos (A) *Pycnoporus sanguineus*, (B) *Pleurotus albidus* e (C) *Lentinus velutinus*.

Na Tabela 6 são apresentados os valores de densidade obtidos para as bioespumas BS25 e para o EPS.

**Tabela 6** - Densidade das BS25 de *Pycnoporus sanguineus*, *Pleurotus albidus*, *Lentinus velutinus* e do EPS.

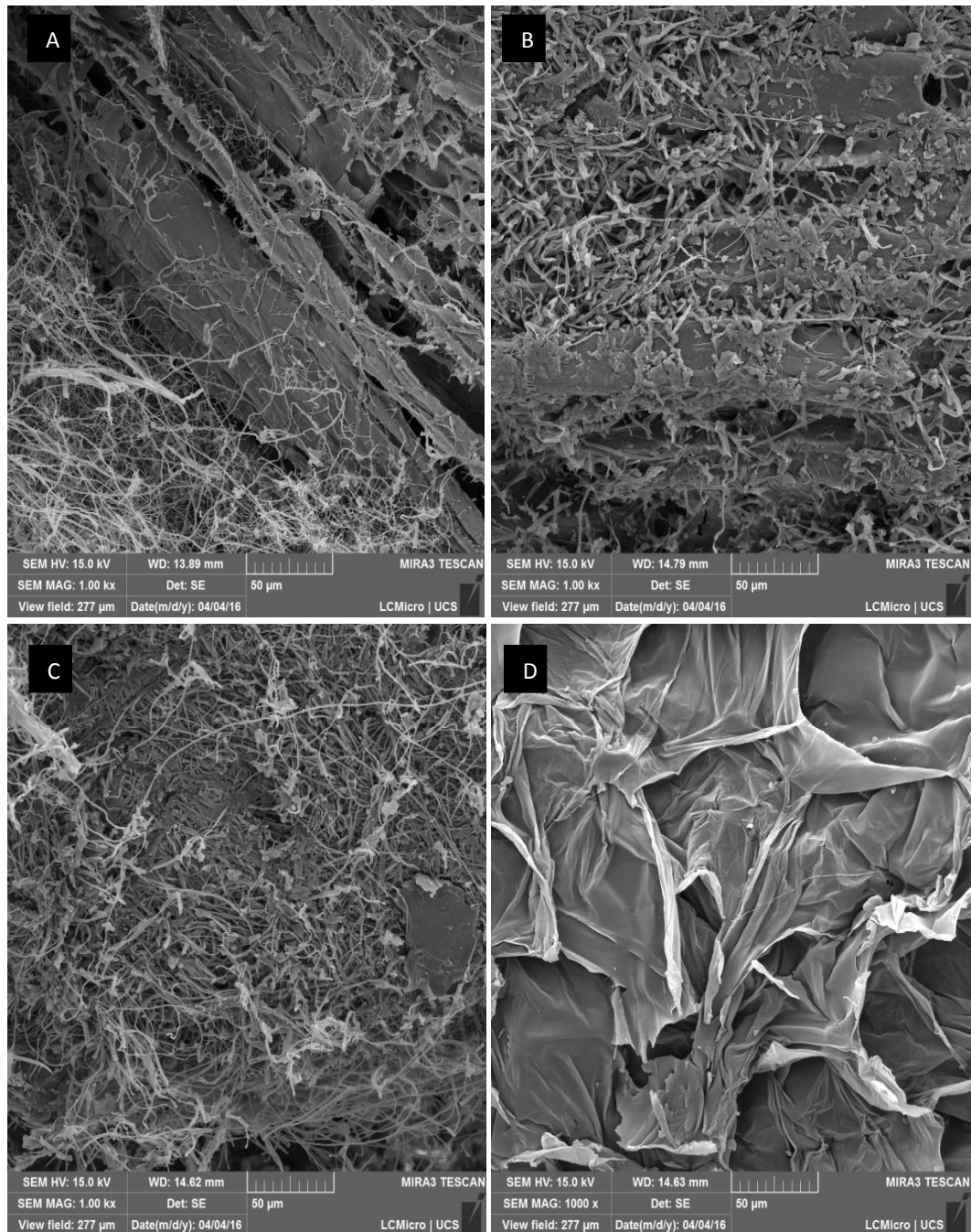
<b>Amostra</b>	<b>Densidade (g/cm<sup>3</sup>)</b>
<i>Pycnoporus sanguineus</i>	0,32
<i>Pleurotus albidus</i>	0,30
<i>Lentinus velutinus</i>	0,35
EPS	0,03

Cabe salientar que todas as bioespumas foram obtidas em mesmo tempo de colonização do substrato. Por se tratar de macrofungos distintos, *P. albidus* pode demandar um período maior no crescimento para proporcionar o envoltório micelial em relação ao observado com outros macrofungos.

Na Figura 29, são apresentadas as micrografias obtidas por MEV para as bioespumas produzidas em cultivos de *P. sanguineus*, *P. albidus*, *L. velutinus* e para o EPS.

Com relação à característica celular, constatou-se células no EPS o que não foi observado para os bioespumas, que apresentaram em sua constituição um emaranhado de microfibrilas com espaçamentos entre elas, dando a característica de leveza observada no material.

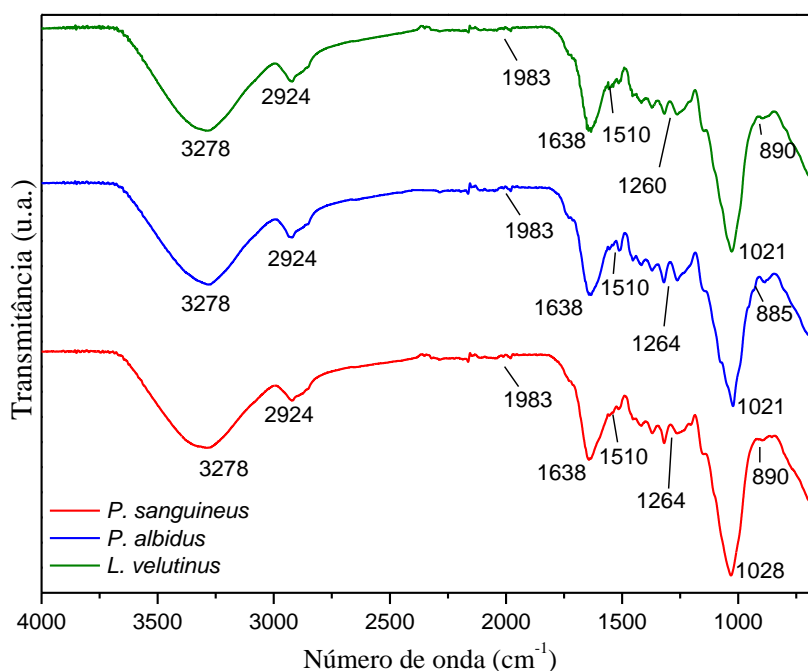
Observou-se a interação entre a matriz e as partículas de serragem e farelo de trigo, estabelecida pela formação das hifas, formando uma estrutura compacta e densa, o que pode justificar os resultados de resistência mecânica à compressão obtidos em comparação ao EPS (Figura 29).



**Figura 29** - Micrografias no MEV das BS25 (A) *Pycnoporus sanguineus*, (B) *Pleurotus albidus*, (C) *Lentinus velutinus* e do (D) EPS.

### 5.3.2 Caracterização da estrutura química das bioespumas BS25

Na Figura 30 são mostrados os espectros no FTIR das bioespumas BS25 e do EPS. As bandas e eventos que representam as BS25, são apresentados na Tabela 7.



**Figura 30** – Espectro no FTIR das bioespumas BS25 de *Pycnoporus sanguineus*, *Pleurotus albidus*, *Lentinus velutinus*.

Conforme o exposto para a caracterização das bioespumas BS3 verificou-se semelhanças com as bioespumas BS25. A Tabela 4, apresentada anteriormente, expôs as atribuições das bandas no FTIR de polissacarídeos de *P. albidus* citada na literatura e para as bioespumas BS25 a atribuição das bandas são mostradas na Tabela 7.

**Tabela 7** – Atribuição das bandas de FTIR das BS25 de *Pycnoporus sanguineus*, *Pleurotus albidus* e *Lentinus velutinus*.

Atribuição	Frequência vibracional (cm <sup>-1</sup> )		
	<i>P. sanguineus</i>	<i>P. albidus</i>	<i>L. velutinus</i>
Estiramento da ligação O-H	3278	3278	3278
Estiramento ligação C-H	2924	2924	2924
Banda de água absorvida	1638	1638	1638
Entre 915-1110 cm <sup>-1</sup> : referente à unidade D-glucopiranoose	1028	1021	1021
Configuração beta das unidades de açúcar no polissacarídeo	890	885	890

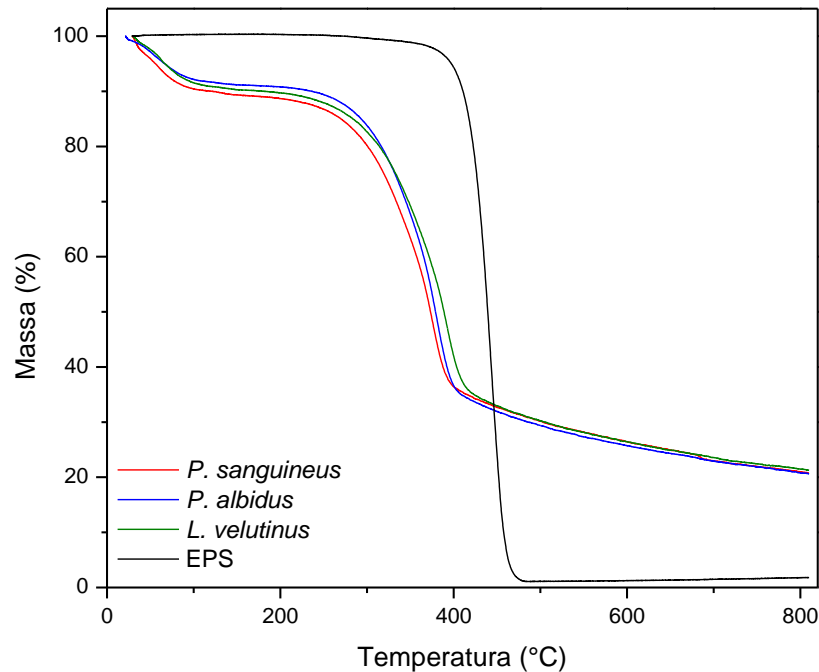
Castro-Alves *et al.* (2017).

A partir destes resultados, observa-se que os espectros BS25 são similares aos obtidos para as bioespumas BS3 e entre elas, conforme relatado anteriormente.



### 5.3.3 Propriedades térmicas das bioespumas BS25

Os resultados de análise térmica por termogravimetria das bioespumas BS25 de *P. sanguineus*, *P. albidus*, *L. velutinus* e do EPS são apresentados na Figura 31.



**Figura 31** – Curva TG das bioespumas BS25 de *Pycnopoprus sanguineus*, *Pleurotus albidus*, *Lentinus velutinus* e do EPS.

As BS25 apresentam comportamento similar entre si, como identificado para farelo de trigo e serragem, mostrado anteriormente na Figura 17. Foram identificados três eventos de perda de massa para as bioespumas. No primeiro evento foi identificada máxima taxa de degradação ( $T_{máx}$ ) em aproximadamente 65°C e perda de massa de 10%. Este evento foi atribuído à evaporação da água presente nas bioespumas, liberada em função do incremento da temperatura. O baixo valor observado de  $T_{máx}$  foi atribuído à remoção de água, relatado por Brown (1988) e Joseph *et al.* (2012).

No segundo evento de perda de massa, foram identificados valores de  $T_{onset}$  para *P. sanguineus*, *P. albidus*, *L. velutinus* de 362, 355, e 360°C e de  $T_{máx}$  em 378, 382, 379°C, respectivamente. Este evento estaria associado à degradação térmica da hemicelulose e da celulose, a qual ocorre entre 220 e 310°C. Entre 310 e 410°C, ocorre a degradação da celulose presente na fibra e a degradação da lignina, por sua vez, ocorre de forma complexa e lenta em toda a faixa de temperatura citada (BORSOI, 2012). Estes eventos, portanto, podem ser atribuídos à degradação de hemicelulose, da celulose e à lenta degradação da lignina, como relatado por Kim *et al.* (2006) e De Rosa *et al.* (2010), conforme citado anteriormente.

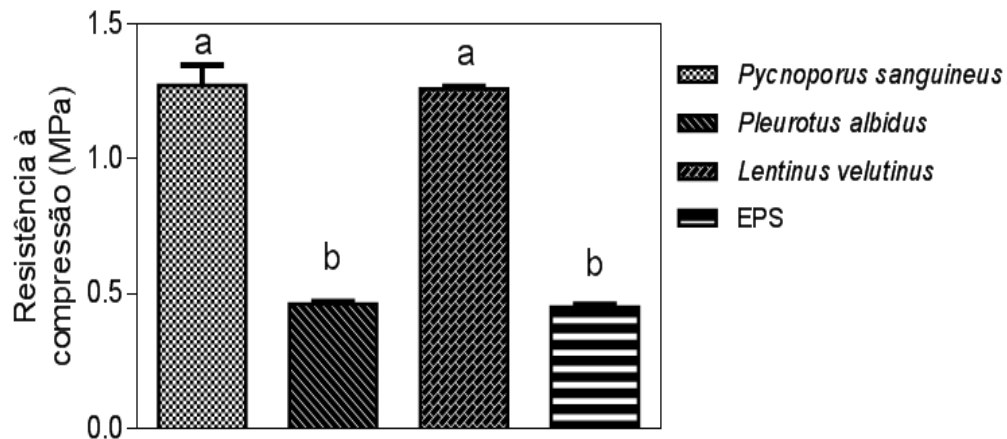
O terceiro evento está associado a um residual de 20% para as bioespumas em aproximadamente 810°C, sendo que os produtos finais da degradação das fibras lignocelulósicas consistem em resíduos e impurezas não degradados (HABIBI *et al.*, 2008). Segundo Moran *et al.* (2007), as fibras naturais consistem em uma mistura de materiais orgânicos que apresentam uma variedade de alterações químicas e físicas ao serem submetidas a tratamentos térmicos.

No caso do EPS, foi identificado apenas um evento, com *Tonset* em 318°C, *T<sub>máx</sub>* de 440°C e percentual de residual praticamente nulo. A perda de massa máxima foi observada a 475°C, sendo que valor de 420°C para a degradação total do EPS é relatado na literatura (SILVA *et al.*, 2013; SANTOS, 2013; POLETTO, 2013).

A partir dos valores obtidos para a *T<sub>máx</sub>*, verificaram-se valores similares entre as bioespumas produzidas e uma diferença em relação ao EPS, indicando que este possui uma maior estabilidade térmica. A diferença entre as curvas das bioespumas e do EPS pode ser atribuída às reações ocorridas nas estruturas dos macrofungos e a serragem, as quais proporcionaram alterações na estabilidade térmica da matriz polimérica, fato relatado por Santos (2013).

#### **5.3.4 Propriedades mecânicas das bioespumas BS25**

Com base nas Figuras 28A e 28C, correspondentes às bioespumas de *P. sanguineus* e de *L. velutinus*, verificou-se um material mais compacto que o observado na Figura 28B, de *P. albidus*, o que indicaria uma resistência à compressão menor deste último em relação às outras duas bioespumas. Como já identificado, o crescimento micelial se comporta como um agente de aglomeração dos componentes de farelo de trigo e de serragem, propiciando uma compactação e estruturação do material. Este fato, por sua vez, teve interferência em termos de resistência à compressão nos ensaios realizados para cada amostra e em comparação com EPS, a qual pode ser verificada na Figura 32.



**Figura 32** – Resistência à compressão das bioespumas BS25 de *Pycnoporus sanguineus*, *Pleurotus albidus*, *Lentinus velutinus* em comparação com EPS. <sup>a, b, c</sup> Valores foram determinados em 3 amostras de cada bioespuma. Letras iguais indicam que não há diferença significativa a 5% ( $p < 0,05$  teste de Tukey).

Na Figura 32, observou-se que a resistência à compressão de 1,3 MPa foi atingida nos testes com as bioespumas de *P. sanguineus* e *L. velutinus*, as quais não apresentaram diferença significativa entre si ( $p < 0,05$ , teste de Tukey). Este resultado foi cerca de 60% superior ao obtido para o biocompósito de *P. albidus*, de 0,4 MPa, que foi similar ao identificado para EPS, ambos sem diferença significativa ( $p < 0,05$  teste de Tukey).

Estes valores estão associados à presença de serragem no material produzido, aumentando as propriedades de resistência à compressão, pois os principais componentes das fibras naturais são celulose, hemicelulose e lignina (ARAÚJO *et al.*, 2010; MOHAN *et al.*, 2006). A força de adesão entre as fibras de celulose e a lignina é ampliada pela existência de ligações covalentes entre as cadeias de lignina e os constituintes da celulose e da hemicelulose (JOHN & THOMAS, 2008). O EPS tem células de ar em sua estrutura e isso faz com que sua resistência a compressão seja menor.

Na obtenção de biocompósito a partir de macrofungo *L. edodes*, e resíduos de palmeira, Tavares *et al.* (2013) relata a realização de testes de compressão obtendo valores entre 0,21 e 0,25 MPa, superiores aos valores de compressão da bioespuma da Ecovative Design (0,11 MPa). Identificou-se uma maior quantidade de hifas, resultantes da degradação da lignina das fibras, nestas condições, o desenvolvimento dos macrofungos foi favorecido em função do acesso aos micronutrientes do meio, proporcionando uma densidade micelial maior (TAVARES, 2013).

#### 5.4 INCORPORAÇÃO DAS BIOESPUMAS BS25 EM SOLO NO CULTIVO DE ALFACE

As bioespumas foram desenvolvidas com a utilização de resíduos agroindustriais, substratos para o cultivo dos macrofungos. Como são produzidas a partir de substratos orgânicos, o produto – bioespumas - pode ser usado como adubo em plantações após seu uso, por exemplo, como embalagem, evitando o acúmulo de resíduos que necessitariam de um tratamento ou destinação adequada. Além disso, consistiria em uma alternativa para fertilização orgânica, disponibilizando os nutrientes para as plantas.

Na Tabela 8 são apresentados os valores médios avaliados das mudas de alface *L. sativa* utilizadas para transplantar nas diferentes condições de substrato, e os valores médios avaliados no cultivo de alface em solo utilizando as bioespumas produzidas a partir das espécies dos macrofungos *T. villosa*, *L. velutinus*, *P. sanguineus*, *P. albidus*, *P. djamor* e *Xylaria* sp.

**Tabela 8** – Valores médios da Altura da Raiz (H), Massa Fresca da Raiz (MFR), Massa Seca da Raiz (MSR), Altura da Parte Aérea (HPA), Massa Fresca da Parte Aérea (MFPA), Massa Seca da Parte Aérea (MSPA) e Número de Folhas das mudas transportadas para o cultivo e para as mudas de alface no final do cultivo.

Substrato	Raiz			Parte Aérea			NF
	HR (cm)	MFR (g)	MSR (g)	HPA (cm)	MFPA (g)	MSPA (g)	
Mudas	5,25	0,24	0,02	5	0,49	0,03	3
Controle II**	5,38	0,40	0,03	6,95	0,62	0,05	5
A - Bioespuma <i>T. villosa</i> 100%	14,85	0,90	0,08	9,92	1,57	0,15	8
B - Bioespuma <i>T. villosa</i> 50% + solo 50%	16,25	1,04	0,10	8,50	1,70	0,15	8
C - Bioespuma <i>P. sanguineus</i> 100%	9,93	0,58	0,05	8,23	0,97	0,10	7
D - Bioespuma <i>P. sanguineus</i> 50% + solo 50%	13,80	1,79	0,16	12,63	3,05	0,23	8
E - Bioespuma <i>P. albidus</i> 100%	11,10	0,06	0,05	5,90	0,09	0,08	7
F - Bioespuma <i>P. albidus</i> 50% + solo 50%	10,70	0,08	0,18	6,80	0,12	0,11	7
G - Bioespuma <i>P. djamor</i> 100%	14,50	1,56	0,06	13,12	3,12	0,21	7
H - Bioespuma <i>P. djamor</i> 50% + solo 50%	19,63	0,22	0,16	14,50	0,40	0,39	8
I - Bioespuma <i>L. velutinus</i> 100%	5,48	0,32	0,03	5,13	0,47	0,05	7
J - Bioespuma <i>L. velutinus</i> 50% + solo 50%	9,30	0,58	0,05	5,88	0,62	0,07	7
K - Bioespuma <i>Xylaria</i> sp. 100%	13,23	0,65	0,05	7,43	1,17	0,10	7
L - Bioespuma <i>Xylaria</i> sp. 50% + solo 50%	23,00	3,25	0,29	12,50	4,53	0,36	9

\*\*Controle II – crescimento de alface em meio de cultivo da bioespuma sem a colonização pelo micélio.

Os resultados obtidos foram comparados apenas ao controle II (crescimento de alface em meio de cultivo da bioespuma sem a colonização pelo micélio). Segundo Lima (2007), cultivares de *L. sativa* possuem épocas de plantio no verão ou no inverno, podendo ser conduzidos em campo em sistema protegido, porém, seu desenvolvimento vegetativo ótimo é entre 15 a 20°C, sendo susceptíveis às geadas (ADP FERTILIZANTES, 2014).

Em situação onde a temperatura foi maior que 25°C, no décimo dia de plantio, em um período de dois dias no sistema de cultivo protegido, as mudas de alface do controle I (crescimento de alface em solo comercial), não suportaram a condição de *stress* térmico apresentando as folhas murchas e raízes secas (Figura 33), mesmo sob regas diárias, as mudas não se revitalizaram. Nesta mesma situação, as mudas nas demais condições também apresentaram folhas murchas, como pode ser visualizado na Figura 34, as mudas do controle II\*, porém após regas elas revitalizaram-se e continuaram a se desenvolver (Figura 35). A partir disso, compreendeu-se que a umidade proporcionada tanto pela serragem quanto pela matéria orgânica presente no substrato pôde suprir a demanda que as mudas necessitaram na condição em que foram submetidas.



**Figura 33** – Mudanças de alface do controle I\* após condição de *stress*.



**Figura 34** – Mudanças de alface do controle II\* após situação de *stress*.



**Figura 35** – Cultivo de alface após 25 dias de plantio. (A) Mudanças de alface na condição bioespuma *L. velutinus* 50% e solo 50%; (B) condição bioespuma *L. velutinus* 100%; (C) condição bioespuma *Xylaria* sp. 50% e solo 50%; (D) condição bioespuma *Xylaria* sp. 100%; (E) condição bioespuma *T. villosa* 50% e solo 50%; (F) condição bioespuma *T. villosa* 100%; (G) condição bioespuma *P. sanguineus* 50% e solo 50%; (H) condição bioespuma *P. sanguineus* 100%; (I) condição bioespuma *P. albidus* 50% e solo 50%; (J) condição bioespuma *P. albidus* 100%; (K) condição bioespuma *P. djamor* 50% e solo 50%; (L) condição bioespuma *P. djamor* 100%.

Os resultados da Tabela 8, apontam como o melhor substrato para o crescimento das mudas, a condição constituída com 50% de solo comercial e 50% de bioespuma *Xylaria* sp., apresenta maior número de folhas (NF – 9), altura da raiz (HR – 23 cm), massa fresca da raiz (MFR – 3,25 g), massa seca da raiz (MSR – 0,29 g), massa fresca da parte aérea (MFPA – 4,53) e massa seca da parte aérea (MSPA – 0,36), com valores inferiores apenas para a variável altura da parte aérea (HPA – 12,5) em relação às mudas nas condições com 50% de solo comercial e 50% de bioespuma de *P. djamor* (HPA- 13,12 g) e com 50% de solo comercial e 50% de bioespuma de *P. sanguineus* 50% (HPA – 12,63).

O melhor desempenho obtido pela BS25 de *Xylaria* sp. pode estar associado ao fato deste macrofungo possuir propriedades endofíticas que auxilia na integridade das mudas. Segundo Casella (2014), os endofíticos possuem defesa contra toxinas vegetais, ou ainda podem mimetizar o mesmo composto tóxico vegetal. O macrofungo endofítico *Xylaria* sp. apresentou capacidade em metabolizar saponinas antifúngicas de *Sapindus saponaria* (Sapindaceae), tornando possível sua presença nos frutos desta planta, a qual apresenta teores elevados de saponinas antibióticas em seu pericarpo (Amaral *et al.*, 2008).

A condição que apresentou variável HR de maior valor foi o crescimento das mudas em 50% de solo comercial e 50% de bioespuma de *P. djamor*. No quinto dia de plantio, as duas condições constituídas com esta bioespuma apresentaram corpos de frutificação dos macrofungos (Figuras 36 e 37), o que, após a situação de *stress*, desidrataram. Este fato pode ter contribuído com a manutenção do desenvolvimento das mudas, conferindo melhores resultados tanto para a raiz quanto para a parte aérea das mudas. O fato de desenvolvimento

de macrofungos indica a possibilidade de obter outro alimento associado à produção de alface, além do aproveitamento da bioespuma como substrato.

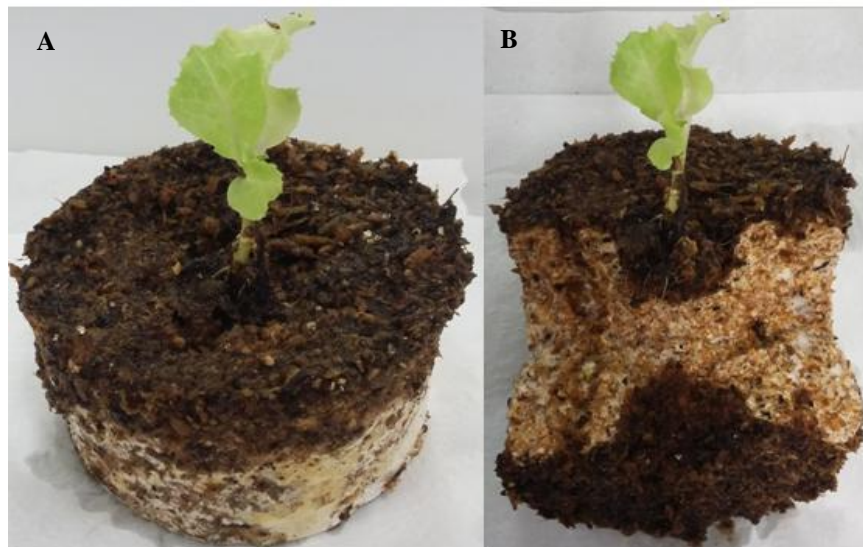


**Figura 36** – Mudanças de alface na condição bioespuma *Pleutorus djamor* 50% e solo 50%, e bioespuma *Pleutorus djamor* 100% após 5 e 8 dias de plantio.



**Figura 37** – Corpos de frutificação nas mudas de alface na condição bioespuma *Pleutorus djamor* 100% após 8 dias de plantio. (A) vista superior; (B) vista inferior e (C) vista lateral/perspectiva.

Nos valores da Tabela 8 para a condição bioespuma *L. velutinus* 100%, observa-se que os valores de HR e HPA estão bem próximos aos apresentados pelas mudas no momento em que foram transplantadas, conferindo pouco desenvolvimento da planta nesta condição. No final do cultivo, verificou-se o desenvolvimento deste macrofungo, o que pode ter limitado o crescimento da muda de alface (Figura 38).



**Figura 38** – Final do plantio de alface na condição bioespuma *L. velutinus* 100%. (A) vista externa da bioespuma. (B) vista interna da bioespuma.

A mesma situação foi apresentada pelas BS de *P. sanguineus* em duas replicatas, como pode ser visualizado na Figura 39. É notável a limitação do desenvolvimento de alface na presença do macrofungo, sendo praticamente nulo comparando à muda inicial que foi transplantada para dar início ao plantio.

Uma possível explicação para a limitação no desenvolvimento de *L. sativa* na presença de *P. sanguineus* está relacionada à produção de certas substâncias por este macrofungo.

De acordo com Smânia *et al.* (1995), este fungo, facilmente reconhecível por sua intensa cor laranja avermelhada, produz cerca de sete pigmentos, sendo o antibiótico cinabarina um deles. Estudos indicam que a cinabarina produzida por *P. sanguineus* apresenta atividade contra diversos gêneros de bactérias - *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp., *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* e vários *Streptococcus* spp., - tendo atividade principalmente sobre bactérias Gram-positivas.





**Figura 39** – Final do plantio de alface na condição bioespuma *P. sanguineus* 100%.

A análise estatística foi realizada inicialmente pelo teste de normalidade, a fim de verificar se os dados experimentais seguem uma distribuição normal ( $p > 0,05$ ) e definir os testes de hipóteses posteriores conforme o resultado (o valor de  $p$  maior que 0,05 indica que as variáveis apresentam distribuição normal, enquanto um valor de  $p$  menor que 0,05 indica outro tipo de distribuição dos dados).

Tanto o teste Kolmogorov-Smirnov quanto o teste Shapiro-Wilk indicaram que as variáveis Raiz\_HR ( $p > 0,05$ ) e Aereo\_HPA ( $p > 0,05$ ) foram as únicas que apresentaram distribuição normal, preenchendo o pré-requisito para a aplicação da Análise de Variância (ANOVA). As demais variáveis (Raiz\_MFR,  $p = 0,002$ ; Raiz\_MSR,  $p = 0,000$ ; Aereo\_MFPA,  $p = 0,001$ ; Aereo\_MSPA,  $p = 0,000$  e Folhas,  $p = 0,001$ ) não apresentaram distribuição normal. Para estas variáveis, as comparações entre os tratamentos foram realizadas por meio do teste de Kruskal-Wallis.

- **Variáveis com distribuição normal:** Raiz\_HR ( $p > 0,05$ ) e Aereo\_HPA ( $p > 0,05$ )

Para a verificação de diferenças significativas entre os tratamentos para as variáveis Raiz\_HR e Aereo\_HPA, as quais apresentaram distribuição normal, foi realizada análise de variância (ANOVA) com pós-teste de Dunnett. A ANOVA indicou que existem diferenças significativas entre os tratamentos para ambas as variáveis testadas ( $p < 0,05$ ). Raiz\_HR ( $p = 0,043$ ), Aereo\_HPA ( $p = 0,000$ ).

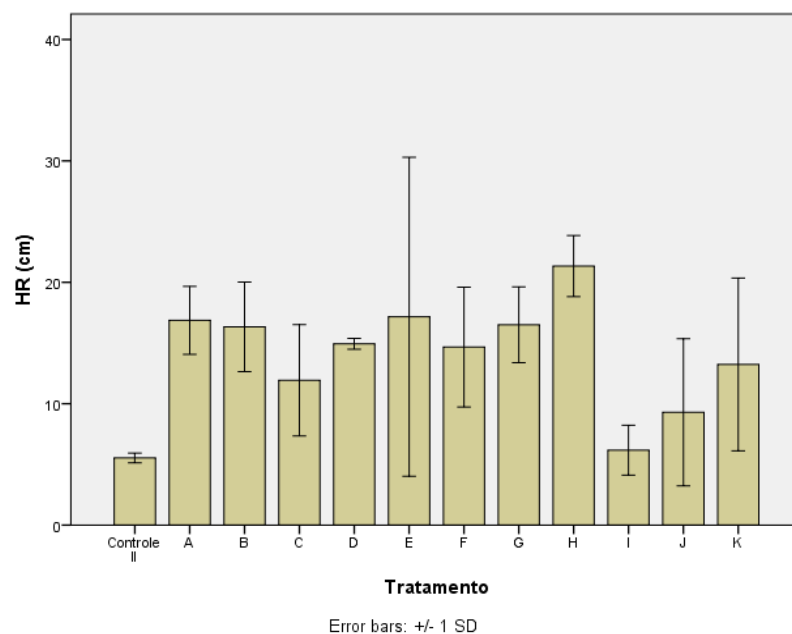
O teste de Dunnett T3 foi aplicado para verificar se existem diferenças significativas nas variáveis Raiz\_HR e Aereo\_HPA conforme os tratamentos utilizados. Este teste foi

escolhido porque as variáveis testadas apresentaram distribuição normal e variâncias heterogêneas.

Para a variável Raiz\_HR, o controle II apresentou diferenças significativas em relação ao tratamento D ( $\rho=0,000$ ), com os valores do tratamento D sendo significativamente maiores que os valores do controle II. Os tratamentos H e I também apresentaram diferenças significativas entre si, com os valores no tratamento H sendo significativamente maiores que no tratamento I. Os resultados podem ser visualizados na Tabela 9 e Figura 40.

**Tabela 9** – Teste de Dunnet T3 para a variável Raiz\_HR.

Raiz_HR	Controle II	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
Controle II		<0,05	<0,05	<0,05	<b>0,000</b>	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
A-Bioespuma <i>T. villosa</i> 100%			<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
B-Bioespuma <i>T. villosa</i> 50% + solo 50%				<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
C-Bioespuma <i>P. sanguineus</i> 100%					<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
D-Bioespuma <i>P. sanguineus</i> 50% + solo 50%						<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
E-Bioespuma <i>P. albidus</i> 100%							<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
F-Bioespuma <i>P. albidus</i> 50% + solo 50%								<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
G-Bioespuma <i>P. djamor</i> 100%									<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
H-Bioespuma <i>P. djamor</i> 50% + solo 50%										<b>0,024</b>	<0,05	<0,05
I-Bioespuma <i>L. velutinus</i> 100%											<0,05	<0,05
J-Bioespuma <i>L. velutinus</i> 50% + solo 50%												<0,05
K-Bioespuma <i>Xylaria</i> sp. 100%												

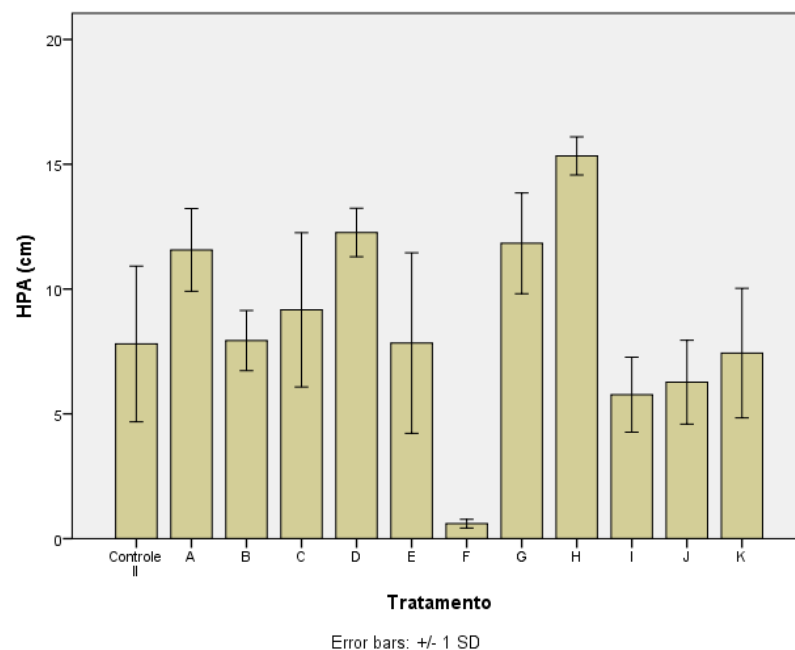


**Figura 40** – Teste de Dunnet T3 para a variável Raiz\_HR.

Os resultados para a variável Aereo\_HPA são apresentados nas Tabela 10 e Figura 41. O tratamento F apresentou diferenças significativas em relação aos tratamentos B ( $p=0,049$ ) e D ( $p=0,013$ ), com o grupo F apresentando valores significativamente menores que os grupos B e D. O tratamento H também apresentou diferenças significativas em relação aos tratamentos B ( $p=0,024$ ), F ( $p=0,004$ ), I ( $p=0,027$ ) e J ( $p=0,046$ ), com os valores do grupo H sendo significativamente maiores que os valores dos demais grupos citados.

**Tabela 10** – Teste de Dunnet T3 para a variável Aereo\_HPA.

Aereo_HPA	Controle II	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
Controle II		<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
A-Bioespuma <i>T. villosa</i> 100%			<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
B-Bioespuma <i>T. villosa</i> 50% + solo 50%				<0,05	<0,05	<0,05	<b>0,049</b>	<0,05	<b>0,024</b>	<0,05	<0,05	<0,05
C-Bioespuma <i>P. sanguineus</i> 100%					<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
D-Bioespuma <i>P. sanguineus</i> 50% + solo 50%						<0,05	<b>0,013</b>	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
E-Bioespuma <i>P. albidus</i> 100%							<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
F-Bioespuma <i>P. albidus</i> 50% + solo 50%								<0,05	<b>0,004</b>	<0,05	<0,05	<0,05
G-Bioespuma <i>P. djamor</i> 100%									<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
H-Bioespuma <i>P. djamor</i> 50% + solo 50%										<b>0,027</b>	<b>0,046</b>	<0,05
I-Bioespuma <i>L. velutinus</i> 100%									<b>0,027</b>		<0,05	<0,05
J-Bioespuma <i>L. velutinus</i> 50% + solo 50%									<b>0,046</b>			<0,05
K-Bioespuma <i>Xylaria</i> sp. 100%												

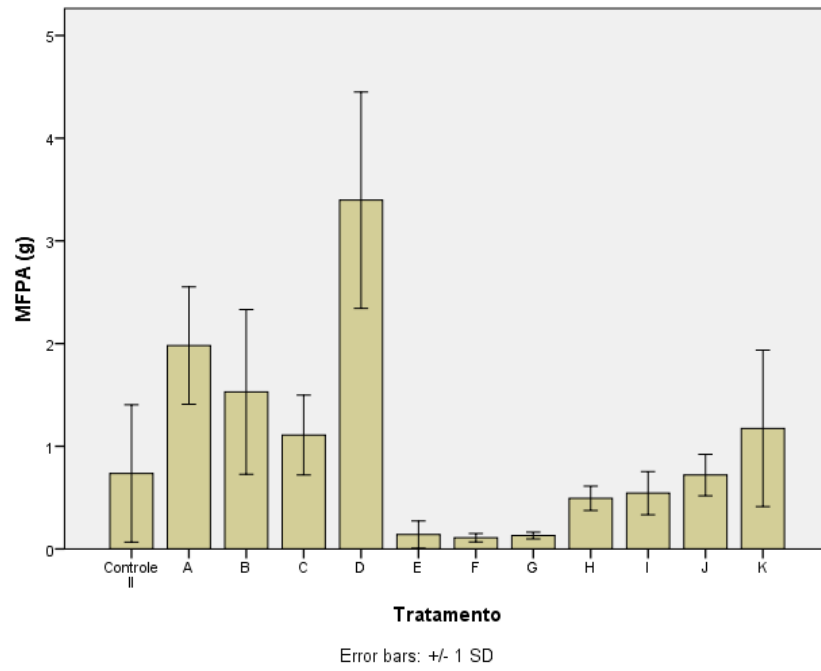


**Figura 41** – Teste de Dunnet T3 para a variável Aereo\_HPa.



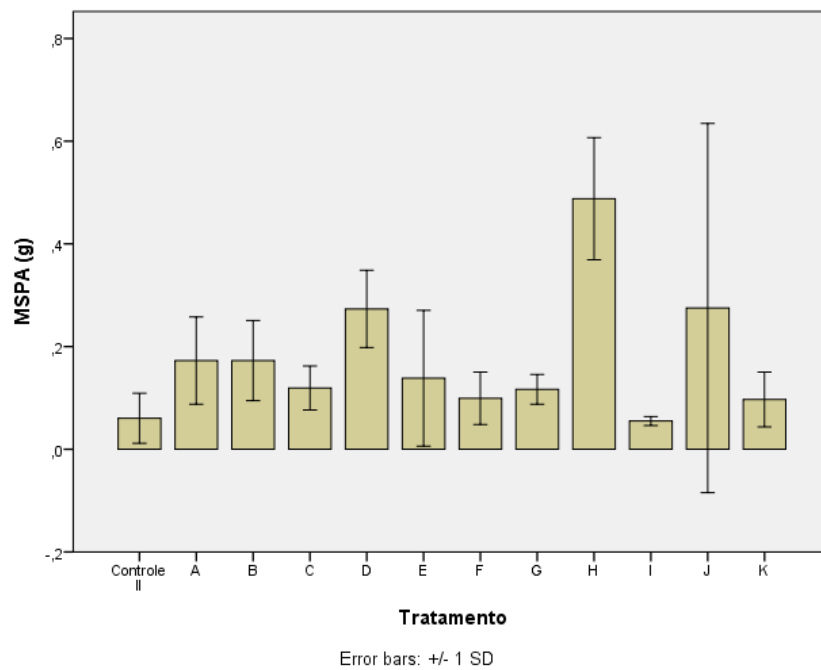




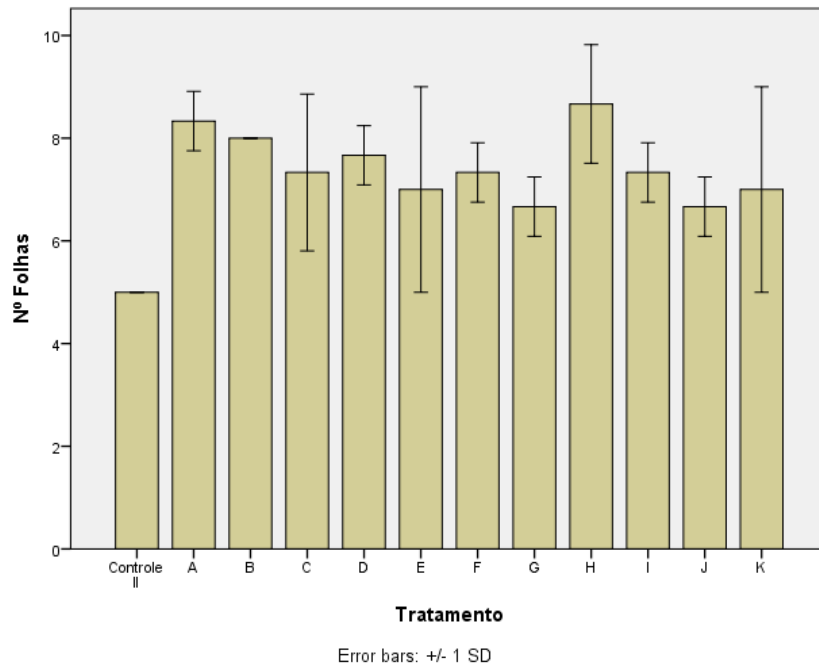


**Figura 44** – Teste de Kruskal-Wallis para a variável Aereo\_MFPA.

As variáveis Aéreo\_MSPA (Figura 45) e nº de Folhas (Figura 46) não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos.



**Figura 45** – Teste de Kruskal-Wallis para a variável Aereo\_MSPA.



**Figura 46** – Teste de Kruskal-Wallis para a variável nº de Folhas.

A partir dos resultados, observou-se que todas as condições em que o substrato para o plantio e desenvolvimento das mudas de alface foi constituído com as bioespumas foram satisfatórias em relação aos controles. Entre as condições testadas, os resultados indicam que utilizando 50% de solo e 50% BS, só houve aprimoramentos no desenvolvimento das mudas de alface, possivelmente devido a maior disponibilidade de diferentes nutrientes. Os resultados obtidos nas condições com 100% BS, com exceção das BS *L. velutinus* e BS *P. sanguineus*, mostraram-se satisfatórios, entretanto, este fato não foi observado em condição mista com o solo.

Com base no exposto, comprovou-se que a presença da matéria orgânica das bioespumas auxiliou na manutenção e no suprimento de nutrientes necessários para o desenvolvimento das mudas, bem como a umidade mantida pela serragem. Esse fato confirmou a possível utilização das bioespumas de macrofungos produzidas, após seu uso, como um biofertilizante na agricultura.



## 6 CONCLUSÃO

Este estudo teve como objetivo a obtenção e caracterização de bioespumas de macrofungos regionais buscando avaliar os efeitos de sua incorporação no solo em cultivo de alface e a comparação de suas propriedades físicas, térmicas e mecânicas com o poliestireno expandido, e as principais conclusões encontram-se a seguir apresentadas.

- a) As bioespumas BS3 e BS25, obtidas de cultivos de macrofungos regionais em resíduos agroindústrias, apresentam-se como potenciais alternativas ao EPS.
- b) Entre estas bioespumas, os resultados mais promissores foram atingidos para as BS25 obtidas dos macrofungos *P. sanguineus* e *L. velutinus*, em função do aumento da resistência à compressão.
- c) Para as três bioespumas BS3 (de *P. albidus*, *P. djamor* e *T. villosa*) além do fato de apresentar uma maior resistência à compressão, *P. albidus* e *P. djamor* são macrofungos comestíveis, podendo ser utilizados para embalagens de produtos alimentícios.
- d) Verificaram-se valores similares entre as bioespumas BS3 e BS25, bem como seus comportamentos no perfil termogravimétrico, apresentando uma menor estabilidade térmica em relação ao EPS. Apesar da menor estabilidade térmica, as bioespumas de macrofungos possuem resistência à compressão bem superior à do EPS.
- e) Além da obtenção de um material biodegradável, após seu uso, comprovou-se a alternativa de aplicação no solo como biofertilizante, avaliado em plantio de mudas de alface.

Em função dos resultados aqui apresentados e discutidos, verificou-se que novos materiais e/ou produtos podem ser obtidos a partir de resíduos agroindustriais. As bioespumas, independente do foco da aplicação, consistem em uma alternativa que visa potencializar o uso de diversos tipos de resíduos gerados em quantidade na agroindústria e que, muitas vezes, não tem um tratamento adequado. Além da ampliação do mercado, pela

disponibilidade e valorização dos novos produtos, o desenvolvimento de tecnologias inovadoras é imprescindível, revertendo o conceito de resíduo para o da matéria-prima que vai ser direcionada para a obtenção de novos materiais.

Cabe ressaltar que para a linhagem *Xylaria* sp. foi apresentado somente a avaliação de crescimento micelial em BS3, uma vez que para as demais análises foram selecionadas apenas três linhagens para BS3 e outras três para BS25.

## REFERÊNCIAS

ABITRIGO (Associação Brasileira da Indústria do Trigo). Disponível em: <<https://www.abitrigo.com.br>>. Acesso em: 29 de jan. 2016.

ABRAPEX (Associação Brasileira de Poliestireno Expandido). Disponível em: <<http://www.abrapex.com.br/>>. Acesso em: 11 de mar. 2016.

AL-HOSNEY, H. A.; GRASSIAN, V. H. Water, sulfur dioxide and nitric acid adsorption on calcium carbonate: A transmission and ATR-FTIR study. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 7, p. 1266-1276, 2005.

AMARAL L.S., RODRIGUES M.M., DE SOUZA A.Q.L., SARQUIS M.I.M. A saponin tolerant and glycoside producer xylariaceous fungus isolated from fruits of *Sapindus saponaria*. **World Journal of Microbiology Biotechnology**, v. 24, p. 1341-1348, 2008.

ARAÚJO, M.A.R.. **Avaliação de desempenho de artefato de poliestireno de alto impacto reciclado**. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências). Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

ARAÚJO, S.S., CAVALCANTI, N. F., DUARTE, I. S., SANTOS, T. T., SILVA, S. M. L., CARVALHO, L. R., Desenvolvimento de compósitos PP/sisal extrudados: estudo do efeito do tratamento alcalino das fibras nas propriedades mecânicas e termomecânicas, VI Congresso Nacional de Engenharia Mecânica, **Conem**, Campina Grande Paraíba, 2010.

BAUMER, J.D. **Produção do antibiótico cinabarina pelo fungo *Pycnoporus sanguineus* utilizando resíduos lignocelulósicos como substrato**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Universidade de Santa Catarina. Florianópolis, 2009.

BASTO, C., SILVA, C.J., GÜBITZ, G., CAVACO-PAULO, A. Stability and decolourization ability of *Trametes villosa* laccase in liquid ultrasonic fields. **Ultrasonics Sonochemistry**, v 14, p. 355-362, 2007.

BAYER, E., MCINTYRE, G. 2011. Method for producing rapidly renewable chitinous material using fungal fruiting bodies and product made thereby. US2009307969 (A1)

BELLETTINI, M. B. **Desenvolvimento de um bioprocesso integrado para valorização de bainha de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth): produção de cogumelos (*Pleurotus* spp.) e alface (*Lactuca sativa*) cv. Verônica.** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná. Curitiba, Brasil, 2014.

BERNARDY, F. C., PICCOLI, M., TOCCHETTO, M. R. L. **The development of a sunglasses collection through the recycling of expanded polystyrene.** 5º Fórum Internacional Ecoinnovar. Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil, 2015.

BONONI, V. L. R.; CAPELARI, M.; MAZIERO, R.; TRUFEM, S. F. B. Cultivo de cogumelos comestíveis. **São Paulo: Editora Ícone**, p. 12-163, 1999.

BORSOI, C. **Compósitos de poliestireno e poliestireno expandido reciclado reforçado com fibras de curauá: propriedades e degradação.** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos e Tecnologias). Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos e Tecnologias. Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, Brasil, 2012.

BROWN, M. **Introduction to thermal analysis techniques and applications.** London: Chapman and Hall, 1988.

BUKH, C., LUND, M., BJERRUM, J. Kinetic studies on the reaction between *Trametes villosa* laccase and dioxygen. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 100, p. 1547-1557, 2006.

CAFÊU, M.C., SILVA, G.H., TELES, H.L., BOLZANI, V.S., ARAÚJO, A.R. Substâncias Antifúngicas de *Xylaria* sp. **Química Nova**, v. 28, n. 6, 991-995, 2005.

CALEGARI E.P., OLIVEIRA B.F. Composites from renewable sources as an alternative for product development. **Sustentabilidade em Debate** – Brasília; 2016. p. 140-155.

CANEVAROLO JR; S. V. **Ciência dos polímeros: um teste básico para tecnólogos e engenheiros.** São Paulo: Artliber Editora, 2002.

CASELLA, T.M. **Substâncias antimicrobianas ou citotóxicas em micro-organismos endofíticos foliares.** Tese (Doutorado em Ciências Médicas). Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas. Universidade de Brasília e Universidade das Antilhas e da Guiana. Brasília, Brasil, 2014.

CASTILHO, G., DERMOULIN, V. NaCl salinity and temperature effects on growth of three wood-rotting Basidiomycetes from a Papua New Guinea coastal forest. **Mycological Research**, v. 101, p. 341-344, 1997.

CASTRO-ALVES, C.; GOMES, D.; MENOLLI JR., N.; SFORC, M. L.; NASCIMENTO, J. R. O. Characterization and immunomodulatory effects of glucans from *Pleurotus albidus*, a promising species of mushroom for farming and biomass production. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 95, p. 215–223, 2017.

CHAND, N.; SOOD, S.; SINGH, D.K. & ROHATGI, P.K. Structural and thermal studies on sisal fibre. **Journal of Thermal Analysis**, v. 32, p. 595-599, 1997.

CHANG, S. T. Microbial biotechnology – integrated studies on utilization of solid organic wastes. **Resources and Conservation**, v. 13, p. 75-82, 1987.

CHUPIN, L.; MOTILLON, C.; BOUHTOURYA, F. C.; PIZZI, A.; CHARRIER, B. Characterization of maritime pine (*Pinus pinaster*) bark tannins extracted under different conditions by spectroscopic methods, FTIR and HPLC. **Industrial Crops and Products**, v. 49, p. 897– 903, 2013.

CITADIN, D.G. 2007. **Produção e caracterização de poliestireno expansível a partir da reciclagem de embalagens de poliestireno extrusado pós-consumo**. 2007. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

CORAZZA, E.C.F. **Termoplásticos: os materiais e suas transformações**. 4ªed. São Paulo, s.n.,1995.

COSTA, A.C.F.; MARINO, R.H.; SILVA, G.A.; ALMEIDA, T.A.; NASCIMENTO, K.S.; MESQUITA, J.B. Occurrence of macroscopic fungi in stands of eucalyptus. **Natural Resources**, v. 1, p. 5-14, 2011.

CUNHA, M.C.; MONTEIRO, P.S.; MENDES, F.Q. Caracterização bioquímica de fitases produzidas por fungos isolados na região do Alto Paranaíba em Minas Gerais. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 13, p. 59-67, 2015.

d'ALMEIDA, AL.F.S; MELO FILHO, J.A.; d'ALMEIDA, J.R.M. Characterization of raw and treated curaua fibers to be applied as reinforcement in composites. **Materials Science Forum**, p. 283-288, 2013.

DE PAOLI, M.A.; ARAUJO, J.R.; WALDMAN, W.R. Thermal properties of high density polyethylene composites with natural fibres: Coupling agent effect. **Polymer Degradation and Stability**, v. 93, p. 1770-1776, 2008.

DE ROSA, I.M.; KENNY, J.M.; PUGLIA, D.; SANTULLI, C.; SARASANI F. Morphological, thermal and mechanical characterization of okra (*Abelmoschus esculentus*) fibres as potential reinforcement in polymer composites. **Composites Science and Technology**, v. 70, p.116–122, 2010.

DINANI S.T.; HAMDAMI, N.; MOHAMMAD, S.; HAVET, M.; QUEVEAU, D. Influence of the electrohydrodynamic process on the properties of dried button mushroom slices: A differential scanning calorimetry (DSC) study. **Food and Bioproducts Processing**, v. 95, p. 83-95, 2015.

ELISASHVILI, V., PENNINCKX ,M., KACHLISHVILI, E., TSIKLARI, N., METREVELI, E., KHARZIANI, T., KVESITADZE, G. *Lentinus edodes* and *Pleurotus* species lignocellulolytic enzymes activity in submerged and solid-state fermentation of lignocellulosic wastes of diverent composition. **Bioresource Technology**, v.99, p. 457–462, 2007.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). Disponível em: <<https://www.embrapa.br/trigo/cultivos>>. Acesso em: 20 de fev. 2016.

ERENO, D. Isopor vegetal. Engenharia de Materiais. **Pesquisa Fapesp**, v. 132, p. 73-75, 2007.

FERRAZ, A. L.. Fungos decompositores de materiais lignocelulolíticos. In: Esposito, E.; Azevedo, J.L. **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: EDUCS Ed., p.213-242, 2004.

FONTANA, R.C. **Estudo da produção de poligalacturonases em processo submerso em biorreatores de agitação mecânica e airlift**. Tese (Doutorado em Biotecnologia). Programa de Pós Graduação em Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, 2009.

FORLIN, A.M., BRANDALISE, L.T., BERTOLINI, G.R.F. Análise do ciclo de vida do produto de uma indústria de isopor®. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 3, p. 201-228, 2014.

GERRERO, R., HOMRICH, M.M. **Fungos Macroscópicos Comuns no Rio Grande do Sul – Guia para Identificação**. 2. ed. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS, p. 07-17, 1999.

GHAFFAR, S.H.; FAN, M. Revealing the morphology and chemical distribution of nodes in wheat straw. **Biomass and Bioenergy**, v. 77, p. 123-134, 2015.

GIL, E.S.; MULLER, L.; SANTIAGO, M.F.; GARCIA, T.A. Biosensor based on brut extract from laccase (*Pycnoporus sanguineus*) for environmental analysis of phenolic compounds. **Portugaliae Electrchimica Acta**, v. 27, p. 215-225, 2008.

GOLVEIA, J.C.S. **Indução de lacase de *Pycnoporus sanguineus* CCT 4518 induzida por resíduos agroindustriais e ensaio de biorremediação de estrogênio sintético (EE2)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Goiás, 2016.

GUERRERO, R.T.; HOMRICH, M.H. **Fungos macroscópicos no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Ed. Universidade UFRGS. 120p. 1983.

GUO, M.; CHOROVER, J.; FOX, R.H. Effects of spent mushroom substrate weathering on the chemistry of underlying soils. **Journal of Environmental Quality**, v. 30, p. 2127-2134, 2001.

GONÇALVES, B.R.L.; PEREZ, L.; ÂNGELO, A.C.D. (2009). Glicerol: uma inovadora fonte de energia proveniente da produção de biodiesel. **Int. Workshop Advances in Cleaner Production**, São Paulo, Brasil, 2009.

HABIBI, Y., EL-ZAWAWY, W.K., IBRAHIM, M. M., DUFRESNE, A. Processing and characterization of reinforced polyethylene composites made with lignocellulosic fibers from Egyptian agro-industrial residues. **Composites Science and Technology**, v. 68, p.1877–1885, 2008.

HAWKSWORTH, D.L. The magnitude of fungal diversity: the 1±5 million species estimate revisited. **Mycological Research**, v. 105 p. 1422-1432, 2001.

HIGGINBOTHAM, S.J., ARNOLD, A.E., IBAÑEZ, A., SPADAFORA, C., COLEY, P.D., KURSAR, T.A. Bioactivity of fungal endophytes as a function of endophyte taxonomy and the taxonomy and distribution of their host plants. **Plos One**. 8: 73192, 2013.

HUANG, N.; WANG, J. A. TGA-FTIR study on the effect of CaCO<sub>3</sub> on the thermal degradation of EBA copolymer. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 84, p. 124-130, 2009.

JESUS, L. C. C. **Obtenção e caracterização de compósitos de poliestireno expandido pós-consumo reforçados com celulose de bagaço de cana-de-açúcar**. Dissertação (Mestrado em Integridade de Materiais da Engenharia). Programa de Pós-Graduação em Integridade de Materiais da Engenharia da Faculdade Gama e Faculdade de Tecnologia da Universidade de Brasília. Brasília/DF, Brasil, 2014.

JOHN, M.J., THOMAS, S. Biofibres and biocomposites, **Carbohydrate Polymers**, v. 71, p. 343, 2008.

JOSEPH, P.V., JOSEPH K., THOMAS, S., PILLAI, C.K.S., PRASA, V.S., GROENINCKX, G., The thermal and crystallisation studies of short sisal fiber reinforced polypropylene composites. **Applied Science and Manufacturing**, 34, p. 253–266, 2003.

KARP, S.; FARACO, V.; AMORE, A.; BIROLO, L.; GIANGRANDE, C.; SOCCOL, V.T.; PANDEY, A.; SOCCOL, C.R. Characterization of laccase isoforms produced by *Pleurotus ostreatus* in solid state fermentation of sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 735-739, 2012.

KELLER, H.A. Relationship between the sporocarp and pseudosclerotia size of *Lentinus velutinus* (Lentinaceae-Poriales), validation of a hypothesis suggested by the Guaranis of Misiones. **Argentina Bonplandia**, v. 17(1), p. 29-34, 2008.

KIM, H.S., KIM, S., KIM, H.J., YANG, H.S. Thermal properties of bio-flour-filled polyolefin composites with different compatibilizing agent type and content. **Thermochimica Acta**, 451, p. 181–188, 2006.

KINESWARY S., ABDULLAH, N., RENUVATHANI, M., SEKARAN, M., PANDEY, A., JONES, E.B.G. Productivity of laccase in solid substrate fermentation of selected agro-residues by *Pycnoporus sanguineus*. **Bioresource Technology**, v. 97(1), p. 171-177, 2006.



KIRK, T.K.; CULLEN, D. Enzymology and molecular genetics of wood degradation by white-rot fungi. **Environmentally Friendly Technologies for the Pulp and Paper Industry**, p. 273-308, 1998.

KNAUF, M., MONIRUZZAMAN, M. Lignocellulosic biomass processing: a perspective. **International Sugar Journal**, v. 106, p. 147-150, 2004.

LAUFENBERG, G., KUNZ, B., NYZTROEM, M. 2003. Transformation of vegetable waste into value added products: the upgrading concept; practical implementations. **Bioresource Technology**, v. 87, p. 167-198.

LECHNER, B.E.; ALBERTÓ, E. Search for new naturally occurring strains of *Pleurotus* to improve yields *Pleurotus albidus* as a novel proposed species for mushroom production **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 28(4), p. 148–154, 2011.

LIMA, M. E. **Avaliação do desempenho da cultura da alface (*Lactuca sativa*) cultivada em sistema orgânico de produção, sob diferentes lâminas de irrigação e coberturas do solo**. Dissertação (Mestrado em Ciências) Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil, 2007.

LOPES, F.D. REVILLA, J.L.G., MUNILLA, M.H. Glicerol. In: **Manual dos derivados da cana-de-açúcar: diversificação, matérias-primas, derivados do bagaço do melaço, outros derivados, resíduos, energia**, p. 397, 1999.

MBS (Maack Business Services). Disponível em: <[https:// www.mbspolymer.com](https://www.mbspolymer.com)>. Acesso em: 11 de jun. 2015.

MAHER, M. J.; MAGETTE, W. L.; SMYTH, S.; DUGGAN, J.; DODD, V. A.; HENNERTY, M. J.; McCABE, T. Managing spent mushroom compost. Disponível em: <<http://www.teagasc.ie/research>>. Acesso em: jun. 2016.

MALVESSI, E., SILVEIRA, M.M. Influence of medium composition and pH on the production of polygalacturonases by *Aspergillus oryzae*. **Brazil. Arch. Biol. Technol**, v. 47, p. 693-702, 2004.

MANO, J. F.; KONIAROVA, D.; REIS, R.L. Thermal properties of thermoplastic starch/synthetic polymer blend with potential biomedical applicability. **Journal of materials science: Materials in medicine**. v. 14. p.127-135. 2003.

- MARCOVICH, N.E.; REBOREDO, M.M.; ARANGUREN, M.I. Modified woodflour as thermoset fillers II. Thermal degradation of woodflours and composites. **Thermochemica Acta**, v. 372, p. 45-47, 2001.
- MARTÍN, C., KLINKE, H.B., THOMSEN, A.B. Wet oxidation as a pretreatment method for enhancing the enzymatic convertibility of sugarcane bagasse. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 40, p. 426-432, 2007.
- MASSADEH, M.I., YUSOFF, W.M.W., OTHMAN, O., KADER, J. Synergism of cellulase enzymes in mixed culture solid substrate fermentation. **Biotechnology Letters**, v. 23, p. 1771-1774, 2001.
- MESSIAS, J.M., COSTA, B.Z., LIMA, V.M.G., GIESE, E.L., DEKKER, R.F.H., BARBOSA, A.M. Microbial lipases: Production, properties and biotechnological applications. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 213-234, 2011.
- MOHAN, D., PITTMAN, C.U., STEELE, P. H. Pyrolysis of Wood/Biomass for Bio-oil: A Critical Review, **Energy & Fuels**, v. 20, p. 848-889, 2006.
- MORAN, J., ALVAREZ, V., PETRUCCI, R. J. KENNY, VAZQUEZ, A. Mechanical properties of polypropylene composites based on natural fibers subjected to multiple extrusion cycles. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 103, p. 228–237, 2007.
- MOSIER, N., WYMAN, C., DALE, B., ELANDER, R., LEE, Y.Y., HOLTZAPPLE, M., LADISCH, M. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 673-686, 2005.
- NAVEGANTES, K. C.; ALBUQUERQUE, R. F. V.; DALLA-SANTA, H. S. SOCCOL, C. R.; MONTEIRO, M. C. *Agaricus brasiliensis* mycellium and its polysaccharide modulate the parameters of innate adaptive immunity. **Food and Agricultural Immunology**, v.1, p.1-16, 2012.
- NEGRÃO, D.R., SILVA JÚNIOR, T.A.F.D., PASSOS, J.R.D.S., SANSÍGOLO, C.A., MINHONI, M.T.D.A., FURTADO, E.L. Biodegradation of eucalyptus urograndis wood by fungi. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 89, p. 95-102, 2014.

OKINO, E.Y.A.; ALVES, M.V.S.; TEIXEIRA, D.E.; SOUZA, M.R.; SANTANA, M.A.E. Biodegradação de chapas de partículas orientadas de pinus, eucalipto e cipreste expostas a quatro fungos apodrecedores. **Scientia Forestal**, Piracicaba, v.74, n.1, p.67-74, 2007.

OLIVEIRA, F.A.J. **Caracterização de culturas miceliais de *Pleurotus ostreatus roseus* nativo de mata Atlântica remanescente do estado de Pernambuco**. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v. 71, p.1119-137, 2004.

OLIVEIRA, I. M. **Aspectos biológicos do fungo entomopatogênico *Aschersonia* sp. cultivado em diferentes meios de cultura**. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2008.

OLIVEIRA, L.S. **Reaproveitamento de resíduos de poliestireno expandido (ISOPOR) em compósitos cimentícios**. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, Universidade Federal de São João Del-Rei, 2013.

ORTIZ, S.P., OLIVEIRA, S. Exergy analysis of pretreatment processes of bioethanol production based on sugarcane bagasse. **Energy**. DOI: 10.1016/j.energy.2014.04.090, 2014.

PANDEY, A.; SELVAKUMAR, P.; SOCCOL, C.; NIGAM, P. Solid state fermentation for the production of the industrial enzymes. **Current Science**, v. 77, p. 149-162, 1999.

PANDEY, S.N., DAY, A., & MATHEW, M. D. Thermal analysis of chemically treated jute fibers. **Textile Research Journal**, v. 63, p. 143-150, 1993.

PENARIOL, M.C. **Requisitos nutricionais e produção massal de *Bipolaris euphorbiae*. 49f**. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, 2006.

PETRI, Z.C. **Uso de biomassa lignocelulósica e *Lentinula edodes* (Berck.) Pegler para desenvolvimento de um biocompósito**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental), Universidade Regional de Blumenau, Santa Catarina, 2014.

PINKOSKI, P.I. **Produção de lacase e descolorimento do vermelho congo me verde malaquita pelo *Pycnoporus sanguineus* e *Trametes versicolor***. Tese (Doutorado em Ciência do Solo). Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Curso de Pós-Graduação em Ciência do Solo. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil, 1997.

POLETTTO, M. **Obtenção e caracterização de compósitos preparados com poliestireno expandido reciclado e pó de Madeira.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais). Programa de Mestrado em Materiais. Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, Brasil, 2013.

RATNAWEERA, P.B., WILLIAMS, D.E., DE SILVA, E.D., WIJESUNDERA, R.L.C., DALISAY, D.S., ANDERSEN, R.J. Helvolic acid, na antibacterial norriterpenoid from a fungal endophyte, *Xylaria* sp. of orchid *Anoectochilus setaceus* endemic to Sri Lanka. **Mycology**, v. 5, p. 23-28, 2014.

RIBAS L. C. C.; MENDONÇA M. M.; CAMELINI C. M.; SOARES C. H. L. Use of spent mushroom substrates from *Agaricus subrufescens* (syn. *A. blazei*, *A. brasiliensis*) and *Lentinula edodes* productions in the enrichment of a soil-based potting media for lettuce (*Lactuca sativa*) cultivation: Growth promotion and soil bioremediation. **Bioresource Technology**; 100(20), p. 4750-4757, 2009.

RIVALDI, J.D.; SARROUH, B.F.; FIORILO, R.; SILVA, S.S. Development of biotechnological processes using glycerol from biodiesel production. **Biociência**, v. 37, p. 44, 2009.

ROSA, L.O. **Levantamento de macrofungos (filo Basidiomycotina, subfilo Agaricomycotina) do nordeste do Rio Grande do Sul e avaliação do seu potencial ligninolítico.** Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Universidade de Caxias do Sul. Caxias do Sul, Brasil, 2013.

ROSALES, E., COUTO, R., SANROMAN, M.A. A new uses of food waste: application to laccase production by *Trametes hirsuta*. **Biotechnology Letters**, v. 24, p. 701-704, 2002.

SALMON, D. N. X. PIVA, L. C.; BINATI, R. L.; RODRIGUES, C.; VANDENBERGHE, L. P. S.; SOCCOL, C. R.; SPIER, M. R. A bioprocess for the production of phytase from *Schizophyllum commune*: studies of its optimization, profile of fermentation parameters, characterizatón and stability. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v.35(7), p. 1076-1079, 2012.

SÁNCHEZ, R.; ESPINOSA, E.; DOMÍNGUEZ-ROBLES, J.; LOAIZA, J. M.; RODRÍGUEZ, A. Isolation and characterization of lignocellulose nanofibers from diferent wheat straw pulps. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 92, p. 1025-1033, 2016.

SANTOS, A.S.F., FREIRE, F.H., COSTA, B.L.N., MANRICH S. Sacolas plásticas: destinações sustentáveis e alternativas de substituição. **Polímeros**, v. 22, p. 228-237, 2012.

SANTOS, J.D., SILVA. A.L.L., COSTA, J.L., SCHEIDT, G.N., NOVAK, A.C., SYDNEY, E.B., SOCCO, C.R. Development of a vinasse nutritive solution for hydroponics. **Journal of Environmental Management**, v. 114 p. 8-12, 2013.

SANTOS, M.L.; LIMA, O.J.; NASSAR, E.J.; *et al.* Estudo das condições de estocagem de cana-de-açúcar por análise térmica. **Química Nova**, v. 34, p. 507-511, 2011.

SANTOS, M.M.; AMAZONAS, M.A.L.A.; KRIEGER, N.; MITCHELL, D.A. **Seleção de macrofungos produtores das enzimas lignina peroxidase, manganês peroxidase, lacase, lipase, protease e epóxido-hidrolase.** In: I Evento de Iniciação Científica da Embrapa Florestas, 2002, Colombo. I Evento de Iniciação Científica da Embrapa Florestas, v. 1, 2015.

SANTOS, T.P.S. **Reciclagem de poliestireno expandido: compósito com fibras de algodão para a confecção de placas de circuito impresso.** Trabalho de Graduação em Engenharia de Materiais, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia do Campus Guaratinguetá, 2013.

SANTOS, T.T.; VARAVALLO, M.A. Application endophytic microorganisms in agriculture and production of substances of economic interest. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 32, p. 199-212, 2011.

SHEBANI, A.N.; REENEM, A.J.; MEINCKEN, M. The effect of Wood extratives on the thermal stability os different woos-LLDPE composites. **Thermochimica Acta**, v. 481, p. 52-56, 2009.

SHEN, D.K.; GU, S.; BRIDWATER, A.V. The thermal performance of the polysaccharides extracted from hardwood: cellulose and hemicellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 39-45, 2010.

SINGHANIA, R.R.; SUKUMARAN, R.K.; PATEL A.K.; LARROCHE, C.; PANDEY, A. Advancement and comparative profiles in the production technologies using solid-state and submerged fermetation for microbial celullases. **Enzyme and Microbial. Technology**, v. 46, p. 541-549, 2010.

SILVA, S. M. **Otimização das condições de cultivo sólido de *Pleurotus sajor-caju* em meio constituído de serragem de *Pinus* sp.** Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2004.

SPÅNGBERG, J., TIDÅKER, P., JÖNSSON, H. Environmental impact of recycling nutrients in human excreta to agriculture compared with enhanced wastewater treatment. **Science of the Total Environment**, v. 493, p. 209-219, 2014.

SPIER, M. R.; XAVIER, D. N.; BINATI, R. L.; CESCA, P. L.; PEDRONI, A. B.; SOCCOL, C. R. Stability of new macromycetes phytases under room, cooling and freezing temperatures os storage. **World Academy of Science, Engineering and Technology**, v.67, p.359-363, 2012.

SINDIMADEIRAS. Disponível em: <<http://www.sindimadeirars.com.br/secao.php?pagina=1>>. Acesso em: 15 de out, 2015.

SINGH, P., SULAIMAN, O., HASHIM, R., PENG, L.C., SINGH, R.P. Evaluating biopulping as an alternative application on oil palm trunk using the white-rot fungus *Trametes versicolor*. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 82, p. 96-103, 2013.

SILVA, K. M. de S. **Reciclagem de poliestireno expandido: compósito com fibras de sisal para confecção de placas de circuito impresso.** Trabalho de Graduação em Engenharia de Materiais, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá, 2013.

SOUZA M.N. **Degradação e recuperação ambiental e desenvolvimento sustentável.** [Tese]. Minas Gerais: Universidade Federal de Viçosa, 2004.

TAN, Y.H., WAHAB, M.N. Extracellular enzyme production during anamorphic growth in the edible mushroom *Pleurotus sajor-caju*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 13, p. 613-617, 1997.

TAVARES, L.B.B., PEDRI, Z. C., HELM, C. V., MAGALHÃES, W.L.E. Produção de bioespuma com macrofungo e resíduo de palmeira, Simpósio Internacional sobre Cogumelos no Brasil, 7.; Simpósio Nacional sobre Cogumelos Comestíveis, Manaus, 6., 2013.

TSERKI, V.; MATZINOS, P.; KOKKOU, S.; PANAYIOTOU, C. Novel biodegradable composites based on treated lignocellulosic waste flour as filler. Part I. Surface chemical modification and characterization of wast flour. **Composites Part A**, v. 36, p. 965-974, 2005.

TUOMELA, M. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. **Bioresource Technology**, v. 72, p. 169-183, 2000.

TUOMELA, M.; VIKMAN, M.; HATAKKA, A.; ITÄVAARA, M. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. **Bioresource Technology**, v. 72, p. 169-183, 2000.

VIECELLI, C.A.; STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Indução de resistência em feijoeiro a mancha angular por extratos de micélio de *Pycnoporus sanguineus*. **Summa Phytopathologica**, v. 36, p. 73-80, 2010.

WANDER, P.R. **Utilização de resíduos de Madeira e lenha como alternativas de energias renováveis para o desenvolvimento sustentável da região nordeste do estado do Rio Grande do Sul**. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Brasil, 2001.

WATANABASE, R.A.M.; JUNIOR, H.M.O., SALES, P.T.F.; GARCIA, T.A.; SANTIAGO, M.F. Tratamento do efluente da indústria farmacêutica com os fungos selecionados: *Pycnoporus sanguineus* e *Trametes versicolor*. Congresso, Pesquisa, Ensino e Extensão da UFG: CONPEEX. Universidade federal de Goiânia, ed. 3, 2006.

ZANIN, M.; MANCINI, S. D. Resíduos plásticos e reciclagem. **São Carlos: Ed. UFSCar**, 2004.

ZELLER, P.; ZOCHER, D. Ecovative's breakthrough biomaterials. **Fungi**, v. 5, p. 51-56, 2012.

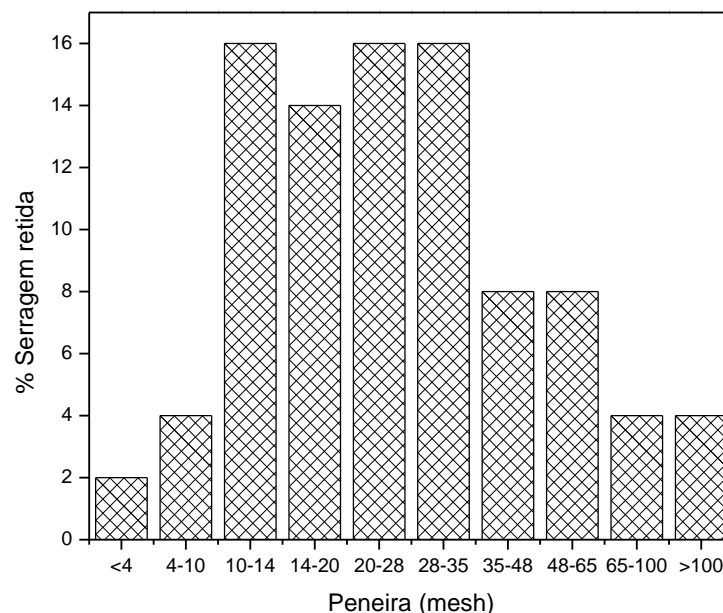
## APÊNDICE - ANÁLISE GRANULOMÉTRICA DOS SUBSTRATOS

### 1. Metodologia da análise granulométrica dos substratos

A caracterização granulométrica das amostras de carbonato de cálcio, farelo de trigo e serragem foram realizadas segundo a norma ASTM D1921/12, em triplicatas a partir do peneiramento em agitador mecânico da marca Produtest. As amostras de 50 g previamente secas em estufa da marca Quimis Aparelhos Científicos, modelo B252, a 105°C durante 24h, foram peneiradas durante um período de 20 min, utilizando peneiras variando entre 4 até 270 Mesh Tyler e fundo. Este ensaio foi realizado no Laboratório de Polímeros da Universidade de Caxias do Sul.

### 2. Resultados da análise granulométrica dos substratos

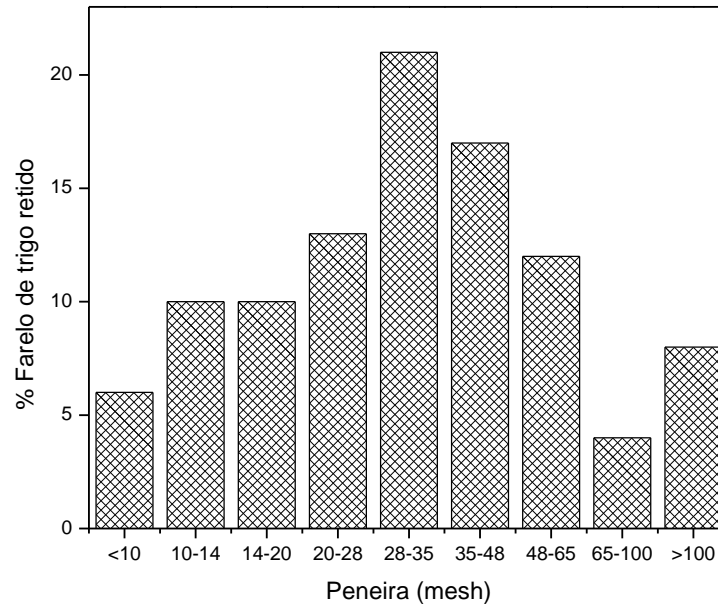
Os resultados da análise granulométrica da serragem, do farelo de trigo e do carbonato de cálcio, são apresentados nas Figuras A.1, A.2 e A.3.



**Figura A.1** – Distribuição do tamanho de partículas da serragem.

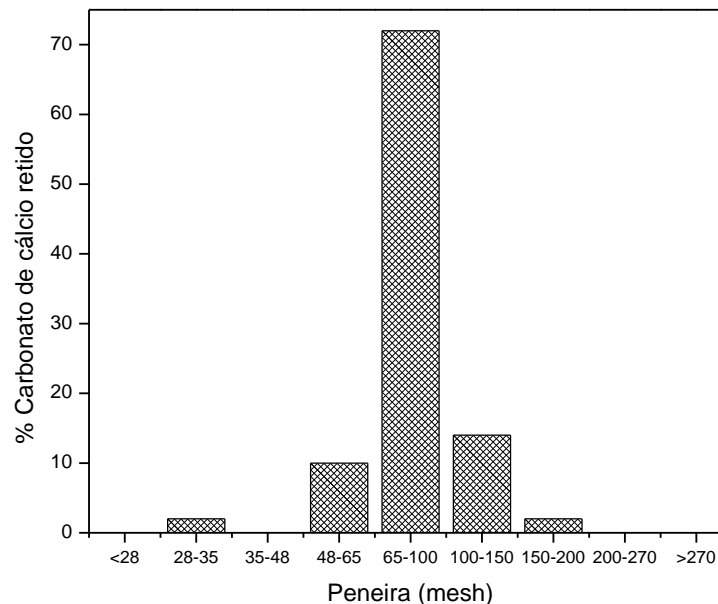
A maior fração de serragem ficou retida entre as peneiras de 10 e 48 *mesh*, correspondendo aos tamanhos de partículas entre 1,680 e 297  $\mu\text{m}$ .





**Figura A.2** – Distribuição do tamanho de partículas do farelo de trigo.

Na análise granulométrica do farelo de trigo maior fração de material retido foi identificada entre as peneiras de 20 a 48 *mesh*, correspondendo ao tamanho de partículas entre 841 e 210  $\mu\text{m}$ .



**Figura A.3** – Distribuição do tamanho de partículas do carbonato de cálcio.

A granulometria obtida para o carbonato de cálcio apresentou a maior proporção retida entre as peneiras de 65 a 100 *mesh*, correspondendo a partículas de 210  $\mu\text{m}$ .

Todos os substratos apresentaram uma distribuição heterogênea e, desta forma, não foi realizada a separação granulométrica. Tendo em vista o perfil de colonização fúngica,

considera-se que, os interstícios proporcionados pela disposição das partículas de tamanhos diferentes possam favorecer através do preenchimento da matriz, ou seja, pelo crescimento micelial dos macrofungos.