



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS



BIODEGRADAÇÃO DE POLIETILENO TEREFTALATO (PET) POR FUNGOS LIGNINOLÍTICOS

Dissertação apresentada à
Faculdade de Engenharia de
Alimentos da Universidade
Estadual de Campinas para
obtenção do título de Mestre em
Ciência de Alimentos.

Kethlen Rose Inácio da Silva
Bióloga

Prof. Dra. Lucia Regina Durrant
Orientadora

CAMPINAS - 2009

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

Si38b Silva, Kethlen Rose Inácio da
Biodegradação de polietileno tereftalato (PET) por
fungos ligninolíticos / Kethlen Rose Inácio da Silva. –
Campinas, SP: [s.n.], 2009.

Orientador: Lucia Regina Durrant
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos

1. Biodegradação. 2. Fungos ligninolíticos. 3. PET
(Polietileno Tereftalato). 4. Resíduos agroindustriais. 5.
Fermentação. I. Durrant, Lucia Regina. II. Universidade
Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de
Alimentos. III. Título.

(cars/fea)

Titulo em inglês: Biodegradation of polyethylene tereftalate by ligninolytic
fungi

Palavras-chave em inglês (Keywords): Biodegradation, Ligninolytic fungi,
PET (Polyethylene tereftalate), Agroindustrial waste, Fermentation.

Titulação: Mestre em Ciência de Alimentos

Banca examinadora: Lucia Regina Durrant

Cristiano Ragnanin de Menezes

Rose Marry de Araújo Gondim Tomaz

Programa de Pós Graduação: Programa em Ciência de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Lucia Regina Durrant
Orientadora

Prof. Dr. Cristiano Ragnanin de Menezes
Membro

Prof^a. Dra. Rose Marry de Araújo Gondim Tomaz
Membro

*“Nunca se vence uma guerra
lutando sozinho.”*

Raul Seixas

“Dedico a todos que, de alguma forma, contribuíram para a conclusão de mais uma importante etapa de minha vida”.

AGRADECIMENTOS

À UNICAMP pela infra-estrutura cedida;

À FAPESP pela concessão de bolsa de estudos;

À Prof^a. Dra. Lucia Regina Durrant pela oportunidade, orientação e confiança na realização deste trabalho;

Ao Departamento de Ciência de Alimentos da FEA - UNICAMP, por tornar um velho sonho possível;

À Banca Examinadora pelas sugestões e correções que enriqueceram meu trabalho;

À Prof. Dra. Maria Isabel Rodrigues pela ajuda e companheirismo prestados;

À todo o pessoal do Laboratório de Sistemática e Fisiologia Microbiana – FEA – UNICAMP pela colaboração e amizade;

Ao pessoal do CESET, Prof. Cassiana, Gil e Âdria pela ajuda e amizade;

Aos meus pais, meu alicerce;

Ao meu namorado e amigo Raphael Suzigan Dagnoni pela cumplicidade, amor e apoio prestados;

À Deus.

SUMÁRIO

LISTA DE APÊNDICES	x
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABELAS	xiii
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xv
 1. INTRODUÇÃO	 17
1.1 Objetivos	21
1.1.1 Objetivo Principal	21
1.1.2 Objetivos Específicos	12
 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	 23
2.1 Histórico das Embalagens	24
2.1.1 Caracterização do setor de embalagens	26
2.2 Polietileno Tereftalato- PET	29
2.2.1 Produção de Garrafas PET	30
2.2.1.1 Extração do petróleo	30
2.2.1.2 Produção de resina	34
2.2.1.3 Produção de pré-formas e garrafa	35
2.2.2 Reciclagem de garrafas PET	39
2.2.1.1 Fatores negativos da reciclagem de garrafas PET	41
2.3 PET x Meio Ambiente	46
2.4 Resíduos agroindustriais	50
2.4.1 Farelo de arroz	52
2.4.2 Farelo de trigo	54
2.5 Microrganismos lignocelulolíticos	62
2.5.1 Fungos Basidiomycetes	62
2.5.2 <i>Pleurotus spp.</i>	66
2.6 Degradação de polímeros sintéticos	68
2.7 Surfactantes de origem microbiana	74
2.7.1 Tensoativos biológicos	76

2.8 Fermentação Semi-sólida – FSS	78
2.9 Fermentação Submersa – FS	81
2.10 Método respirométrico de Bartha & Pramer	82
3. MATERIAL E MÉTODOS	85
3.1 Microrganismos	86
3.1.1 Identificação taxonômica	86
3.1.2 Condição de crescimento	87
3.1.3 Inóculo	88
3.2 Substratos utilizados	89
3.3 Polímeros sintéticos utilizados	89
3.4 Desinfecção do PET	90
3.5 Análise quantitativa do crescimento microbiano	91
3.5.1 Disposição dos microrganismos nos Erlenmeyers	92
3.6 Determinação da perda de massa do PET	92
3.7 Método Respirométrico de Bartha & Pramer	92
3.8 Planejamento experimental	95
3.9 Controle abiótico e biótico	100
3.9.1 Controle abiótico	100
3.9.2 Controle biótico	101
3.10 Fermentação Semi-sólida – FSS	101
3.11 Fermentação Submersa – FS	102
3.12 Determinação enzimática	102
3.12.1 Lacase	103
3.12.2 Lignina Peroxidase – LiP	103
3.12.3 Manganês Peroxidase – MnP	104
3.13 Análise morfológica do PET – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	104
3.14 Produção de biosurfactantes	105
3.14.1 Análise da tensão superficial	105
3.14.2 Análise da atividade de emulsificação	105
3.15 Viscosidade intrínseca	106

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	107
4.1 Identificação taxonômica dos microrganismos	108
4.2 Análise qualitativa do crescimento microbiano	111
4.2.1 Disposição dos microrganismos nos Erlenmeyers	113
4.3 Determinação da perda de massa do PET	114
4.4 Método Respirométrico de Bartha & Pramer	116
4.5 Planejamento Experimental	118
4.6 Fermentação Semi-sólida	118
4.6.1 Lacase	118
4.6.2. Lignina Peroxidase – LiP	120
4.6.3 Manganês Peroxidase – MnP	122
4.7 Fermentação Submersa	124
4.7.1 Lacase	124
4.7.2. Lignina Peroxidase – LiP	125
4.7.3 Manganês Peroxidase – MnP	126
4.8 Análise morfológica do PET – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	128
4.9 Produção de biosurfactantes	132
4.10 Viscosidade intrínseca	134
 5. CONCLUSÃO	 133
 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	 135
 7. APÊNDICES	 159

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice 1. Atividade respiratória obtida nos Controles	164
Apêndice 2. Atividade respiratória obtida para <i>Pleurotus 001</i>	169
Apêndice 3. Atividade respiratória obtida para <i>Pleurotus Tailândia</i>	173
Apêndice 4. Produção enzimática obtida nos ensaios realizados – FSS	176
Apêndice 5. Produção enzimática obtida nos ensaios realizados – FS	180
Apêndice 6. Coeficientes de regressão gerados a partir dos resultados obtidos na produção enzimática	184
Apêndice 7. Efeitos gerados a partir dos resultados obtidos na produção enzimática	188

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Composição média do lixo urbano no Brasil	20
Figura 2. Participação dos materiais no mercado brasileiro de embalagens ...	27
Figura 3. Processo de refino do Petróleo	32
Figura 4. Diagrama da produção do polímero PET	34
Figura 5. Estrutura do Polietileno Tereftalato (PET)	35
Figura 6. Pré-formas de PET	37
Figura 7. Entupimento da rede de esgoto por garrafas PET	47
Figura 8. Carcaça de jovem Albatroz repleta de lixo plástico	49
Figura 9. Ingestão de sacos plásticos por tartarugas marinhas	49
Figura 10. Composição do grão de arroz	53
Figura 11. Composição do grão de trigo	55
Figura 12. Celulose, hemicelulose e lignina	58
Figura 13. Respirômetro de Bartha & Pramer	83
Figura 14. Microrganismos: condição de crescimento	88
Figura 15. Preparo do inóculo	88
Figura 16. Substratos agroindustriais	89
Figura 17. Polímeros sintéticos estudados	90
Figura 18. Desinfecção dos polímeros	91
Figura 19. Solo utilizado nos respirômetros	93
Figura 20. Seqüências de DNA da região ITS para CPQBA 271-07 DRM 1 (P. 001) e CPQBA 271-07 DRM 2 (P. Tailândia)	109
Figura 21. Árvore filogenética CPQBA 271-07 DRM 1 construída a partir das seqüências recuperadas no GenBank	110
Figura 22. Árvore filogenética CPQBA 271-07 DRM 2 construída a partir das seqüências recuperadas no GenBank	111
Figura 23. Atividade respiratória para <i>Pleurotus 001</i>	117
Figura 24. Atividade respiratória para <i>Pleurotus Tailândia</i>	117
Figura 25. Produção de Lacase para Fermentação Semi-sólida (FSS)	120
Figura 26. Produção de Lignina Peroxidase para Fermentação Semi-sólida (FSS)	122

Figura 27. Produção de Manganês Peroxidase para Fermentação Semi-sólida (FSS)	123
Figura 28. Produção de Lacase para Fermentação Submersa (FS)	125
Figura 29. Produção de Lignina Peroxidase para Fermentação Submersa (FS)	126
Figura 30. Produção de Manganês Peroxidase para Fermentação Submersa (FS)	127
Figura 31. Comparação entre as fotomicrografias obtidas a partir dos pellets do controle abiótico e do ensaio realizado após 30 dias de incubação	129
Figura 32. Comparação entre as fotomicrografias obtidas a partir dos pellets do controle abiótico e do ensaio realizado após 60 dias de incubação	130
Figura 33. Comparação entre as fotomicrografias obtidas a partir dos pellets do controle abiótico e do ensaio realizado após 90 dias de incubação	131
Figura 34. Tensão superficial obtida para 30, 60 e 90 dias	133
Figura 35. Atividade de emulsificação obtida para 30, 60 e 90 dias	133
Figura 36. Dimensão dos halos	134

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais tipos de plásticos	28
Tabela 2. Panorama da reciclagem no Brasil	40
Tabela 3. Destino final dos resíduos sólidos em países considerados desenvolvidos	40
Tabela 4. Resumo da quantificação unitária dos aspectos ambientais por embalagem para as taxas atuais de reciclagem	44
Tabela 5. Comparação entre os níveis nutricionais do farelo de arroz	54
Tabela 6. Comparação entre os níveis nutricionais do farelo de trigo	57
Tabela 7. Porcentagem de celulose, hemicelulose, lignina e outros componentes presentes em alguns resíduos agrícolas	59
Tabela 8. Suscetibilidade de alguns polímeros sintéticos à degradação	68
Tabela 9. Materiais biodegradáveis	72
Tabela 10. Desenvolvimento da fermentação semi-sólida	79
Tabela 11. Respirometria: planejamento dos experimentos realizados	94
Tabela 12. Planejamento experimental Plackett & Burman – FSS	95
Tabela 13. Planejamento experimental Plackett & Burman – FS	98
Tabela 14. Identificação taxonômica por métodos moleculares	108
Tabela 15. Taxa de crescimento dos microrganismos	112
Tabela 16. Disposição dos microrganismos nos Erlenmeyers – FSS	114
Tabela 17. Disposição dos microrganismos nos Erlenmeyers – FS	114
Tabela 18. Percentagem de perda de massa molar dos polímeros em estudo – FSS	115
Tabela 19. Percentagem de perda de massa molar dos polímeros em estudo – FS	115
Tabela 20. Viscosidade intrínseca	135

RESUMO

SILVA, K.R.I. de *Biodegradação de Polietileno Tereftalato (PET) por fungos ligninolíticos*. 193 pgs. Laboratório de Sistemática e Fisiologia Microbiana - Faculdade de Engenharia de Alimentos - Universidade Estadual de Campinas – Campinas/SP. Brasil, 2009.

Em 1977, o polietileno tereftalato (PET), produto derivado do petróleo, começou a ser utilizado como material de embalagem e plástico de engenharia. Porém, sob o ponto de vista ambiental, o uso de plástico é considerado problemático pela sua alta durabilidade e grande volume na composição total do lixo. Neste trabalho foi estudada a biodegradabilidade de polímeros sintéticos por ação de fungos basidiomicetos de podridão branca cultivados em resíduos agroindustriais envolvendo fermentações distintas, a fermentação semi-sólida e a fermentação submersa. Duas linhagens fúngicas de *Pleurotus sp* foram cultivadas em resíduos agroindustriais juntamente com os pellets ou quadrados de garrafa PET transparente sob fermentação semi-sólida e fermentação submersa e incubados, em estufa à 30°C, durante 30, 60 e 90 dias. Após incubação, o material obtido após a filtragem das amostras e os polímeros em estudo foram analisados, quanto as atividades enzimáticas, a produção de biosurfactantes, a perda de massa, a morfologia do polímero em estudo, viscosidade intrínseca e a taxa de biodegradação do PET. Dentre todos os ensaios realizados o fungo *Pleurotus 001* apresentou os melhores resultados após crescimento em pellets, produzindo alterações na estrutura do polímero, perda de massa e redução da viscosidade intrínseca, produção de biosurfactantes, produção de enzimas lignocelulolíticas e uma atividade respiratória baixa quando em comparação com os ensaios realizados. Comprovou-se que os microrganismos lignocelulolíticos podem proporcionar um grande progresso na degradação de materiais sintéticos, sendo de grande importância o estudo das condições ótimas de crescimento destes microrganismos aliado a combinações físico-químicas que podem auxiliar e/ou maximizar o processo de degradação.

Termos de Indexação: Biorremediação; PET; resíduos agroindustriais; fungos basidiomicetos; fermentação semi-sólida; fermentação submersa.

ABSTRACT

SILVA, K.R.I. *Biodegradation of polyethylene terephthalate (PET) by ligninolytic fungi*. 193 pages. Laboratory of Systematic and Microbial Physiology - Faculty of Food Engineering - University of Campinas - Campinas / SP. Brazil, 2009.

In 1977, polyethylene terephthalate (PET), a plastic derived from petroleum, started to be used as raw material for packaging material and engineering plastics. However, under an environmental point of view, the use of plastics is considered problematic because of their high durability and high volume when present in domestic and industrial solid wastes. This study investigated the biodegradability of synthetic polymers by white-rot basidiomycete fungi cultivated on agro industrial residues under two fermentation conditions, semi-solid state and submerged fermentation. Two *Pleurotus* strains were grown in agro-industrial residues with either PET pellets or squares of transparent PET's bottles under semi-solid and submerged fermentation and incubated at 30 C for 30, 60 and 90 days. After incubation, the material obtained following filtration of samples and polymers were analyzed for determination of enzymatic activities, production of biosurfactants, mass loss, modifications on the morphology of the polymer, intrinsic viscosity and determination of the rate of degradation. *Pleurotus* 001 showed the best results when incubated with pellets, showing changes in the structure of the polymer, weight loss and reduction of intrinsic viscosity, production of biosurfactants, and of lignocellulolytic enzymes and a low respiratory activity. These results show that ligninolytic fungi can help improve the degradation of synthetic materials. However, further studies to determine the optimum conditions for growth of these fungi associated with combinations of physical and chemical treatment to maximize the degradation process are still necessary.

Index Terms: Bioremediation; PET; agroindustrial waste; fungi basidiomycetes; semi-solid fermentation, submerged fermentation.

1. INTRODUÇÃO

A partir da metade do século passado começamos a entender que vivemos em um espaço limitado constituído de água, terra e ar. A cada século que passa a nossa capacidade de produzir bens de consumo aumenta progressivamente, mas a quantidade de recursos naturais é sempre a mesma. Por outro lado, o aumento da produção de bens de consumo incrementa também a quantidade de rejeitos originados na extração das matérias-primas, fabricação, utilização e descarte de produtos (VALT, 2007).

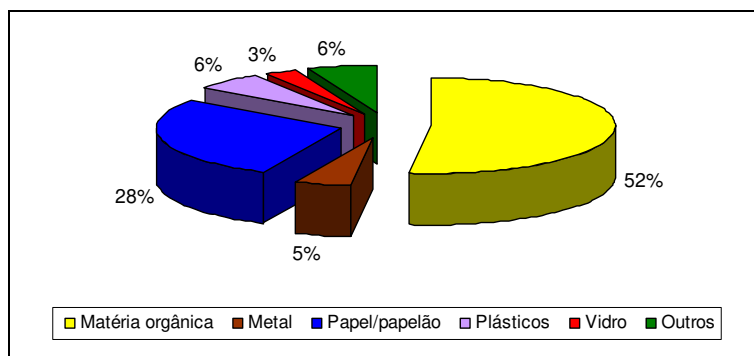
É fácil perceber que a quantidade de recursos naturais disponíveis está reduzindo rapidamente para atender as atuais necessidades das crescentes populações. Os fatos indicam que da forma como estamos agindo no presente não iremos alcançar a sustentabilidade no futuro. É necessário, portanto, analisar de forma crítica e com mais detalhes o que estamos consumindo. Precisamos, por exemplo, avaliar os impactos ambientais e efeitos decorrentes da fabricação, uso e descarte do produto. Somente dessa forma poderemos atender as nossas necessidades atuais e futuras.

O lixo, palavra derivada do latim *lix* (cinza), tecnicamente é conhecido como “Resíduo Sólido Urbano” (RSU), é qualquer material considerado inútil, supérfluo, e/ou sem valor, gerado pela atividade humana, o qual precisa ser eliminado. É qualquer material cujo proprietário elimina, deseja eliminar ou necessita eliminar (ZANIN & MANCINI, 2004). Segundo DEMAJORIVIC (1995) resíduos sólidos diferenciam-se do termo lixo porque, enquanto este último não possui nenhum tipo de valor já que é aquilo que deve apenas ser descartado, já os resíduos sólidos possuem valor econômico agregado, por possibilitarem reaproveitamento no próprio processo produtivo. Em países industrializados, cada

pessoa produz uma grande quantidade de lixo todos os dias. Esse lixo destrói o ambiente de várias maneiras, matando plantas e animais diretamente pela infiltração de chorume, oriundo da degradação dos resíduos dos aterros, para as águas subterrâneas, rios e lagos, e pela emissão de substâncias tóxicas na incineração.

Se até o começo da Revolução Industrial o lixo era composto basicamente de restos e sobras de alimentos, a partir dessa Era passou a ser identificado, também, por todo e qualquer material descartado e rejeitado pela sociedade. O desenvolvimento para o conforto e o bem-estar humano produzido a partir da Revolução Industrial levou à intensificação do material descartado, ocasionando num aumento da quantidade de resíduos gerados e não utilizados pelo homem, muitos deles provocando a contaminação do meio ambiente e trazendo riscos à saúde humana, basicamente nas áreas urbanas.

O crescimento das áreas urbanas não levou em consideração a necessidade de adequação de locais específicos para depósito e tratamento dos resíduos sólidos. Atualmente no Brasil, por exemplo, estima-se que a produção anual de lixo esteja em torno de 44 milhões de toneladas (CEMPRE, 2007) sendo que a maior parte dos resíduos recolhidos nos centros urbanos é simplesmente jogado, sem qualquer cuidado, em depósitos existentes nas periferias das cidades. A Figura 1 ilustra a composição média em 2002 do lixo urbano brasileiro.



FONTE: CEMPRE (2007).

Figura 1. Composição média do lixo urbano no Brasil.

Com a concentração populacional e o processo de industrialização, a partir do século XX, houve grande aumento da quantidade de lixo produzido e também mudanças na sua composição. Ao lixo, foram sendo incorporados novos materiais como vidro, plásticos, isopor, borracha, alumínio, entre outros de difícil decomposição. Dentre os materiais que foram desenvolvidos nos últimos quarenta anos destacaram-se os plásticos que apresentaram grande desenvolvimento e plena aceitação por parte do consumidor (PINTO, 1997).

Os plásticos são considerados os grandes vilões ambientais, pois podem demorar séculos para se degradar e ocupam grande parte do volume dos aterros sanitários, interferindo de forma negativa nos processos de compostagem e de estabilização biológica. Além disso, os resíduos poliméricos quando descartados em lugares inadequados, como lixões, rios, encostas, etc., causam impacto ainda maior ao meio ambiente (SPINACÉ & PAOLI, 2005).

Biorremediação pode ser considerada como uma nova tecnologia para tratar locais contaminados mediante o uso de agentes biológicos capazes de modificar ou decompor poluentes alvos. Estratégias de biorremediação incluem: a

utilização de microrganismos autóctones, ou seja, do próprio local, sem qualquer interferência de tecnologias ativas de remediação (biorremediação intrínseca ou natural); a adição de agentes estimulantes como nutrientes, oxigênio e biossurfactantes (bioestimulação); e a inoculação de consórcios microbianos enriquecidos (bioaumento) (BENTO et al., 2003). O benefício desses processos é a mineralização do poluente, isto é, a transformação em gás carbônico, água e biomassa.

O estudo de microrganismos como os fungos de podridão branca capazes de degradar polímeros sintéticos faz-se necessário uma vez que os plásticos poluem o ambiente quando incinerados, quando depositados no solo e quando reciclados. Nas últimas décadas, o interesse na utilização de processos mediados por enzimas aumentou substancialmente, devido à necessidade de minimizar a produção de resíduos poluentes ao meio ambiente e também a otimização de inúmeros processos físicos e químicos. A bioconversão dos resíduos tem sido impedida pelo alto custo de produção de enzimas. Por este motivo, o estudo de microrganismos produtores de enzimas lignocelulolíticas e da otimização de sua produção estão sendo realizados mundialmente.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo Principal

Este trabalho teve como objetivo principal estudar a biodegradabilidade de polímeros sintéticos por ação de fungos basidiomicetos de podridão branca cultivados em resíduos agroindustriais envolvendo fermentações distintas, a

fermentação semi-sólida e a fermentação submersa, submetidos sob diferentes condições proporcionados pelo Planejamento Experimental Plackett & Burman.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Observação do crescimento e seleção de fungos capazes de utilizar como fonte de carbono polímeros sintéticos;
- Determinação da produção de enzimas lignocelulolíticas, a produção de biosurfactantes, a perda de massa do PET, a viscosidade intrínseca do PET após incubação com os microrganismos, a taxa de biodegradação do PET através do método respirométrico de Bartha & Pramer e a morfologia do polímero em estudo através da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV);
- Verificação do potencial das linhagens selecionadas para a produção de enzimas lignocelulolíticas, biosurfactantes e biodegradação de PET.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 HISTÓRICO DAS EMBALAGENS

As primeiras "embalagens" surgiram há mais de 10.000 anos e serviam como simples recipientes para beber ou estocar. Esses primeiros recipientes, como cascas de coco ou conchas do mar, usados em estado natural, sem qualquer beneficiamento, passaram com o tempo a ser obtidos a partir da habilidade manual do homem. Tigelas de madeira, cestas de fibras naturais, bolsas de peles de animais e potes de barro, entre outros ancestrais dos modernos invólucros e vasilhames, fizeram parte de uma segunda geração de formas e técnicas de embalagem (ABRE, 2007).

A primeira matéria-prima usada em maior escala para a produção de embalagens foi o vidro. Por volta do primeiro século depois de Cristo, os artesãos sírios descobriram que o vidro fundido poderia ser soprado para produzir utensílios de diversos formatos, tamanhos e espessuras. Essa técnica permitia a produção em massa de recipientes de vários formatos e tamanhos. Embora o uso de metais como cobre, ferro e estanho, tenha surgido na mesma época que a cerâmica de barro, foi somente nos tempos modernos que eles começaram a ter um papel importante para a produção de embalagem (ABRE, 2007).

No início do Século XIX, a Marinha Inglesa utilizava as latas de estanho, e os enlatados de alimentos começaram a aparecer nas lojas inglesas por volta de 1830. As latas de estanho e aço difundiram-se durante a 2ª Guerra Mundial. O crescimento da demanda elevou o preço da folha-de-flandres, impondo aos produtores de latas a busca de uma matéria-prima substituta, o alumínio. Em 1959, a Adolph Coors Company começou a vender cerveja em latas de alumínio. Portanto, após a 2ª Guerra Mundial, a vida urbana conheceu novos elementos.

Em resposta, surgiram inúmeras inovações na produção de embalagens. As novas embalagens deveriam permitir que os produtos alimentares fossem transportados dos locais de produção para os centros consumidores, mantendo-se estáveis por longos períodos de estocagem. As embalagens de papel e papelão atenderam a esses requisitos. Elas podiam conter quantidades previamente pesadas de vários tipos de produtos, eram fáceis de estocar, transportar e empilhar, além de higiênicas. É também do imediato pós-guerra o aparecimento de um novo material para embalagens, o plástico. As resinas plásticas, como polietileno, poliéster, etc., ampliaram o uso dos invólucros transparentes, iniciado na década de 20 com o celofane, permitindo a oferta de embalagens numa infinidade de formatos e tamanhos (ABRE, 2007).

Além da busca constante de materiais, a indústria de embalagem passou a combinar matérias-primas. As embalagens compostas reuniam características e propriedades encontradas em cada matéria-prima. É o caso das caixas de cartão que, ao receberem uma camada de resina plástica, tornam-se impermeáveis e podem ser utilizadas para embalar líquidos (sucos, leite, etc.). No Brasil, até 1945, poucos produtos eram comercializados pré-acondicionados. Na indústria de alimentos, os principais eram o café torrado e moído, o açúcar refinado, o extrato de tomate, o leite em garrafa, o óleo de semente de algodão e o vinagre (ABRE, 2007).

Quase todos os produtos de primeira necessidade eram vendidos a granel, pesados no balcão e embrulhados em papel tipo manilha ou embalados em sacos de papel. Além de alimentos, alguns outros produtos eram vendidos já embalados, como o cigarro, a cerveja, a cera para assoalho, a creolina, os

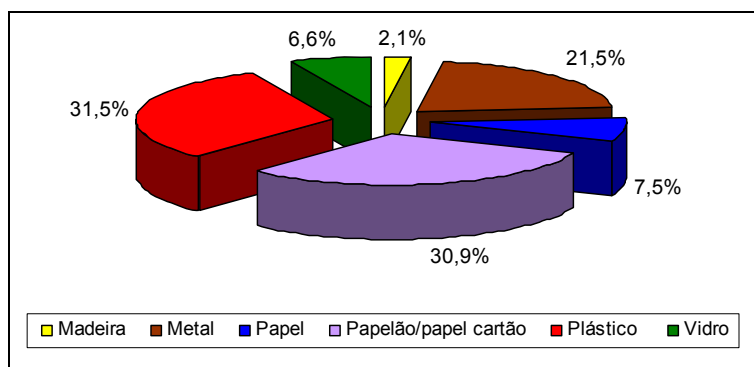
inseticidas líquidos e produtos de toucador, perfumaria e dentifrícios. Depois da 2ª Guerra Mundial, o processo de industrialização viabiliza a substituição de importações impulsionando a demanda por embalagens, tanto ao consumidor como de transporte. Vários setores reagiram as essas novas necessidades. Os sacos de papel multifoliados surgiram para atender a demanda no acondicionamento de cimento e produtos químicos. Instalaram-se, em todo o país, fábricas de sacos de papel para suprir os supermercados e o varejo de produtos de primeira necessidade. Com a implantação da Companhia Siderúrgica Nacional, no início dos anos 40, foi possível fornecer às indústrias produtos, como tintas, cervejas, refrigerantes e alimentos, em embalagens metálicas de folha-de-flandres (ABRE, 2007).

A partir dos anos 60, cresce a produção de embalagens plásticas. Dos anos 70 até os dias atuais, a indústria brasileira de embalagem vem acompanhando as tendências mundiais produzindo embalagens com características especiais como o uso em fornos de microondas, tampas removíveis manualmente, proteção contra luz e calor e evidência de violação, etc. (ABRE, 2007).

2.1.1 Caracterização do setor de embalagens

Para que o material atenda as exigências dos setor de embalagens para diversos setores industriais, ele deve reduzir custos sem prejudicar a função da embalagem, aumentando o valor, o prazo de validade e a qualidade do produto, além de aumentar a conveniência para o consumidor, seja na forma de estocagem

ou uso do produto (HOTCHKISS, 2001). Os dados da Figura 2 mostram o consumo de materiais para embalagens no Brasil.



FONTE: CEMPRE (2007).

Figura 2. Participação dos materiais no mercado brasileiro de embalagens.

Com relação ao mercado nacional de embalagens de refrigerantes, o Brasil consumiu em 2002 cerca de 12 bilhões de litros de refrigerantes, sendo o terceiro maior consumidor desta bebida em termos mundiais. Apresenta ainda grande potencial de crescimento, em função do baixo volume de consumo *per capita* se comparado com o México e EUA, países que possuem as maiores demandas de refrigerante do mundo. Atualmente, o mercado brasileiro de refrigerantes está dividido entre fábricas de alcance nacional, com 67% de participação, e fábricas de alcance regional, com 33% de participação no mercado, totalizando 700 fábricas e 3.500 marcas de refrigerantes por todo o país (ABIR, 2007).

A demanda de refrigerantes está relacionada ao poder de compra da população e à temperatura de cada região. Estes dois fatores fazem com que seja

necessária a manutenção da capacidade de produção ociosa, como mecanismo amortecedor dos impactos decorrentes de variações de renda (SANTOS, 2003).

De uma maneira geral, os plásticos têm ocupado uma posição de destaque entre os materiais mais utilizados para embalagens. Entre suas principais vantagens estão o menor consumo de energia na sua produção, a redução do peso do lixo, o menor custo de coleta e destino final, não apresentam riscos no manuseio, são práticos e recicláveis.

A conclusão do cenário atual das embalagens revela uma dura verdade: a questão ambiental é mais fruto da necessidade que responsabilidade e respeito à natureza. A Tabela 1 apresenta os principais tipos de plásticos existentes.

Tabela 1. Principais tipos de plásticos.

Resina	Aplicação	Característica
PET	Frascos e garrafas para uso alimentício, hospitalar e cosmético, bandejas para microondas, filmes para áudio e vídeo, fibras têxteis, telhas, etc.	Transparência total, inquebrável, impermeável, leve, etc.
PEAD	Embalagens para detergentes e óleos automotivos, sacolas de supermercados, tampas, tambores para tintas, potes, utilidades domésticas, etc.	Inquebrável, resistentes a baixas temperaturas, leve, rígido, impermeável, resistência química, etc.
PVC	Embalagens para água mineral, óleos comestíveis, maioneses e sucos, perfis para janelas, tubulações de água e esgoto, mangueiras, embalagens para remédios, brinquedos, bolsas de sangue, material hospitalar, etc.	Rígido, transparente, impermeável, resistente à temperatura, inquebrável, etc.
PEBD e PELBD	Sacolas para supermercados e boutiques, filmes para embalar alimentos, sacaria industrial, filmes para fraldas descartáveis, material hospitalar, sacos de lixo, etc.	Flexível, leve, transparente, impermeável, etc.
PP	Filmes para embalagens e alimentos, embalagens industriais, cordas, tubos para água quente, fios, cabos, frascos, caixas de bebidas, fibras para tapetes, potes, fraldas, seringas descartáveis, etc.	Conservante do aroma, inquebrável, transparente, brilhante, rígido, resistente a mudança de temperatura, etc.
PE	Potes para iogurtes, sorvetes, doces, frascos, componente de geladeiras, pratos, tampas, brinquedos, etc.	Rígido, resistente a mudanças de temperatura, etc.

FONTE: VALT (2007).

2.2 POLIETILENO TEREFTALATO - PET

Os plásticos, cuja origem da palavra vem do grego “*plastikós*”, ou seja, adequado à moldagem, são materiais produzidos através de um processo químico chamado de polimerização, que proporciona a união de monômeros para formar polímeros (ABIQUIM, 2007).

Polímeros são materiais compostos por macromoléculas. Essas macromoléculas são cadeias compostas pela repetição de uma unidade básica, chamada *mero*. Desta forma, origina-se o nome: *poli* (muitos) + *mero*. Os *meros* estão dispostos um após o outro, analogicamente as pérolas num colar, ou seja, uma macromolécula que assume formato muito semelhante ao de um cordão (MICHAELI, 1995).

O PET é um termoplástico da família do poliéster que teve sua origem nas primeiras décadas do século passado na Universidade de Harvard. O Dr. Wallace H. Carothers foi um dos principais investigadores que deu continuidade aos trabalhos do professor Staudinger, desenvolvendo os princípios da policondensação de polímeros de cadeia longa (KAPLAN, 1998). Em 1928, entrou para a equipe de investigação da DuPont. Entre várias experiências os investigadores da DuPont chegaram ao poliéster, procurando explorar o seu potencial para a produção de fibras. Em 1941, J.R. Whinfield e J.T. Dickson, investigadores da “*Calico Printers Association*”, produziram e patentearam uma fibra de poliéster a qual foi dado o nome de *Terylene*. Desde então, as investigações sobre o poliéster se intensificaram pelo mundo dando origem a uma das principais matérias-primas termoplásticas para fabricação de fibras, filmes e embalagens (MANO, 1985).

As primeiras embalagens PET de refrigerante foram fabricadas em 1977 nos EUA. Desde então, o seu uso tem aumentado ano após ano. Na produção do PET utilizam-se como matérias-primas o ácido tereftálico e o etilenoglicol, que reúnem as características ideais para uma reação gradual de policondensação produzindo o *mero* denominado ácido tereftalato de etileno (BNDES, 2008).

As macromoléculas de PET puro constituem-se de repetições da molécula mais simples de tereftalato de etileno. Nos polímeros comerciais, 130 a 155 repetições desse *mero* constituem a macromolécula típica de PET (CANEVAROLO, 2002).

Atualmente no Brasil a resina PET para embalagens tem sido utilizada principalmente no envase de bebidas carbonatadas (60%), de óleo comestível (24%) e de água mineral (6%) (ABIPET, 2007).

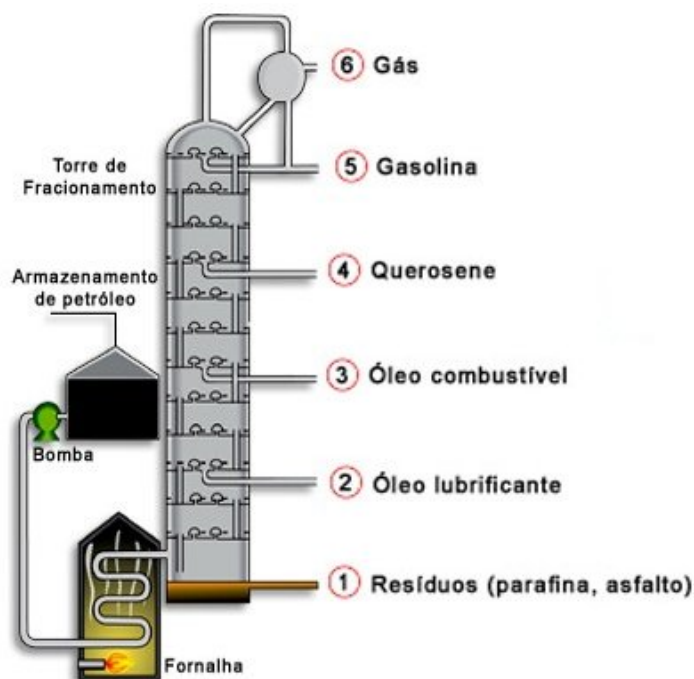
2.2.1 Produção de garrafas PET

2.2.1.1 Extração do petróleo

A principal matéria-prima dos plásticos é o petróleo, formado por uma complexa mistura de compostos que, por possuírem diferentes temperaturas de ebulição, separaram-se através de um processo conhecido como destilação. Uma das frações, a nafta, é fornecida para as centrais petroquímicas, onde passa por uma série de processos, dando origem aos principais monômeros, como por exemplo, o eteno. Para a produção de plásticos são destinados cerca de 4% da produção mundial de petróleo (ABIQUIM, 2007).

A extração do petróleo ocorre através da perfuração de um poço que atinge o lençol petrolífero, que jorra espontaneamente. Esse tipo de extração é conhecido como primeira recuperação, tem baixo custo e extrai 5% da reserva total. O sistema de extração do petróleo varia de acordo com a quantidade de gás acumulado na jazida. Se a quantidade de gás for grande o suficiente, sua pressão pode expulsar por si mesma o óleo, bastando uma tubulação que comunique o poço com o exterior. Se a pressão for fraca ou nula, será preciso ajuda de bombas de extração. Mesmo assim, há perda de quase 50% do petróleo que fica retido no fundo da jazida, não sendo possível sua total extração (SHREVE, 1997).

O refino do petróleo constitui-se de uma série de beneficiamentos pelos quais passa o mineral bruto, para obtenção de produtos determinados. Refinar petróleo é, portanto, separar as frações desejadas, processá-las e industrializá-las, transformando-as em produtos vendáveis. O objetivo inicial das operações na refinaria consiste em conhecer a composição do petróleo a destilar, pois são variáveis a constituição e o aspecto do petróleo bruto, segundo a formação geológica do terreno de onde é extraído. A Figura 3 ilustra o processo de refino do petróleo (SHREVE, 1997).



FONTE: Química Prof. João Neto (2008).

Figura 3. Processo de refino do Petróleo.

A primeira etapa do processo de refino é a destilação atmosférica, pela qual passa todo o óleo cru a ser beneficiado. Ela se realiza em torres de pratos perfurados. Em cada região da torre é possível obter uma fração desejada de determinado componente. Nessa etapa, são recolhidos como derivados da primeira destilação, principalmente, gás, gasolina, nafta e querosene. Após ser separada, a nafta passa por um processo onde são obtidos uma série de monômeros, sendo os principais denominados benzeno, propeno, butadieno, etileno, tolueno, p-xileno, o-xileno, outros xilenos, MTBE e butadieno-i. Dentre esses monômeros, o etileno e o p-xileno são matérias-primas para fabricação do PET. Essa nafta bruta é aquecida e alimentada nos fornos de craqueamento, junto com vapor d'água, ocorrendo a pirólise. O gás combustível, obtido nesta etapa, é

recolhido. O material restante segue para a etapa de fracionamento primário, separando-se em três frações: a de fundo (resíduo de pirólise), a retirada lateralmente (gasóleo) e a de topo (vapor d'água, fração leve e gasolina). Esta última fração é rica em aromáticos e também composta por uma mistura de hidrocarbonetos, entre eles o etileno. O processo seguinte consiste na purificação da corrente de etileno, onde traços de acetilenos são convertidos para etilenos ao passar por um conversor. Na última fracionadora é retirada uma corrente concentrada de etano que retorna para ser realimentada nos fornos como matéria-prima. A corrente de topo dessa fracionadora (fracionadora de etileno) tem pureza elevada e está pronta para ser utilizada. O etileno segue para produção do monoetilenoglicol (MEG). De uma maneira semelhante, em uma unidade de reforma catalítica, processa-se uma fração rica em aromáticos, que foi separada dos hidrocarbonetos por compressão, com o objetivo de aumentar a concentração. Com uma destilação extrativa, obtém-se uma corrente rica em benzeno, tolueno, xilenos e etilbenzeno (SHREVE, 1997; VALT, 2007). A última etapa do processo consiste na destilação do dimetiltereftalato cristalizado (DMT), obtendo-se, assim, um produto de elevada pureza que, juntamente com o MEG, podem ser encaminhados para a fabricação da resina PET.

A Figura 4 ilustra um diagrama contendo as principais etapas do ciclo de vida do PET para a fabricação de garrafas, etapas que vão desde a extração do petróleo até a reciclagem das garrafas após o consumo.

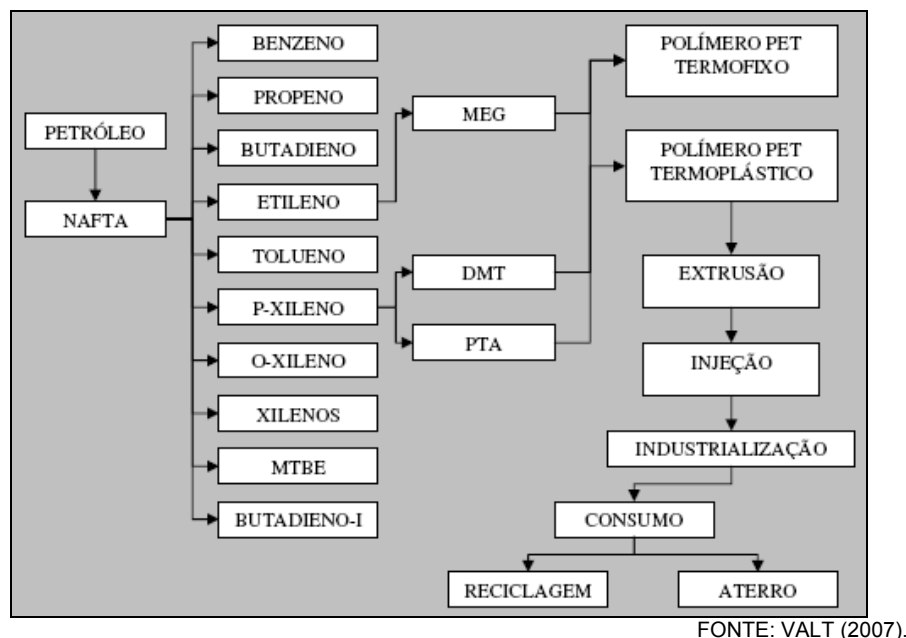


Figura 4. Diagrama da produção do polímero PET.

2.2.1.2 Produção da resina

O Polietileno Tereftalato (PET) forma-se a partir dos monômeros dimetiltereftalato cristalizado (DMT) e monoetilenoglicol (MEG), através de transesterificação, para formar o Dihidroxietileno Tereftalato (DHET) que é um monômero do PET. A reação ocorre na presença de um catalisador com liberação de metanol.

No monômero puro (DHET) tem-se n igual a 1, o qual é aumentado em aproximadamente 80 vezes para se obter a cadeia final do PET. O fator n é referido como grau de polimerização. A reação continua até que a massa molecular ideal seja alcançada e o polímero PET seja totalmente formado. A Figura 5 ilustra uma representação da molécula de PET.

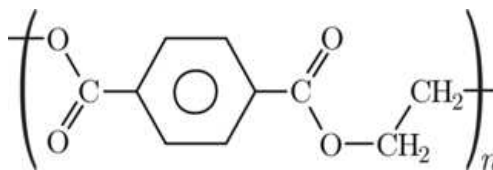


Figura 5. Estrutura do Polietileno Tereftalato (PET).

Após sua fabricação, o polímero segue para a extrusão. Depois é resfriado e enviado para produção de grãos (*pellets*), forma mais comum de comercialização do PET pronto. Os pellets são então levados a um processo de secagem para reduzir o teor de umidade e por fim ensacados (PEREIRA et al., 2002).

2.2.1.3 Produção de pré-formas e garrafa

O processo inicia-se pela chegada da matéria prima, o PET em forma de pellets, protegida por embalagens tipo big-bag de 1000 ou 1200 kg. Antes de ir para moldagem por injeção, o material passa por uma secagem pelo fato do PET ser higroscópico. Na injeção, a resina PET, em forma de pellets, é transportada através de arraste a vácuo, até os silos de secagem onde se remove a umidade do pellet pela passagem em contracorrente de ar seco aquecido. A moldagem pode ser feita por Injeção e por Sopro (BAHIA PET, 2008).

Moldagem por Injeção

Na etapa de moldagem por injeção o objetivo é obter mudanças físicas no PET. A matéria prima seca, situada no silo de secagem sobre a injetora,

entrará por tubulações flexíveis pela garganta de entrada na injetora para sofrer o processo de plastificação. O processo de plastificação é assim denominado, pois o PET em estado sólido e a uma temperatura de aproximadamente de 150° C (temperatura proveniente da secagem), passará para um estado pastoso (atingindo a temperatura de 300° C), isto ocorre em uma parte da injetora denominado extrusor. O PET entra pela garganta e é aquecido por resistências e numa rosca é cisalhado, até atingir o estado pastoso. O PET pastoso e compactado é transferido para um outro canhão, denominado canhão injetor, onde este também contém resistências para manter a temperatura e/ou homogeneizar a mesma. O canhão injetor transfere o PET para o molde (BAHIA PET, 2008).

No molde será dada a forma e realizado o primeiro resfriamento nas pré-formas, onde elas atingem uma temperatura aproximada de 90° C. As pré-formas são retiradas do molde por um equipamento robô, onde serão resfriadas para o armazenamento. Após o resfriamento são descarregadas sobre uma esteira transportadora que as direciona para uma caixa de papelão à frente da injetora, onde são armazenadas para serem distribuídas para os clientes. Estas pré-formas são semelhantes a um tubo de ensaio, com a aba suporte e rosca já estabelecidas (Figura 6). Podem ser nas cores cristal ou verde, dependendo da coloração a ser solicitada pelo mercado. Uma quantidade da produção já sai da empresa na forma de pré-forma, e poderá ser transportada para a fábrica que irá desenvolver as próximas etapas. A parte final, moldagem por sopro, pode ser realizada na mesma fábrica, em outra especializada ou na indústria de refrigerantes (BAHIA PET, 2008).



FONTE: Nippon Pack (2007).

Figura 6. Pré-formas de PET.

Moldagem por Sopro

A moldagem por sopro é normalmente realizada nas indústrias de refrigerantes. O processo consiste no aquecimento da pré-forma e inserida no molde com formato da garrafa. Dentro do molde da garrafa, a pré-forma é submetida a um estiramento, sofrendo orientação axial e ao mesmo tempo é insuflado ar comprimido, expandindo a pré-forma contra a parede do molde, proporcionando orientação radial, ao mesmo tempo em que a garrafa recém-formada é resfriada pela parede do molde. Em seguida a garrafa é retirada do molde (LIMA, 2001).

As tampas utilizadas nas garrafas PET são fabricadas a partir de polipropileno (PP), com anéis retentores de policloreto de vinila (PVC). Já os rótulos são fabricados a partir do polietileno de baixa densidade (PEBD). O PP é obtido na polimerização do propileno. Possui elevada resistência mecânica, rigidez e dureza. Apresenta baixa densidade e alta resistência ao calor. O PVC é obtido a partir da polimerização do cloreto de vinila a altas temperaturas. Para amolecimento da resina pura, normalmente dura e rígida, são utilizados os

chamados modificadores, obtendo-se assim, materiais de cores variadas e mais flexíveis (BLASS, 2001).

A produção de PET é hoje da ordem de 150 mil toneladas/ano sendo utilizado principalmente na fabricação de embalagens para bebidas carbonatadas, óleos vegetais, produtos de limpeza entre outras aplicações, como por exemplo na forma de fibras, devido a sua excelente resistência mecânica e compressão, ser ainda de fácil lavagem e apresentar secagem rápida. Quando em filme transparente é altamente resistente quimicamente. Porém, pode ocorrer possíveis alterações, principalmente de sabor, em produtos acondicionados em PET devido aos plásticos da tampa dos recipientes e também pela presença do composto acetaldeído gerado na polimerização da resina e durante a injeção das pré-formas. Esse composto está presente nas paredes da embalagem e difunde com o passar do tempo para o ambiente e para o produto. A preocupação com a presença de acetaldeído nas embalagens de PET se deve à alteração de gosto que este pode causar no produto embalado (VILLAIN et al., 1994).

O PET pode ser encontrado em aplicações como isolamento de capacitores, películas cinematográficas, fitas magnéticas, filmes e placas para radiografia. É usado também como resina para moldagem (reforçado com fibra de vidro na fabricação de carcaças de bombas), carburador, componente elétrico de carros, etc. (KAPLAN, 1998). Além das propriedades já citadas, o PET apresenta ainda boa resistência térmica e química, além de boas propriedades de barreira ao oxigênio.

2.2.2 Reciclagem de garrafas PET

Reciclar é economizar energia, poupar recursos naturais e trazer de volta ao ciclo produtivo o resíduo que seria jogado fora, para que o mesmo seja usado novamente como matéria-prima. A reciclagem, portanto, é um processo de transformação de materiais previamente separados para posterior utilização. Desta forma, os resíduos são recuperados através de uma série de operações que permitem que materiais já processados sejam aproveitados como matéria-prima no processo gerador ou em outros processos (RECICLAGEM, 1999).

No Brasil, são coletadas 120 mil toneladas de lixo por dia. Desse número, estima-se que 80% são depositados em céu aberto, nos chamados lixões. O vidro, que não é biodegradável, representa 3% dos resíduos urbanos. No total são reciclados cerca de 35% do material. Já o plástico é um dos materiais que mais ocupam espaço nos aterros sanitários e leva de 200 a 450 anos para se degradar. Reciclado, ele pode ser útil como embalagem de produtos de limpeza, brinquedos, revestimentos de automóveis e engradados. As latas de alumínio correspondem a menos de 1% do lixo recolhido e leva de 100 a 500 anos para desaparecer. Desse número, acima de 64% são reciclados. A lata pode ser reciclada inúmeras vezes sem a perda de nenhuma de suas características (RECICLAGEM, 1999). A Tabela 2 mostra o panorama da reciclagem no Brasil. Já a Tabela 3 apresenta o destino final dos resíduos sólidos em países considerados desenvolvidos e com melhor qualidade de vida.

Tabela 2. Panorama da reciclagem no Brasil.

Material	Reciclagem	Curiosidades
Vidro	5%	O Japão recicla 55,5%
Papel/papelão	36%	O Brasil importa apenas para reciclar
Plástico/sacolas de supermercado	15%	Representa 3% do lixo urbano nas capitais
PET	15%	O PET reciclado se transforma em fibras
Óleo	18%	Apenas 1% do óleo consumido é reciclado
Latas de aço	35%	O Brasil importa latas usadas para a reciclagem
Pneu	10%	O Brasil exporta pneu para a reciclagem
Embalagens Longa vida	Não há dados	Considerado excelente combustível (incineração)

FONTE: CEMPRE (2007).

Tabela 3. Destino final dos resíduos sólidos em países considerados desenvolvidos.

Países	Incineração	Depósito em aterros	Usinas de Compostagem	Reciclagem
Áustria	11%	65%	18%	6%
Dinamarca	48%	29%	4%	19%
EUA	16%	67%	2%	15%
Holanda	35%	45%	5%	15%
Itália	16%	74%	7%	3%
Suécia	47%	34%	3%	16%

FONTE: CEMPRE

(2007).

O PET é uma embalagem barata, leve, resistente e reciclável e por isso é amplamente utilizada pela indústria. Tem excelente barreira para gases e odores. Ele é um termoplástico, o que significa que pode ser reprocessado várias vezes, pois quando submetido ao aquecimento esse plástico amolece, se funde e pode ser novamente moldado. O processamento básico de reciclagem compreende: aquisição de matéria-prima, classificação, moagem, lavagem, enxágüe, descontaminação, pré-secagem, secagem, eliminação de pó e embalagem. Depois de coletadas por um sistema seletivo, as embalagens PET passam por uma triagem para separá-las por cor. Para viabilizar o transporte para

as fábricas recicladoras é necessário, em muitos casos, o enfardamento, utilizando prensas hidráulicas ou manuais (PRADO, 2007).

O processo de reciclagem do PET, propriamente dito, se dá através de moagem e lavagem das embalagens. Daí os polímeros são novamente transformados em grânulos, os chamados *grãos* ou pellets. Os pellets seguem para uma etapa de enxágüe para a retirada de possíveis contaminantes, como restos de bebidas e alimentos. Após a drenagem da água de enxágüe, ocorre uma pré-secagem para a retirada da água superficial do material (PIRES, 2006).

A secagem final é feita em secador contínuo com ar quente. A remoção do pó aderido aos pellets, em função da passagem do ar quente, é feita com auxílio de um ventilador e um sistema de exaustão desse pó. O material seco e isento de pó segue então para a ensacadora, completando o processo da reciclagem (RECICLAGEM DO PET, 1996).

2.2.2.1 Fatores negativos da reciclagem de garrafas PET

Existem vários fatores envolvidos na produção e usos do PET que o tornam um material inimigo do ambiente. O lado marrom do PET é importante devido às quantidades muito grandes produzidas e utilizadas nos dias de hoje. Esta produção necessita de grandes quantidades de petróleo, uma fonte valiosa e não-renovável e este PET acaba se transformando em produtos que eventualmente necessitam de um descarte apropriado (DICKNEIDER, 2008).

As garrafas PET movimentam hoje um mercado que produz cerca de 9 bilhões de unidades anualmente só no Brasil, sendo que este número tende a aumentar caso as cervejarias adotem as embalagens PET para envase de

produtos. Cerca de 53% não são recicladas onde o restante, ou seja, 4,7 bilhões de unidades são descartados na natureza. Infelizmente, um dos fatores que mais contribuem para a baixa porcentagem de reciclagem no Brasil é a falta de programas de reciclagem em muitas áreas (O ESTADO DE S. PAULO, 2007).

Entretanto, o lado marrom do PET torna-se ainda mais marrom, pois o processo de reciclagem mecânica (tecnologia de reciclagem existente atualmente) torna-se insatisfatório devido a maior parte desses não poder ser reciclado. Isto se deve uma vez que as quantidades significativas de impurezas presentes no mesmo, como corantes e metais, interferem no reprocessamento do plástico (DICKNEIDER, 2008).

Muitos materiais como filmes de poliéster metalizados, películas espelhadas utilizadas em janelas de residências, dispositivos eletrônicos e materiais fotográficos são excluídos da reciclagem mecânica (ZANIN & MANCINI, 2004).

Outro fator negativo é em relação ao uso do PET reciclado. O PET reciclado (PETR) não pode ser usado para a produção de recipientes para refrigerantes, pois as temperaturas envolvidas não são altas o suficiente para garantir a esterilização do produto (CANN & CONELLY, 2000). Assim, o uso do PETR não reduz a quantidade de PET virgem usado em embalagens de alimentos. No Brasil, até o momento, apenas a embalagem multicamada destinada ao acondicionamento de bebidas carbonatadas não alcoólicas foi liberada pela Portaria Nº 987, de 8 de dezembro de 1998, da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Desta forma, os produtos finais do

PETR incluem embalagens para armazenar produtos não alimentícios, fibras para tecidos e carpetes e outros produtos comerciais (LIMA,2001).

O processo de reciclagem do PET apresenta muitas dificuldades, devido, principalmente, à queda brusca do seu peso molecular durante o seu processamento o que diminui demasiadamente sua viscosidade (ABIPET, 2007).

No processo de reciclagem de PET ocorre produção de impactos tais como: consumo de recursos naturais (água e energia), geração de resíduos sólidos, emissões atmosféricas e efluentes líquidos. Os recursos energéticos considerados incluem a energia elétrica utilizada nos equipamentos e o combustível utilizado para o transporte externo e interno das matérias-primas e do produto final (MARTINS, 2003).

A reciclagem de garrafas sofre com a presença de contaminantes como, por exemplo, os adesivos (polietireno e a cola usada em sua base) usados como rótulo e a base de alguns refrigerantes (polipropileno). A maioria dos processos de lavagem não impede que traços destes produtos indesejáveis permaneçam no flocos de PET. A cola age como catalisador da degradação hidrolítica quando o material é submetido às altas temperaturas no processo de extrusão, além de escurecer e endurecer o reciclado. O mesmo pode ocorrer com o cloreto de polivinila (PVC) que compõe outros tipos de garrafas e não pode misturar-se com a sucata de PET, pois o PVC reage com o PET (VALT, 2007). A análise dos aspectos ambientais considerados em relação a uma embalagem de cada material é apresentada na Tabela 4.

Tabela 4. Resumo da quantificação unitária dos aspectos ambientais por embalagem para as taxas atuais de reciclagem.

Aspecto Ambiental	PET	Alumínio	Vidro
Taxa de reciclagem (%)	40	80	25
Massa de material (g)	50	14,9	386,2
Número de embalagens	500	2740	3448
Recurso natural (kg)	0,0688	0,0154	0,0187
Consumo de água (kg)	0,2979	0,0471	0,1669
Energia (MJ)	5,5376	1,5801	1,2402
Emissão atmosférica (kg)	0,0186	0,0037	0,0090
Efluente líquido (kg)	0,3174	0,0471	0,1669
Resíduo sólido (kg)	0,0874	0,0189	0,0084

FONTE: VALT (2007).

A reciclagem do PET no Brasil enfrenta muitos dilemas e, por essa razão, apesar do seu rápido crescimento na última década, precisa superar alguns desafios de forma a se ampliar para níveis mais avançados em direção à sustentabilidade. As principais dificuldades com a coleta de PET dizem respeito à separação por coloração e tipo, devido a seus múltiplos usos e aplicações, e à contaminação por outros materiais plásticos, além de cola e sujeira. Também, a presença de atravessadores, os chamados "sucateiros", dificultam o avanço da qualidade do processo produtivo, quer seja na qualidade e confiabilidade da coleta, quer seja pela precarização da força de trabalho envolvida (os catadores), com nítidos obstáculos à sua maior profissionalização. Somam-se a isso as poucas iniciativas de coleta seletiva, em comparação com o universo urbano no País. Por fim, é urgente uma revisão das políticas públicas, tanto em termos tributários quanto da gestão dos resíduos urbanos (VALT, 2007).

Apesar destas dificuldades, a reciclagem do PET tem fortes apelos nas dimensões ecológica e econômica, além do seu papel social no Brasil. A capilaridade dos catadores como agentes da reversão das embalagens dos

produtos consumidos torna mais amplo o alcance e a viabilidade dos volumes reciclados. Além de desafios de natureza sócio-econômica, a reciclagem tem também forte impacto nas estratégias gerenciais, exigindo novas configurações das relações que se estabelecem na cadeia de produção, consumo e reutilização de materiais, trazendo à tona uma necessidade de repensar a atuação e o papel da empresa frente a este cenário (VALT, 2007).

A indústria pode colaborar evitando a descontinuidade de compra, incentivando a capacitação de catadores, reduzindo intermediários e aumentando o valor do produto. Do outro lado, o setor público pode atuar no sentido de implantar boas práticas como a coleta seletiva, além dos incentivos à organização de cooperativas de catadores e uma legislação que incentive a reciclagem. As iniciativas políticas, ao introduzirem sistemas de coleta seletiva de lixo, ou mesmo as empresas que fazem o marketing da reciclagem para neutralizar o impacto da produção de resíduos, merecem atenção da sociedade. Sendo mais imediata a visualização dos fluxos de materiais consumidos em curto prazo, tem-se a impressão de que algo está sendo feito para resolver o problema, e as questões realmente estruturais e de fundo ficam à margem. Desta forma, é necessário maior investimento em informação e tecnologia. Levar ao grande público o conhecimento sobre a reciclagem dos materiais, instruindo sobre como proceder para o correto descarte das embalagens. Desenvolver tecnologias que permitam materiais de embalagem mais fáceis de reciclar, inofensivos e inertes, para proteção do meio ambiente, é outra importante frente de ação (VALT, 2007).

Nesse aspecto, o desejo efetivo de mudança da cultura organizacional adquire centralidade, trazendo à tona a necessidade de se repensar crenças,

valores, posturas e práticas, que anteriormente se balizavam pelo foco no curto-prazo, pela ênfase na expansão ilimitada da produção e pela orientação para os processos internos da organização. Esses são grandes desafios empresariais em direção a um desenvolvimento de produtos ambientalmente mais responsável. O alcance de bons resultados nesse setor também depende de se investir em etapas anteriores e posteriores à reciclagem, ou seja, na coleta seletiva e no mercado para o produto reciclado. A atuação conjunta do governo, universidades, organizações não-governamentais e empresas pode criar um incentivo para o avanço da reciclagem no País (VALT, 2007).

Finalmente, quando se analisa a gestão estratégica do fim da vida da embalagem pode-se construir ferramentas essenciais que transcendem à sua reciclagem. Entretanto, faz-se necessário que em pesquisas futuras sejam desenvolvidas e analisadas bases metodológicas eficientes e adequadas à gestão ambiental do ciclo completo das embalagens, aí incluídos a concepção, a produção, o uso e o pós-consumo (VALT, 2007).

2.3 PET x MEIO AMBIENTE

No município de São Paulo, os plásticos são o segundo elemento mais encontrado no lixo, correspondendo a 23% do peso total dos resíduos encaminhados para os aterros sanitários o que significa uma parcela muito importante, considerando-se que o plástico é um elemento extremamente leve e de grande volume. Este é o caso do PET (Polietileno Tereftalato) que vem sendo extremamente utilizado como embalagem de alimentos, por exemplo, e que possui

um tempo de vida previsto no meio ambiente em torno de 20 a 40 anos (MÜLLER et al., 2001).

Quando depositados no ambiente, os plásticos chegam aos sistemas de coleta de esgoto resultando no seu entupimento e, conseqüentemente, em inundações locais (Figura 7). Todavia, quando depositados em lixões os plásticos apresentam riscos pela queima indevida e incontrolada que pode resultar em emissões tóxicas na atmosfera (REDIFF, 2007).



FOTO: SOS Rios do Brasil, 2008.

Figura 7. Entupimento da rede de esgoto por garrafas PET.

O PET é altamente combustível, com valor de cerca de 20.000 BTU/kg e libera gases residuais quando incinerado como o monóxido e dióxido de carbono, acetaldeído, benzoato de vinila e ácido benzóico (VILLAIN et al., 1994).

Em aterros sanitários esse material dificulta a compactação do material e prejudica a decomposição dos elementos biologicamente degradáveis causando

grande dano nos processos fermentativos e impedindo a circulação de líquidos e gases necessários a biodegradação de materiais (FORLIN & FARIA, 2002).

O acúmulo indevido de polímeros sintéticos também atinge ambientes marinhos causando inúmeros problemas, como a ingestão de sacos plásticos por tartarugas marinhas e baleias, ingestão de tampas de garrafas plásticas por aves marinhas, morte de focas por ingestão de plásticos provenientes de embalagens, dentre outros (CONTATO et al., 2003).

John Klavitter, biólogo responsável pelo serviço de peixes e animais selvagens dos E.U.A., retirou várias tampas de garrafa PET e outros componentes plásticos durante autópsia de um jovem Albatroz encontrado morto em meio a um atol (Figura 8). Durante os primeiros seis meses de vida os filhotes de Albatroz dependem inteiramente de seus pais para se alimentar. Desta forma, os adultos forrageiam o mar e trazem para seus filhotes sucatas de flutuação, como os plásticos, confundidos com alimento (MINDFULLY, 2007). Outro caso de poluição marinha ocorre com as tartarugas marinhas que freqüentemente comem sacos plásticos dispostos no mar, uma vez confundidos com seu alimento preferido, a medusa (Figura 9).

Aproximadamente 45% do lixo marinho vem da terra, trazido pelo vento ou lavado pela chuva das estradas e das ruas da cidade, seguindo para os córregos e rios e por fim lançado ao mar (MINDFULLY, 2007).



FOTO: MINDFULLY, 2007.

Figura 8. Carcaça de jovem Albatroz recheada de lixo plástico.



FOTO: MELBOURNE ZOO, 2007.

Figura 9. Ingestão de sacos plásticos por tartarugas marinhas.

Com o rápido desenvolvimento do PET e sua larga utilização na indústria, onde uma fração substancial do volume de resíduos de PET é gerado anualmente, uma nova questão ambiental vem ocorrendo uma vez que o PET é altamente resistente aos agentes atmosféricos e biológicos. Conseqüentemente, o PET torna-se um material nocivo do ponto de vista ambiental e ecológico (EDGE et al., 1991; RUDAKOVA et al., 1979).

Atualmente, há uma tendência no estudo de plásticos biodegradáveis que vem atraindo muito interesse no desenvolvimento de novos materiais com as mesmas propriedades físicas exigidas pelo consumidor e com padrões de segurança durante seu uso e descarte. Até então, os polímeros que não são biodegradáveis continuam sendo extremamente utilizados (ONODERA, 2001).

Os poliésteres aromáticos são considerados, geralmente, como materiais biologicamente inertes. Entretanto o PET, recentemente comercializado na forma de frascos para alimentos, poderia ser despolimerizado por enzimas microbianas a uma extensão e taxa que pudesse modificar futuramente a reciclagem biológica de tais poliésteres (MUELLER et al., 2005).

2.4 RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

De acordo com TIMOFIECSYK & PAWLOWSKY (2000), o termo resíduo é utilizado em sentido amplo englobando não somente sólidos como também os efluentes líquidos e os materiais presentes nas emissões atmosféricas. Assim como os plásticos, o acúmulo de resíduos agroindustriais causa um grande impacto ambiental já que a maioria desses materiais é parcialmente ou completamente desperdiçados.

Ampla variedade e quantidade de resíduos orgânicos são gerados anualmente pela atividade agroindustrial humana. Os materiais residuais constituem um fator negativo na avaliação econômica das operações agrícolas e florestais provocando efeitos adversos sobre o ambiente no decorrer da sua disposição final (CHANG, 1997).

Desde 1986, existe uma série de pesquisas sendo desenvolvidas no país afim de agregar valor aos produtos e subprodutos da agricultura, principalmente pelo aumento da geração de resíduos agroindustriais. A utilização de resíduos da agroindústria brasileira, além de fornecer diferentes alternativas de substratos para a fermentação, também ajuda nos problemas de poluição (PANDEY et al., 1999).

Segundo ABARCA (1999), o setor agroindustrial não é reconhecido pela sociedade como um setor que afeta o meio ambiente. De acordo com este autor talvez tal fato seja devido à sociedade valorizar mais a contribuição da atividade agroindustrial na produção de alimentos sendo, entretanto, desconhecido, para a maior parte dela, a complexidade dos processos tecnológicos existentes neste tipo de atividade, bem como o montante de subprodutos poluidores que são gerados e depositados no meio ambiente.

Os resíduos agrícolas, florestais e agroindustriais, sendo, na sua maioria, biomassa lignocelulósica, representam uma fonte abundante e renovável de substratos que podem ser biologicamente convertidos em biomassa microbiana de elevado valor nutricional. Segundo DOELLE (1996), uma tecnologia de fermentação desenvolvida a partir de materiais lignocelulósicos resultando em múltiplos produtos, sem efluentes poluentes no solo, na água e no ar, é caracterizada como uma “tecnologia integrada”.

Estes resíduos agroindustriais são, em sua maioria, de natureza lignocelulósica (KEREM et al., 1992) e de acordo com SERMANNI & PORRI (1989) a utilização de material lignocelulósico para a obtenção de compostos de alto valor

econômico, por biotransformação, é um dos mais interessantes campos da pesquisa biotecnológica.

2.4.1 Farelo de arroz

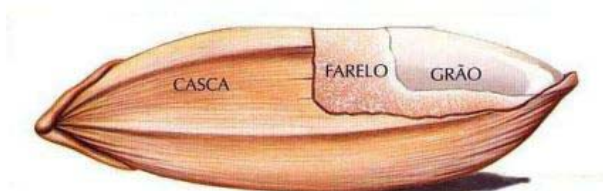
O arroz (constituído por sete espécies, *Oryza barthii*, *Oryza glaberrima*, *Oryza latifolia*, *Oryza longistaminata*, *Oryza punctata*, *Oryza rufipogon* e *Oryza sativa*) é uma planta da família das gramíneas que alimenta mais da metade da população humana do mundo. É a terceira maior cultura cerealífera do mundo, apenas ultrapassado pelo milho e trigo, rico em hidratos de carbono (INFOARROZ, 2008).

O Brasil, produzindo 11 milhões de toneladas/ano, é o principal produtor de arroz fora do continente asiático, ocupando a posição de 9º maior produtor mundial. O brasileiro consome, em média, 70 quilos de arroz por ano, enquanto o argentino 11 quilos e o uruguaio 10 quilos, números muito distantes de países como Vietnã (175 kg/hab/ano), Indonésia (155 kg), China (103 kg) e Índia (85 kg) (INFOARROZ, 2008).

O Rio Grande do Sul é responsável por 50% do arroz produzido no país e por 73,8% do arroz irrigado, sistema que também é empregado em larga escala em Santa Catarina, em boa parte de Mato Grosso, estado que tirou do Maranhão o posto de segundo produtor brasileiro de arroz, no Tocantins e em Goiás (INFOARROZ, 2008).

O grão de arroz é constituído genericamente por 20% de casca, 70% de endosperma e 10% pelas camadas de farelo e germe (Figura 10), onde estão

concentrados a maior parte dos lipídios do grão (15 a 20%) (ORTHOEFER, 1996; MCCASKILL & ZHANG, 1999).



FONTE: Terra de Arroz (2008).

Figura 10. Composição do grão de arroz.

No processamento de arroz, desde a colheita até o beneficiamento, podem-se destacar os seguintes subprodutos e resíduos: palha de arroz, soca ou soqueira, casca, farelo e quirela (ou quirera), que podem ser considerados resíduos com grande potencial de utilização como substratos (PELIZER, 1997). O beneficiamento da cultura de arroz gera de 7 a 12% de farelo e 17 a 22% de casca (MORAES, 1999). O beneficiamento do grão de arroz envolve etapas como a secagem do grão, descascamento, moagem e polimento (WANG & LUH, 1991). Durante as etapas de beneficiamento são separadas as diversas partes do grão dentre elas o farelo.

De acordo com LUCHESI & JUSTINO (2003), o farelo de arroz integral (FAI) é o produto originado do polimento realizado no beneficiamento do grão de arroz sem casca e que não sofre extração de óleo. Consiste de pericarpo, estando presentes gérmen, fragmentos de arroz (quirera fina) e pequenas quantidades de

casca. A Tabela 5 demonstra a comparação entre os níveis nutricionais do farelo de arroz.

Tabela 5. Comparação entre os níveis nutricionais do farelo de arroz.

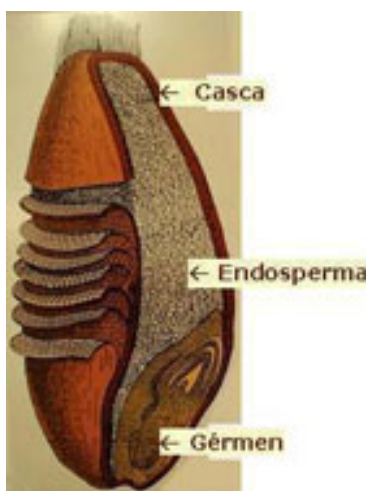
Nutriente (%)	Farelo de arroz
Matéria seca	89,30
Proteína Bruta (PB)	13,24
Coef. de digestibilidade (PB)	74,44
PB digestível	9,86
Energia digestível (Kcal/kg)	3179
Energia metabolizável (kcal/kg)	3111
Gordura	14,81
Ácido Linoléico	2,37
Fibra bruta	7,88
Cálcio	0,11
Fósforo total	1,61
Fósforo disponível	0,32
Potássio	1,40
Sódio	0,04
Cloro	0,06

FONTE: ROSTAGNO et al., 1995.

2.4.2 Farelo de trigo

O Trigo (*Triticum aestivum*, *L. Monocotyledonae*, *Gramínae*.) é uma planta de ciclo anual, cultivada durante o inverno e na primavera. O grão é consumido na forma de pão, massa alimentícia, bolo e biscoito. A Figura 11 ilustra a composição do grão de trigo. É, usado também como ração animal, quando não atinge a qualidade exigida para o consumo humano. O trigo ocupa o primeiro lugar em volume de produção mundial. No Brasil, a produção anual oscila entre 5 e 6 milhões de toneladas. É cultivado nas regiões Sul (RS, SC e PR), Sudeste (MG, SP) e Centro-oeste (MS, GO e DF). O Consumo anual no país tem se mantido em torno de 10 milhões de toneladas. Cerca de 90% da produção de trigo está no Sul

do Brasil. O cereal vem sendo introduzido paulatinamente na região do cerrado, sob irrigação ou de sequeiro (EMBRAPA, 2008).



FONTE: Via Integral (2008).

Figura 11. Composição do grão de trigo.

O trigo é globalmente a segunda maior cultura de cereais, depois do milho, seguido pelo arroz. Atualmente, a Bulgária tem um dos mais altos usos per capita de trigo, com 279 kg por pessoa anualmente. Outros exemplos são a Austrália com 142 kg, a Arábia Saudita com 123 kg, a França com 109 kg, os Estados Unidos com 86 kg, a China com 67 kg e o Brasil com 57 kg (EMBRAPA, 2008).

O trigo fornece cerca de 20% das calorias provenientes de alimentos consumidos pelo homem, possui uma proteína chamada glúten, não encontrada em outros grãos, o que faz do trigo componente indispensável na alimentação humana. O trigo é útil ao homem através de seus derivados imediatos, como farinha branca e integral. Com as farinhas preparam-se diversos tipos de pão,

macarrão, talharim, capeletes e ravioles, carne de trigo (glúten), café de trigo, canjicas, bolos, esfihas, massas (para tortas, empadas, pastéis), panquecas, pizzas e outras. O farelo de trigo, subproduto da obtenção da farinha branca ou o trigo integral, adicionado diariamente a mingaus, sopas e outros proporcionam bom funcionamento do aparelho digestivo do homem prevenindo doenças do colón e reto, apêndices, problemas cardíacos, entre outros. O farelo de trigo é usado em arraçãoamento de bovinos, suínos e aves; a palha do trigo pode ser devolvida ao solo como matéria orgânica, ou ser usada como cama para instalações de animais (SEAGRI-BAHIA, 2008).

Segundo a FAO (Food and Agriculture Organization), a cada ano são produzidos 2.496 milhões de toneladas de palha de cereais. Os resíduos de cereais mais importantes são os constituídos pela palha de trigo, aveia, centeio, arroz e sabugo de milho (NICHOLSON, 1984). O farelo de trigo é um subproduto resultante da moagem do grão de trigo, composto de pericarpo, gérmen e demais camadas internas dos grãos. É constituído por nutrientes como fibras solúveis (pectina, gomas e hemiceluloses solúveis) e insolúveis (celulose, lignina e hemiceluloses insolúveis), além de proteínas, lipídios, vitaminas e minerais, nutrientes utilizados na alimentação humana e de animais (LUH, 1991; POMERANZ, 1988).

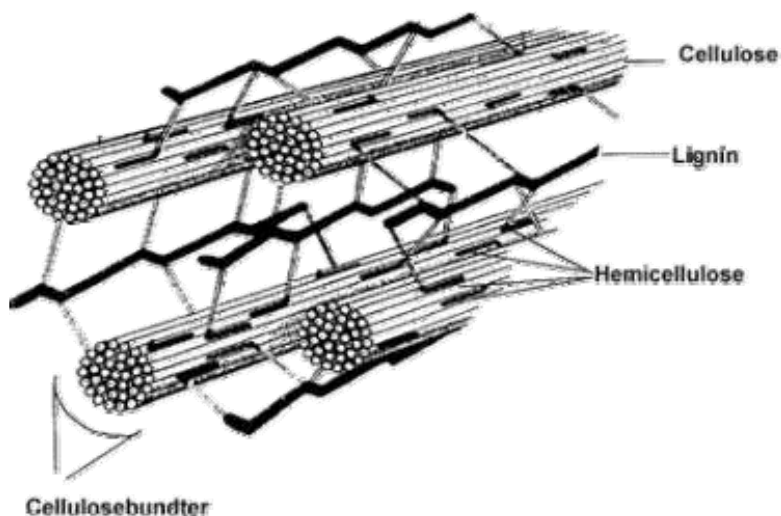
A Tabela 6 ilustra a comparação entre os níveis nutricionais do farelo de trigo.

Tabela 6. Comparação entre os níveis nutricionais do farelo de trigo.

Nutriente (%)	Farelo de trigo
Matéria seca	88,00
Proteína Bruta (PB)	15,52
Coef. de digestibilidade (PB)	77,40
PB digestível	12,01
Energia digestível (Kcal/kg)	2551
Energia metabolizável (kcal/kg)	2442
Gordura	3,46
Ácido Linoléico	1,54
Fibra bruta	9,66
Cálcio	0,14
Fósforo total	0,99
Fósforo disponível	0,33
Potássio	1,03
Sódio	0,02
Cloro	0,06

FONTE: ROSTAGNO et al., 1995.

Os principais componentes dos resíduos agroindustriais são a celulose, a hemicelulose e a lignina (Figura 12). O teor de nitrogênio é, geralmente, muito baixo. A proporção percentual dos componentes celulose, hemicelulose e lignina, assim como do teor de nitrogênio, depende do tipo de material, idade e estágio vegetativo (RAJARATHNAM et al., 1992).



FONTE: FORSKNING (2008).

Figura 12. Celulose, hemicelulose e lignina.

A lignocelulose é o principal constituinte da parede celular da maioria das plantas terrestres e é uma das maiores fontes de carbono renováveis possuindo uma síntese estimada em 4×10^7 toneladas por ano (KUBICEK, 1992), sendo assim o composto biológico terrestre mais abundante encontrado na terra. É o material dominante do resíduo da agricultura, na forma de talos, troncos e cascas; como também um dos principais produtos de resíduos naturais e de atividades produzidas pelo homem (GOKSOYR & ERIKSEN, 1980).

Para a exploração da celulose é, freqüentemente, necessário remover os compostos não celulósicos, convertendo a biomassa lignocelulósica em materiais utilizáveis como a glicose, etanol, adubos orgânicos, ração animal, etc. Porém, a maioria dos resíduos agroindustriais, como por exemplo, os resíduos agrícolas, os lixos urbanos e os resíduos de processamento das indústrias de papel e alimentos são compostos de celulose, hemicelulose e lignina (COWLING e

KIRK, 1976), ou seja, a celulose não é encontrada na sua forma pura na natureza está sempre associada a outros polissacarídeos (NIKOLOV, 2000). A Tabela 7 mostra a composição de alguns resíduos agroindustriais.

Tabela 7. Porcentagem de celulose, hemicelulose, lignina e outros componentes presentes em alguns resíduos agrícolas.

Substratos	Celulose	Hemicelulose	Lignina	Outros
Bagaço de cana-de-açúcar	44%	23%	20%	2,4% cinzas
Casca de Arroz	50%	-	30%	20% sílica
Farelo de Arroz	25-40%	20-30%	30%	-
Farelo de trigo	25-40%	20-30%	30%	-

FONTE: PAVARINA (2002) - Complementado.

A lignina é um constituinte estrutural, com função de suporte mecânico às plantas, composta por moléculas poliméricas altamente ramificadas consistindo de unidades monoméricas básicas de fenilpropano unidas por diferentes tipos de ligações (ARGYROPOULOS & MENACHEM, 1997). Essa estrutura torna a degradação da lignina vagarosa e limitada a um pequeno número de microrganismos, principalmente do grupo fúngico (CHANG & MILES, 1989).

A lignina de resíduos lignocelulósicos cria uma barreira para a eficiente utilização, conversão ou degradação dos polissacarídeos nestes materiais, que tem como um possível destino final, a elaboração de ração animal com elevado valor nutritivo (HADAR et al, 1992). O processo de degradação da lignina não está bem definido, mas existe uma correlação aparente entre a habilidade de degradar compostos de lignina e a produção de fenoloxidasas, como a lacase, peroxidase e tirosinase, as quais oxidam compostos fenólicos. Estas reações oxidativas estão envolvidas na conversão de fenóis complexos a compostos aromáticos simples

que podem ser adsorvidos pelo micélio fúngico e usado para seu desenvolvimento (CHANG & MILES, 1989).

A degradação da celulose, um carboidrato estrutural e complexo que consiste de polímeros de unidades de glicose na forma β formando fibras cristalinas (BRODA, 1992), é feita através de um sistema enzimático hidrolítico que envolve a ação cooperativa de, no mínimo, três enzimas: a exoglucanase (avicelase), endoglucanase (carboximetilcelulase) e β -glucosidase (BAYER & LAMED, 1992).

Uma das possibilidades na degradação de materiais lignocelulíticos é o uso de microrganismos que produzem enzimas específicas que hidrolisam a celulose, como a avicelase, carboximetilcelulase e β -glicosidase (Celulases) enzimas que atuam sobre a porção celulósica, as xilanases, mananases, glucanases e galactanases (Hemicelulases) que atuam sobre a porção hemicelulósica e as enzimas oxidativas como a lignina peroxidase, manganês peroxidase e lacase, definidas como fenoloxidasas, que atuam sobre a lignina (TUOR et al., 1995; CAI et al., 1994; WOOD & GARCIA-CAMPAYO, 1990).

Dentre as possíveis aplicações pesquisadas ou registradas para as enzimas lignocelulolíticas são relatadas o biobranqueamento de polpas celulósicas, a extração e clarificação de sucos, óleos e flavorizantes de plantas e frutos (MACRIS & KEKOS, 1989), descoloração de azo-corantes (CHAGAS & DURRANT, 2000); a biodegradação de compostos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, nos processos de biorremediação de solos e águas residuais (MARTENS & ZADRAZIL, 1998), a deslignificação de resíduos para o aumento da digestibilidade em rações animais, a produção de substâncias lignocelulósicas de

interesse como antioxidantes, resinas e complexantes de moléculas orgânicas (GIOVANNONZI-SERMANNI et al., 1989). Segundo MULLINGS (1985), o complexo de enzimas varia de acordo com o microrganismo que o produziu, seu estado nutricional e fase de crescimento.

De acordo com ROSSI *et al.* (2001), farelos de arroz e soja são fontes de nutrientes utilizadas como suplemento, pois estimula o crescimento miceliano de diversas espécies de cogumelo. A capacidade do fungo crescer e produzir cogumelos em substratos lignocelulósicos está relacionada com o vigor do micélio e com a capacidade de ativar mecanismos fisiológicos, necessários para utilizar os nutrientes do meio de cultura (MATA *et al.*, 2001).

Resíduos lignocelulósicos submetidos à fermentação semi-sólida podem ser utilizados como substratos para o cultivo de microrganismos capazes de biodegradá-los para obtenção de nutrientes para o seu desenvolvimento (KUHAD et al., 1997). Espigas de milho, bagaço de cana-de-açúcar, resíduos da cultura de banana, polpa de café, casca e farelo de arroz, farelo de trigo, resíduos de algodão, entre outros, são potencialmente utilizados como substratos por *Pleurotus sp.* (KOHARI et al, 1997; HADAR et al., 1992), pois este fungo pode decompor lignocelulose eficientemente com pouco ou nenhum pré-tratamento.

2.5 MICRORGANISMOS LIGNOCELULOLÍTICOS

2.5.1 Fungos Basidiomicetes

Os fungos, em particular os Basidiomicetes, são conhecidos, seja pelas suas propriedades nutricionais e medicinais, seja pela sua toxidez. É uma subclasse de grande importância econômica por abranger fungos parasitas, fungos degradadores da madeira e os fungos comestíveis que sustentam a atividade industrial (LACAZ et al, 1970)

Os Basidiomicetes são considerados todas as espécies de fungos que produzem corpos frutíferos facilmente visíveis a olho nu. O filamento dos Basidiomicetes, denominado de hifa é tubular e a massa de hifas recebe a denominação de micélio (PAULA et al, 2007).

A reprodução é realizada por meio da produção de esporos, contudo, qualquer fragmento de hifa possui capacidade de propagação (RAVEN et al., 1978). Diferenciações morfológicas e fisiológicas do micélio formam os corpos de frutificação conhecidos como basidiocarpos, carpóforos ou cogumelos. No desenvolvimento dos cogumelos, distinguem-se duas fases conhecidas como estágio vegetativo e estágio reprodutivo ou de frutificação. O estágio vegetativo refere-se ao desenvolvimento do micélio e o reprodutivo à formação dos basidiocarpos. Durante a colonização do substrato, enzimas extracelulares são secretadas degradando a matéria orgânica transformando-a em compostos orgânicos solúveis absorvidos pelas hifas. O crescimento do micélio resulta de uma efusão de hifas, gerando uma associação entre hifa e substrato, que proporciona um forte suporte físico necessário a formação dos corpos de

frutificação. Quando este estágio é atingido o micélio é considerado como estabilizado e a mudança para o estágio reprodutivo está normalmente condicionada a variação de fatores físicos como o decréscimo de temperatura e aumento de umidade (CHANG, 1989). O cogumelo é formado pelo estipe ou pé e pelo píleo. O píleo possui, em geral, forma de umbela ou chapéu e apresenta, em sua superfície inferior, um tecido diferenciado, o himênio, formado por lamelas, póros ou tubos através dos quais há a liberação dos esporos (FIDALGO, 1967).

A maioria dos Basidiomicetes pode utilizar os componentes da madeira para o seu crescimento, porque possuem um sistema enzimático que os torna capazes de degradar fontes complexas de carbono como a celulose, a hemicelulose e a lignina, mostrando o importante papel desses fungos no processo de reciclagem da biomassa das florestas (PAULA et al, 2007).

Os fungos lignocelulolíticos têm recebido atenção especial dos pesquisadores, nas últimas décadas, devido a sua aplicabilidade no tratamento de efluentes (indústrias têxteis e papelaria), na biorremediação e na produção de antibióticos (BLANCHETTE, 1995; KOTTERMAN et al., 1994; SMÂNIA et al., 1997; ZJAWIONY, 2003). Também vem sendo discutido o papel desses organismos na produtividade das florestas, as quais são estritamente dependentes da reciclagem de nutrientes imobilizados da madeira e, portanto, da dinâmica dos processos da decomposição (RAYNER & BODDY, 1998).

Alguns desses fungos produzem corpos frutíferos comestíveis e de alto valor nutricional, sendo ricos em proteínas, fibras, minerais, vitaminas, apresentando baixo teor de lipídeos e carboidratos (WASSER & WEIS, 1999).

As regiões tropicais e semi-úmidas apresentam características que as tornam áreas propícias ao cultivo de fungos comestíveis, oferecendo, além de condições climáticas favoráveis, atividades agro-florestais que produzem uma enorme quantidade de resíduos lignocelulósicos que podem ser utilizados como excelentes substratos (LOGUERCIO LEITE et al., 1991).

Os microrganismos lignocelulolíticos são encontrados entre grupos taxonômicos extremamente variados. Estes microrganismos incluem fungos, actinomicetos, basidiomicetos e bactérias (WOOD, 1990). São geralmente encontrados em toda biota onde há acúmulo de resíduo celulósico, e ocorrem em populações mistas compreendendo espécies celulolíticas e não celulolíticas, as quais agem muitas vezes em associação. Estas interações precedem a completa degradação da celulose, que finalmente é convertida em dióxido de carbono, metano e água sob condições anaeróbicas e dióxido de carbono e água sob condições aeróbicas (LJUNGAHL e ERIKSSON, 1985; BEGUIN & AUBERT, 1994).

Estudos realizados por TEUNISSEN & OP DEN CAMP (1993) revelaram que os fungos anaeróbicos têm grande potencial na digestão de lignocelulose, presente no rúmen de animais herbívoros, devido à capacidade de colonizar e degradar mais eficientemente que as bactérias presentes, tecidos da parede celular vegetal contendo lignina. Muitos organismos isolados do rúmen apresentaram produção de celulasas e xilanasas, os quais são importantes na quebra de polímeros vegetais (TEUNISSEN et al., 1992). A degradação anaeróbica de celulose ocorre em uma variedade de substratos da biota

anaeróbica, como esterco, adubo composto, lodo de tratamentos de esgotos de água (vegetais e marinhos) ou sedimentos de água doce (ORPIN, 1988).

Entre os fungos aeróbicos mais efetivos na biodegradação natural dos resíduos lignocelulósicos, estão os fungos de degradação branca, os fungos de degradação marrom e os fungos de degradação branca (KNAPP, 1985). A degradação completa da lignina é um processo oxidativo o qual é realizado por poucos microrganismos como, por exemplo, o fungo de degradação branca *Phanerochaete chrysosporum*. Entretanto, uma larga variedade de organismos em particular os actinomicetos (MACCARTY, 1987) são capazes de efetuar delignificação parcial para obter acesso ao substrato celulósico. O fungo *Trichoderma reesei*, um deuteromiceto aeróbico e altamente celulolítico tem sido mais pesquisado. Outros fungos capazes de produzir o complexo celulolítico, como o *T. koningii* (WOOD & MCCRAE, 1972), *Penicillium funiculosum* (BORCHERT & BUCHHOLZS, 1987), *Fusarium solanii* (ENARI & PAAVOLA, 1987) e *Neurospora crassa* (YAZDI et al, 1990).

Também conhecidos como “White-rot fungi”, os fungos de degradação branca são capazes de degradar a lignina produzindo manchas brancas nos suportes. São microrganismos que apresentam capacidade para a síntese de enzimas celulíticas e ligninolíticas que atuam sobre diferentes substratos ricos em celulose, hemicelulose e lignina, através das enzimas hidrolíticas e oxidativas (TUOR et al., 1995). Pela capacidade que este grupo de fungo tem de degradar lignina da parede celular das plantas, são indicados para possível uso na indústria, onde a lignina e/ou outros componentes fenólicos precisam ser modificados ou removidos.

Desenvolvem-se em todos os tipos de vegetais, sendo que a hifa atinge o lúmen celular, coloniza primeiro o raio das células do parênquima e logo penetra de célula a célula através dos buracos já existentes ou pelos buracos que vão se formando diretamente (KUHAD et al, 1997). A maneira como estes microrganismos degradam componentes da parede celular são variáveis, onde alguns degradam todos os componentes simultaneamente de forma não seletiva, outros de forma seletiva e outros combinando a forma seletiva ou não seletiva em diferentes regiões da mesma planta.

Antes de iniciar a hidrólise de componentes como celulose, hemicelulose (s) e lignina, através de um processo hidrolítico e oxidativo que provavelmente faz parte de seu metabolismo secundário (KARUNANANDAA et al, 1995), os fungos de podridão branca necessitam de nutrientes que satisfaçam o seu metabolismo primário de crescimento. Dentre esses nutrientes estão relacionados os açúcares simples como a glicose, frutose, maltose e concentrações adequadas de carbono e nitrogênio que, inclusive afeta a síntese protéica da biomassa microbiana (EYAL et al, 1991; SUGUIMOTO & CASTRO-GOMEZ, 1996).

2.5.2 *Pleurotus spp.*

A maioria das espécies de *Pleurotus spp.* possuem uma habilidade saprofítica altamente competitiva contra a microbiota do solo em sistemas solo-lignocelulose, quando comparadas com outras linhagens de basidiomicetos de degradação branca (MADIGAN et al., 2000). Os fatores que determinam as diferentes formas e intensidade de degradação ainda são inexplicáveis.

O termo *Pleurotus* vem do grego e significa “orelha” ou “margem” e está classificado dentro da família *Agaricaceae*, caracterizado pelo himênio com lamelas. As espécies de *Pleurotus spp.* são restritas a um grupo de fungos superiores (Basidiomicetos) caracterizados pelos corpos de frutificação com pedúnculo excêntrico aderido ao píleo, o qual se abre como uma ostra durante a morfogênese, e por causa disto são chamados de “cogumelos ostras”. Na natureza são encontrados principalmente saprófitos, pois crescem sobre troncos de madeira e estão dotados da capacidade de segregar um amplo espectro de enzimas hidrolíticas e oxidantes.

Estão amplamente distribuídos pelo sul e área central da Europa e norte da África (RAJARATHNAM & BANO, 1987). *Pleurotus spp.* é encontrado ocorrendo naturalmente também nas matas brasileiras, crescendo sobre madeira da qual retira nutrientes, provocando sua decomposição (MAZIERO *et al.*, 1992; WISBECK, 2003; BONATTI *et al.*, 2004).

Segundo SILVA (2004), muitos basidiomicetos ligninolíticos desenvolvem-se em meios simples que tenham disponibilidade de carbono assimilável, nitrogênio e fontes de fósforo e sais minerais necessários. Mas para meios formulados a partir do bagaço de cana-de-açúcar, palha de milho, etc., é preciso utilizar suplementação com outros materiais, contendo elementos essenciais para obtenção do crescimento do fungo. Além da utilização de resíduos como substratos, a suplementação destes com farelos como o de trigo e o de milho são comuns no cultivo de *P. ostreatus* (WANG *et al.*, 2001).

2.6 DEGRADAÇÃO DE POLÍMEROS SINTÉTICOS

Uma comparação significativa da resistência intrínseca de diferentes polímeros a um processo degradativo particular é difícil de se estabelecer devido à grande variedade de condições testes, à sensibilidade dos polímeros a traços de impurezas e aditivos e às diversas formas físicas dos polímeros como espessura, morfologia, orientação, formato, etc. Além disso, a degradação pode resultar da exposição a dois ou mais processos combinados. Portanto, apenas uma comparação qualitativa entre os polímeros pode ser determinada em relação aos diferentes processos de degradação (HUMMEL & SCHOLL, 1988). A suscetibilidade de alguns polímeros sintéticos à degradação pode ser claramente resumida na Tabela 8.

Tabela 8. Suscetibilidade de alguns polímeros sintéticos à degradação.

Polímeros	Termo-oxidação	Foto-oxidação	Ozônio	Hidrólise	γ -Oxidação
Polipropileno (PP)	MP	MP	E	E	P
Poliestireno (PS)	F	P	E	E	B
Policloreto de Vinila (PVC)	MP	P	E	E	P
Poliétileno Tereftalato (PET)	B	B	E	B	B
Poliuretano (PU)	F	F	B	B	F

E= Excelente B=Boa F=Falha P=Pouca MP=Muito Pouca

A deterioração do PET pode ocorrer por duas rotas: pela foto clivagem direta do polímero e por subsequente foto oxidação dos grupos glicol. Quando expostos à luz solar a foto oxidação não é uniforme sendo degradado, preferencialmente, na superfície orientada pela luz. Em relação à degradação hidrolítica todos os poliésteres aromáticos podem ser degradados a temperaturas de extrusão, porém para evitar termo degradação do PET a temperatura máxima

de utilização deve ser de 105° C (MARK et al., 1986). Embora sua estabilidade térmica seja relativamente alta, substâncias voláteis tóxicas são emitidas à temperaturas de 200-300° , durante a produção, processamento e reciclagem do material, produzindo principalmente acetaldeído, formaldeído, monóxido de carbono e benzeno. As reações de degradação termo-oxidativas são mais complicadas com a participação do O₂ formando hidroperóxido seguido pela ruptura da cadeia (DZIECIOL & TRZESZCZYNSKI, 1998).

A maioria de polímeros sintéticos são considerados resistentes ao ataque microbiano. Sua biodegradabilidade depende das várias propriedades físicas e químicas. O polietileno maciço de baixo peso molar facilita o crescimento fúngico a um determinado grau (AGARWAL et al., 1971). Embora diversos microrganismos facilitem a biodegradação dos hidrocarbonetos, a biodegradação do polietileno é processo um muito lento (ALBERTSSON et al., 1976). CORBIN & HENMAN (1981) estudaram a biodegradação de um determinado polietileno onde a taxa de conversão era somente aproximadamente de 2% ao ano.

A biodegradação dos plásticos é, geralmente, um processo heterogêneo devido a insolubilidade da água e do tamanho das moléculas do polímero. Os microrganismos não atacam os polímeros diretamente em suas células, onde a maioria dos processos bioquímicos ocorrem, mas sim através da excreção de enzimas extracelulares despolimerizantes (MUELLER, 2006).

Em 1985, demonstrou-se a função das enzimas extracelulares na biodegradação do poliuretano (EL-SAYED et al, 1996). Geralmente, polímeros sintéticos e naturais podem ser atacados quimicamente por organismos vivos

através da produção de enzimas hidrolíticas que catalisam a hidrólise das ligações éster, éter ou amida, como é o caso das esterases (SCHNABEL, 1981).

O número crescente de fungos com capacidades de degradar poliéster PU tem sido isoladas e foi sugerido que o ataque enzimático de enzimas hidrolíticas como ureases, proteases esterases (HOWARD et al., 1998; NAKAJIMA-KAMBE et al., 1997; SANTERRE et al., 1993), como ocorrido em 1994 quando foram isolados quatro espécies de fungos sendo eles *Curvularia sengalensis*, *Fusarium solani*, *Aureobasidium pullulans* e *Cladosporium* sp., caracterizava a sua capacidade em degradar ésteres PU. Observou-se que *C. sengalensis* secretou uma enzima extracelular com as mesmas propriedades das esterases (HOWARD et al., 1998).

Foi verificado, em 1981, que adicionando-se suplementos de nitrogênio aumentava a biodegradação do poliéster PU por fungos filamentosos e pela levedura *Cryptococcus laurentii* (EL-SAYED et al, 1996).

Filmes de PVC apresentaram-se mais opacos e menos flexíveis quando incubados os fungos basidiomicetos *P. cryosporium*, *Peniophora cinérea* e *Trogia buccinalis* e a análise em espectro UV revelaram mudanças significativas indicando a presença de ácidos carboxílicos e de polienos provenientes das quebras oxidativas da cadeia macromolecular, através de processos enzimáticos (FRANCHETI et al, 1998).

A degradação de polietileno por *Pennicilium simplicissimum* foi observada por ONODERA (2001) que relataram a eficiência da degradação do polímero em função da fase de crescimento na cultura pura do fungo e da

inserção de grupos funcionais no polietileno, em decorrência de irradiação com luz ultravioleta ou pela presença de agentes oxidantes.

MÜLLER et al. (2001) observaram a quebra hidrolítica de cadeia polimérica de PET pela introdução de componentes ácidos alifáticos. Até o momento, nenhum ataque microbiano ou enzimático direto significativo foi observado em poliésteres aromáticos puros.

Materiais como metais, minerais inorgânicos e polímeros orgânicos são suscetíveis a formação de biofilmes microbianos submetidos em condições de alta umidade, principalmente em climas tropical e subtropical (GU, 2003).

Embora a relação da biodegradação da fibra de PET fosse ainda fraca, ZHANG et al (2004) demonstraram com micrografias de SEM e análise do HPLC que os microrganismos e a enzima lipase poderiam agir na fibra de PET, fato evidenciado pelo aparecimento de rachaduras na superfície da fibra.

Foi verificado que microrganismos ligninolíticos foram capazes de degradar componentes oxidados de polietileno observando-se reduções de massa molecular deste polímero (LEE et al., 1991). Os efeitos esperados quanto ao crescimento microbiano em polímeros sintéticos são ataque da superfície do polímero, descoloração e perda da transparência (ASTM G21-90, 1990).

A existência de microrganismos capazes de degradar compostos xenobióticos é de grande interesse para a biorremediação, sendo os fungos de decomposição branca um dos grupos que tem obtido maior notoriedade em estudos relacionados a esta área (CHANDRA & RUSTGI, 1998). Os fungos de podridão branca, ou seja, os degradadores de lignina, têm obtido crescente êxito em pesquisas relacionadas a biodegradação de poluentes, pois estes são capazes

de transformar e mineralizar contaminantes ambientais como hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, corantes azo, herbicidas e outros compostos tóxicos através da ação de suas enzimas extracelulares (CLEMENTE, 2002; NEVES, 2002; LANG et al., 1998).

O plástico oxi-biodegradável, única novidade que já pode ser vista em supermercados e farmácias do Brasil (em embalagens de cosméticos e sacolas) é um dos mais indicados pelas propostas de lei, porém é também fonte de polêmica, pois seus efeitos sobre o meio ambiente ainda são desconhecidos (Tabela 9).

Tabela 9. Materiais biodegradáveis.

Plástico de fonte renovável e biodegradável	Plástico oxi-biodegradável	Plástico de fonte renovável e reciclável	Isopor vegetal
Originário de fontes renováveis, biodegrada-se naturalmente. Um exemplo é o chamado biocycle, desenvolvido e produzido no Brasil a partir da cana-de-açúcar. Ao se decompor, gera água, húmus e gás carbônico na mesma quantidade que a cana, a qual absorve o CO ₂ na plantação. Porém, se a degradação ocorrer em aterros, pode gerar metano, gás com potencial de efeito estufa 21 vezes maior que o CO ₂ (o mesmo vale para o oxi-biodegradável). O melhor seria transformá-lo em adubo.	Como o convencional, é originário do petróleo. Na fabricação, colocam-se aditivos químicos que fazem com que, em contato com o oxigênio (daí o nome oxi), o plástico leve de seis meses a dois anos para de decompor. Alguns pesquisadores suspeitam que os aditivos contenham metais pesados, com risco de contaminação do solo e dos lençóis freáticos, o que também poderia ser ocasionado pelos resíduos de tintas e pigmentos. Não é compostável nem tem liberação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) para contato com alimentos.	Possui as mesmas características físico-químicas do plástico convencional, ou seja, é difícil de ser degradado por microrganismos devido a suas longas cadeias moleculares. Porém, é originário de fontes renováveis, como a cana-de-açúcar, e não do petróleo. Não é biodegradável, mas reciclável. Deve ser produzido no Brasil a partir de 2009. Espera-se que até lá a reciclagem de plástico no país esteja maior.	A partir do milho e da mamona, uma indústria química de São Carlos/SP produz um material similar ao isopor, porém biodegradável e compostável. Ainda não é usado em embalagens que chegam ao consumidor final. Outra empresa paulista está comercializando o biopack, produto semelhante ao isopor feito a partir do milho usado para proteger eletroeletrônicos durante o transporte.

FONTE: VALT (2007).

Os poliésteres aromáticos são considerados, geralmente, como materiais biologicamente inertes. Entretanto o PET, recentemente comercializado na forma de frascos para alimentos, poderia ser despolimerizado por enzimas

microbianas a uma extensão e taxa que pudesse modificar futuramente a reciclagem biológica de tais poliésteres (MUELLER et al., 2005).

A mobilidade das cadeias do polímero provou ser o fator mais relevante da taxa de biodegradação do poliéster, excluindo muitos poliésteres aromáticos como o PET (MUELLER, 2006). É importante o conhecimento da composição de cada material polimérico para se estabelecer a resistência destes plásticos aos microrganismos quando aplicadas condições de temperatura e umidade favoráveis ao processo degradativo. No caso do polietileno, que possui um esqueleto constituído unicamente de átomos de carbono, existe uma grande resistência às influências ambientais, ao contrário de outros polímeros que contêm heteroátomos na cadeia principal apresentando-se potencialmente suscetíveis à clivagem hidrolítica (MÜLLER et al., 2001).

Muitos laboratórios e institutos estão envolvidos em estudos de biodegradação do PET e do Dietileno Glicol Tereftalato (DTP). Porém, ainda há poucos trabalhos com ataque microbiano ou enzimático devido a estrutura compacta do polímero. Desta forma, o estudo da biodegradação do PET ainda encontra-se no estágio preliminar (KOHEI, 2002).

Um dos métodos analíticos mais simples utilizados para avaliação de alterações decorrentes de biodegradação polimérica é a pesagem dos espécimes plásticos antes e após os ensaios de incubação com os microrganismos, para controle da perda de peso dos polímeros com a biodegradação (ATSTM D 5210-92, 1992).

2.7 SURFACTANTES DE ORIGEM MICROBIANA

Os surfactantes constituem uma classe importante de compostos químicos amplamente utilizados em diversos setores industriais. A grande maioria dos surfactantes disponíveis comercialmente é sintetizada a partir de derivados de petróleo. Entretanto, o crescimento da preocupação ambiental entre os consumidores, combinado com novas legislações de controle do meio ambiente levaram à procura por surfactantes naturais como alternativa aos produtos existentes (NITSCHKE & PASTORE, 2002).

Os surfactantes são moléculas anfipáticas constituídas de uma porção hidrofóbica e uma porção hidrofílica. A porção apolar é freqüentemente uma cadeia hidrocarbonada enquanto a porção polar pode ser iônica (aniônica ou catiônica), não-iônica ou anfotérica (DESAI & BANAT, 1997).

Alguns exemplos de surfactantes iônicos utilizados comercialmente incluem ésteres sulfatados ou sulfatos de ácidos graxos (aniônicos) e sais de amônio quaternário (catiônico). Em função da presença de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos na

mesma molécula, os surfactantes tendem a se distribuir nas interfaces entre fases fluidas com diferentes graus de polaridade (óleo/água e água/óleo). A formação de um filme molecular, ordenado nas interfaces, reduz a tensão interfacial e superficial, sendo responsável pelas propriedades únicas dos surfactantes. Estas propriedades fazem os surfactantes serem adequados para uma gama de aplicações industriais envolvendo: detergência, emulsificação, lubrificação, capacidade espumante, capacidade molhante, solubilização e dispersão de fases (NITSCHKE & PASTORE, 2002).

A maior utilização dos surfactantes se concentra na indústria de produtos de limpeza (sabões e detergentes), na indústria de petróleo e na indústria de cosméticos e produtos de higiene. A produção mundial de surfactantes excede 3 milhões de toneladas por ano, sendo a maioria utilizada como matéria-prima para fabricação de detergentes de uso doméstico (BANAT, 2000).

Vários compostos com propriedades tenso-ativas são sintetizados por organismos vivos, desde plantas (saponinas) até microrganismos (glicolipídios) e também no organismo humano (sais biliares), sendo considerados surfactantes naturais (BOGNOLO, 1999).

Atualmente, nos países industrializados 70-75% dos surfactantes consumidos são de origem petroquímica, enquanto que nos países em desenvolvimento os compostos de origem natural predominam (BOGNOLO, 1999). Entretanto, nos países industrializados existe uma tendência para a substituição dos surfactantes sintéticos pelos naturais. Esta tendência é movida pela necessidade de produtos mais brandos, pela necessidade de substituição de compostos não biodegradáveis (alquil benzenos ramificados) e pelo aumento da especificidade dos produtos.

Os compostos de origem microbiana que exibem propriedades surfactantes, isto é, diminuem a tensão superficial e possuem alta capacidade emulsificante, são denominados biossurfactantes e consistem em subprodutos metabólicos de bactérias, fungos e leveduras (CAMEOTRA & MAKKAR, 1998).

O crescimento microbiano em fontes de carbono insolúveis em água é acompanhado por alterações metabólicas e estruturais da célula. O aparecimento

de biosurfactantes ou compostos de superfície ativa no meio de cultura ou unido às paredes celulares é geralmente considerado um pré-requisito para as interações iniciais entre os hidrocarbonetos e a célula microbiana, pois reduzem a tensão superficial entre o óleo e a fase aquosa diminuindo o diâmetro médio das gotas de óleo e propiciando o aumento da área interfacial (ROUSE et al., 1994).

Os biosurfactantes apresentam vantagens especiais sobre surfactantes químicos, tais como: baixa toxicidade, biodegradabilidade, produção a partir de substratos renováveis, capacidade de modificação estrutural através da engenharia genética ou técnicas bioquímicas e estabilidade em valores extremos de pH e temperatura (GEORGIU et al., 1992; ROUSE et al., 1994). Portanto, em virtude de todas estas propriedades, os biosurfactantes representam uma fonte potencial para estudos de biorremediação de ambientes contaminados com compostos xenobióticos, mas a maneira pela qual isto ocorre ainda não está bem esclarecida.

2.7.1 Tensoativos biológicos

Os tensoativos são moléculas anfifílicas, ou seja, compostos que apresentam parte apolar (hidrófobas) e uma parte polar (hidrófila) na mesma molécula, e podem ser insolúveis e solúveis em solução aquosa. Estas moléculas agem na interface água/óleo, formando assim, micelas de formas e tamanhos diferenciados (ROCHA, 1999), ou seja, partículas da substância em estado coloidal, cercada por um conjunto de íons.

Os tensoativos são produzidos por microrganismos para aumentar a acessibilidade de substratos hidrófobos às células, facilitando o desenvolvimento

da microbiota existente e, conseqüentemente, aumentando a biodegradação (ROCHA, 1999). No que tange aos solos que sofreram derramamentos de petróleo, a presença dos tensoativos se torna crucial no tratamento daqueles submetidos a um longo intemperismo, por causa do poluente estar mais aderido na sua matriz. Neste caso, o tensoativo conduziria o poluente ao seio da solução e o disponibilizaria para o ataque microbiano.

Na maioria dos casos, a adição de tensoativos sintéticos inibe a biodegradação por serem tóxicos aos microrganismos. Tensoativos produzidos biologicamente não tem efeitos danosos ao ambiente, não são tóxicos aos microrganismos, e provavelmente não irão seqüestrar irreversivelmente os hidrocarbonetos (MORÁN, 2000).

As fontes de carbono determinam o tipo e as propriedades dos tensoativos produzidos, sendo os hidrocarbonetos, os hidratos de carbono e os óleos vegetais os substratos mais usados para efeito de pesquisa. Dentre os tensoativos produzidos por bactérias, os glicolipídeos são os mais freqüentemente isolados e estudados. Entretanto, as referências quanto ao emprego de fungos como produtores de tensoativos são escassas, merecendo, portanto, um pouco da nossa atenção. Por outro lado, comparado ao volume de trabalho feito na identificação de cepas microbiológicas em processos de fermentação, e de isolamento e caracterização das espécies, pouco tem sido feito na definição da aplicação da tecnologia de tensoativos (BOGNOLO, 1999).

Várias frentes de pesquisa trabalham com o objetivo de reduzir os custos de produção de biosurfactantes. Segundo FIECHTER (1992), existe a necessidade de ampliação do conhecimento da fisiologia, genética e bioquímica

de linhagens produtoras de biossurfactantes e melhorar a tecnologia do processo para reduzir os custos de produção. O uso de substrato a partir de resíduos agroindustriais também foi sugerido (MAKKAR & ROCKNE, 2003; MANEERAT, 2005; MUKHERJEE et al, 2006).

2.8 FERMENTAÇÃO SEMI-SÓLIDA – FSS

A fermentação em estado sólido é tida como o mais antigo processo fermentativo usado pelo homem, como por exemplo a sua utilização no processo de fabricação do molho fermentado de soja “koji” que remonta a mais de 1000 anos no Japão, e, provavelmente, a 3000 a.C. na China (PANDEY, 1992; HESSELTINE, 1977).

O processo de fermentação em estado sólido, também denominado fermentação semi-sólida, ou ainda fermentação em substrato sólido, geralmente é definido como o crescimento de microrganismo em materiais sólidos umedecidos na ausência ou próximo da ausência de água livre. Entende-se por ausência de água livre a não separação ou escorrimento (“dripping”) de água da matriz sólida, que deve conter umidade suficiente na forma absorvida ou complexada, para permitir o crescimento do microrganismo (PANDEY, 1992).

Os meios de cultivo utilizados em FSS, na sua maioria, são produtos agrícolas ou sub-produtos de agroindústrias tais como o farelo de arroz (PALMA, 2003), farelo de trigo (NANDAKUMAR et al., 1999), bagaço de mandioca (DALSETER, 2000), torta de babaçu (PALMA et al., 2000), bagaço de cana-de-açúcar (SOCCOL et al., 1994) e farinha de trigo (NAGEL et al., 2002). Estes

substratos contêm, geralmente, substâncias macromoleculares como fonte de nutrientes e as enzimas hidrolíticas, secretadas pelo microrganismo que hidrolisam estas macromoléculas e liberam, assim, pequenas moléculas solúveis que podem ser utilizadas para o crescimento (PANDEY, 1992).

A fermentação semi-sólida de resíduos agroindustriais tratados com fungos de degradação branca pode aumentar a digestibilidade da matéria seca, além de incrementar o conteúdo protéico do substrato fermentado (WEILAND, 1988). Este tipo de fermentação é mais adequado para o cultivo deste microrganismo devido ao seu desenvolvimento micelial (GUTIERREZ-CORREIA & TENGERTDY, 1997). A Tabela 10 resume o desenvolvimento deste tipo de fermentação.

Tabela 10. Desenvolvimento da fermentação semi-sólida.

Período	Desenvolvimento
2600 a.C.	Produção de pão pelos egípcios
2500 a.C.	Produção de queijo por <i>P. roquefort</i>
Século VII	Produção de "koji" no Japão
Século XVIII	Produção de vinagre de polpas
	Produção de ácido gálico
1860-1990	Tratamento de efluentes
1900-1920	Enzimas fúngicas
1920-1940	Enzimas fúngicas, ácido glucônico e cítrico
1940-1950	Produção de penicilina
1950-1960	Produção de esteróis por fungos
1960-1980	Micotoxinas e alimentos enriquecidos
1980	Vários outros produtos (enzimas, álcool, etc.)

FONTE: PANDEY (1992).

Os fungos filamentosos, pela sua peculiar capacidade de crescer em ambientes com baixa umidade relativa e na ausência de água livre, são por estas razões os que melhor se adaptam a este tipo de fermentação. Assim, os

microrganismos de importância industrial empregados em fermentação semi-sólida (FSS) crescem todos, na natureza, sobre substratos com reduzida umidade e pertencem geralmente a espécies de um dos seguintes gêneros: *Mucor*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium* e *Trichoderma* (PANDEY *et al.*, 2000).

Para desenvolver processos biológicos envolvendo fermentação semi-sólida é necessário que uma série de condições sejam controladas dentro de limites admissíveis com as características do processo. Sabe-se que a manutenção de condições homogêneas deste tipo de fermentação é uma tarefa árdua de ser conseguida, tornando a coleta de amostras representativas extremamente difícil pela própria dificuldade em manter condições homogêneas em toda a massa semi-sólida. Os principais parâmetros que afetam o desenvolvimento e produção do microrganismo em FSS são: umidade, temperatura e pH (PANDEY *et al.*, 1999).

Embora muito pouco seja conhecido sobre a base mecanística das diferenças observadas entre a fermentação semi-sólida (FSS) e a fermentação submersa (FS) sabe-se que a expressão gênica em FSS pode ser diferente daquela em FS (NAGEL *et al.* 2002). Em contraste com os procedimentos da fermentação submersa, a técnica da FSS não está tão bem caracterizada sobre fundamentos científicos ou bases de engenharia e poucas informações estão disponíveis sobre o efeito do ambiente presente na FSS (MUDGETT, 1986; RAMANA-MURTHY *et al.*, 1993).

O cultivo em meio semi-sólido apresenta algumas vantagens em relação ao cultivo submerso, tais como: excreção de metabólitos de forma concentrada, produtividade volumétrica superior, menor quantidade de efluentes a

tratar, menor consumo de energia e menor investimento de capital (GUTIERREZ-CORREIA & TENGEDY, 1997; KAPRITCHKOFF et al., 1996), além da possibilidade de aplicação direta do produto fermentado na alimentação humana e animal (SCHUCHARDT & ZADRAZIL, 1988; WEILAND, 1988). Representa um método alternativo, eficiente e econômico, para a obtenção de um produto fermentado constituído de resíduo lignocelulósico hidrolisado e a biomassa do microrganismo (KAPRITCHKOFF et al, 1996).

2.9 FERMENTAÇÃO SUBMERSA – FS

A fermentação submersa tem como característica principal a utilização de um meio fermentativo líquido com nutrientes solúveis. Este tipo de fermentação pode ser realizados em frascos agitados (ex.: Erlenmeyers), fermentadores de bancada ou fermentadores em escala industrial (MARTINS, 2001).

A técnica de fermentação submersa possui relativa facilidade de cultivo em grande escala, já que garante a homogeneidade do meio e facilidade no controle dos parâmetros do processo, principalmente se monitorados por sensores adequados (COUTO & SANROMÁN, 2006).

As enzimas de interesse biotecnológico têm sido tradicionalmente produzidas por fermentação submersa (FS), devido à maior facilidade de controle e de operação do processo. No entanto a probabilidade de contaminação, pela maior quantidade de água, é um inconveniente deste processo. Outra limitação é quando a enzima produzida é extracelular, sendo obtida uma preparação mais diluída, inserindo uma etapa de concentração mais trabalhosa na purificação. A

questão da viabilidade econômica da fermentação submersa frente à fermentação semi-sólida é outro problema encontrado na condução do processo, já que os meios de fermentação normalmente apresentam um alto custo (ALONSO, 2001).

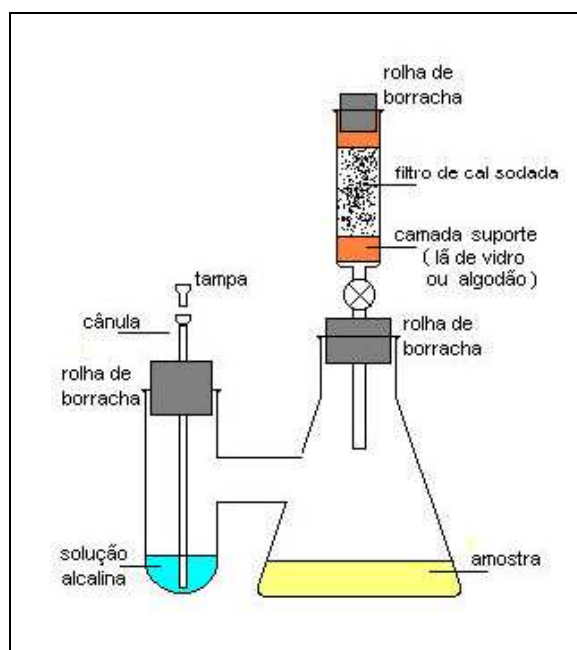
2.10 MÉTODO RESPIROMÉTRICO DE BARTHA & PRAMER

A respiração do solo ou respirometria é um parâmetro de fácil determinação, apresentando correlação com a atividade microbiana foi amplamente utilizado para trabalhos relacionados com a biomassa microbiana e biorremediação, inclusive para derivados petroquímicos (BROWN *et al.*, 1991; MIELNICZUK, 1991). A respiração do solo tem sido usada como indicador da atividade biológica em um perfil de solo, este parâmetro fornece uma melhor estimativa da relativa atividade microbiana do que a contagem de populações (SOPPER, 1993).

Os métodos respirométricos (consumo de oxigênio e/ou produção de dióxido de carbono) podem ser utilizados como um primeiro teste para se avaliar a pronta ou inerente biodegradabilidade de poluentes em solo ou água. Estes testes são geralmente conduzidos sob condições ótimas com respeito à umidade, temperatura, nutrientes minerais, inoculação microbiana e aeração (se o teste é aeróbio). Testes que obtém uma conversão de 30 % (CETESB, 1990) ou 50 a 60% (ATLAS, 1981) a CO₂ dentro de um específico período de tempo, indicam que, sob condições apropriadas, os poluentes serão biodegradados pelos microrganismos.

Uma possível maneira de se conduzir experimentos respirométricos é através do respirômetro de Bartha & Pramer, cujo método é utilizado na determinação da taxa de biodegradação da matéria orgânica contida em resíduos presentes em solos (CETESB, 1990). Avaliar a taxa de biodegradação do PET através do método respirométrico de Bartha é de grande importância já que trata-se de um método simples e de baixo custo, estando amplamente divulgado na literatura, o que indica a sua aceitação como método adequado para avaliar a biodegradação de resíduos no solo (CETESB, 1990).

O método respirométrico de Bratha & Pramer consiste em um sistema fechado (Figura 13) constituído de duas câmaras interligadas, onde ocorrem a biodegradação e a remoção do CO_2 produzido para quantificação, sendo utilizado para se estimar a respiração de um solo com adição de resíduo (CETESB, 1990).



FONTE: CETESB (1990).

Figura 13. Respirômetro de Bartha & Pramer.

A respiração do solo é a metodologia mais citada em literatura para avaliar a atividade microbiana. Sua determinação se dá através da titulação ácido-base, onde uma solução alcalina captura o CO₂ produzido pela respiração microbiana no solo, sendo posteriormente titulada por um ácido. (STOTZKY, 1965; MILLER, 1974; AGBIM *et al.*; 1977; CASARINI *et al.*; 1988; MARCHALL & DEVINNY, 1988; PAUL & CLARK, 1989; SHARABY & BARTHA, 1993).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Microrganismos

Utilizou-se duas linhagens de fungos basidiomicetos de podridão branca, sendo *Pleurotus 001* e *Pleurotus tailândia*. Os microrganismos pertenciam à coleção de culturas fúngicas do Laboratório de Sistemática e Fisiologia Microbiana – FEA – UNICAMP/SP.

3.1.1 Identificação taxonômica

A identificação taxonômica dos microrganismos foi realizada, pelo CPQBA – Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas, por métodos moleculares, incluindo a extração de DNA, amplificação e seqüenciamento de genes alvo e análise filogenética. O objetivo desta análise foi verificar a resolução em nível de espécie, pois a mesma similaridade de seqüência pode ocorrer com mais de uma espécie do mesmo gênero. A metodologia utilizada encontra-se logo abaixo.

Extração de DNA: O DNA genômico foi extraído de acordo com o protocolo descrito por RAEDER & BRODA (1985).

Amplificação da região: A metodologia consistiu na amplificação das regiões ITS (*Internal Transcribed Space*) pela metodologia de PCR, utilizando como molde de DNA genômico extraído diretamente da amostra. Os *primers* (oligonucleotídeos sintéticos) utilizados para a reação de PCR foram ITS-1 e ITS-4 homólogos às extremidades da região ITS.

Seqüenciamento: Os fragmentos amplificados foram purificados e submetidos diretamente ao seqüenciamento em seqüenciador automático MegaBACE 1000 (GE Healthcare). Os *primers* utilizados para seqüenciamento foram ITS-1 e ITS-4.

Análise filogenética: As seqüências parciais das regiões ITS obtidas com os diferentes *primers* foram montadas em um *conting* (seqüência única combinando os diferentes fragmentos obtidos) e comparadas com as seqüências de organismos representados nas bases de dados do Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). As seqüências foram alinhadas utilizando o programa CLUSTAL X (THOMPSON et al., 1994) e as análises filogenéticas foram conduzidas utilizando o programa MEGA versão 3.0 (KUMAR et al., 2004). As matrizes de distância evolutiva foram calculadas com o modelo de KIMURA (1980) e a construção da árvore filogenética a partir das distâncias evolutivas foi feita pelo método de *Neighbor-Joining* (SAITOU & NEI, 1987), com valores de *bootstrap* calculados a partir de 1.000 re-amostragens, utilizando o software de rotina incluído no programa MEGA 3.0.

3.1.2 Condição de crescimento

A metodologia utilizada foi a recomendada por SILVA (2001). Os fungos foram mantidos em tubos de ensaio, contendo meio de cultivo batata-dextrose-água (BDA-Difco), esterilizado a 121° C por 15 minutos. Após o crescimento fúngico, os tubos foram refrigerados a 4° C. (Figura 14)

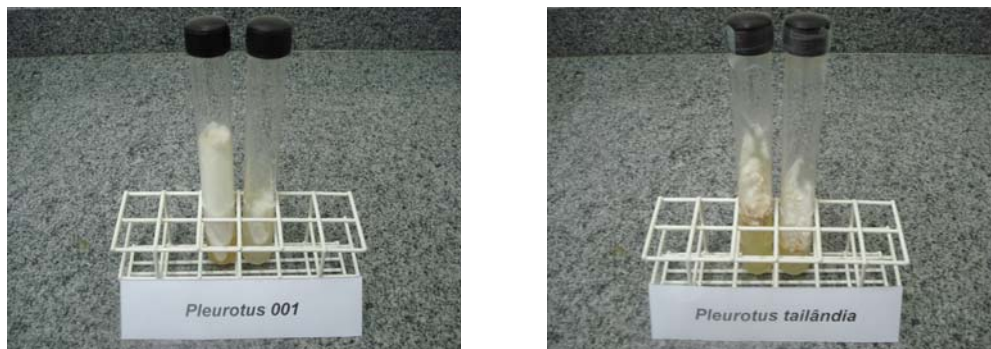


Figura 14. Microrganismos: condição de crescimento.

3.1.3 Inóculo

Após crescimento, as linhagens foram cultivadas em placas de Petri contendo meio batata-dextrose-água (BDA-Difco), por um período de 7 dias a 30° C (Figura 15), e como inóculo utilizou-se quadrados (1x1 cm) de ágar-micélio.

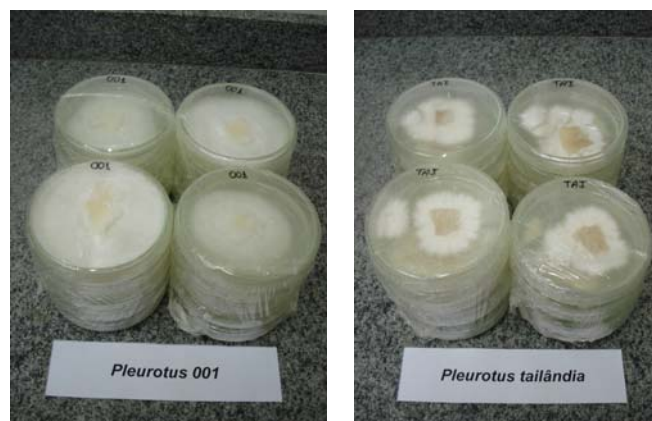


Figura 15. Preparo do inóculo.

3.2 Substratos utilizados

Foram utilizados os substratos lignocelulósicos farelo de arroz (FA), farelo de trigo (FT) e mistura de farelo de arroz+farelo de trigo (FAT), todos adquiridos na Cerealista Irapuru - Americana/SP (Figura 16).



Figura 16. Substratos agroindustriais.

3.3 Polímeros sintéticos utilizados

Os pellets (resina PET Rhodia S80), polímero cilíndrico de 3 mm de diâmetro e 2 mm de altura de Polietileno Tereftalato (PET), foram doados pela Divisão de Embalagens da ALCOA Alumínio S.A. – Queimados – RJ. Já as garrafas de refrigerante PET (transparente), material obtido pós-uso, foram cortadas na forma de quadrados (1x1 cm) (Figura 17).



Pellets de PET



Quadrados de Garrafa PET

Figura 17. Polímeros sintéticos em estudo.

3.4 Desinfecção do PET

Após pesagem, as amostras de PET foram desinfetadas para eliminação de contaminantes microbianos. Este procedimento foi composto de um protocolo desenvolvido e validado pela American Society for Testing Materials (ASTM G22-76, 1990). Os polímeros foram acondicionados em pequenos envelopes identificados confeccionados com gaze e foram colocados em um béquer contendo 1 L de solução desinfetante universal (1L de água destilada, 14,0 mL de detergente Tween 80 e 20 mL de hipoclorito de sódio por filtração em membranas de filtro Millipore 0,22 μm) e deixados à temperatura ambiente durante 60 minutos, agitando-se ocasionalmente com um bastão de vidro estéril. Em seguida, com o auxílio de uma pinça estéril, o material foi removido e transferido para um béquer com água destilada esterilizada onde permaneceu em temperatura ambiente por 60 minutos. Após, os mesmos foram transferidos para outro béquer com solução etanol 70% por 30 minutos à temperatura ambiente. Por

fim, as amostras foram colocadas assepticamente num recipiente estéril e fechado à temperatura ambiente para secagem por um período de 12 dias (Figura 18).



Figura 18. Desinfecção dos polímeros.

3.5 Análise qualitativa do crescimento microbiano

Através da observação visual, determinou-se quais dos substratos, submetidos à fermentação semi-sólida e fermentação submersa, apresentaram maior desenvolvimento micelial. Os fungos foram observados e determinados de acordo com o padrão adaptado da ASTM (American Society for Testing Materials), Standard Methods G21-90 (1990), apresentando as seguintes faixas de crescimento:

- (-) ausência de crescimento;
- (+) pouco crescimento com turvação de pequenos fragmentos de micélio lançados no meio;
- (++) moderado crescimento com surgimento de “pellet” fino na superfície do meio;

- (+++)
ótimo crescimento de massa micelial da metade a todo frasco.

3.5.1 Disposição dos microrganismos nos Erlenmeyers

Macroscopicamente verificou-se a disposição dos microrganismos nos Erlenmeyers, classificando-os como homogêneos (Ho) ou heterogêneos (Ht).

3.6 Determinação da perda de massa do PET

Os pellets, assim como os PETs na forma de quadrados, foram previamente pesados em balança analítica. Após incubação, os polímeros foram colocados em pesa-filtros e deixados em estufas de secagem a 50° C por 12 horas para determinação do crescimento de massa celular. A determinação da perda de massa dos polímeros foi baseada na metodologia ASTM D5247-92 (1992) que consiste em colocar as amostras em solução de NaOH 5 mol.L⁻¹ por aproximadamente 8 horas para retirada da massa microbiana e em seguida lava-se em água corrente e mantém em repouso durante 8 horas em água destilada. Após este período, as amostras condicionadas em pesa-filtros, foram novamente colocadas em estufas de secagem a 50° C por 12 horas para determinação da perda de massa dos PETs.

3.7 Método Respirométrico de Bartha & Pramer

Para este ensaio os respirômetros receberam 50 g de solo autoclavado obtido do aterro sanitário de Santa Bárbara D'Oeste/SP (Figura 19), 15 g de água

(umidade), 1,5 g de PET (garrafa/pellets) e as linhagens fúngicas foram inoculadas na proporção de 1 cm² de micélio para cada 10 g de solo (5 quadrados por frasco).

O processo de biodegradação foi avaliado durante o período de 90 dias, quantificando-se a geração de CO₂ onde os ensaios foram incubados a 22° C (Tabela 11). Aquele que corresponder à maior geração de CO₂ no período corresponderá a taxa de aplicação ideal (CETESB, 1990).

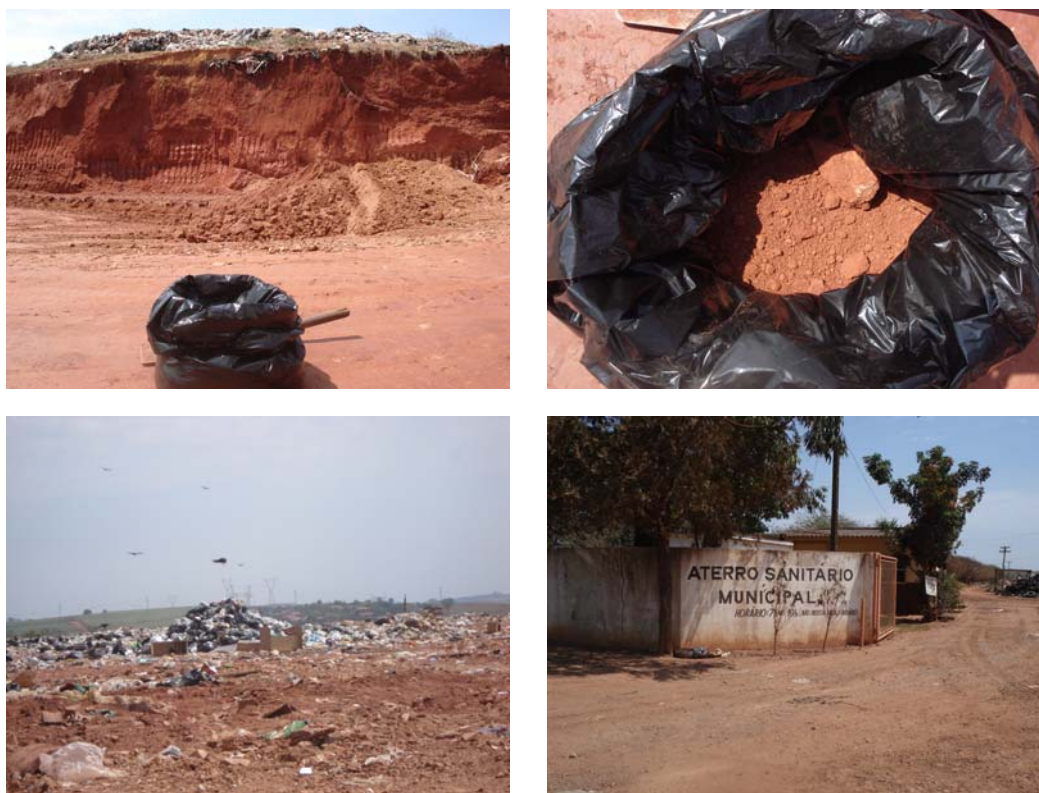


Figura 19. Solo utilizado nos respirômetros.

Tabela 11. Respirometria: planejamento dos experimentos realizados.

	Mmo.	Polímero	Solo
1	<i>Pleurotus</i> 001	Garrafa	autoclavado
2	<i>Pleurotus</i> 001	Garrafa	autoclavado
3	<i>Pleurotus</i> 001	Garrafa	autoclavado
4	<i>Pleurotus</i> 001	Garrafa	autoclavado
5	<i>Pleurotus tailândia</i>	Garrafa	autoclavado
6	<i>Pleurotus tailândia</i>	Garrafa	autoclavado
7	<i>Pleurotus tailândia</i>	Garrafa	autoclavado
8	<i>Pleurotus tailândia</i>	Garrafa	autoclavado
9	<i>Pleurotus</i> 001	Pellets	autoclavado
10	<i>Pleurotus</i> 001	Pellets	autoclavado
11	<i>Pleurotus</i> 001	Pellets	autoclavado
12	<i>Pleurotus</i> 001	Pellets	autoclavado
13	<i>Pleurotus tailândia</i>	Pellets	autoclavado
14	<i>Pleurotus tailândia</i>	Pellets	autoclavado
15	<i>Pleurotus tailândia</i>	Pellets	autoclavado
16	<i>Pleurotus tailândia</i>	Pellets	autoclavado

	Mmo.	Polímero	Solo
41	<i>Pleurotus</i> 001	Garrafa	não autoclavado
42	<i>Pleurotus</i> 001	Garrafa	não autoclavado
43	<i>Pleurotus</i> 001	Garrafa	não autoclavado
44	<i>Pleurotus</i> 001	Garrafa	não autoclavado
45	<i>Pleurotus tailândia</i>	Garrafa	não autoclavado
46	<i>Pleurotus tailândia</i>	Garrafa	não autoclavado
47	<i>Pleurotus tailândia</i>	Garrafa	não autoclavado
48	<i>Pleurotus tailândia</i>	Garrafa	não autoclavado
49	<i>Pleurotus</i> 001	Pellets	não autoclavado
50	<i>Pleurotus</i> 001	Pellets	não autoclavado
51	<i>Pleurotus</i> 001	Pellets	não autoclavado
52	<i>Pleurotus</i> 001	Pellets	não autoclavado
53	<i>Pleurotus tailândia</i>	Pellets	não autoclavado
54	<i>Pleurotus tailândia</i>	Pellets	não autoclavado
55	<i>Pleurotus tailândia</i>	Pellets	não autoclavado
56	<i>Pleurotus tailândia</i>	Pellets	não autoclavado

	Controle
17	solo autoclavado
18	solo autoclavado
19	solo autoclavado
20	solo autoclavado
21	solo não autoclavado
22	solo não autoclavado
23	solo não autoclavado
24	solo não autoclavado
25	solo autoclavado + Garrafa
26	solo autoclavado + Garrafa
27	solo autoclavado + Garrafa
28	solo autoclavado + Garrafa
29	solo autoclavado + Pellets
30	solo autoclavado + Pellets
31	solo autoclavado + Pellets
32	solo autoclavado + Pellets
33	solo não autoclavado + Garrafa
34	solo não autoclavado + Garrafa
35	solo não autoclavado + Garrafa
36	solo não autoclavado + Garrafa
37	solo não autoclavado + Pellets
38	solo não autoclavado + Pellets
39	solo não autoclavado + Pellets
40	solo não autoclavado + Pellets

PADRONIZAÇÃO

	Titulação (1 ^º)
Branco	33,7
Carbonato	30,5
HCl	16,5
Solo	65 g.
Polímero	1,5 gr.
Inóculo	5 quadrados

UMIDADE

Pressão = 1,15
Speed = 30 %



$$30/2 = 15 \text{ g}$$

50 g (solo)
15 g (umidade)
65 g (Bartha)

3.8 Planejamento experimental

O planejamento experimental proposto foi realizado de acordo com a quantidade de variáveis estudadas para cada tipo de fermentação. Para o processo de fermentação semi-sólida (FSS) o planejamento experimental consistiu em um delineamento Plackett & Burman de 16 ensaios e mais 4 ensaios no ponto central; ou seja, 20 ensaios no total onde 12 variáveis foram estudadas (Tabela 12).

Tabela 12. Planejamento experimental Plackett & Burman – FSS.

Níveis de Delineamentos PB 16 ensaios.

Variáveis			-1	0	1
Farelo Arroz/Farelo Trigo	x1	%	0:100	50:50	100:0
Qtde. farelo/água	X2	g/50g	10	15	20
(NH ₄) ₂ SO ₄	X3	g/L	0	0,75	1,5
KH ₂ PO ₄	X4	g/L	0	1,0	2,0
Uréia	X5	g/L	0	0,1	0,2
MgSO ₄ .7H ₂ O	X6	g/L	0	0,15	0,3
CaCl ₂	X7	g/L	0	0,2	0,4
FeSO ₄ .7H ₂ O	X8	mg/L	0	2,5	5,0
MnSO ₄ .H ₂ O	X9	mg/L	0	0,8	1,6
CoSO ₄ .H ₂ O	x10	mg/L	0	1,0	2,0
ZnSO ₄ .7H ₂ O	x11	mg/L	0	0,7	1,4
Qtde. de PET	X12	g/50g	1	1,5	2

Cálculo das soluções de sais.

Soluções de sais concentrada			0	+ 1
			Qtde. em gramas da solução concentrada a ser adicionada nos 50 gramas de meio	
(NH ₄) ₂ SO ₄	37,5 g/L	X3	1	2
KH ₂ PO ₄	50 g/L	X4	1	2
Uréia	5 g/L	X5	1	2
MgSO ₄ .7H ₂ O	7,5 g/L	X6	1	2
CaCl ₂	10 g/L	X7	1	2
FeSO ₄ .7H ₂ O	12,5 g/L	X8	1	2
MnSO ₄ .H ₂ O	4 g/L	X9	1	2
CoSO ₄ .H ₂ O	0,5 g/L	x10	1	2
ZnSO ₄ .7H ₂ O	3,5 g/L	X11	1	2

Plackett & Burman de 16 ensaios - PB 16 – Valores Codificados.

Ensaios	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	x10	x11	x12
1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1
2	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1
3	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1
4	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1
5	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1
6	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1
7	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1
8	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1
9	1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1
10	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1
11	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1
12	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	1	1
13	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	1
14	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1	1
15	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1
16	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1
17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Plackett & Burman de 16 ensaios - PB 16 – Valores Reais.

Ensaios	x1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	x10	x11	x12
1	Arroz	10	0	0	2	0	0	2	2	0	2	1
2	Arroz	20	0	0	0	2	0	0	2	2	0	2
3	Arroz	20	2	0	0	0	2	0	0	2	2	1
4	Arroz	20	2	2	0	0	0	2	0	0	2	2
5	Trigo	20	2	2	2	0	0	0	2	0	0	2
6	Arroz	10	2	2	2	2	0	0	0	2	0	1
7	Trigo	20	0	2	2	2	2	0	0	0	2	1
8	Arroz	10	2	0	2	2	2	2	0	0	0	2
9	Arroz	20	0	2	0	2	2	2	2	0	0	1
10	Trigo	20	2	0	2	0	2	2	2	2	0	1
11	Trigo	10	2	2	0	2	0	2	2	2	2	1
12	Arroz	10	0	2	2	0	2	0	2	2	2	2
13	Trigo	20	0	0	2	2	0	2	0	2	2	2
14	Trigo	10	0	0	0	2	2	0	2	0	2	2
15	Trigo	10	2	2	0	0	2	2	0	2	0	2
16	Trigo	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
17	arroz/trigo	15	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,5
18	arroz/trigo	15	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,5
19	arroz/trigo	15	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,5
20	arroz/trigo	15	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,5

X3 a x11 = qtde. em gramas das soluções concentradas para que as concentrações no meio de fermentação fiquem nas concentrações definidas inicialmente.

Já para a fermentação submersa (FS) o planejamento experimental consistiu em 20 ensaios PB e mais 4 ensaios no ponto central totalizando 24 ensaios onde 13 variáveis foram estudadas (Tabela 12). O planejamento experimental foi utilizado como uma ferramenta para avaliar a influência de fatores considerados importantes no processo de produção de enzimas lignocelulolíticas.

Tabela 13. Planejamento experimental Plackett & Burman – FS.

Níveis do Delineamento PB 20 ensaios.

Variáveis			-1	0	1
Farelo Arroz/Farelo Trigo	X1	%	0:100	50:50	100:0
Qtde. farelo/água	X2	g/50g	3	4	5
(NH ₄) ₂ SO ₄	X3	g/L	0	0,75	1,5
KH ₂ PO ₄	X4	g/L	0	1,0	2,0
Uréia	X5	g/L	0	0,1	0,2
MgSO ₄ .7H ₂ O	X6	g/L	0	0,15	0,3
CaCl ₂	X7	g/L	0	0,2	0,4
FeSO ₄ .7H ₂ O	X8	mg/L	0	2,5	5,0
MnSO ₄ .H ₂ O	X9	mg/L	0	0,8	1,6
CoSO ₄ .H ₂ O	X10	mg/L	0	1,0	2,0
ZnSO ₄ .7H ₂ O	X11	mg/L	0	0,7	1,4
Agitação	X12	Rpm	0	50	100
Qtde. de PET	X13	g/50g	1	1,5	2

Cálculo das soluções de sais.

Soluções de sais concentrada			0	+ 1
			Qtde. em gramas da solução concentrada a ser adicionada nos 50 gramas de meio	
(NH ₄) ₂ SO ₄	37,5 g/L	X3	1	2
KH ₂ PO ₄	50 g/L	X4	1	2
Uréia	5 g/L	X5	1	2
MgSO ₄ .7H ₂ O	7,5 g/L	X6	1	2
CaCl ₂	10 g/L	X7	1	2
FeSO ₄ .7H ₂ O	12,5 g/L	X8	1	2
MnSO ₄ .H ₂ O	4 g/L	X9	1	2
CoSO ₄ .H ₂ O	0,5 g/L	x10	1	2
ZnSO ₄ .7H ₂ O	3,5 g/L	X11	1	2

Plackett & Burman de 20 ensaios - PB 20 – Valores Codificados.

Ensaio	x1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	x10	x11	x12
1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1
2	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1
3	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1
4	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1
5	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1
6	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1
7	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1
8	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1
9	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1
10	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1
11	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1
12	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1
13	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1
14	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1
15	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1
16	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1
17	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1
18	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1
19	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1
20	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1
21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Plackett & Burman de 20 ensaios - PB 20 – Valores Reais.

Ensaio	x1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	x10	x11	x12	x13
1	arroz	3	2	2	0	0	0	0	2	0	2	0	2
2	arroz	5	0	2	2	0	0	0	0	2	0	100	1
3	trigo	5	2	0	2	2	0	0	0	0	2	0	2
4	trigo	3	2	2	0	2	2	0	0	0	0	100	1
5	arroz	3	0	2	2	0	2	2	0	0	0	0	2
6	arroz	5	0	0	2	2	0	2	2	0	0	0	1
7	arroz	5	2	0	0	2	2	0	2	2	0	0	1
8	arroz	5	2	2	0	0	2	2	0	2	2	0	1
9	trigo	5	2	2	2	0	0	2	2	0	2	100	1
10	arroz	3	2	2	2	2	0	0	2	2	0	100	2
11	trigo	5	0	2	2	2	2	0	0	2	2	0	2
12	arroz	3	2	0	2	2	2	2	0	0	2	100	1
13	trigo	5	0	2	0	2	2	2	2	0	0	100	2
14	trigo	3	2	0	2	0	2	2	2	2	0	0	2

15	trigo	3	0	2	0	2	0	2	2	2	2	0	1
16	trigo	3	0	0	2	0	2	0	2	2	2	100	1
17	arroz	3	0	0	0	2	0	2	0	2	2	100	2
18	arroz	5	0	0	0	0	2	0	2	0	2	100	2
19	trigo	5	2	0	0	0	0	2	0	2	0	100	2
20	trigo	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
21	arroz/trigo	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	50	1,5
22	arroz/trigo	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	50	1,5
23	arroz/trigo	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	50	1,5
24	arroz/trigo	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	50	1,5

X3 a x11 = qtde. em gramas das soluções concentradas para que as concentrações no meio de fermentação fiquem nas concentrações definidas inicialmente.

Os resultados foram analisados utilizando-se as técnicas de planejamento experimental com ajuda do software STATISTICA (Statsoft, v.5.5 *for Windows*).

3.9 Controle abiótico e biótico

A partir das informações obtidas no planejamento experimental, foi realizado o controle biótico e abiótico para o ensaio que mais se destacou entre todos os ensaios realizados. Desta forma, foi possível comparar e analisar as interações e diferenças entre as condições estudadas.

3.9.1 Controle abiótico

Foram utilizados Erlenmeyers contendo apenas os substratos submetidos à fermentação semi-sólida e submersa inoculados com os polímeros, ou seja, não foram inoculados com os microrganismos. Desta forma, eliminou-se a

interferência das características dos microrganismos. Este controle foi realizado em duplicata, sendo dois frascos para cada período de incubação.

3.9.2 Controle biótico

Foram utilizados Erlenmeyers contendo apenas os substratos submetidos à fermentação semi-sólida e submersa inoculados com os microrganismos, ou seja, não foram inoculados com os polímeros. Desta forma, eliminou-se a interferência das características dos polímeros. Este controle foi realizado em duplicata, sendo dois frascos para cada período de incubação.

3.10 Fermentação Semi-sólida - FSS

Este experimento consistiu em 20 ensaios e foi realizado em frascos Erlenmeyers de 125 mL contendo quantidades distintas de resíduos agroindustriais, de água destilada, de solução concentrada de sais, dos polímeros e microrganismos em estudo, conforme proposto no planejamento experimental. Os inóculos foram adicionados (5 quadrados por frasco) e os frascos foram incubados a 30° C estaticamente durante 30, 60 e 90 dias. Após incubação, foi adicionado 80 mL de água destilada esterilizada nas amostras e as mesmas foram homogeneizadas em shaker por cerca de 15 minutos. Em seguida, as amostras foram filtradas em lã de vidro e uma alíquota do caldo obtido foi transferido para frascos penicilina e os polímeros utilizados foram reservados, onde ambos materiais foram armazenados em freezer para posteriores análises (REYES, 2003).

3.11 Fermentação Submersa - FS

Além da fermentação semi-sólida, outros 24 ensaios foram realizados utilizando-se a fermentação submersa. Erlenmeyers de 125 mL receberam quantidades distintas de resíduos agroindustriais, de água destilada, de solução concentrada de sais, dos polímeros e microrganismos em estudo, conforme proposto no planejamento experimental, e após autoclavados foram incubados à 30° C em shaker por diferentes rotações por minuto (0, 50 e 100 RPM) durante 30, 60 e 90 dias. Desta forma, foi possível comparar se houve diferença no comportamento dos microrganismos quando incubados em diferentes formas de fermentação sob diferentes condições de cultivo. Após incubação, as amostras foram filtradas em lã de vidro e uma alíquota do caldo obtido foi transferida para frascos penicilina e os polímeros utilizados foram reservados, onde ambos materiais foram armazenados em freezer para posteriores análises (REYES, 2003).

3.12 Determinação enzimática

Todas as determinações das atividades enzimáticas foram realizadas em triplicata. As leituras da absorbância serão realizadas em espectrofotômetro UV – 1201 - Shimadzu e as atividades foram expressas em U/Litro (μ moles produto/min. x Litro). Os valores foram obtidos através de cálculos utilizando-se a fórmula abaixo.

- Equação para determinação enzimática (U/Litro).

$$U/Litro = \frac{\Delta Abs. \times 10^6}{\epsilon \times R \times T}$$

$\Delta Abs.$ = absorbância (final – inicial)

ϵ = absorção molar

R = qtde. de caldo enzimático utilizado

T = tempo de reação utilizado

3.12.1 Lacase - Lac

A atividade de lacase foi determinada na ausência de H₂O₂ exógeno no meio da reação – tipo lacase (SZKLARZ et al., 1989), utilizando-se siringaldazina 0,1% em etanol como substrato. A mistura de reação foi constituída por 0,6 mL de caldo enzimático, 0,2 mL de tampão citrato-fosfato (0,05 M - pH 5,0), 0,1 mL de água deionizada e 0,1 mL de siringaldazina (1,0 mM) preparada em etanol (0,1%). A reação foi iniciada pela adição de siringaldazina, em temperatura ambiente, e após 10 minutos a oxidação da siringaldazina até sua forma de quinona foi determinada através da leitura da absorbância em espectrofotômetro a 525 nm ($\epsilon_{525} = 65.000 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$).

3.12.2 Lignina Peroxidase – LiP

Foi determinada pela oxidação do álcool veratrílico (TIEN & KIRK, 1984) onde a mistura de reação foi constituída por 0,6 mL de caldo enzimático, 0,2 mL de H₂O₂ (2,0 mM) e 0,2 mL de álcool veratrílico (2,0 mM) em tampão tartarato de sódio (0,4 M - pH 4,5). A reação foi iniciada pela adição do H₂O₂, em temperatura ambiente, e após 10 minutos o aparecimento do aldeído veratrílico foi determinado

através da leitura da absorbância em espectrofotômetro a 310 nm ($\epsilon_{310} = 9.300 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$).

3.12.3 Manganês Peroxidase – MnP

A atividade de MnP foi determinada pela oxidação do vermelho de fenol na presença de manganês e peróxido de hidrogênio (KUWAHARA et al., 1984). A mistura de reação foi constituída por 0,5 mL de caldo enzimático, 0,1 mL de lactato de sódio (0,25 M), 0,2 mL de albumina bovina (0,5%), 0,05 mL de MnSO_4 (2,0 mM), 0,05 de uma solução de H_2O_2 (2,0 mM) preparada em tampão succinato de sódio (0,2 M - pH 4,5) e 0,1 mL de vermelho de fenol (0,1%). A reação foi iniciada pela adição do vermelho de fenol, em temperatura ambiente. Após 5 minutos, a reação foi interrompida adicionando-se 0,04 mL de NaOH (2,0 N) e a oxidação do vermelho de fenol foi determinada através da leitura da absorbância em espectrofotômetro a 610 nm ($\epsilon_{610} = 4.460 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$).

3.13 Análise morfológica do PET – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As amostras de PET foram preparadas para visualização morfológica por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) de sua superfície, ausente de microrganismos, segundo adaptações do protocolo da BAL-TEC (1999).

Os polímeros foram fixados em suportes específicos (stubs) onde permaneceram em repouso durante aproximadamente 4 horas para fixação e

após os mesmos foram metalizadas com ouro (Sputter) e mantidas em dessecadores para visualização no MEV.

Após todas as etapas de preparo relacionadas anteriormente, os espécimes foram adaptados em um porta-amostras e elétrôn-micrografadas em Microscópio Eletrônico de Varredura (Jeol – JSM 5800 LV). As imagens obtidas foram capturadas pelo computador, acoplado ao MEV, e armazenadas para posterior análise.

3.14 Produção de biosurfactantes

As atividades de biosurfactantes foram determinadas através da agitação vigorosa de tubos contendo 3,5 mL do caldo de cultura obtido centrifugado (à 10.000 RPM durante 10 minutos - Centrífuga Himac CR 21 - Hitashi) e 2,0 mL de hidrocarboneto (Tolueno) em agitador de tubos (Tecnal) por 2 minutos.

3.14.1 Análise da tensão superficial

As análises da tensão superficial foram realizadas em Tensiômetro Krüss – Digital Tensiometer K10ST – à temperatura ambiente.

3.14.2 Análise da atividade de emulsificação

Cerca de 24 horas após agitação das amostras (item 3.10), a camada de emulsão água em óleo (Tolueno) foi medida e a atividade de emulsificação foi expressa em centímetros (cm) (COOPER et al., 1987).

3.15 Viscosidade intrínseca

A viscosidade intrínseca das amostras de PET foi determinada medindo-se o tempo de escoamento de uma solução polimérica de concentração C e, o tempo de escoamento do solvente puro, fluindo através de capilar normalizado a uma determinada temperatura. Foram preparadas soluções poliméricas com concentração aproximada de 0,5 d/dL, utilizando uma solução 60/40 (% em peso) de fenol/1,1,2,2-tetracloroetano como solvente. Utilizou-se um viscosímetro capilar Ubbelohde 1C para fazer medidas de tempo de escoamento das soluções poliméricas e do solvente puro 30° (ASTM D4603, 1996; ASTM D2857, 2000).

As medidas foram realizadas em um banho viscosimétrico da Quimis mantido à 30° C. A viscosidade intrínseca (VI) foi então calculada através da medida única de viscosidade relativa η_r utilizando a equação de Bilmeyer.

$$VI = \frac{0,25 \cdot (\eta_r - 1 + 3 \cdot \ln \eta_r)}{C}$$

Onde:

VI: é a viscosidade intrínseca, em dL/g;

C: é a concentração da solução (0,5 g/dL);

η_r : t/t_0 ;

t: tempo médio de escoamento da solução, s;

t_0 : tempo médio de escoamento do solvente, s.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Identificação taxonômica dos microrganismos

A identificação de duas linhagens de fungos filamentosos foi realizada utilizando seqüenciamento e análise filogenética de fragmentos de genes do *operon* ribossomal.

Fragmentos da região ITS foram amplificados com sucesso a partir do DNA genômico extraído das amostras. Os amplicons foram purificados em coluna (*GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit*, Amersham Biosciences) e submetidos ao seqüenciamento automático no sistema MegaBACE.

As seqüências de DNA da região ITS estão apresentadas na Figura 20. Estas seqüências foram analisadas usando rotina BLAST do GenBank. As árvores filogenéticas construídas a partir das seqüências recuperadas no GenBank, estão representadas na Figura 21 e Figura 22 respectivamente.

Os resultados de identificação taxonômica são apresentados a seguir na Tabela 14.

Tabela 14. Identificação taxonômica por métodos moleculares.

Amostras	Identificação taxonômica	% Similiaridade – BLAST
CPQBA 271-07 DRM 1 (P. 001)	Não identificado	-
CPQBA 271-07 DRM 2 (P. tailândia)	<i>Pleurotus sp.</i>	96%

```
>CPQBA 271-07 DRM 01
TCTCACAGGCTTAATTGTTGCTTCGGCGGGTCGCCCCGGGNTTCNTCGTG
TGCCCCGGATCAGGCGCCCGCCTAGGAACTTCAACTCTTGTTTTATTTG
AATCTTCTGAGTAGTTTTTACAAATAAATAAACAACCTTCAACAACGGNT
CTCTTGGTTCTGGCTATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAAT
GTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGC
CCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCTGATCGTCATTTCAACCCTCA
TGCCCCTAGGGCGTGGTGTGTTGGGGATCGGCCAAAGCCCGCGAGGGACGGC
CGGCCCCAATCTAGTGGCGGACCCAGTCGTGGCCTCCTCTGCAGAAGAT
AGTGATATTCCGCATCGGAGAGCGACGAGCCCCTGCCGTTAAACCCACA
ACTTTCCAAGGTTGACCTCAGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAG
CAATATCAATAAGC

>CPQBA 271-07 DRM 02
NGAATTNGGGCGCCGNGAGCTGTGCACGCTTCACTAGTCTTCAGACCGTT
ACTGTGAACTTTTGATAGATCTGTGAAGTCGTCTCTCAAGTCGTCAGACT
TGTTTGCTGGGCATTNGAAGCGTCTCGGTGTGACTACGCAGTCTATTTAC
TTACACACCCCCAAATGTATGTCTACGAATGTTATTTAATGGGCCTTGTGC
CTATAAACCATATAACAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATC
GATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTTGCAGAATTCA
GTGAATCATCGAATACTTTGAACGCACCTTGCGCCCCTTGGTATTCCGAG
GGGCATGCCTGTTTGAGTGTCAATTAACATTCTCAAACCTCACTTNTGGTTT
CTTTCCAATTGTGATGTTCTCGGCATTGTGCGGGGCTGCTGGCCTTGACA
GGTCGGCTCCTCTTAAATGCATTAGCAGGACTTCTCCATTGCCTCTGACG
CATGATGTGATAATTATCACTCATCAATAAGCACGCATGAATAGAGTCCA
GCTCTCTAATCGTCCGCAAGGACAATTTGACAATTTGACCTCCAATCAGG
TAGGACTACCCGTGAACTTAAG
```

Figura 20. Seqüências de DNA da região ITS para CPQBA 271-07 DRM 1 (P. 001) e CPQBA 271-07 DRM 2 (P. tailândia).

Os resultados das análises moleculares (região ITS) utilizadas para identificação taxonômica da amostra CPQBA 271-07 DRM 1 (P. 001) não foram

conclusivos, pois a sequência da amostra apresentou a mesma porcentagem de similaridade (95-96%) com seqüências de fungos filamentosos representantes de diferentes grupos taxonômicos, incluindo os gêneros: *Cordyceps*, *Nectria*, *Pleurotus*, *Bionectria*, *Colletotrichum* e *Fusarium*. Em adição, árvore filogenética apresentou valores considerados baixos (< 50%) no teste de bootstrap, o que não confere confiabilidade para os agrupamentos gerados (Figura 21). Desta forma, a identificação taxonômica para a amostra CPQBA 271-07 DRM 1 (P. 001) foi considerada inconclusiva. De qualquer forma a amostra permaneceu denominada, como inicialmente, de *Pleurotus 001*.

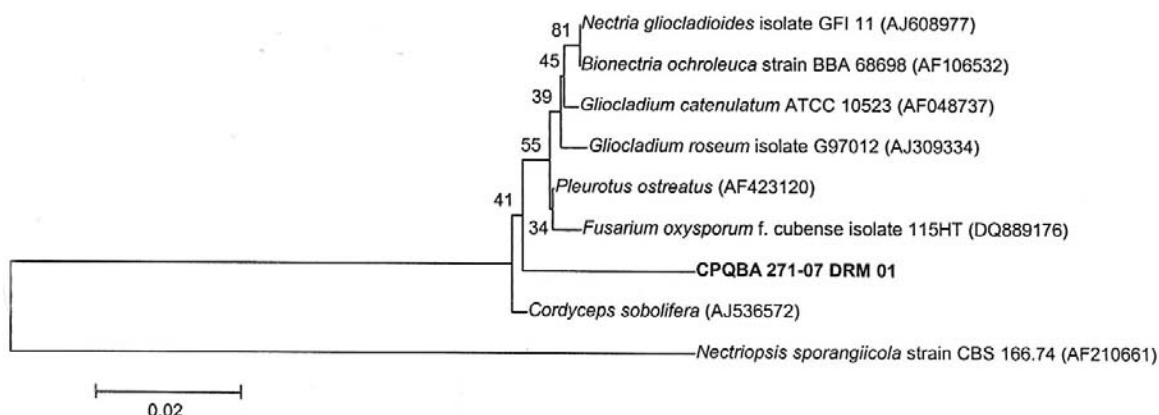


Figura 21. Árvore filogenética CPQBA 271-07 DRM 1 construída a partir das seqüências recuperadas no GenBank.

Já os dados gerados a partir do seqüenciamento da região ITS para a amostra CPQBA 271-07 DRM 2 (P. tailândia) permitiram a afiliação deste fungo no gênero *Pleurotus*. A seqüência da região ITS-5.8S-ITS2 da amostra apresentou 96% de similaridade com a seqüência da mesma região do *operon* ribossomal de

Pleurotus sp. Florida e *Pleurotus ostreatus*; e similaridade 95% com *Pleurotus floridanus*, *Pleurotus sapidus*, *Phlebiopsis gigantea* e *Laccocephalum mylittae*. Na árvore filogenética a amostra formou um agrupamento com linhagens de *Pleurotus ostreatus* suportado por um valor de bootstrap de 49% (Figura 22). Entretanto, para a confirmação da identificação taxonômica da amostra CPQBA 271-07 DRM 2 (P. tailândia) como *Pleurotus ostreatus*, experimentos adicionais de taxonomia convencional e/ou molecular devem ser realizados.

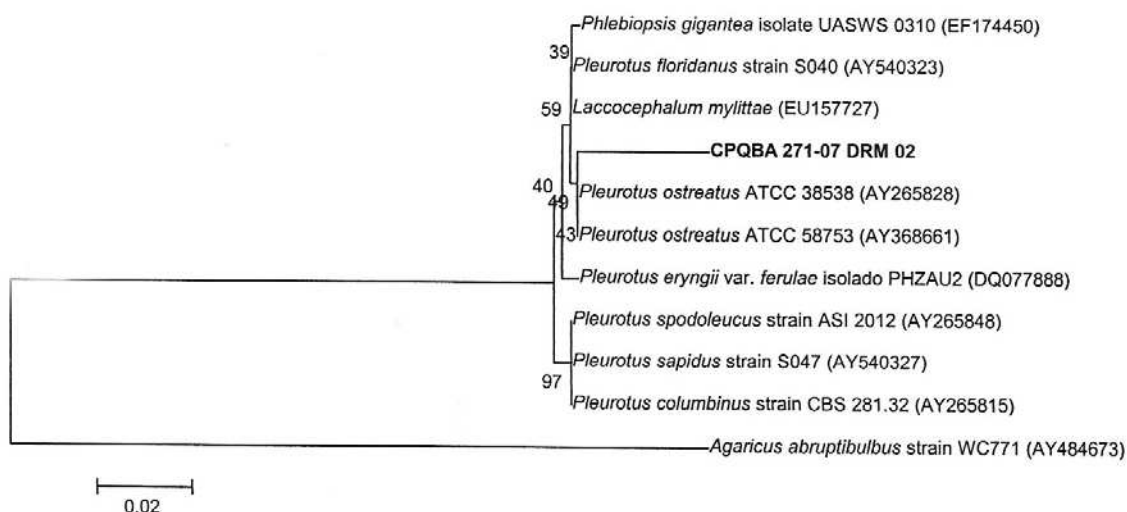


Figura 22. Árvore filogenética CPQBA 271-07 DRM 2 construída a partir das seqüências recuperadas no GenBank.

4.2 Análise qualitativa do crescimento microbiano

Até a primeira semana de incubação (0-7 dias), não foi observado nenhum crescimento micelial significativo nas condições estudadas. De acordo com CHANG (1997) alguns basidiomicetos apresentam a capacidade de produzir

simultaneamente as enzimas hidrolíticas e oxidativas necessárias para degradar substratos lignocelulósicos e que a maioria dos fungos de podridão branca produz estas enzimas de forma a prover sua adaptação ao meio extremamente rico em lignoceluloses.

O desenvolvimento micelial mais rápido, com colonização completa da superfície após 14 dias de incubação (Tabela 15) foi observado nas misturas de farelo de arroz + farelo de trigo (condição estabelecida no ponto central) para ambas fermentações e polímeros estudados, exceto para a linhagem *Pleurotus tailândia* que não apresentou bons resultados nas condições estudadas quando comparada com a linhagem *Pleurotus 001*.

Tabela 15. Taxa de crescimento dos microrganismos.

Substratos	Fungos - FSS	7 dias	14 dias
Farelo de Arroz	<i>Pleurotus 001</i>	-	++
Farelo de Trigo		-	+
Farelo de Arroz + Farelo de Trigo		-	+++
Farelo de Arroz	<i>Pleurotus tailândia</i>	-	+
Farelo de Trigo		-	+
Farelo de Arroz + Farelo de Trigo		-	+
Substratos	Fungos - FS	7 dias	14 dias
Farelo de Arroz	<i>Pleurotus 001</i>	-	++
Farelo de Trigo		-	+
Farelo de Arroz + Farelo de Trigo		-	+++
Farelo de Arroz	<i>Pleurotus tailândia</i>	-	++
Farelo de Trigo		-	+
Farelo de Arroz + Farelo de Trigo		-	++

(-) ausência de crescimento; (+) pouco crescimento com turvação de pequenos fragmentos de micélio lançados no meio; (++) moderado crescimento com surgimento de "pellet" fino na superfície do meio; (+++) ótimo crescimento de massa micelial da metade a todo frasco.

No decorrer do processo de colonização de substratos lignocelulósicos os fungos, preferencialmente, convertem os polissacarídeos mais facilmente digeridos em açúcares de baixo peso molecular utilizando-os para o seu metabolismo primário. Após o término destes açúcares, iniciam a fase da

degradação de carboidratos estruturais e lignina, denominada metabolismo secundário (KARUNANANDAA et al., 1995). LUH (1991) descreveu que o farelo de arroz é um substrato lignocelulósico rico em nutrientes como proteínas, carboidratos solúveis, vitaminas e minerais (fósforo, potássio, magnésio e sílica), e que geralmente favorecem o metabolismo primário microbiano, além de sua fração lignocelulósica. Provavelmente, foram estes nutrientes que proporcionaram os primeiros crescimentos neste substrato, como também a grande proliferação fúngica.

WEILAND (1988) relatou que a maioria dos fungos basidiomicetos cresce melhor à faixa de temperaturas entre 20-30° C e que o controle da temperatura do desenvolvimento fúngico é um fator chave na regulação da fermentação semi-sólida para a otimização dos processos de deslignificação.

A variação do tamanho das partículas do substrato lignocelulósico também é um fator limitante em sua taxa de decomposição, pois é resultante de diferentes partes do resíduo vegetal e, portanto, constituído de diferentes tecidos com distintas propriedades físico-químicas (MAZIERO, 1992).

4.2.1 Disposição dos microrganismos nos Erlenmeyers

Nos ensaios com fermentação semi-sólida o fungo *Pleurotus 001* apresentou crescimento homogêneo, já o fungo *Pleurotus tailândia* apresentou distribuição heterogênea (Tabela 16). Já para fermentação submersa ambos microrganismos apresentaram crescimento homogêneo (Tabela 17). Uma possível explicação para a disposição dos microrganismos nos frascos está durante o

preparo da fermentação semi-sólida onde a adequada mistura entre a água e o substrato proporciona melhores condições de crescimento (PAVARINA, 1997).

Tabela 16. Disposição dos microrganismos nos Erlenmeyers - FSS.

Substratos	<i>Pleurotus 001</i>	<i>Pleurotus tailândia</i>
Farelo de Arroz	Homogêneo	Heterogêneo
Farelo de Trigo	Homogêneo	Heterogêneo
Farelo de Arroz + Farelo de Trigo	Homogêneo	Heterogêneo

Tabela 17. Disposição dos microrganismos nos Erlenmeyers – FS.

Substratos	<i>Pleurotus 001</i>	<i>Pleurotus tailândia</i>
Farelo de Arroz	Homogêneo	Homogêneo
Farelo de Trigo	Homogêneo	Homogêneo
Farelo de Arroz + Farelo de Trigo	Homogêneo	Homogêneo

4.3 Determinação da perda de massa do PET

Através das análises realizadas para determinar a perda de massa dos polímeros em estudo verificou-se que os mesmos não sofreram muitas modificações após incubação e sim somente uma pequena, porém considerável alteração em sua massa. Talvez este fato deve-se a boa estabilidade que estes apresentam aos processos degradativos.

A linhagem *Pleurotus 001*, tanto sob a fermentação semi-sólida (FSS) como para a fermentação submersa (FS), apresentou resultados mais satisfatórios quando comparados com a linhagem *Pleurotus tailândia* (Tabela 18; Tabela 19). Quando analisadas ambas amostras (garrafa e pellets) observou-se que a perda de massa ocorreu de forma gradativa, porém com as amostras contendo pellets o fenômeno ocorreu mais intensamente. Observou-se que, tanto para garrafa como

para os pellets, a maior perda de massa apresentou-se no último período de incubação (90 dias).

Tabela 18. Percentagem de perda de massa molar dos polímeros em estudo – FSS.

Linhagem	Polímero	Perda de massa (%)		
		30 dias	60 dias	90 dias
<i>Pleurotus 001</i>	Garrafa	0,11	0,25	0,37
	Pellets	2,09	2,11	2,32
<i>Pleurotus tailândia</i>	Garrafa	0,15	0,23	0,36
	Pellets	1,19	1,74	1,85

Tabela 19. Percentagem de perda de massa molar dos polímeros em estudo – FS.

Linhagem	Polímero	Perda de massa (%)		
		30 dias	60 dias	90 dias
<i>Pleurotus 001</i>	Garrafa	0,57	1,2	1,8
	Pellets	4,23	4,34	4,51
<i>Pleurotus tailândia</i>	Garrafa	0,31	0,47	0,52
	Pellets	2,41	2,50	2,61

Observar a degradação de um polímero é de extrema dificuldade, pois este fenômeno pode ocorrer sem que haja necessariamente a perda de massa do polímero, mas alterações na molécula do polímero podem ser observadas (SCHNABEL, 1981; SCOTT & GILEAD, 1995). Desta forma, a metodologia de pesagem pode ser considerada útil para triagem inicial dos ensaios, porém torna-se evidente a necessidade de outras ferramentas de maior precisão e sensibilidade para avaliar a degradação de um polímero.

4.4 Método Respirométrico de Bartha & Pramer

De uma forma geral, a respirometria realizada apresentou resultados satisfatórios comparando os valores obtidos entre os controles (Apêndice 1) e os ensaios realizados (Apêndice 2; Apêndice 3).

A atividade respiratória iniciou-se logo na primeira semana de incubação para todas as condições estudadas. Esta condição foi encontrada por WATTS *et al* (1982) e GRUIZ & KRISTON (1995) demonstrando que os microrganismos, possivelmente, adquiriram a capacidade de degradar os polímeros estudados.

Todos os ensaios que receberam os microrganismos estudados (Figura 23; Figura 24) apresentaram uma gradativa atividade respiratória, para ambos polímeros. Porém, a atividade respiratória nos ensaios contendo solo não autoclavado apresentaram resultados menos satisfatórios em relação aos ensaios contendo solo autoclavado. Uma possível explicação para esse decréscimo pode ser a competição entre os microrganismos presentes no solo e os adicionados (CONCEIÇÃO, 2003).

Os controles apresentaram uma atividade respiratória baixa comparados com os ensaios realizados, o que já foi observado por WATTS *et al.* (1982) e GRUIZ & KRISTON (1995).

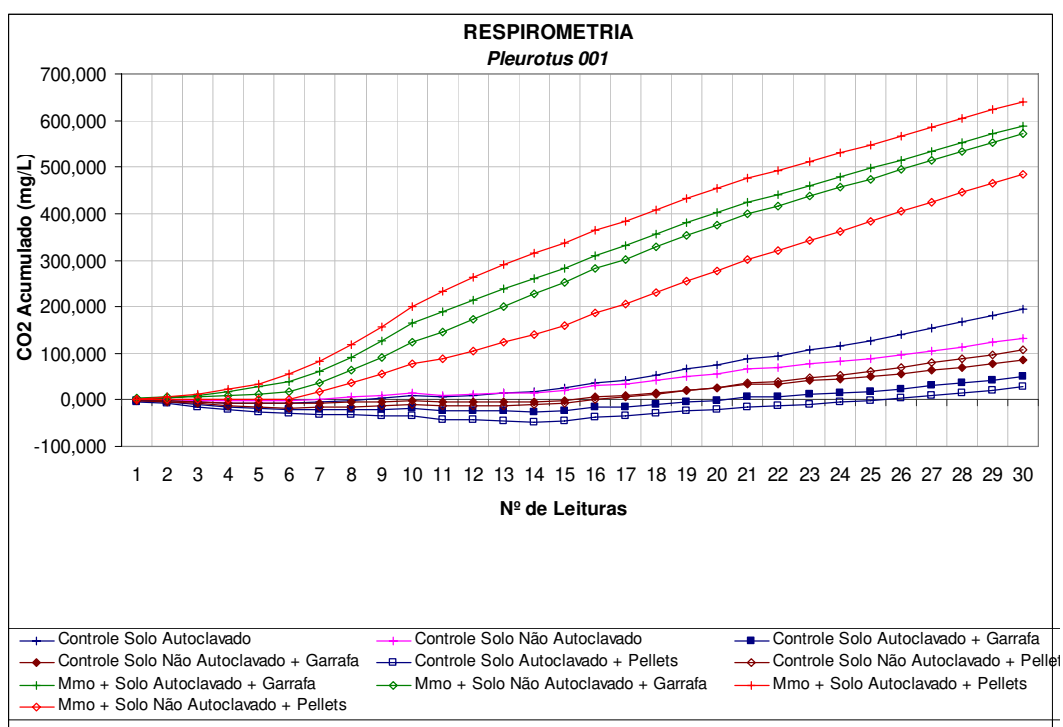


Figura 23. Atividade respiratória para *Pleurotus 001*.

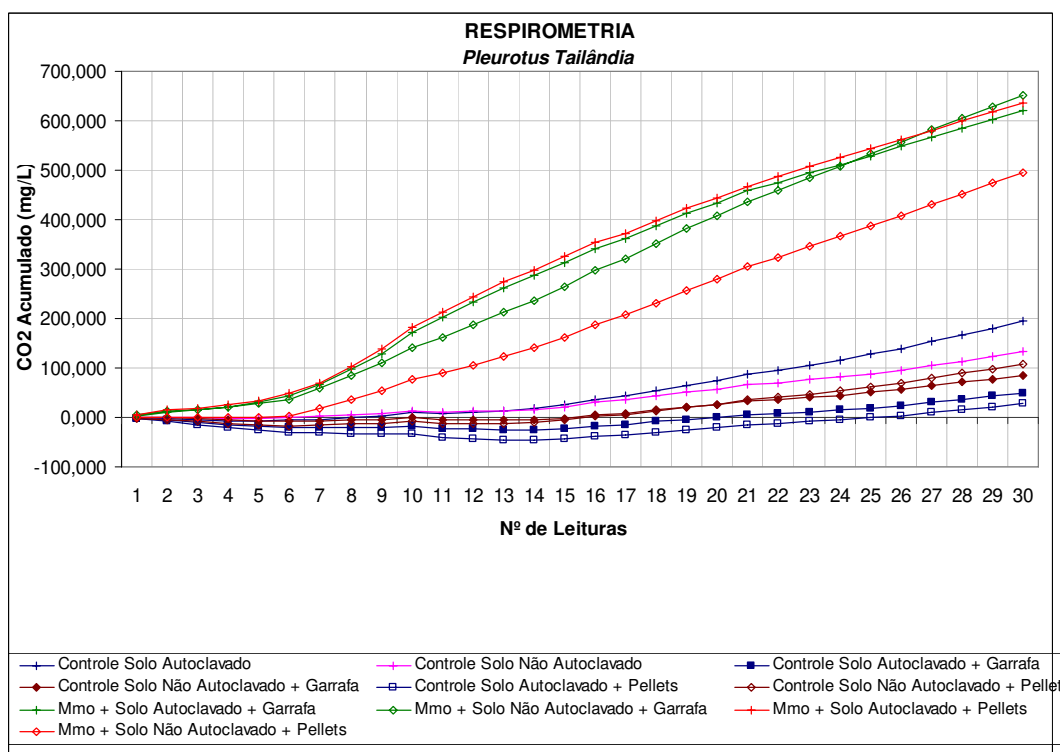


Figura 24. Atividade respiratória para *Pleurotus tailândia*.

4.5 Planejamento experimental

De acordo com os resultados obtidos no planejamento experimental foi possível verificar que, para ambas fermentações, as condições estudadas no ponto central apresentaram resultados mais satisfatórios quando comparados com os pontos axiais, ou seja, as melhores produções enzimáticas. Desta forma, a partir dos resultados obtidos no ponto central os ensaios subseqüentes foram realizados, ou seja, os parâmetros utilizados para as etapas posteriores foram baseados na maior produção enzimática. O Apêndice 6 apresenta os coeficientes de regressão e o Apêndice 7 os efeitos gerados a partir da produção enzimática, ambos foram elaborados através do software STATISTICA 5.0 para todos os ensaios realizados (RODRIGUES & IEMMA, 2005).

4.6 Fermentação Semi-sólida - FSS

No geral, a fermentação semi-sólida (FSS) apresentou bons resultados, onde a produção enzimática ocorreu para todas as enzimas estudadas (Apêndice 4). Porém, no geral o fungo *Pleurotus 001* incubado com pellets de PET foi o ensaio que apresentou os melhores resultados.

4.6.1 Lacase - Lac

A produção de Lac ocorreu de forma gradativa para os ensaios incubados com garrafa PET, tanto para *Pleurotus 001* como para *Pleurotus tailândia*. Porém, a maior produção enzimática foi verificada, somente, após 90 dias de incubação para ambas linhagens. Já para os ensaios contendo pellets de

PET a produção enzimática ocorreu de forma decrescente, para ambas linhagens estudadas. Porém, a maior produção enzimática ocorreu no período de 30 dias para o ensaio contendo *Pleurotus tailândia* (Figura 25). De uma forma geral, *Pleurotus 001* foi a linhagem que apresentou os resultados mais satisfatórios para a produção de Lac sob a fermentação semi-sólida incubados com garrafa PET. Sugere-se o estudo de maiores períodos de incubação para verificar a incidência das expressões enzimáticas nestas condições.

A atividade de Lacase parece estar associada à morfogênese fúngica e o desenvolvimento dos corpos de frutificação. A lacase atuaria como um marcador do desenvolvimento vegetativo, sendo o nível máximo desta enzima mantido até que o fungo comece a frutificar, quando então o nível tornar-se-ia reduzido (MALARCZYK et al., 1996).

STURION (1994) registrou que a degradação da lignina por *Pleurotus* sp. através da lacase é maior durante a fase de colonização do substrato pelo micélio. A quebra da lignina permite a liberação de celulose e hemicelulose nesta primeira fase do ciclo de vida fúngico, facilitando o acesso enzimático biodegradativo das celulasas e hemicelulasas.

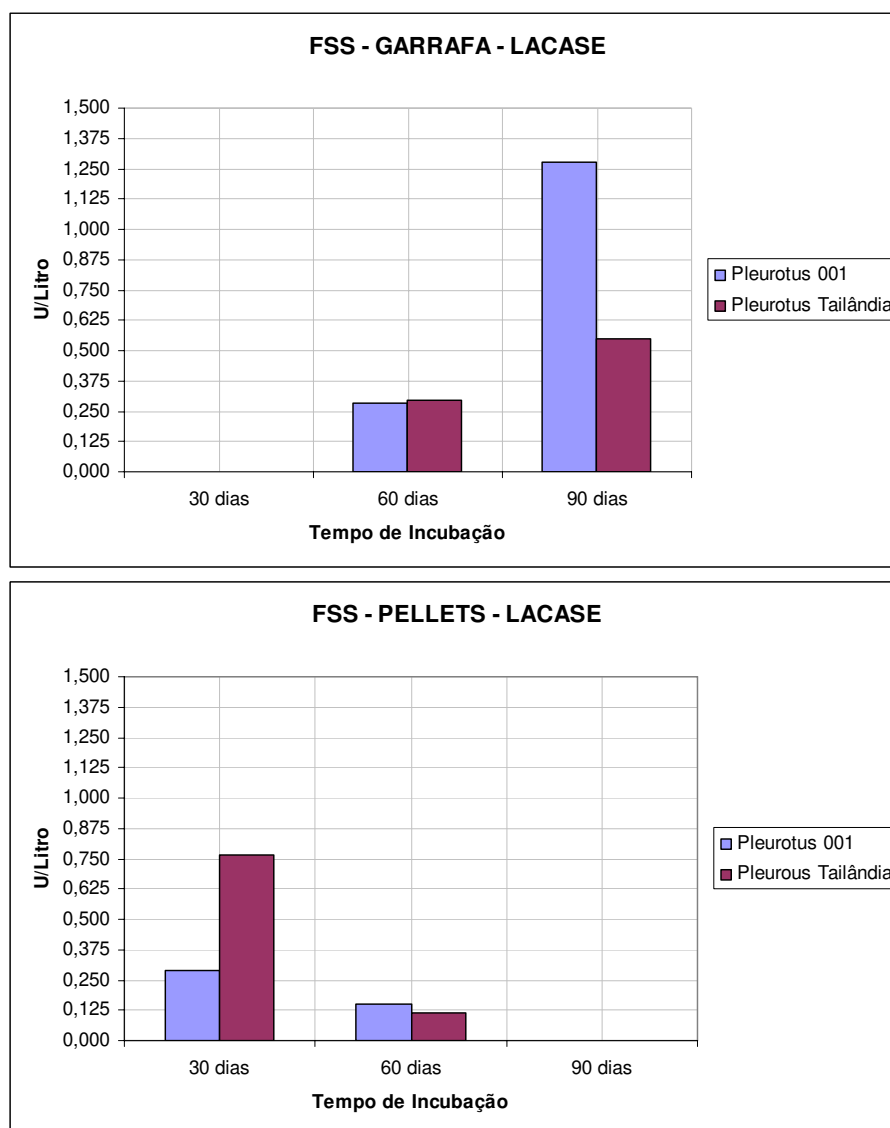


Figura 25. Produção de Lacase (Lac) para Fermentação Semi-sólida (FSS).

4.6.2 Lignina Peroxidase - LiP

Em geral, os ensaios apresentaram uma boa atividade de LiP, porém a atividade máxima foi observada para *Pleurotus tailândia* inoculados com pellets de PET após 60 dias de incubação.

A linhagem *Pleurotus 001* também apresentou atividades significativas de LiP entretanto bem mais reduzidos que *Pleurotus tailândia*, sendo que a produção máxima foi observada nos ensaios contendo garrafa PET após 60 dias de incubação (Figura 26). No conjunto das condições avaliadas, a linhagem *Pleurotus tailândia* foi a linhagem que apresentou os resultados mais satisfatórios para a produção desta enzima quando incubados com pellets de PET sob a fermentação semi-sólida .

REGINATO (1992) relatou que flutuações ou oscilações nas atividades enzimáticas durante o crescimento de um microrganismo podem ser devido a diversos fatores, tais como:

- a variação do pH pode causar inativação de algumas enzimas e estimular a secreção de outras;
- algumas formas de enzimas podem sofrer ataque proteolítico preferencial;
- durante o crescimento do microrganismo estas enzimas podem ser adsorvidas pelos substratos insolúveis e serem liberadas após a exaustão da celulose.

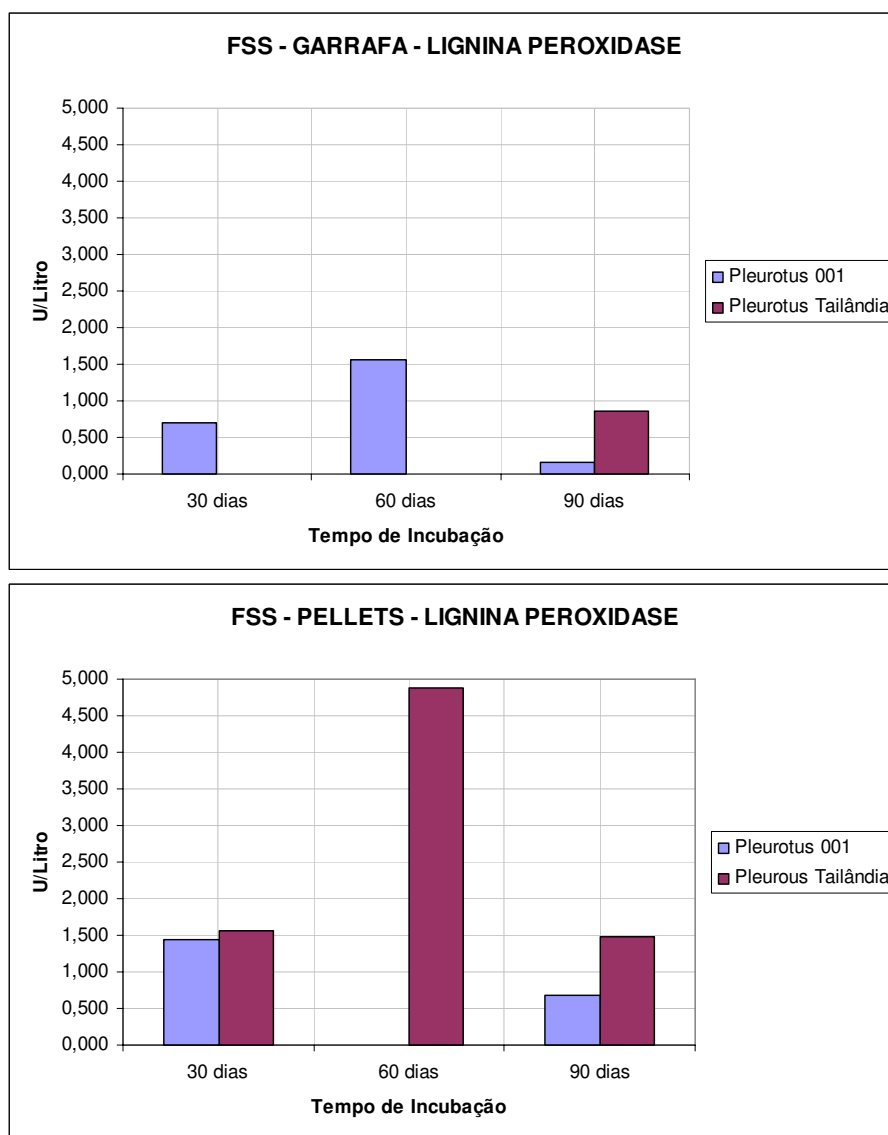


Figura 26. Produção de Lignina Peroxidase (LiP) para Fermentação Semi-sólida (FSS).

4.6.3 Manganês Peroxidase – MnP

Foi verificado a presença significativa de MnP, tanto para *Pleurotus 001* como para *Pleurotus tailândia*. Porém, a atividade máxima foi observada no ensaio contendo *Pleurotus 001* incubados com pellets de PET. As outras condições também apresentaram resultados relevantes para esta atividade enzimática, em

diferentes períodos ao longo de todo o estudo, também podendo ser considerados promissores para a expressão de MnP (Figura 27). Em geral, a linhagem *Pleurotus 001*, quando incubadas com pellets de PET apresentou a melhor produção enzimática de MnP.

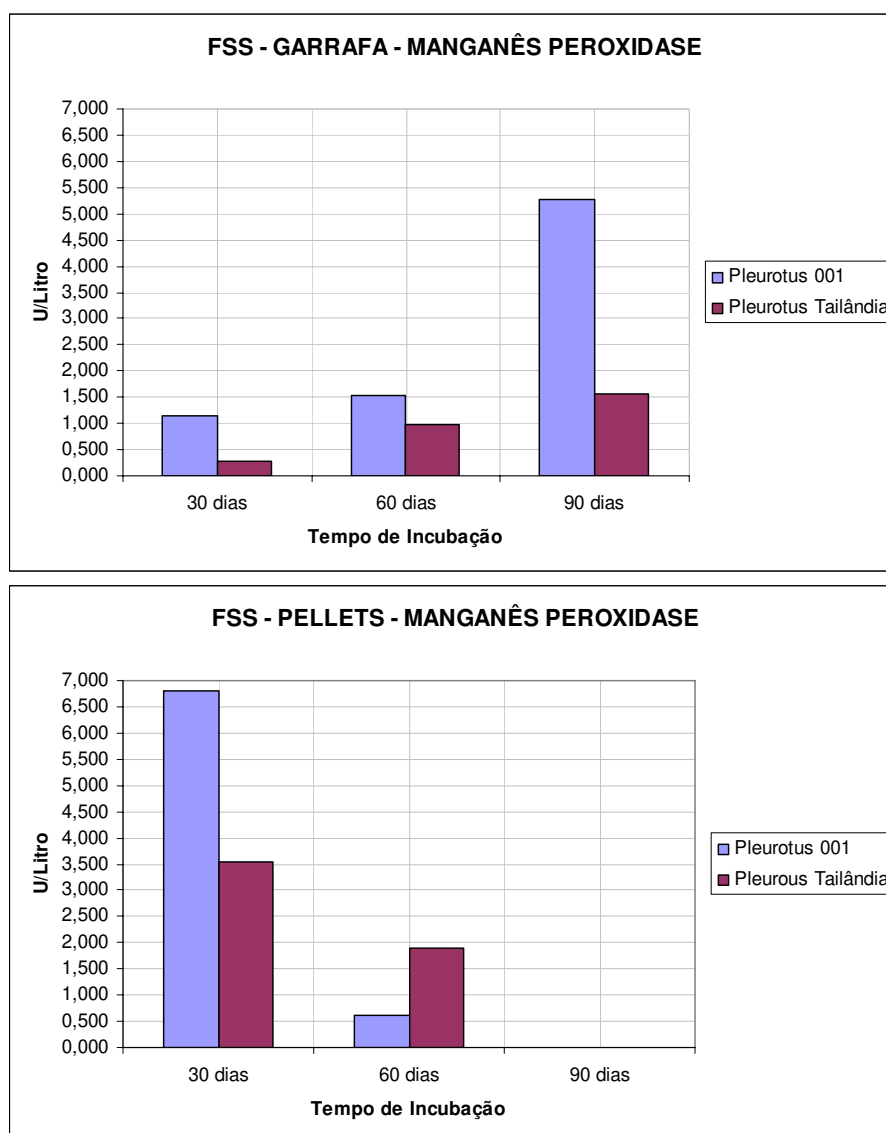


Figura 27. Produção de Manganês Peroxidase (MnP) para Fermentação Semi-sólida (FSS).

A manutenção dos níveis de atividade de MnP ao longo do cultivo, pode estar correlacionado com a boa estabilidade das isoenzimas produzidas (COUTO et al., 2000).

Estudos de BUSWELL et al. (1996) e HATAKKA (1994), observaram a atuação conjunta de MnP e Lac sobre a transformação da lignina em compostos aromáticos assimiláveis pela hifa fúngica.

4.7 Fermentação Submersa - FS

No geral, a fermentação submersa não apresentou resultados satisfatórios, porém verificou-se para uma das enzimas estudadas uma excelente produção enzimática (Apêndice 5). Porém, no geral o fungo *Pleurotus 001* incubado com pellets de PET foi o ensaio que apresentou os melhores resultados

4.7.1 Lacase – Lac

No geral, a atividade enzimática de Lacase foi baixa, apresentando alguns resultados relevantes para os períodos, linhagens e condições estudadas. Os ensaios inoculados com a linhagem *Pleurotus 001* e garrafa PET apresentaram resultados relevantes, sendo que a atividade enzimática foi verificada a partir de 30 dias, proporcionando atividade máxima em 60 dias e, em seguida, queda aos 90 dias. Já a atividade enzimática para *Pleurotus tailândia* foi muito baixa para todas as condições, principalmente quando inoculados com pellets de PET (Figura 28).

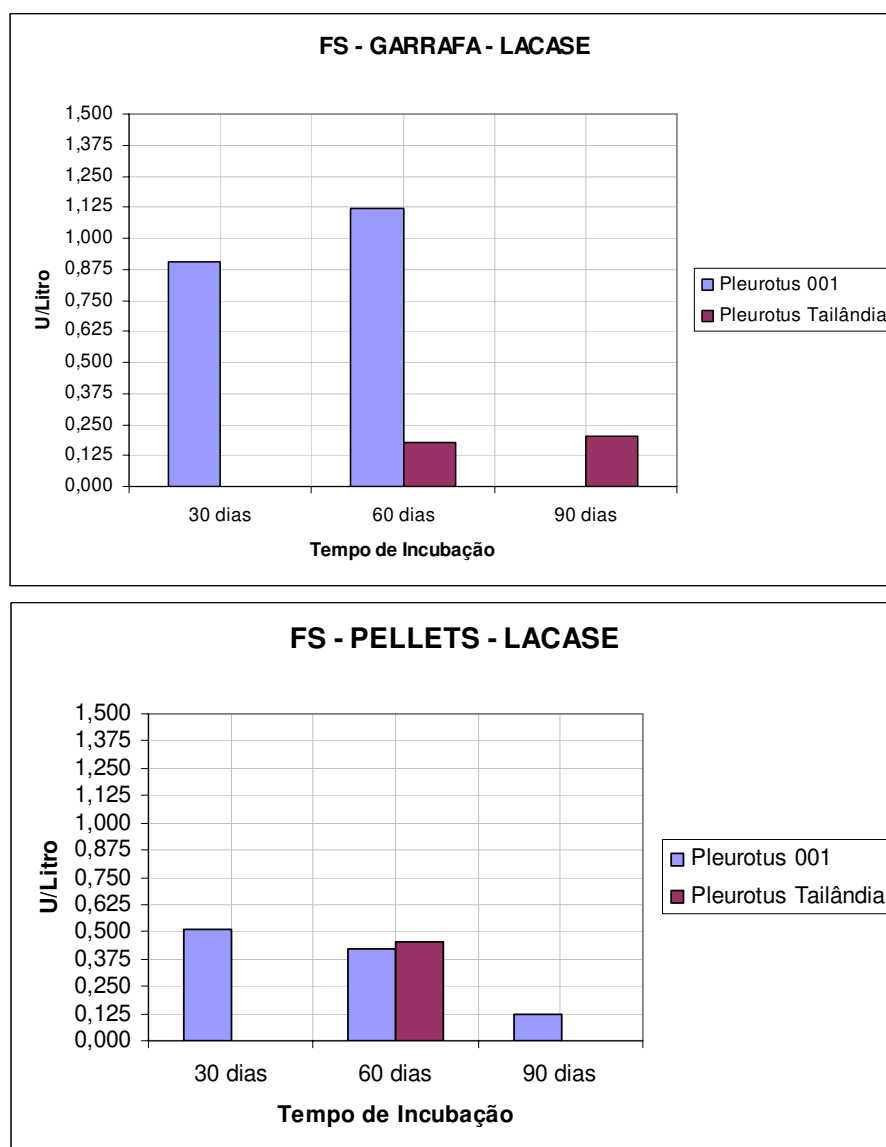


Figura 28. Produção de Lacase (Lac) para Fermentação Submersa (FS).

4.7.2 Liginina Peroxidase – LiP

A produção de LiP foi baixa para as condições estudadas. Para os ensaios contendo garrafa PET não foi observada nenhuma produção enzimática. Já para os ensaios contendo pellets de PET, a produção máxima foi verificada somente no período de 90 dias para *Pleurotus tailândia* (Figura 29). Porém,

recomenda-se o estudo de maiores períodos de incubação e um estudo mais detalhado desta condição para verificar a incidência da produção enzimática. De qualquer forma, o fungo *Pleurotus tailândia* apresentou a melhor produção enzimática para LiP sob a fermentação submersa.

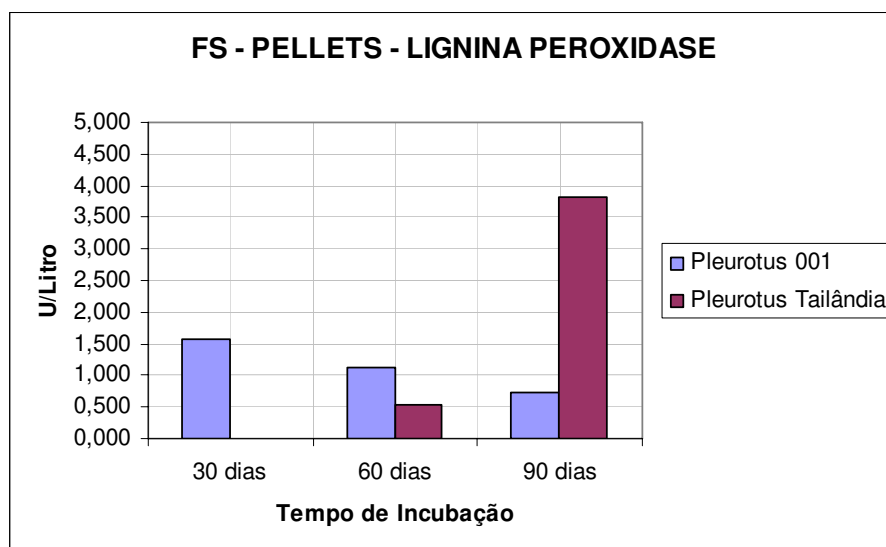


Figura 29. Produção de Lignina Peroxidase (LiP) para Fermentação Submersa (FS).

4.7.3 Manganês Peroxidase - MnP

Foi verificado a presença significativa de MnP nos ensaios inoculados por ambas linhagens e polímeros. Para os ensaios contendo a linhagem *Pleurotus 001* e garrafa PET a atividade máxima foi observada no período de 90 dias, porém a produção enzimática ocorreu de forma gradativa, diferentemente dos ensaios contendo a linhagem *Pleurotus tailândia* nas mesmas condições onde a produção enzimática ocorreu de forma decrescente e a atividade máxima ocorreu após 30

dias de incubação. Já para os ensaios contendo pellets a linhagem *Pleurotus 001* apresentou a melhor produção de MnP, onde a atividade máxima ocorreu no período de 30 dias (Figura 30).

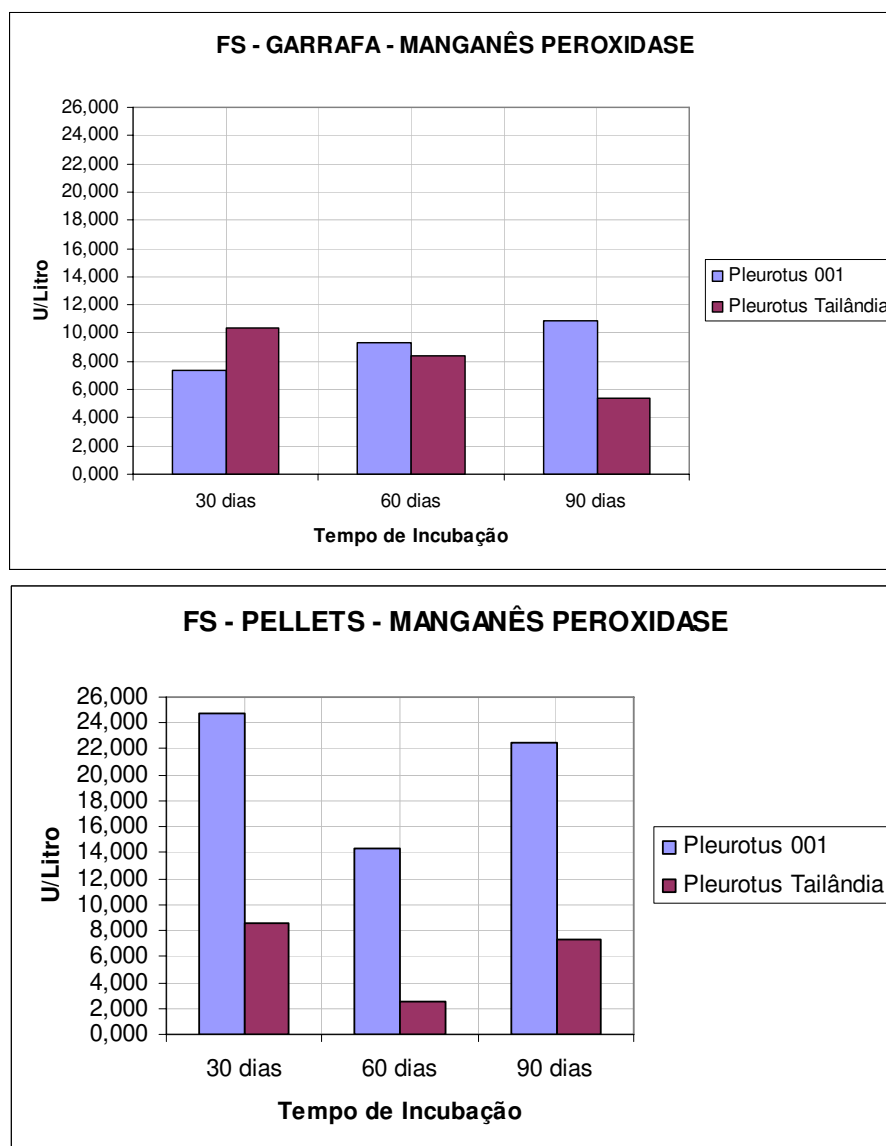


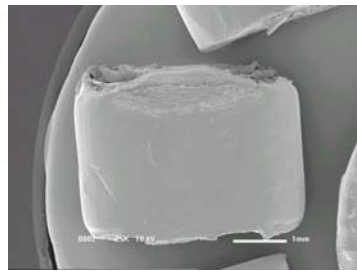
Figura 30. Produção de Manganês Peroxidase (MnP) para Fermentação Submersa (FS).

A linhagem *Pleurotus tailândia* também apresentou resultados satisfatórios de MnP, porém *Pleurotus 001* superou os valores observados para a produção desta enzima.

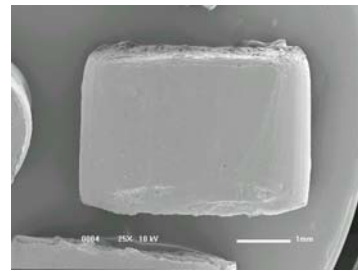
4.8 Análise morfológica do PET – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Como as amostras de pellets de PET submetidas à fermentação semi-sólida e incubadas com a linhagem *Pleurotus 001* foi o ensaio que apresentou os melhores resultados para produção enzimática de uma forma geral, realizou-se a Microscopia Eletrônica destes polímeros para verificar se suas superfícies sofreram alguma modificação.

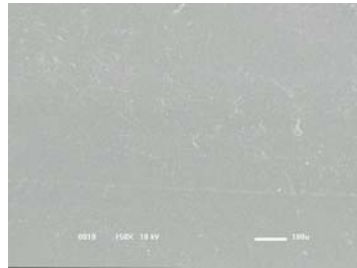
No geral, todas as fotomicrografias apresentaram bons resultados, ou seja, foi possível verificar alterações na superfície dos pellets analisados. Comparando as fotomicrografias de 25x de aumento entre o controle abiótico e as amostras no período de 30 dias (Figura 31), inicialmente, não verificou-se alterações nas superfícies dos polímeros. Porém, nas fotomicrografias de 150x, 500x e 3000x de aumento foi possível identificar com maior detalhe as alterações sofridas nas superfícies dos polímeros. O mesmo ocorreu para as amostras incubadas por 60 dias (Figura 32) e 90 dias (Figura 33).



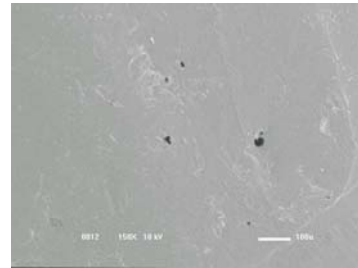
Controle abiótico – 25x.



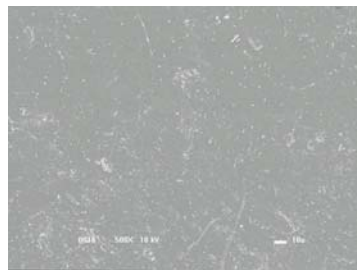
Amostra – 25x.



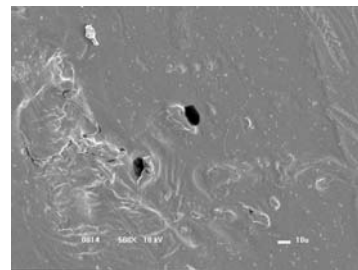
Controle abiótico – 150x.



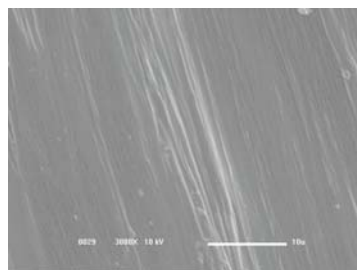
Amostra – 150x.



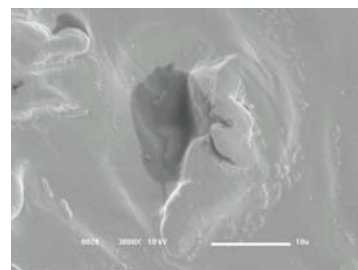
Controle abiótico – 500x.



Amostra – 500x.

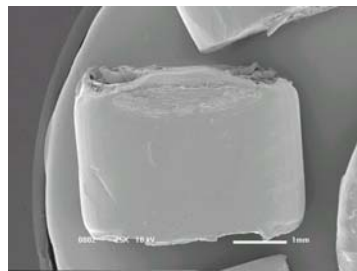


Controle abiótico – 3000x.

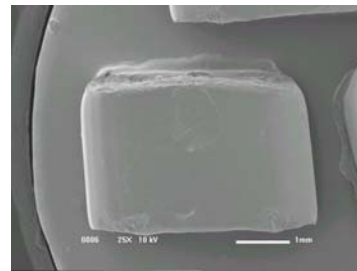


Amostra – 3000x.

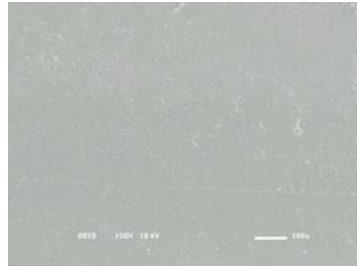
Figura 31. Comparação entre as fotomicrografias obtidas a partir dos pellets do controle abiótico e do ensaio realizado após 30 dias de incubação.



Controle abiótico – 25x.



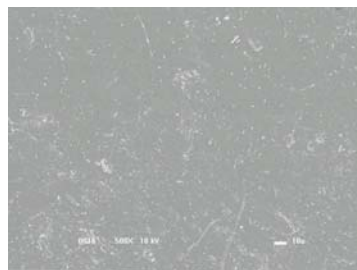
Amostra – 25x.



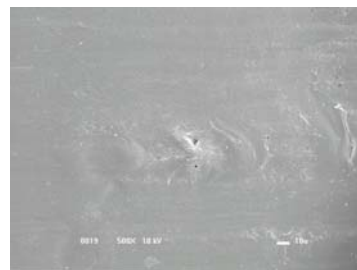
Controle abiótico – 150x.



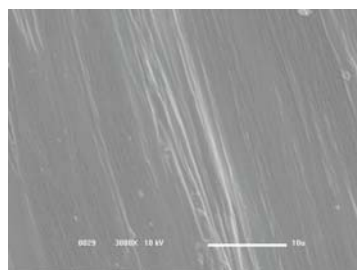
Amostra – 150x.



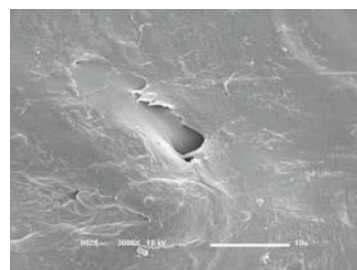
Controle abiótico – 500x.



Amostra – 500x.

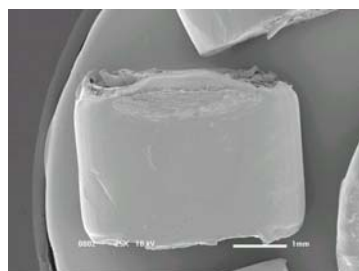


Controle abiótico – 3000x.

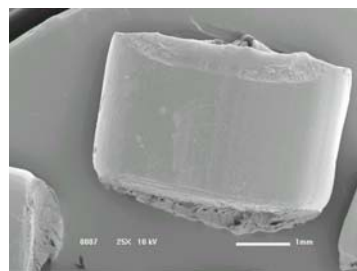


Amostra – 3000x.

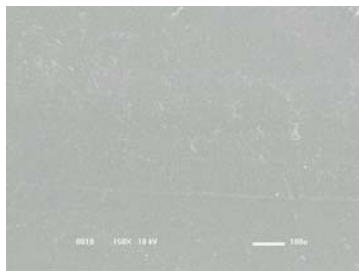
Figura 32. Comparação entre as fotomicrografias obtidas a partir dos pellets do controle abiótico e do ensaio realizado após 60 dias de incubação.



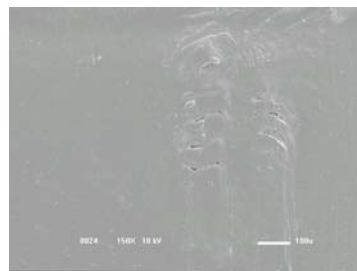
Controle abiótico – 25x.



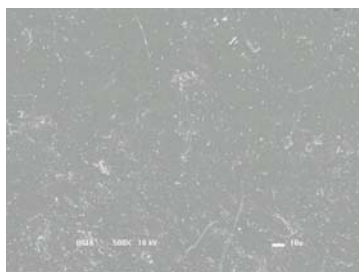
Amostra – 25x.



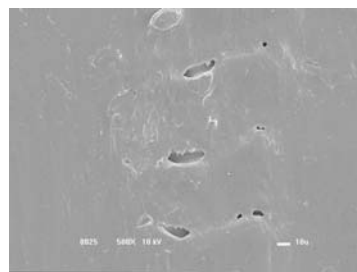
Controle abiótico – 150x.



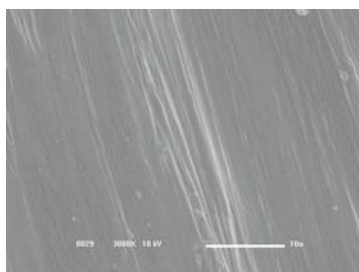
Amostra – 150x.



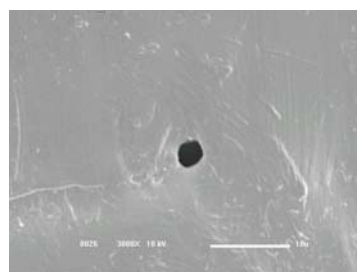
Controle abiótico – 500x.



Amostra – 500x.



Controle abiótico – 3000x.



Amostra – 3000x.

Figura 33. Comparação entre as fotomicrografias obtidas a partir dos pellets do controle abiótico e do ensaio realizado após 90 dias de incubação.

Desta forma, a Microscopia Eletrônica de Varredura mostrou ser uma ferramenta eficaz no estudo de superfícies e morfologia dos polímeros e de

grande importância como ferramenta complementar para avaliação da degradação (BASSET, 1981; ALLEN & BEVINGTON, 1989; SCOTT & GILEAD, 1995).

4.9 Produção de biosurfactantes

De acordo com a literatura, tensões superficiais na faixa de 35 a 40 mN/m apontam quando um microrganismo é um produtor potencial de tensoativos e abaixo de 35 mN/m indica ser um produtor porém não tão eficiente. Desta forma, observou-se a produção de biosurfactantes nas amostras destinadas para esta análise nos períodos estudados, inclusive no controle abiótico. A comprovação veio a partir dos resultados obtidos nas análises de tensão superficial (Figura 34), atividade de emulsificação (Figura 35) e tamanho dos halos superiores ou igual a 2,5 cm (Figura 36), onde os resultados obtidos foram inferiores e/ou semelhantes aos valores obtidos no controle abiótico.

É bem provável que as linhagens utilizadas não foram as responsáveis pela produção de biosurfactantes e sim, talvez, a composição do meio utilizado possa ter influenciado na produção dos mesmos. Recomenda-se o uso das mesmas linhagens, porém incubadas com diferentes fontes de carbono para se verificar a influência do substrato na produção de biosurfactantes.

No caso da produção biotecnológica de surfactantes, é necessário um correto balanço de nutrientes para promover condições adequadas de desenvolvimento do microrganismo e de produção. Dessa forma, a utilização de resíduos com alto conteúdo de carboidratos e lipídeos parece ser uma opção adequada para a produção de biosurfactantes (MAKKAR et al, 2003). Porém,

ressalta-se que diferenças na composição do meio refletem em diferenças nas curvas de tensão superficial (SHEPPARD et al, 1987).

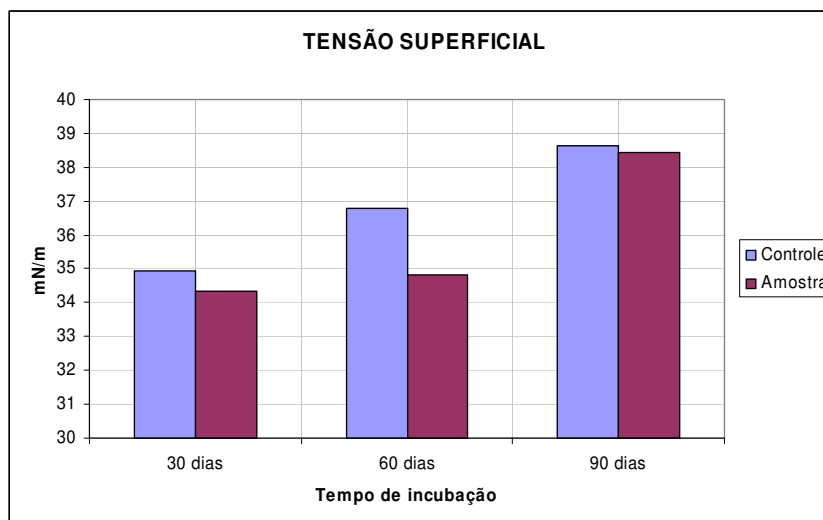


Figura 34. Tensão superficial obtida para 30, 60 e 90 dias.

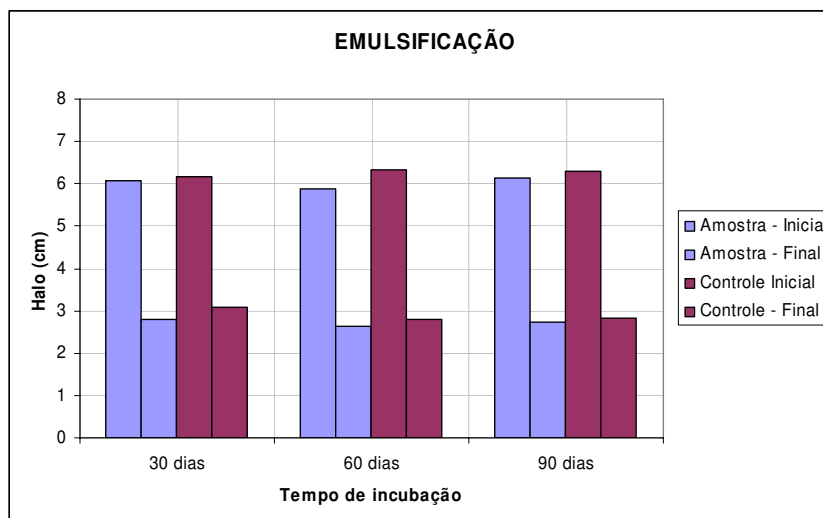


Figura 35. Atividade de emulsificação obtida para 30, 60 e 90 dias.

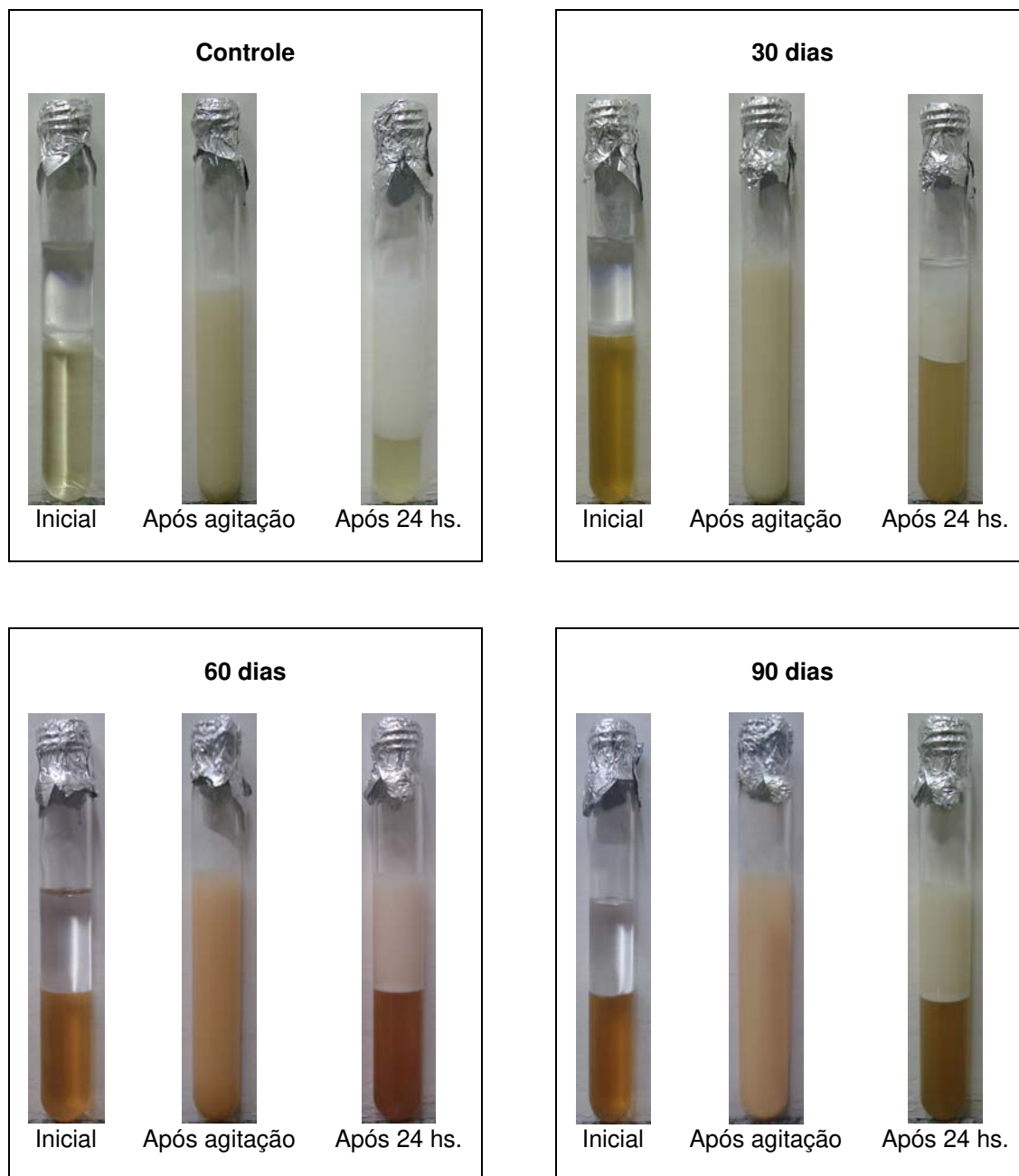


Figura 36. Dimensão dos halos.

4.10 Viscosidade intrínseca

Os resultados obtidos revelaram que realmente ocorreram alterações na estrutura polimérica dos pellets após incubação com *Pleurotus 001* produzindo

aumento da fluidez com redução da viscosidade dos polímeros, em relação ao controle (Tabela 20), destacando principalmente a amostra 2.

Tabela 20. Valores de viscosidade intrínseca.

Amostras	Tempo de escoamento da solução de PET		Concentração (g/dL)	Viscosidade intrínseca (dL/g)
Amostra 1 (30 dias)	154,21	Tempo médio de 154,15	0,4996	0,64
	154,21			
	154,04			
	154,14			
Amostra 2 (60 dias)	153,46	Tempo médio de 153,39	0,4992	0,63
	153,30			
	153,56			
	153,23			
Amostra 3 (90 dias)	155,95	Tempo médio de 155,93	0,5008	0,66
	155,81			
	155,99			
	155,97			
Controle	156,69	Tempo médio de 156,78	0,4996	0,68
	156,81			
	156,88			
	156,73			

Estes resultados devem-se, provavelmente, à presença de biosurfactantes produzidos pelas linhagens fúngicas que certamente favoreceu o aumento da fluidez/solubilidade deste compostos sintéticos hidrofóbicos tornando-os menos viscosos (COSTA, 2001).

5. CONCLUSÃO

As linhagens lignocelulolíticas utilizadas neste estudo demonstraram ter a capacidade de desenvolver-se em meios contendo fonte de carbono sintético e de difícil degradação, apresentando graus variáveis de crescimento. Além disso, apresentaram um grande potencial na produção de enzimas lignocelulolíticas.

O fungo *Pleurotus 001* demonstrou ter um grande potencial na degradação de materiais sintéticos apresentando alterações na estrutura dos pellets (MEV), redução de massa do polímero e uma boa atividade respiratória (Bartha), o que indica ser uma linhagem promissora na produção de enzimas lignocelulolíticas.

A produção de biosurfactantes foi verificada em todas as condições estudadas. Sugere-se o emprego de meios de cultura diferenciados para verificar a influência dos mesmos na produção de biosurfactantes. Já para viscosidade intrínseca as linhagens estudadas mostraram-se promissoras para estudos futuros relacionados a processos de biodegradação de polímeros sintéticos.

Desta forma, ficou comprovado que os microrganismos lignocelulolíticos podem proporcionar um grande progresso na degradação de materiais sintéticos, sendo de grande importância o estudo das condições ótimas de crescimento destes microrganismos aliado a combinações físico-químicas que podem auxiliar e/ou maximizar o processo de degradação. Além disso, sugere-se o uso do consórcio de microrganismos e/ou de polímeros para observar se nestas condições os resultados são mais satisfatórios.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABARCA, C.D.G. Agroindústria e Meio Ambiente na Experiência Brasileira. COPPE/UFRJ, 1999.

ABIPET – Associação Brasileira da Indústria de PET. Disponível em: http://www.abipet.org.br/noticias/vencedor_2000_B.doc. Acessado em 29/05/2007.

ABIQUIM – Associação Brasileira das Indústrias Químicas. Os plásticos. Disponível em: <http://www.abiquim.org.br>. Acessado em: 02/11/2007.

ABIR – Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerante. Disponível em: <http://www.abir.org.br>. Acessado em: 02/11/2007.

ABRE – Associação Brasileira de Embalagens. Dados do mercado. Disponível em: <http://www.abre.org.br>. Acessado em: 02/11/2007.

AGARWAL, A., SINGH, A. AND AGARWAL, P. N., Pop. Plast., 16 (Oct.), 1971.

AGBIM, N. N.; SABEY, B. R. ; MARKSTROM, D. C. Land application of sewage sludge: V. Carbon dioxide production as influenced by sewage sludge and Word waste mixtures. Journal Environmental Quality. Vol. 6. p. 446-451, 1977.

ALBERTSSON, A. C. AND RANBY, B., in Proc. 3rd Int. Biodegradation Symp., ed. J. M. Sharpley and A. M. Kaplan. Applied Science Publishers, London, p. 743, 1976.

ALLEN, G.; BEVINGTON, J.C. Comprehensive Polymer Science, 1^a ed., vol. 1, Oxford: Pergamon plc, 1989.

ALONSO, F.O.M. Efeito da agitação e aeração na produção de lipases por *Yarrowia lipolytica* (IMUFRJ 50682). Dissertação de Mestrado – Centro de Ciências da Saúde – Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2001.

ARGYROPOULOS, D.S.; MENACHEM, S.B. Lignin. In: SCHEPER, T.; ERIKSSON, K.E.L. (Ed.). Biotechnology in the Pulp and Paper Industry. Advances in Biochemical Engineering Biotechnology. Heidelberg, Berlin: Springer-Verlag, v. 57, p. 127-158, 1997.

ASTM – AMERICAN SOCIETY FOR TESTING MATERIALS. Standart Practice for Determinig Resistance of Plastics to fungi, G21-90, 1990.

ASTM – AMERICAN SOCIETY FOR TESTING MATERIALS. Standart Practice for Determinig Resistance of Plastics to bacteria, G22-76, 1990.

ASTM – AMERICAN SOCIETY FOR TESTING MATERIALS. Standart Test Method for Determining the Anaerobic Biodegradation of Rastic Materials in the presence of Municipal Sewage Sludge, D 5210-92, 1992.

ASTM – AMERICAN SOCIETY FOR TESTING MATERIALS. Standart method for aerobic biodegradability of degradable plastics by specific microorganisms, D5247-92, 1992.

ASTM – AMERICAN SOCIETY FOR TESTING MATERIALS. Standart practice for Determinig Inherent Viscosity of Poly(Ethylene Terephtalate) (PET) by Glass Capillary Viscometer, D4603, 1996.

ASTM – AMERICAN SOCIETY FOR TESTING MATERIALS. Standart practice for Diluted Solution Viscosity of Polymers, D2857, 2000.

ATLAS, R. M. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. Microbiol. Rev., v. 45, n.1, p.180-208, 1981.

BAHIA PET: Descritivo do Processo. Disponível em: <http://www.bahiapet.com.br/>. Acessado em: 18/11/2008.

BAL-TEC. Preparation Technology for ElectronMicroscopy – Catalogue N. 5 A-Systems and Devices. Liechtenstein: Bal-Tec AG, 1999.

BANAT, I. M.; Potential commercial applications of microbial surfactants Biofutur, 198, 44, 2000.

BASSET, D.C. Principles of Polymer Morphology. Cambridge: Cambridge University Press, 1981.

BAYER, E.A.; LAMED, R. The cellulose paradox: pollutant par excellence and/or a reclaimable natural resource. *Biodegradation*. Netherlands, v. 3, n. 2-3, p. 177-188, 1992.

BEGUIN, P. & AUBERT, J.P. The biological degradation of cellulose. *FEMS Microbiol. Rev.* n. 13, p. 25-58, 1994.

BENTO, F. M.; CAMARGO, F. A. O.; OKEKE, B. Bioremediation of soil contaminated by diesel oil, *Brazilian Journal of Microbiology*, v.34 (Supl.1), p. 65-68, 2003.

BLANCHETT, R. A. Degradation of the lignocellulose complex in wood. *Canadian Journal of Botany*, 73: 999-1010, 1995.

BLASS, A. *Processamento de Polímeros*. 2a edição. Florianópolis-SC. Editora da UFSC, 2001.

BNDES: Resina PET para recipientes. Disponível em:
<http://www.bndes.gov.br/conhecimento/bnset/repet8.pdf>. Acessado em:
15/08/2008.

BOGNOLO, G. Biosurfactants as Emulsifying Agents for Hydrocarbons. *Colloids and Surfaces, A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 152, p.41-52. 1999.

BONATTI, M.; KARNOPP, P.; SOARES, H.M., F URLAN, S.A. Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. *Food Chemistry*, v.88, p.425-428, 2004.

BORCHERT, A.; BUCHHOLZ, K. Enzymatic Hidrolysis of Cellulosic Materials. *Process Biochem.* p. 173-180, 1987.

BRODA, P. Biotechnology in degradation and utilization of lignocellulose. *Biodegradation*. Netherlands, v. 3, n. 2-3, p. 219-238, 1992.

BROWN, E. J., RESNICK, S. M., REBSTOCK, C., LUONG, H. V., LINDSTROM, J. 1991. UAF Radiorespirometric protocol for assessing hydrocarbon mineralization potential in environmental samples. Biodegradation. Vol. 2, p. 121-127, 1991.

BUSWELL, J.A; CAI, Y.J., CHANG, S.T, PEBERDY, J.F., FU, S.Y., YU, H.S. Lignocellulolytic enzyme profiles of edible mushroom fungi. World Journal of Microbiology and Biotechnology. London, v. 12, n. 5, p. 537-542, sept, 1996.

CAI, Y.J.; BUSWELL, J.A.; CHANG, S.T. Production of cellulases and hemicellulases by the straw mushroom, *Volvariella volvacea*. Mycological Research. New York, v. 98, part. 9, p. 1019-1024, sept, 1994.

CAMEOTRA, S. S.; MAKKAR, R. S.; Appl. Microbiol. Biotechnol, 50, 520, 1998.

CANEVAROLO, S. V. Ciência dos Polímeros, editora Art Líber, 1ª ed., 184p., 2002.

CANN, M. C.; CONELLY, M. E. Dupont Petretec Polyester Regeneration Technology in Real-World Cases in Green Chemistry. American Chemical Society, 2000.

CEMPRE - Compromisso Empresarial para a Reciclagem. Disponível em: www.cempre.org.br. Acessado em 16/04/2007.

CASARINI, D. C. P., MACEDO P. M. DE, CUNHA, R. C. DE A., MAUGER, J. C. O. The development of assessment techniques to evaluate the biodegradation of oily sludge in *landfarming* system. Water Science Technology. Vol. 20 (10), p. 231-236, 1988.

CETESB. Cetesb-L6.350. "Determinação da biodegradação de resíduos". Método respirométrico de Bartha, 1990.

CHAGAS, E.P.; DURRANT, L.R. Avaliação da descolorização de azo-corantes por fungos basidiomicetos. In: II Reunião Nacional de Microbiologia Aplicada ao Meio Ambiente. Florianópolis. Anais. s.n., p. 1-5, 2000.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Degradable polymers Prog. Polym. Sci., vol. 23, p. 1273-1335, 1998.

CHANG, S.T. Bioconversion technology: Composting and production of microbial and metabolites, In: Workshop Sul-Americano sobre usos alternativos de resíduos de origem florestal e urbana. Anais. Colombo: EMBRAPA-Floretas, p. 71-82, Curitiba, 1997.

CHANG, S.T.; MILES, P.G. Edible mushrooms and their cultivation. Boca Raton: CRC Press, Inc., p. 345, 1989.

CLEMENTE, A.R.; DURRANT, L.R. Degradação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos por fungos. Dissertação de Doutorado - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2002.

CONCEIÇÃO, D.E. Avaliação do uso de produtos comerciais na biodegradação de petróleo em solo. Tec. em Processos Conservação e Gerenciamento Ambiental, CEFETEQ – URJ, 2003.

CONTATO, M.C.D.; SERAFINI, T.Z.; SOTO, J.M.R. Contaminação por sólidos e químicos em tartarugas marinhas no Sul do Brasil. In: Simpósio Brasileiro De Engenharia Ambiental, Itajaí/SC, 2003.

COOPER, D.; GOLDENBERG, B.G. Surface active agents from two *Bacillus* species. Appl. And Envirom. Microbiol., vol. 53, p.224-229, 1987.

CORBIN, G. AND HENMAN, J. J., in Proc. 3rd Int. Conf. on Advances in the Stabilization of Polymers, Lucerne, Switzerland, June, p. 116, 1981.

COUTO, S.R.; RIVELA, I.; MUNOZ, M.R. & SANROMAN, A. Stimulation the ligninolytic enzyme production and the ability to decolourise Poly R-478 in semi-solid-state cultures of *Phanerochate chrysosporium*. Biores. Technol., v.74, p. 159-164, 2000.

COUTO, S.R.; SANROMÁN, M.A. Application of solid state fermentation to food industry – A review. Journal of Food Engineering, in press, 2006.

COWLING, E. B.; KIRK, T. K. Properties of Cellulose and Lignocellulosic Materials as Substrates for Enzymatic Conversion Process. Biotechnol. Bioeng. Symp., n. 1, p. 95-123, 1976.

DALSENTER, F.D.H. Contribuição ao Estudo da proposta ZERI para um Resíduo Agroindustrial Utilizando Processo Biotecnológico. Dissertação de Mestrado, FURB, Blumenau, SC, 2000.

DEMAJORIVIC, J. Da política tradicional de tratamento do lixo à política de gestão de resíduos sólidos: as novas prioridades. *Revista de Adm. De Empresas*, 35 (3), pp. 88-93, 1995.

DESAI, J. D.; BANAT, I.M.; *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 61, 47, 1997.

DICKNEIDER, T.A. *Petretec: Dupont's Technology for Polyester Regeneration*. Department of Chemistry, University of Scranton, USA, 2008.

DOELLE, H. W. Joint venture capital investment for clean technologies and their problems in developing countries. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. n.12: p. 445 – 450, 1996.

DZIECIOL, M.; TRZESZCZYNSKI, J. Studies of Temperature Influence on Volatile Thermal Degradation Products of Poly (ethylene terephthalate). *Journal of Applied Polymer Science*, 69:2377-2381, 1998.

EDGE, M.; HAYES, M.; MOHAMMADIAN, M.; ALLEN, N. S.; JEWITT, K.; BREMS, K.; JONES, K. *Polym Degrad Stabil*, 32(2), 131, 1991.

EL-SAYED, A.H.M.M.; MAHMOUND, W.M.; DAVIS, E.M.; COUGHLIN, R.W. Biodegradation of polyurethane coating by hydrocarbon-degrading bacteria. *Int. Biodet. Biodeg.*, p.69-79, 1996.

EMBRAPA. Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/culturas/trigo/index.htm>. Acessado em 15/03/2008.

ENARI, T.; PAAVOLA, M. Enzymatic Hydrolysis of Cellulose: is the current theory of the mechanisms of hydrolysis valid? *CRC – Critical Rev. In Biotech.*, n. 5, p. 67-87, 1987.

EYAL, J.; GRACE, W.R.; CONN, C.O. Mushroom mycellium grown in submerged culture: potential food applications. In: Goldberg, I.; Williams, R. *Biotechnology and Food Ingredients*. Van Nostrand Reinhold, New York, p. 31-64, 1991.

FIDALGO, O.; FIDALGO, M.E.P.K. *Dicionário micológico*. Rickia, suplemento 2, 253 p., 1967.

FIECHTER, A. Biosurfactants – moving towards industrial application. *Oxford:Trends in Food Science & Technology*. v.10, n. 6, p.208-217, 1992.

FORLIN, F. J.; FARIA, J. Considerações sobre a reciclagem de embalagens plásticas. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 12, n. 1, p. 1-10, 2002.

FORSKNING: Celulose, hemicelulose e lignina. Disponível em: http://www.life.ku.dk/forskning/online_artikler/artikler/marken_en_stor_solfanger.aspx. Acessado em 26/12/2008.

FRANCHETTI, S.M.M.; NICOLETI, J.; RODRIGUES, M.L.B.O. Biotransformação de filmes de PVC por fungos basidiomicetos. In: II Reunião Nacional de Microbiologia Aplicada ao Meio ambiente, UFSC, Florianópolis, out., 1998.

GEORGIU, G.; LINS, S.C.; SHARMA, M.M. Surface-active Compounds from Microorganisms. *Biotechnology*, 10:60-66, 1992.

GIOVANNONI-SERMANNI, G.; BERTONI, G.; PORRI, A. Biotransformation of straw to commodity chemicals and animal feeds. In: COUGHLAN, M.P. (Ed.). *Enzyme systems for lignocellulose degradation*. England: Elsevier Science Publishers Ltd., p. 371-382, 1989.

GOKSOYR, J.; ERIKSEN, J. Cellulases. In: *Microbial Enzymes and Bioconversions*. Academic Press. London, v. 5, p. 47, 1980.

GRUIZ, K., KRISTON, E. In situ bioremediation of hydrocarbon in soil. *Journal of Soil Contamination*. 4(2): 1978. p.163 – 173, 1995.

GU, J. Microbiological deterioration and degradation of syntetic polymeric materials: recent research advances. *Intern. Biod. e Biodeg.*, n. 52, p.69-91, 2003.

GUTIERREZ-CORREA, M.; TENDERDY, R.P. Production of cellulase on sugar cane waste by fungal mixed culture solid substrate fermentation. *Biotechnology Letters*. London, July, v. 19, n. 7, p. 665-667, 1997.

HADAR, Y.; KEREM, Z. & GODORECKI, B. & AROON, O. Utilization of lignocellulosic agricultural waste by the edible mushroom, *Pleurotus*. *Biotechnology*, n. 3, p. 189-205, 1992.

HATAKKA, A. Lignin-modifying enzymes from selected White-rot Fungi: Production and Role in Lignin Degradation. *FEMS Microbiol. Rev.*, 13:125-135, 1994.

HESELTINE, C.W. Solid State Fermentation – Part 1. *Process Biochemistry*, July/August: 24-27, 1977.

HOTCHKISS, J.H. Embalagem: criar, produzir, usar e reciclar. *Revista Ação Ambiental*. Universidade Federal de Viçosa. Ano III, n.17, p. 5-7, 2001.

HOWARD, G.T.; BLAKE, R.C. Growth of the *Pseudomonas fluorescens* on a polyester-polyurethane and the purification and characterization of a polyurethanase-protease enzyme. *Int. Biodet. Biog.*, vol. 42, p. 220-231, 1998.

HUMMEL, D.O.; SCHOLL, F. *Atlas of Polymer and Plastics Analysis*, Vol 1,2,3, Carl Hanser Verlag, Munich, 1988.

INFOARROZ. Disponível em: <http://www.infoarroz.org.br>. Acessado em 29/05/2008.

KAPLAN, A. *Modern Plastics Encyclopedia* 99, McGraw-Hill Book Company, Highstown, nov., 1998.

KAPRITCHKOFF, F.M.; MAIORAMO, A.E.; BONOMI, A.; SCHMIDELE, W.; BERTOLIN, T.E.; OGAKI, Y.; ANDRADE, R.J.; DOMICIANO, M.A. Influência da pectina sobre a produção de pectinase por fermentação semi-sólida. In: IV Seminário de Hidrólise Enzimática de Biomassas. Maringá. Anais. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, dez., p. 252-254, 1996.

KARUNANANDAA, K.; VARGA, G.A.; AKIN, D.E.; RIGSBY, L.L.; ROYSE, D.J. Botanical fractions of rice straw colonized by white rot fungi changes in chemical composition and strcture. *Animal Feed Science and Technology*. Amsterdam, oct., v. 55, n. 3-4, p. 179-199, 1995.

KEREM, Z., FRIESEM, D., HADAR, Y. Lignocelullose Degradation During Solid-State Fermetation: *Pleorotus ostreatus* versus *Phanarochaete chrisporium*. *Applied and Environmental Microbiology*. v. 58,n.4, p.1121-1127, 1992.

KIMURA, M. A simple model for estimating evotuonary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16:11-120, 1980.

KNAPP, J. S. Biodegradation of Celluloses and Lignin. *Comprehensive Biotechnology*, N.Y., v. 3, p. 835-846, 1985.

KOHARI, E.K.; AMAZONAS, M.A.L.A.; CARVALHO, F.J.P.C. Potencial de Crescimento micelial de fungo *Pleurotus sajor-caju* em serragem e casca de *Pinus* spp. e resíduo de infusão erva-mate. In: Workshop Sul-Americano sobre usos alternativos de resíduos de origem florestal e urbana. Curitiba. Anais. Colombo: EMBRAPA-Florestas, p. 150-156, 1997.

KOHEI, O. Applied Microbiology: proteases obtained from microorganisms to industrial processes and destruction of PET packaging. Kyoto Institute of Technology.Japan, 2002.

KOTTERMAN, M.; E. HEESSELS; E. JONG & J. A. FIELD. The physiology of anthracene biogradation by the white rot fungus *Bjerkandera* sp. Strain BOS55. *Applied Microbiology and Biotechchnology*, v. 42, p. 179-186., 1994.

KUBICEK, C. P. The Cellulose Proteins of *Trichoderma reesei*: Structures, Multiplicity, Mode of Action an Regulation of Formation. *Adv. In Biochem. Engineering/Biotechnology*, n. 45, p. 1-27, 1992.

KUHAD, R.C., SINGH, ^a & ERIKSSON, K.-E.L. Microorganism and Enzyme Involves the Degradation of Plant Fiber Cells Walls. In: ERIKSOON, K.-E.L., (Ed.). *Biotechnology in the Pulp and Paper Industry*. *Advanc. Bioch. Eng. Biotech.*, n. 57, p. 45-125, 1997.

KUMAR, S.; TAKAMURA, K.; NEI, M. MEGA 3.0: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5:150-153, 2004.

KUWAHARA, M.; GLENN, J.K.; MORGAN, M.A & GOLD, M.H. Separation and characterization of two extracellular H₂O₂-dependent oxidases from ligninolytic cultures of *Phanerochaete chrysosporium*. *FEBS Lett.*, 169:247-250, 1984.

LACAZ, C.S., MINAMI, P.S.; PURCHIO, A. O Grande Mundo dos Fungos. São Paulo, EDUSP/Polígono. 255p., 1970.

LANG, E.; NERUD, F.; ZADRAZIL, F. Production of ligninolytic enzymes by *Pleurotus* sp and *Dichomitus squalens* in soil and lignocellulose substrate as influence by soil microorganisms. *FEMS Microbiol. Lett.*, vol. 167, p.239-244, 1998.

LEE, B.; POMETTO, III., FRATZKE, A.; BAILEY, JR, T.B. Biodegradation of degradable plastic polyethylene by *Phanaerochaete* and *Streptomyces* species. *Appl. Envirom. Microbiol.*, vol. 57, n. 3, p. 678-685, 1991.

LIMA, A.M.F. Estudo da cadeia produtiva do polietileno tereftalato na região metropolitana de Salvador como subsídio para análise do ciclo de vida. UFBA – Universidade Federal da Bahia. Salvador-BA, 2001.

LJUNGDAHL, L. G.; ERIKSSON, K. E. Ecology of Microbial Cellulose Degradation. *Advances in Microb. Ecology*, n. 8, p. 237-299, 1985.

LOGUERCIO-LEITE, C.; WRIGHT, J.E. Contribution to a biogeographical study of the Austro-american xylophilous polypores (Aphyllophorales) from Santa Catarina Island, SC, Brazil. *Mycotaxon* 41: 161-166, 1991.

LUCHESI, J.B.; JUSTINO, E. Matérias primas alternativas na alimentação de frangos de corte e matrizes. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Campinas. Anais. p.137, 2003.

LUH, B.S. Rice: Utilization. Van Nostrand Reinold, New York, v.2, p. 313-362, 1991.

MACCARTHY, A. J. Lignocellulose – Degrading Actinomycetes. FEMS – Microbiol. Rev., n. 46, p. 145-163, 1987.

MACRIS, B.J.; KEKOS, D. Enhanced cellulase activities using straw as growth substrate. In: COUGHLAN, M.P. (Ed.). Enzyme systems for lignocellulose degradation. England: Elsevier Science Publishers Ltd., p. 261-271, 1989.

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; PARKER, J. Brock biology of microorganisms. 9^a ed., New Jersey (USA): Prentice Hall, Inc., 2000.

MAKKAR R.S.; ROCKNE, K.J. Comparison of synthetic surfactants and biosurfactants in enhancing biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. Environm Toxicol Chem. 22: 2280-2292, 2003.

MALARCZYK, E.; NOWAK, G.; KOCHMANSKA-RDEST, J.; FUKUZUMI, T.; LEONOWICZ, A. Relations between SOD, laccase and other enzymes during the fruiting process of *Pleurotus specia* growing on a lignocellulosic medium. In: Proceeding of the 6th international conference on biotechnology in the pulp and paper industry: advances in applied and fundamental reserch. Viena, p.641-644, 1996.

MANEERAT, S. Production of biosurfactants using substrates from renewableresources. J Sci Technol. 27: 675-683, 2005.

MANO, E. B. Introdução a polímeros Editora Edgard Blücher Ltda., São Paulo, 1985.

MARCHALL, T. R., DEVINNY, J. S. The microbial ecosystem in petroleum waste Land treatment. Water Science and Technology. Vol. 20 (11/12), p. 285-291, 1988.

MARK, H.F.; BIKALES, N.M.; OVERBERGER, C.G.; MENGES, G. Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, 2^a ed., vol. 4. New York (USA): John Wiley & Sons Inc., 1986.

MARTENS, R.; ZADRAZIL, F. Screening of white-rot-fungi for their ability to mineralize polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. Folia Microbiology, Prague, feb., v. 43, p. 97-103, 1998.

MARTÍNEZ-RICHA, A. Variation of intrinsic viscosity in the hydrolysis of hydroxyethylcellulose and its relationship with resistance to enzymatic degradation. *Polymer*, v. 39, n. 14, p. 3115-3118, 1998.

MARTINS, C.L. Comportamento de reator de leito fluidizado trifásico aeróbio utilizando diferentes materiais de suporte. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Engenharia Ambiental - Universidade Federal de Santa Catarina - Florianópolis/SC, 2003.

MARTINS, T.S. Produção e purificação de lipases por *Yarrowia lipolytica* IMUFRJ 50682. Dissertação de Mestrado – Centro de Ciências da Saúde – Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2001.

MATA, G.; DELPECH, P.; SAVOIC, J.M. Selection of strains of *Lentinula edodes* and *Lentinula boryana* adapted for efficient mycelial growth on wheat straw. *Revista Iberoamericana de Micologia*, v.18, p.118-122, 2001.

MAZIERO, R.; BONONI, V.L.; CAPELARI, M.; Cultivo e produtividade de *Pleurotus ostreatus* var. *Florida* em Mogi das Cruzes, Brasil. *Hoehnea*, v.19, n.1/2, p.1-7, 1992.

MCCASKILL, D.R.; ZHANG.F. Use of rice bran oil in foods. *Food Technology*, v. 53, n.2, p. 50-53, 1999.

MELBOURNE ZOO. Disponível em:
<http://www.environment.gov.au/minister/env/2004/mr10mar04.html>. Acessado em 05/10/2007.

MCCASKILL, D.R.; ZHANG.F. Use of rice bran oil in foods. *Food Technology*, v. 53, n.2, p. 50-53, 1999.

MICHAELI, W. Tecnologia dos Plásticos. Ed. Edgard Blücher Ltda., São Paulo. Introdução e Lição 1, p. 1 a 13, 1995.

MIELNICZUK, C. A população microbiana e a degradação de resíduo petroquímico no solo. Tese de mestrado UFRGS, 135 p., 1991.

MILLER, R. H. Factors affecting the decomposition of anaerobically digested sewage sludge in soil. *Journal Environmental quality*. Vol 3, p. 376-380, 1974.

MINDFULLY. Disponível em: <http://www.mindfully.org/Water/2006/Sea-Plague-Plastic2aug06.htm>. Acessado em 23/09/2007.

MORAES, A. F. Enriquecimento Protéico do Farelo de Arroz por Fermentação Semi-Sólida em Biorreator de Coluna com Leito Fixo. Rio Grande, 89 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Fundação Universidade Federal do Rio Grande (FURG), 1999.

MORÁN, A.C.; OLIVEIRA, N.; COMMENDATORE, M.; ESTEVES, J.L. & SIÑERIZ, F. Enhancement of hydrocarbon waste biodegradation by addition of a biosurfactant from *Bacillus subtilis*. *Biodegradation* 11: 65, v. 71, 2000.

MUDGETT, R.E. Solid State Fermentation. In: ed. DEMAIN, A.L., SOLOMON, N.A. *Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology*, American Society for Microbiology, Washington, p. 66-83, 1986.

MUELLER R.J.; SCHRADER, H.; PROFE, J.; DRESLER, K.; DECKWER, W.D. Enzymatic degradation of poly(ethylene terephthalate): rapid hydrolyse using a hydrolase from *T. fusca*. *Macromol Rapid Commun*;26(17):1400–5, 2005.

MUELLER, R.J. Biological degradation of synthetic polyesters—Enzymes as potential catalysts for polyester recycling. *Process Biochemistry* 41, 2124–2128, 2006.

MUKHERJEE, S.; DAS, P.; SEN, R. Towards commercial production of microbial surfactants. *Trends Biotechnol.* 24, 2006.

MÜLLER, R.J.; KLEEBERG, I.; DECKWER, W.D. Biodegradation of polyesters containing aromatic constituents. *Journal of Biotechnology*, 86: 87-95, 2001.

MULLINGS, R. Measurement of saccharification by cellulases. *Enzyme Microb. Technol.*, n. 7, p. 586-590, 1985.

MUZZARELLI, R.A.A.; TOMASETTI, M.; ILARI, P. Depolymerization of chitosan with the aid of papain. *Enz, Microb. Technol.*, v. 16, p. 110-114, 1994.

NAGEL, F.J.; VAN AS, H.; TRAMPER, R.; RINZEMA, A. Water and Glucose Gradients in the Substrate Measured with NMR Imaging During Solid-State Fermentation with *Aspergillus oryzae*. *Biotechnology and Bioengineering*: 79, 653-663, 2002.

NAKAJIMA-KAMBE, T.; ONUMA, F.; AKUTSU, Y.; NAKAHARA, T. Determination of the polyester polyurethane breakdown products and distribution of the polyurethane degrading enzyme of *Comamonas acidovorans* strain TB-35. *J. Ferm. Bioeng.*, vol. 83, n.5, p.456-460, 1997.

NANDAKUMAR, M.P.; THAKUR, M.S.; RAGHAVARAO, K.S.M.S.; GHILDYAL, N.P. Studies on Catabolite Repression in Solid State Fermentation for Biosynthesis of Fungal Amylases. *Letters in Applied Microbiology*, 29:380- 384, 1999.

NEVES, E.B.; DURRANT, L.R. Degradação de hidrocarbonetos aromáticos por bactérias. Dissertação de Doutorado - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2002.

NICHOLSON, J.W.G. Digestibility, nutritive value and feed intake. In: SUNDSTOL, F., COXWORTH, E.M. *Straw and other fibrous by products as feed*. Amsterdam: Elsevier, p.340-372, 1984.

NIKOLOV, T.; BAKALOVA, N.; PETROVA, S.; BERNADOVA, R.; SPASOV & KOLEV, D. An effective method for bioconversion of delignified waste-cellulose fibers from the paper industry with a cellulase complex. *Biores. Technol.*, n. 7, p. 1-4, 2000.

NIPPON PACK. Disponível em: <http://www.nipponpack.com>. Acessado em 28/11/2007.

NITSCHKE, M.; PASTORE, G.M. *Biosurfactantes: propriedades e aplicações*. Quím. Nova, v.25, n.5. São Paulo/SP, 2002.

O ESTADO DE S. PAULO. Sem reciclagem, Brasil descarta 4,7 bi de garrafas PET na natureza. Disponível em: <http://www.estado.com.br/editorias/2007/10/08/ger-1.93.7.20071008.1.1.xml>. Acessado em: 02/11/2007.

ONODERA, K.Y.; MUKUMOTO, H.; KATSUYAYA, Y.; SAIGANJI, A.; TANI, Y. Degradation of polyethylen by fungus, *Penicillium simplicissimum* YK. *Polymer Degradation and Stability*, 72: 323-327, 2001.

ORPIN C. G. Genetic Approaches to the Improvement of Lignocellulose Degradation in the Rumen. In: *Biochemistry and Genetics of Cellulose Degradation*. FEMS – Symposium, n. 43, p. 172-179, 1988.

ORTHOEFER, F. T. Rice bran oil: healthy lipid source. *Food Technology*, Chicago, v. 50, n. 12, p. 62 – 64, 1996.

PALMA, M.; PINTO, A.L.; GOMBERT, A.K.; SEITZ, K.H.; KIVATINITZ, S.C.; CASTILHO, L.R.; FREIRE, D.M.G. Lipase production by *Penicillium restrictum* using solid state waste of industrial babassu oil production as substrate. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 84-86, p.1137-1145, 2000.

PALMA, M.B. Produção de Xilanases por *Thermoascus aurantiacus* em Cultivo em Estado Sólido. Tese de Doutorado, UFSC, Florianópolis, SC, 2003.

PANDEY, A., Recent developments in solid state fermentation, *Process Biochemistry*, 27, 109-117, 1992.

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

PANDEY, A.; SOCCOL, C.R.; NIGAM, P. & SOCCOL, V. New developments in solid state fermentation: I-bioprocesses and products. *Biores. Technol.* 74:69-80, 2000.

PAVARINA, E.C. Estudo dos sistemas celulolítico e fermentativo de fungos microaeróbios facultativos. Tese de Mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, p. 82, Campinas, 1997.

PAVARINA, E.C. Fungos microaeróbios na bioconversão de material lignocelulósico. Tese de Doutorado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, p. 161, Campinas, 2002.

PAUL, E. A., CLARK, F. E. Soil microbiology and biochemistry. Academic Press, Inc. – San Diego- Califórnia, 275p., 1989.

PAULA, E.J.; PLASTINO, E.M.; OLIVEIRA, E.C.; BERCHEZ, F.; CHOW, F.; OLIVEIRA, M.C. Introdução à biologia das criptógamas. Instituto de Biociências – USP – 2007.

PELIZER, L.H. Estudo da influência da atividade de água na fermentação em estado sólido de *Bacillus thuringiensis*. São Paulo, 104p. (Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP), 1997.

PEREIRA, R.C.C.; MACHADO, A.H.; SILVA, G.G. (Re) Conhecendo o PET. Revista Química Nova na Escola. Química e Sociedade. p. 3-5, 2002.

PET FACTS - National Association for PET Container Resources. Disponível em: www.napcor.com/toolbox/funfacts.html. Acessado em 29/03/2007.

PINTO, A.G. Plástico. In: IPT - CEMPRE. Lixo Municipal: Manual de Gerenciamento Integrado, 1997.

PIRES, A.S. A reciclagem de plástico e o meio ambiente. Estudos técnicos. Plastivida – Instituto Sócio-Ambiental dos Plásticos. São Paulo-SP, 2006.

POMERANZ, Y. Chemical composition of kernel structures. Wheat – chemistry and technology. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, p. 97-158, 1988.

PRADO, M.R. Análise do inventário do ciclo de vida de embalagens de vidro, alumínio e PET utilizadas em uma indústria de refrigerantes no Brasil. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná, Pós Graduação em Tecnologia de Alimentos, UFPR, Curitiba, 2007.

QUÍMICA PROF. JOÃO NETO. Disponível em:
<http://www.santateresa.g12.br/quimica/quimicag/misturas.htm>. Acessado em:
07/07/2008.

QUÍMICA VERDE: Estrutura da lignina. Disponível em: <http://academic.scranton.edu/faculty/cannm1/inorganic/inorganicmoduleport.html>. Acessado em: 26/12/2008.

RAEDER, U.; BRODA, P. Current Genetics, v8: 499-509, 1985.

RAJARATHNAM, S.; BANO, Z. Pleurotus, Mushrooms. Part I A - Morphology, life cycle taxonomy, breeding and cultivation. CRCC – Food Sc. Nutr., n. 26, p. 157-311, 1987.

RAJARATHNAN, S.; SHASHIREKA, M. N.; BANO, Z. Biopotentialities of the basidiomycetes. Advances in Applied Microbiology, New York, v. 37, p. 233-361, 1992.

RAMANA-MURTHY, M.V.; KARANTH, N.G.; RAO, K.S.M.S.R. Biochemical Engineering Aspects of Solid-State Fermentation. In: Advances in Applied Microbiology: 38, 99-147, 1993.

RAVEN, P. H. et al. Biologia Vegetal. Rio de Janeiro, Guanabara Dois. 263 p., 1978.

RAYNER, A. D. M.; BODDY, L. Fungal decomposition of wood. Its biology and ecology. Wiley, Chichester, 587 S., 1998.

RECICLAGEM - Solução para o lixo. Folha do Meio Ambiente. Cultura Viva Editora Ltda. Brasília-DF. 1 p., 1999.

RECICLAGEM DO PET. Engarrafador Moderno. Editora Aden. São Paulo-SP. 2 p., 1996.

REDIFF ON THE NET. Disponível em: <http://www.members.reddif.com/jogsn/BP4.html>. Acessado em 05/04/2007.

REGINATTO, V. Estudo das enzimas produzidas por *Trichoderma longibrachiatum* responsáveis pela degradação de materiais celulósicos. Tese de Mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, p. 147, Campinas, 1992.

REYES, L.F. Estudo da Degradação de PET por Fungos Basidiomicetos Ligninolíticos. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2003.

RIBEIRO, J.W.; KIANG, T.; FRANCESCONI, A.Z. Pós-condensação em estado sólido de Poli(etileno Tereftalato). Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Engenharia Química – UNICAMP – Campinas/SP, 2002.

ROCHA, J.M.S. Aplicações de agentes tensoativos em Biotecnologia. Boletim de Biotecnologia, v. 64, 1999.

RODRIGUES, M.I.; IEMMA, A.F. Planejamento de Experiências e Otimização de Processos. Casa do Pão Editora, Campinas, 2005.

ROSSI, I.H.; M ONTEIRO, A.C.; MACHADO, J.O. Desenvolvimento micelial de Lentinula edodes como efeito da profundidade e suplementação do substrato. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.36, n.6, p.887-891, 2001.

ROSTAGNO, H. S.; PUPA, J. M. R.; PACK, M. Diet formulation for broilers based on total versus digestible amino acid. Journal Applied Poultry Research, Savoy, v. 4, n. 3, p. 293-299, 1995.

ROUSE, J.D.; SABATINI, D.A.; SUFLITA, J.M.; HARWELL, J.H. Influence of Surfactants on Microbial Degradation of Organic Compounds. Crit. Rev. Environ. Sci. Technol., 24 (4): 325-370, 1994.

RUDAKOVA, T. E.; ZAIKOV, G. E.; VORONKOVA, O. S.; DAUROVA, T. T.; DEGTYAREVA, S. M. Sci Polym Symp, 66, 277, 1979.

SAITOU, N.; NEI, M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol. Biol. Evol., 4:406-425, 1987.

SANTERRE, J.P.; LABOW, R.S.; ADAMS, G.A. Enzyme-biomaterial interaction: effect of biosystems on degradation of polyurethanes. J. Biom. Mat. Res., vol. 27, p. 97-109, 1993.

SANTOS, A.R. Vidro: caracterização do material. Trabalho de Graduação – Escola Politécnica – USP - São Paulo, 2003.

SHEPPARD, J.D.; MULLIGAN, C.N. The production of surfactin by *Bacillus subtilis* grown on peat hydrolysate. Appl Microbiol Biotechnol. 27: 110-116, 1987.

SHARABY, N. E. D.; BARTHA, R. Testing of some assumptions about biodegradation in soil as measured by carbon dioxide evolution. Applied and Environmental Microbiology. Vol. 59 (4), p. 1201-1205, 1993.

SCHNABEL, W. Polymer Degradation: Principles and Practical Applications. New York (USA): Macmillan Publishing Co. Inc., 1981.

SCHUCHARDT, F.; ZADRAZILF. A 352 L fermenter for solid state fermentation of straw by white-rot-fungi. In: ZADRAZIL, F.; REINIGER, P. (Ed.). Treatment of lignocellulosics with white-rot-fungi. London, Elsevier Applied Science, p. 77-89, 1988.

SCOTT, G.; GILEAD, D. Degradable Polymers. London: Chapman & Hall, 1995.

SEAGRI-BAHIA. Disponível em: <http://www.seagri.ba.gov.br/Trigo.htm>. Acessado em 19/04/2008.

SERMANNI, G. G.; PORRI, A. The potentiality of solid state biotransformation of lignocellulosic materials. Chimica Oggi. Março: 15 – 19, 1989.

SHREVE, R.N.; BRINK JR., J.A.; Indústria de Processos Químicos. 4ª edição. Editora Guanabara. Rio de Janeiro-RJ. 717 p. 1997.

SILVA, E.R. Biodegradação Fúngica de Resíduos Agroindustriais para a Produção de Biomassa Microbiana, Enzimas Ligninocelulolíticas e Redução de Fitatos. Tese de Doutorado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

SILVA, M. Projeto Lixo Seletivo – PET. Disponível em: <http://www.marcelosilva.com.br/projetolixo-08.htm>. Acessado em 13/03/2006.

SILVA, S.M. Formulação de meios de crescimento para o cultivo sólido de *Pleurotus sajor-caju*, à base de serragem de *Pinus* spp. 2004. 95f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2004.

SMÂNIA, E. F. A.; A. SMÂNIA; C. LOGUERCIO-LEITE; GIL M. L. Optimal parameters for cinnabarin synthesis by *Pycnoporus sanguineus*. *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, v. 70, p. 57-59. 1997.

SOCCOL, C.R.; MARIN, B.; RAIMBAULT, M.; LEBEAULT, J.M. Potencial of Solid State fermentation for Production of L(+) Lactic Acid by *Rhizopus oryzae*. *Applied Microbiology and Biotechnology*: 41, 286-290, 1994.

SOPPER, W. E. Municipal Sludge use in land reclamation. Boca Raton: CRC Press. 1993. 163 p.

SOS Rios do Brasil: Entupimento da rede de esgoto por garrafas PET. Disponível em: http://sosriosdobrasil.blogspot.com/2008_08_01_archive.html. Acessado em: 26/12/2008.

SPINACÉ, M. A. S.; PAOLI, M. A. A tecnologia da reciclagem de polímeros. *Quím. Nova*, Fev., vol.28, nº1, p.65-72, 2005.

STOTZKY, G. Microbial respiration. In: C. A. Black (ed.) *Methods of Soil Analysis*. Part 2. American Society Agronomy, Madison, WI, p. 1150-1572, 1974

STURION, G. L. Utilização da folha de bananeira como substrato para o cultivo de cogumelos comestíveis (*Pleurotus* spp.). Piracicaba, 147f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos). Universidade de São Paulo, 1994.

SUGUIMOTO, H.H.; CASTRO-GOMES, R.I.H. Aumento do teor protéico do cogumelo *Pleurotus ostreatus* “Flórida” através do enriquecimento do substrato empregado no cultivo. In: SEMINÁRIO DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE BIOMASSAS. Anais. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, dez., p. 205, 1996.

SZKLARZ, G.D.; ANTIBUS, R.K.; SINSABAUGH, R.L. & LINKINS, A.E. Production of phenol – oxidases and peroxidases by wood-rotting fungi. *Mycol.* 81:234-240, 1989.

TERRA DE ARROZ: Divisão do grão de arroz. Disponível em: http://www.ufrgs.br/alimentus/terradearroz/grao/gr_divisao.htm. Acessado em: 15/03/2008.

TEUNISSEN, M.J.; KORT, G.V.M.; OP DEN CAMP, H.J.; VELT, J.H.H. Production of cellulolytic and xylanolytic enzymes during growth of the anaerobic fungus *Piromyces* sp. on different substrates. *Journ. Gen. Microbiol.*, n. 138, p. 1657-1664, 1992.

TEUNISSEN, M.J.; OP DEN CAMP, H.J. Anaerobic fungi and their cellulolytic and xylanolytic enzymes. *Antonie Van Leeuwenhoek*, n. 63, p. 63-76, 1993.

THOMPSON, J.D.; HIGGINS, D.G.; GIBSON, T.J.; CLUSTAL, W. Improving the sensitivity of progressive multiple alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22:4673-4680, 1994.

TIEN, M. & KIRK, T.K. Lignin-degrading enzyme from *Phanerochaete chrysosporium*: purification, characterization, and catalytic properties of a unique H₂O₂-requiring oxygenase. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 84:2280-2284, 1984.

TIMOFIECSYK, F. R.; PAWLOWSKY, U. Minimização de Resíduos na Indústria de Alimentos: Revisão. *B. CEPPA*, 18 (2), pp. 221-236, 2000.

TUOR, U.; WINTERHALTER, K.; FIECHTER, A. Enzymes of white-rot-fungi involved in lignin degradation and ecological determinants for wood decay. *Journal of Biotechnology*. Amsterdam, july, v.41, n. 1, p. 1-17, 1995.

VALT, R.B.G. Ciclo de vida de embalagens para bebidas no Brasil. Ed. Thesaurus, Brasília/DF, 2007.

UNESP: Estrutura da celulose. Disponível em: <http://inorgan221.iq.unesp.br/quimgeral/carbono/carbon.htm>. Acessado em: 24/12/2008.

VIA INTEGRAL: Composição do grão de trigo. Disponível em: <http://www.viaintegral.com/via2007/paginas/trigo.htm>. Acessado em: 15/03/2008.

VILLAIN, F.; COUDANE, J. & VERT, M. Polym. Degrad. Stab., 43, 1994.

WANG, C.Y.; LUH, B. S. Harvest, drying, and storage of rough rice. In: LUH, B. S. Rice production. 2nded. New York: Van Nostrand Reinhold, p. 311–345, 1991.

WANG, D.; SAKODA, A.; SUZUKI, M. Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beer grain. Bioresource Technology, v.78, p.293- 300, 2001.

WASSER, S.P.; WEIS, A.L. Therapeutic effects of substances occurring in higher Basidiomycetes mushrooms: a modern perspective. Crit Rev Immunol 19:65–96, 1999.

WATTS, J. R., COREY, J. C.e McLEOD, K. W. Land application studies of industrial waste oils. Environmental Pollution. Vol. 28, p.165-175, 1982.

WEILAND, P. Principle of solid state fermentation. In: ZADRAZIL, F.; REINIGER, P. (Ed.). Treatment of lignocellulosics with white-rot-fungi. Amsterdam: Elsevier Applied Science, p. 64-76, 1988.

WISBECK, E. Estudo do cultivo submerso de *Pleurotus ostreatus* DSM 1833 para a produção de biomassa e de exopolissacarídeos. 2003. 196f. Tese (Doutorado Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

WOOD, T. M.; MCCRAE, S. I. The purification of the C1 Component of *Trichoderma koningii* Cellulase. Biochem. J., n. 128, p. 1183-1192, 1972.

WOOD, T.M.; GARCIA-CAMPAYO, V. Enzymology of cellulose degradation. Biodegradation, Netherlands, v.1, n. 2/3, p. 147-167, 1990.

YAZDI, M. T. et al. Enz. Microb. Techonol., n. 12, p. 120-123, 1990.

ZANIN, M.; MANCINI, S. D. Resíduos Plásticos e Reciclagem Aspectos gerais e tecnologia, São Carlos, Ed. UFSCAR – Editora da Universidade de São Carlos, 143p, 2004.

ZHANG, J.; WANG, X.; GONG, J.; GU, Z. A Study on the Biodegradability of Polyethylene Terephthalate Fiber and Diethylene Glycol Terephthalate. College of Material Science and Chemical Engineering, Tianjin Polytechnic University, Tianjin 300160, People's Republic of China, 2004.

ZJAWIONY, J.K. Biological active compounds from Aphyllophorales (Polypore) fungi. Journal of Natural Products. 2-11, 2003.

Apêndice 1. Atividade respiratória obtida - Controles.

Data	Nº de Leituras	Controle Solo Autoclavado							Volume de HCl gasto (mL)				
		1	2	3	4	Média	CO ₂ Gerado (mg/L)	CO ₂ Acumulado (mg/L)	Branco	BaCl ₂	HCl	HCl	KOH
15/11/2007	0												
16/11/2008	1	31,6	32,0	31,0	31,6	31,6	-1,19	-1,19	30,6	35,0	31,2	0,1	0,2
23/11/2007	2	30,6	30,4	30,6	30,5	30,5	-1,00	-2,19	29,8	32,0	30,8	0,1	0,2
30/11/2007	3	30,4	30,3	30,4	30,1	30,3	-2,23	-4,42	28,6	33,6	28,2	0,1	0,2
07/12/2007	4	30,1	30,2	30,1	30,1	30,1	-2,28	-6,70	28,6	29,4	30,4	0,1	0,2
14/12/2007	5	29,8	29,2	29,2	29,2	29,4	-0,45	-7,14	29,0	34,6	32,2	0,1	0,2
21/12/2007	6	29,1	29,2	29,0	29,1	29,1	0,95	-6,19	29,8	32,4	33,2	0,1	0,2
28/12/2007	7	28,6	29,2	29,2	29,0	29,0	2,01	-4,18	30,6	35,0	33,0	0,1	0,2
31/12/2007	8	28,2	28,6	28,6	28,6	28,5	3,44	-0,75	31,0	32,0	30,8	0,1	0,2
04/01/2008	9	28,0	28,2	28,6	27,8	28,2	3,58	2,83	30,8	32,6	28,4	0,1	0,2
08/01/2008	10	27,4	27,6	27,5	27,6	27,5	6,35	9,19	31,8	29,6	31,2	0,1	0,2
11/01/2008	11	27,4	27,1	27,1	27,2	27,2	-1,95	7,24	25,8	31,6	31,0	0,1	0,2
15/01/2008	12	26,9	27,1	26,7	26,9	26,9	3,09	10,32	29,2	32,8	31,2	0,1	0,2
18/01/2008	13	26,8	26,8	26,7	26,8	26,8	3,63	13,95	29,4	31,8	30,6	0,1	0,2
22/01/2008	14	26,5	26,4	26,4	26,3	26,4	3,51	17,46	29,0	32,6	32,4	0,1	0,2
25/01/2008	15	26,1	26,2	26,1	26,1	26,1	7,48	24,94	31,8	33,4	32,8	0,1	0,2
29/01/2008	16	26,0	25,9	25,8	25,9	25,9	10,85	35,79	33,2	29,6	33,0	0,1	0,2
01/02/2008	17	25,4	25,6	25,6	25,5	25,5	6,96	42,75	31,0	34,6	31,2	0,1	0,2
05/02/2008	18	25,0	25,1	25,1	25,1	25,1	11,25	54,01	32,8	30,2	33,0	0,1	0,2
08/02/2008	19	24,8	24,7	24,9	24,7	24,8	11,26	65,27	32,4	29,8	32,4	0,1	0,2
12/02/2008	20	24,3	24,5	24,3	24,3	24,4	9,54	74,80	31,2	31,6	30,8	0,1	0,2
15/02/2008	21	24,1	24,1	24,3	24,1	24,2	13,08	87,88	33,6	31,8	31,2	0,1	0,2
19/02/2008	22	23,7	23,7	23,8	23,7	23,7	7,21	95,09	29,0	32,2	30,8	0,1	0,2
22/02/2008	23	23,7	23,3	23,3	23,5	23,5	11,14	106,22	31,6	32,2	31,6	0,1	0,2
26/02/2008	24	23,4	23,1	23,4	23,4	23,3	9,91	116,14	30,4	31,4	32,2	0,1	0,2
29/02/2008	25	23,1	23,2	23,1	23,1	23,1	10,90	127,04	31,2	32,6	33,0	0,1	0,2
04/03/2008	26	22,8	22,8	22,9	22,7	22,8	12,02	139,06	31,6	32,2	32,6	0,1	0,2
07/03/2008	27	22,3	22,2	22,2	22,1	22,2	13,95	153,01	32,6	32,8	32,4	0,1	0,2
11/03/2008	28	22,0	22,1	22,1	22,2	22,1	13,72	166,73	32,2	32,4	32,2	0,1	0,2
14/03/2008	29	21,8	21,7	21,8	21,8	21,8	13,26	179,99	31,6	32,6	32,8	0,1	0,2
18/03/2008	30	21,5	21,4	21,4	21,4	21,4	14,09	194,08	31,8	32,4	31,6	0,1	0,2
Data	Nº de Leituras	Controle Solo Não Autoclavado							Volume de HCl gasto (mL)				
		1	2	3	4	Média	CO ₂ Gerado (mg/L)	CO ₂ Acumulado (mg/L)	Branco	BaCl ₂	HCl	HCl	KOH

15/11/2007	0												
16/11/2007	1	30,8	30,8	30,6	30,8	30,8	-0,19	-0,19	30,6	35,0	31,2	0,1	0,2
23/11/2007	2	29,8	29,6	29,8	29,8	29,8	0,07	-0,12	29,8	32,0	30,8	0,1	0,2
30/11/2007	3	29,6	29,4	29,4	29,5	29,5	-1,15	-1,27	28,6	33,6	28,2	0,1	0,2
07/12/2007	4	29,4	29,2	29,4	29,4	29,4	-1,12	-2,39	28,6	29,4	30,4	0,1	0,2
14/12/2007	5	29,2	29,2	28,0	29,1	28,9	0,16	-2,23	29,0	34,6	32,2	0,1	0,2
21/12/2007	6	28,8	28,6	28,8	28,8	28,8	1,43	-0,80	29,8	32,4	33,2	0,1	0,2
28/12/2007	7	28,6	28,7	28,6	28,6	28,6	2,48	1,68	30,6	35,0	33,0	0,1	0,2
31/12/2007	8	28,4	28,6	28,4	28,5	28,5	3,47	5,15	31,0	32,0	30,8	0,1	0,2
04/01/2008	9	28,3	28,4	28,4	28,4	28,4	3,27	8,42	30,8	32,6	28,4	0,1	0,2
08/01/2008	10	28,2	28,3	28,3	28,3	28,3	5,24	13,66	31,8	29,6	31,2	0,1	0,2
11/01/2008	11	28,2	28,2	28,1	28,2	28,2	-3,31	10,36	25,8	31,6	31,0	0,1	0,2
15/01/2008	12	28,0	28,1	28,1	28,0	28,1	1,54	11,90	29,2	32,8	31,2	0,1	0,2
18/01/2008	13	27,8	27,9	27,9	27,8	27,9	2,14	14,04	29,4	31,8	30,6	0,1	0,2
22/01/2008	14	27,8	27,8	27,8	27,6	27,8	1,69	15,73	29,0	32,6	32,4	0,1	0,2
25/01/2008	15	27,5	27,6	27,6	27,6	27,6	5,57	21,30	31,8	33,4	32,8	0,1	0,2
29/01/2008	16	27,4	27,4	27,4	27,3	27,4	8,66	29,96	33,2	29,6	33,0	0,1	0,2
01/02/2008	17	27,2	27,3	27,3	27,3	27,3	4,74	34,69	31,0	34,6	31,2	0,1	0,2
05/02/2008	18	27,0	27,3	27,2	27,2	27,2	8,20	42,89	32,8	30,2	33,0	0,1	0,2
08/02/2008	19	27,0	27,1	27,1	27,0	27,1	7,90	50,79	32,4	29,8	32,4	0,1	0,2
12/02/2008	20	26,9	26,9	26,8	26,9	26,9	6,02	56,81	31,2	31,6	30,8	0,1	0,2
15/02/2008	21	26,8	26,9	26,8	26,8	26,8	9,37	66,18	33,6	31,8	31,2	0,1	0,2
19/02/2008	22	26,5	26,7	26,7	26,6	26,6	3,25	69,43	29,0	32,2	30,8	0,1	0,2
22/02/2008	23	26,5	26,5	26,6	26,5	26,5	6,93	76,36	31,6	32,2	31,6	0,1	0,2
26/02/2008	24	26,4	26,5	26,5	26,5	26,5	5,50	81,86	30,4	31,4	32,2	0,1	0,2
29/02/2008	25	26,4	26,4	26,4	26,3	26,4	6,51	88,38	31,2	32,6	33,0	0,1	0,2
04/03/2008	26	26,3	26,3	26,2	26,3	26,3	7,28	95,65	31,6	32,2	32,6	0,1	0,2
07/03/2008	27	25,8	25,9	26,0	25,8	25,9	9,02	104,67	32,6	32,8	32,4	0,1	0,2
11/03/2008	28	25,5	25,6	25,5	25,5	25,5	9,06	113,74	32,2	32,4	32,2	0,1	0,2
14/03/2008	29	24,9	24,9	25,0	24,8	24,9	9,04	122,78	31,6	32,6	32,8	0,1	0,2
18/03/2008	30	24,3	24,4	24,5	24,4	24,4	10,05	132,83	31,8	32,4	31,6	0,1	0,2
Controle Solo Autoclavado + Garrafa													
Volume de HCl gasto (mL)													
Data	Nº de Leituras	1	2	3	4	Média	CO ₂ Gerado (mg/L)	CO ₂ Acumulado (mg/L)	Branco	BaCl ₂	HCl	HCl	KOH
15/11/2007	0												
16/11/2007	1	32,3	32,1	32,3	32,2	32,2	-2,04	-2,04	30,6	35,0	31,2	0,1	0,2
23/11/2007	2	32,2	32,1	32,2	32,2	32,2	-3,27	-5,31	29,8	32,0	30,8	0,1	0,2
30/11/2007	3	32,0	32,0	32,1	32,0	32,0	-4,49	-9,79	28,6	33,6	28,2	0,1	0,2
07/12/2007	4	31,8	31,9	31,8	31,8	31,8	-4,83	-14,62	28,6	29,4	30,4	0,1	0,2

14/12/2007	5	31,6	31,8	31,6	31,6	31,7	-3,37	-17,99	29,0	34,6	32,2	0,1	0,2
21/12/2007	6	31,2	31,4	31,2	31,2	31,3	-1,97	-19,96	29,8	32,4	33,2	0,1	0,2
28/12/2007	7	31,0	31,1	31,0	31,2	31,1	-0,60	-20,56	30,6	35,0	33,0	0,1	0,2
31/12/2007	8	30,7	30,8	30,7	30,7	30,7	0,38	-20,18	31,0	32,0	30,8	0,1	0,2
04/01/2008	9	30,5	30,6	30,5	30,6	30,6	0,34	-19,84	30,8	32,6	28,4	0,1	0,2
08/01/2008	10	30,2	30,1	30,1	30,3	30,2	2,42	-17,43	31,8	29,6	31,2	0,1	0,2
11/01/2008	11	30,0	30,0	30,1	30,0	30,0	-5,88	-23,31	25,8	31,6	31,0	0,1	0,2
15/01/2008	12	29,9	29,8	29,9	29,9	29,9	-0,91	-24,21	29,2	32,8	31,2	0,1	0,2
18/01/2008	13	29,8	29,8	29,9	29,8	29,8	-0,59	-24,80	29,4	31,8	30,6	0,1	0,2
22/01/2008	14	29,6	29,6	29,8	29,6	29,7	-0,88	-25,68	29,0	32,6	32,4	0,1	0,2
25/01/2008	15	29,5	29,3	29,5	29,5	29,5	3,10	-22,58	31,8	33,4	32,8	0,1	0,2
29/01/2008	16	29,2	29,3	29,3	29,2	29,3	5,87	-16,71	33,2	29,6	33,0	0,1	0,2
01/02/2008	17	29,1	29,2	29,2	29,2	29,2	2,32	-14,39	31,0	34,6	31,2	0,1	0,2
05/02/2008	18	29,1	29,1	29,1	29,0	29,1	5,43	-8,96	32,8	30,2	33,0	0,1	0,2
08/02/2008	19	29,0	29,0	29,1	29,0	29,0	4,98	-3,98	32,4	29,8	32,4	0,1	0,2
12/02/2008	20	28,8	28,9	28,9	28,9	28,9	3,24	-0,74	31,2	31,6	30,8	0,1	0,2
15/02/2008	21	28,7	28,8	28,8	28,8	28,8	6,68	5,93	33,6	31,8	31,2	0,1	0,2
19/02/2008	22	28,6	28,7	28,6	28,6	28,6	0,51	6,45	29,0	32,2	30,8	0,1	0,2
22/02/2008	23	28,2	28,4	28,2	28,2	28,3	4,58	11,02	31,6	32,2	31,6	0,1	0,2
26/02/2008	24	28,1	28,3	28,1	28,1	28,2	3,15	14,18	30,4	31,4	32,2	0,1	0,2
29/02/2008	25	28,0	28,1	28,1	28,1	28,1	4,22	18,39	31,2	32,6	33,0	0,1	0,2
04/03/2008	26	27,6	27,7	27,7	27,7	27,7	5,36	23,76	31,6	32,2	32,6	0,1	0,2
07/03/2008	27	27,5	27,7	27,5	27,5	27,6	6,77	30,53	32,6	32,8	32,4	0,1	0,2
11/03/2008	28	27,4	27,5	27,4	27,4	27,4	6,48	37,02	32,2	32,4	32,2	0,1	0,2
14/03/2008	29	27,4	27,3	27,4	27,4	27,4	5,70	42,72	31,6	32,6	32,8	0,1	0,2
18/03/2008	30	27,3	27,3	27,2	27,2	27,3	6,18	48,90	31,8	32,4	31,6	0,1	0,2
Controle Solo Não Autoclavado + Garrafa													
Volume de HCl gasto (mL)													
Data	Nº de Leituras	1	2	3	4	Média	CO ₂ Gerado (mg/L)	CO ₂ Acumulado (mg/L)	Branco	BaCl ₂	HCl	HCl	KOH
15/11/2007	0												
16/11/2007	1	30,7	30,5	30,7	30,7	30,7	-0,06	-0,06	30,6	35,0	31,2	0,1	0,2
23/11/2007	2	30,6	30,2	30,7	30,6	30,5	-1,00	-1,06	29,8	32,0	30,8	0,1	0,2
30/11/2007	3	30,6	30,2	30,6	30,6	30,5	-2,49	-3,55	28,6	33,6	28,2	0,1	0,2
07/12/2007	4	30,2	30,4	30,4	30,4	30,4	-2,62	-6,17	28,6	29,4	30,4	0,1	0,2
14/12/2007	5	30,2	30,0	30,2	30,2	30,2	-1,46	-7,63	29,0	34,6	32,2	0,1	0,2
21/12/2007	6	30,1	30,0	30,1	30,1	30,1	-0,37	-8,00	29,8	32,4	33,2	0,1	0,2
28/12/2007	7	30,0	30,0	30,1	30,0	30,0	0,72	-7,28	30,6	35,0	33,0	0,1	0,2
31/12/2007	8	29,7	29,8	29,8	29,7	29,8	1,72	-5,56	31,0	32,0	30,8	0,1	0,2
04/01/2008	9	29,7	29,6	29,6	29,7	29,7	1,55	-4,01	30,8	32,6	28,4	0,1	0,2

08/01/2008	10	29,6	29,6	29,6	29,6	29,6	3,27	-0,74	31,8	29,6	31,2	0,1	0,2
11/01/2008	11	29,4	29,2	29,2	29,4	29,3	-4,87	-5,61	25,8	31,6	31,0	0,1	0,2
15/01/2008	12	29,4	29,2	29,2	29,2	29,3	-0,07	-5,68	29,2	32,8	31,2	0,1	0,2
18/01/2008	13	29,2	29,2	29,2	29,2	29,2	0,28	-5,40	29,4	31,8	30,6	0,1	0,2
22/01/2008	14	29,1	29,0	29,0	29,0	29,0	-0,03	-5,44	29,0	32,6	32,4	0,1	0,2
25/01/2008	15	28,8	28,8	28,8	28,8	28,8	3,95	-1,48	31,8	33,4	32,8	0,1	0,2
29/01/2008	16	28,7	28,7	28,7	28,4	28,6	6,80	5,32	33,2	29,6	33,0	0,1	0,2
01/02/2008	17	28,5	28,6	28,6	28,6	28,6	3,08	8,40	31,0	34,6	31,2	0,1	0,2
05/02/2008	18	28,4	28,4	28,4	28,3	28,4	6,45	14,85	32,8	30,2	33,0	0,1	0,2
08/02/2008	19	28,2	28,3	28,3	28,1	28,2	6,16	21,01	32,4	29,8	32,4	0,1	0,2
12/02/2008	20	28,0	28,2	28,2	28,1	28,1	4,28	25,29	31,2	31,6	30,8	0,1	0,2
15/02/2008	21	28,0	28,1	28,1	28,0	28,1	7,68	32,97	33,6	31,8	31,2	0,1	0,2
19/02/2008	22	27,8	27,4	27,4	27,6	27,6	1,98	34,95	29,0	32,2	30,8	0,1	0,2
22/02/2008	23	27,5	27,4	27,4	27,5	27,5	5,67	40,62	31,6	32,2	31,6	0,1	0,2
26/02/2008	24	27,4	27,4	27,4	27,5	27,4	4,17	44,79	30,4	31,4	32,2	0,1	0,2
29/02/2008	25	27,4	27,3	27,3	27,3	27,3	5,23	50,02	31,2	32,6	33,0	0,1	0,2
04/03/2008	26	27,3	27,2	27,2	27,3	27,3	5,94	55,97	31,6	32,2	32,6	0,1	0,2
07/03/2008	27	27,0	27,1	27,1	27,1	27,1	7,41	63,38	32,6	32,8	32,4	0,1	0,2
11/03/2008	28	26,9	26,9	26,9	27,0	26,9	7,16	70,54	32,2	32,4	32,2	0,1	0,2
14/03/2008	29	26,8	26,8	26,8	25,7	26,5	6,85	77,39	31,6	32,6	32,8	0,1	0,2
18/03/2008	30	25,7	25,8	25,8	25,8	25,8	8,18	85,57	31,8	32,4	31,6	0,1	0,2
		Controle Solo Autoclavado + Pellets							Volume de HCl gasto (mL)				
Data	Nº de Leituras	1	2	3	4	Média	CO ₂ Gerado (mg/L)	CO ₂ Acumulado (mg/L)	Branco	BaCl ₂	HCl	HCl	KOH
15/11/2007	0												
16/11/2007	1	33,4	33,4	33,2	33,3	33,3	-3,43	-3,43	30,6	35,0	31,2	0,1	0,2
23/11/2007	2	33,4	33,3	33,3	33,2	33,3	-4,81	-8,24	29,8	32,0	30,8	0,1	0,2
30/11/2007	3	33,2	33,2	33,3	33,2	33,2	-6,06	-14,29	28,6	33,6	28,2	0,1	0,2
07/12/2007	4	33,0	33,1	33,1	33,1	33,1	-6,70	-20,99	28,6	29,4	30,4	0,1	0,2
14/12/2007	5	33,0	33,0	33,1	33,0	33,0	-5,12	-26,11	29,0	34,6	32,2	0,1	0,2
21/12/2007	6	32,6	32,7	32,7	32,8	32,7	-3,94	-30,05	29,8	32,4	33,2	0,1	0,2
28/12/2007	7	32,1	32,0	32,1	32,3	32,1	-1,92	-31,97	30,6	35,0	33,0	0,1	0,2
31/12/2007	8	31,9	31,9	31,7	31,7	31,8	-1,10	-33,07	31,0	32,0	30,8	0,1	0,2
04/01/2008	9	31,6	31,7	31,7	31,7	31,7	-1,18	-34,25	30,8	32,6	28,4	0,1	0,2
08/01/2008	10	31,4	31,4	31,6	31,4	31,5	0,52	-33,73	31,8	29,6	31,2	0,1	0,2
11/01/2008	11	31,2	31,4	31,2	31,2	31,3	-7,59	-41,32	25,8	31,6	31,0	0,1	0,2
15/01/2008	12	31,1	31,2	31,1	31,2	31,2	-2,62	-43,93	29,2	32,8	31,2	0,1	0,2
18/01/2008	13	31,0	31,0	31,1	31,0	31,0	-2,25	-46,18	29,4	31,8	30,6	0,1	0,2
22/01/2008	14	29,8	29,8	29,4	29,7	29,7	-0,91	-47,09	29,0	32,6	32,4	0,1	0,2

25/01/2008	15	29,5	29,5	29,4	29,5	29,5	3,06	-44,03	31,8	33,4	32,8	0,1	0,2
29/01/2008	16	29,4	29,4	29,4	29,1	29,3	5,76	-38,27	33,2	29,6	33,0	0,1	0,2
01/02/2008	17	29,1	29,1	29,0	29,0	29,1	2,48	-35,79	31,0	34,6	31,2	0,1	0,2
05/02/2008	18	28,9	28,9	29,0	28,9	28,9	5,65	-30,14	32,8	30,2	33,0	0,1	0,2
08/02/2008	19	28,9	28,8	28,8	28,8	28,8	5,28	-24,86	32,4	29,8	32,4	0,1	0,2
12/02/2008	20	28,6	28,8	28,7	28,6	28,7	3,52	-21,35	31,2	31,6	30,8	0,1	0,2
15/02/2008	21	28,6	28,4	28,6	28,6	28,6	6,99	-14,36	33,6	31,8	31,2	0,1	0,2
19/02/2008	22	28,4	28,4	28,1	28,3	28,3	0,96	-13,40	29,0	32,2	30,8	0,1	0,2
22/02/2008	23	28,2	28,2	28,1	28,2	28,2	4,68	-8,72	31,6	32,2	31,6	0,1	0,2
26/02/2008	24	28,1	28,2	28,0	28,1	28,1	3,22	-5,50	30,4	31,4	32,2	0,1	0,2
29/02/2008	25	28,1	28,1	28,0	28,0	28,1	4,25	-1,25	31,2	32,6	33,0	0,1	0,2
04/03/2008	26	28,0	28,0	28,0	27,8	28,0	4,99	3,74	31,6	32,2	32,6	0,1	0,2
07/03/2008	27	27,9	27,9	27,8	27,9	27,9	6,34	10,08	32,6	32,8	32,4	0,1	0,2
11/03/2008	28	27,9	27,8	27,8	27,8	27,8	5,94	16,02	32,2	32,4	32,2	0,1	0,2
14/03/2008	29	27,7	27,8	27,7	27,6	27,7	5,26	21,28	31,6	32,6	32,8	0,1	0,2
18/03/2008	30	27,6	27,6	27,4	27,6	27,6	5,77	27,05	31,8	32,4	31,6	0,1	0,2
		Controle Solo Não Autoclavado + Pellets							Volume de HCl gasto (mL)				
Data	Nº de Leituras	1	2	3	4	Média	CO ₂ Gerado (mg/L)	CO ₂ Acumulado (mg/L)	Branco	BaCl ₂	HCl	HCl	KOH
15/11/2007	0												
16/11/2007	1	31,8	31,8	31,7	31,8	31,8	-1,48	-1,48	30,6	35,0	31,2	0,1	0,2
23/11/2007	2	31,7	31,7	31,6	31,7	31,7	-2,58	-4,06	29,8	32,0	30,8	0,1	0,2
30/11/2007	3	31,7	31,6	31,6	31,6	31,6	-3,96	-8,02	28,6	33,6	28,2	0,1	0,2
07/12/2007	4	31,4	31,4	31,6	31,5	31,5	-4,30	-12,32	28,6	29,4	30,4	0,1	0,2
14/12/2007	5	31,1	31,4	31,4	31,4	31,3	-2,96	-15,28	29,0	34,6	32,2	0,1	0,2
21/12/2007	6	31,0	31,1	31,1	31,1	31,1	-1,73	-17,01	29,8	32,4	33,2	0,1	0,2
28/12/2007	7	29,7	29,8	29,7	29,7	29,7	1,10	-15,91	30,6	35,0	33,0	0,1	0,2
31/12/2007	8	29,7	29,7	29,7	29,4	29,6	1,89	-14,02	31,0	32,0	30,8	0,1	0,2
04/01/2008	9	29,6	29,5	29,6	29,6	29,6	1,65	-12,36	30,8	32,6	28,4	0,1	0,2
08/01/2008	10	29,5	29,4	29,4	29,1	29,4	3,64	-8,72	31,8	29,6	31,2	0,1	0,2
11/01/2008	11	29,0	29,0	29,1	29,0	29,0	-4,49	-13,21	25,8	31,6	31,0	0,1	0,2
15/01/2008	12	29,0	28,9	28,9	29,0	29,0	0,34	-12,88	29,2	32,8	31,2	0,1	0,2
18/01/2008	13	28,5	28,5	28,8	28,5	28,6	1,14	-11,74	29,4	31,8	30,6	0,1	0,2
22/01/2008	14	28,4	28,4	28,7	28,3	28,5	0,74	-10,99	29,0	32,6	32,4	0,1	0,2
25/01/2008	15	28,1	28,1	28,1	28,3	28,2	4,81	-6,18	31,8	33,4	32,8	0,1	0,2
29/01/2008	16	28,0	28,0	27,9	28,0	28,0	7,77	1,58	33,2	29,6	33,0	0,1	0,2
01/02/2008	17	27,8	27,8	27,8	28,6	28,0	3,82	5,40	31,0	34,6	31,2	0,1	0,2
05/02/2008	18	27,4	27,5	27,5	27,5	27,5	7,76	13,16	32,8	30,2	33,0	0,1	0,2
08/02/2008	19	27,2	27,2	27,3	27,2	27,2	7,64	20,80	32,4	29,8	32,4	0,1	0,2

12/02/2008	20	27,0	26,8	27,0	26,8	26,9	5,99	26,78	31,2	31,6	30,8	0,1	0,2
15/02/2008	21	26,7	26,7	26,8	26,5	26,7	9,58	36,37	33,6	31,8	31,2	0,1	0,2
19/02/2008	22	26,4	26,5	26,4	26,4	26,4	3,52	39,88	29,0	32,2	30,8	0,1	0,2
22/02/2008	23	26,1	26,2	26,2	26,3	26,2	7,38	47,26	31,6	32,2	31,6	0,1	0,2
26/02/2008	24	26,0	25,9	25,9	25,8	25,9	6,31	53,57	30,4	31,4	32,2	0,1	0,2
29/02/2008	25	25,7	25,8	25,7	25,7	25,7	7,39	60,96	31,2	32,6	33,0	0,1	0,2
04/03/2008	26	25,5	25,6	25,6	25,5	25,6	8,27	69,23	31,6	32,2	32,6	0,1	0,2
07/03/2008	27	25,3	25,4	25,3	25,3	25,3	9,76	78,98	32,6	32,8	32,4	0,1	0,2
11/03/2008	28	25,1	25,0	25,1	25,1	25,1	9,68	88,66	32,2	32,4	32,2	0,1	0,2
14/03/2008	29	25,0	25,0	25,1	25,0	25,0	8,87	97,53	31,6	32,6	32,8	0,1	0,2
18/03/2008	30	24,8	25,0	24,8	24,9	24,9	9,40	106,94	31,8	32,4	31,6	0,1	0,2

Apêndice 2. Atividade respiratória obtida para *Pleurotus 001*.

Data	Nº de Leituras	Mmo + Solo Autoclavado + Garrafa							Volume de HCl gasto (mL)				
		1	2	3	4	Média	CO ₂ Gerado (mg/L)	CO ₂ Acumulado (mg/L)	Branco	BaCl ₂	HCl	HCl	KOH
15/11/2007	0												
16/11/2007	1	30,7	30,9	31,2	30,2	30,8	-0,19	-0,19	30,6	35,0	31,2	0,1	0,2
23/11/2007	2	26,8	26,8	25,4	26,2	26,3	4,81	4,62	29,8	32,0	30,8	0,1	0,2
30/11/2007	3	26,4	26,1	24,1	26,3	25,7	3,76	8,39	28,6	33,6	28,2	0,1	0,2
07/12/2007	4	23,1	22,9	22,9	23,2	23,0	8,34	16,73	28,6	29,4	30,4	0,1	0,2
14/12/2007	5	20,2	22	19,4	21	20,7	10,62	27,35	29,0	34,6	32,2	0,1	0,2
21/12/2007	6	21,4	21,1	21,0	21,4	21,2	11,65	39,00	29,8	32,4	33,2	0,1	0,2
28/12/2007	7	12,1	12,1	12,0	12,2	12,1	23,26	62,25	30,6	35,0	33,0	0,1	0,2
31/12/2007	8	10,5	10,3	9,6	10,4	10,2	28,60	90,85	31,0	32,0	30,8	0,1	0,2
04/01/2008	9	5,2	5,1	5,1	5,0	5,1	34,69	125,54	30,8	32,6	28,4	0,1	0,2
08/01/2008	10	6,4	6,1	6,2	6,1	6,2	38,05	163,59	31,8	29,6	31,2	0,1	0,2
11/01/2008	11	7,8	8,0	7,8	7,9	7,9	24,96	188,55	25,8	31,6	31,0	0,1	0,2
15/01/2008	12	9,7	9,8	9,8	9,7	9,8	26,09	214,64	29,2	32,8	31,2	0,1	0,2
18/01/2008	13	11,8	11,9	12,0	11,8	11,9	24,25	238,89	29,4	31,8	30,6	0,1	0,2
22/01/2008	14	13,5	13,4	13,4	13,6	13,5	20,95	259,85	29,0	32,6	32,4	0,1	0,2
25/01/2008	15	14,2	14,2	14,6	14,1	14,3	23,09	282,93	31,8	33,4	32,8	0,1	0,2
29/01/2008	16	14,7	14,7	15,2	14,7	14,8	27,31	310,25	33,2	29,6	33,0	0,1	0,2
01/02/2008	17	15,2	15,2	15,2	15,4	15,3	20,03	330,28	31,0	34,6	31,2	0,1	0,2

05/02/2008	18	15,4	15,5	15,4	15,5	15,5	25,28	355,56	32,8	30,2	33,0	0,1	0,2
08/02/2008	19	15,4	15,7	15,4	15,5	15,5	24,95	380,51	32,4	29,8	32,4	0,1	0,2
12/02/2008	20	16,3	16,3	15,9	16,6	16,3	20,78	401,29	31,2	31,6	30,8	0,1	0,2
15/02/2008	21	16,6	16,4	16,5	16,7	16,6	23,59	424,88	33,6	31,8	31,2	0,1	0,2
19/02/2008	22	17,1	17,1	17,2	17,1	17,1	16,23	441,11	29,0	32,2	30,8	0,1	0,2
22/02/2008	23	17,4	17,2	17,2	17,1	17,2	19,64	460,75	31,6	32,2	31,6	0,1	0,2
26/02/2008	24	17,6	17,5	17,7	17,6	17,6	17,94	478,69	30,4	31,4	32,2	0,1	0,2
29/02/2008	25	18,0	17,8	17,8	17,9	17,9	17,98	496,67	31,2	32,6	33,0	0,1	0,2
04/03/2008	26	18,1	18,0	18,1	18,1	18,1	18,48	515,15	31,6	32,2	32,6	0,1	0,2
07/03/2008	27	18,4	18,4	18,3	18,4	18,4	19,08	534,24	32,6	32,8	32,4	0,1	0,2
11/03/2008	28	18,5	18,5	18,6	18,4	18,5	18,60	552,84	32,2	32,4	32,2	0,1	0,2
14/03/2008	29	18,5	18,6	18,5	18,5	18,5	17,65	570,49	31,6	32,6	32,8	0,1	0,2
18/03/2008	30	18,8	18,7	18,7	18,8	18,8	17,72	588,21	31,8	32,4	31,6	0,1	0,2
		Mmo + Solo Não Autoclavado + Garrafa							Volume de HCl gasto (mL)				
Data	Nº de Leituras	1	2	3	4	Média	CO ₂ Gerado (mg/L)	CO ₂ Acumulado (mg/L)	Branco	BaCl ₂	HCl	HCl	KOH
15/11/2007	0												
16/11/2007	1	28,0	28,1	30,0	28,0	28,5	2,61	2,61	30,6	35,0	31,2	0,1	0,2
23/11/2007	2	27,8	28,0	27,9	27,9	27,9	2,61	5,22	29,8	32,0	30,8	0,1	0,2
30/11/2007	3	27,4	27,6	27,4	27,4	27,5	1,51	6,73	28,6	33,6	28,2	0,1	0,2
07/12/2007	4	27,0	27,1	27,1	27,1	27,1	2,28	9,01	28,6	29,4	30,4	0,1	0,2
14/12/2007	5	26,4	26,6	26,6	26,5	26,5	3,15	12,16	29,0	34,6	32,2	0,1	0,2
21/12/2007	6	26,4	26,2	26,2	26,4	26,3	4,75	16,91	29,8	32,4	33,2	0,1	0,2
28/12/2007	7	13,9	14,0	14,1	14,0	14,0	20,87	37,78	30,6	35,0	33,0	0,1	0,2
31/12/2007	8	12,2	12,1	12,2	12,0	12,1	25,95	63,73	31,0	32,0	30,8	0,1	0,2
04/01/2008	9	10,5	10,4	10,4	10,5	10,5	27,47	91,20	30,8	32,6	28,4	0,1	0,2
08/01/2008	10	10,2	10,2	10,3	10,1	10,2	32,11	123,31	31,8	29,6	31,2	0,1	0,2
11/01/2008	11	9,5	9,6	9,7	9,6	9,6	22,56	145,86	25,8	31,6	31,0	0,1	0,2
15/01/2008	12	9,3	9,1	9,3	9,1	9,2	26,83	172,69	29,2	32,8	31,2	0,1	0,2
18/01/2008	13	8,7	8,9	8,7	8,7	8,8	28,57	201,26	29,4	31,8	30,6	0,1	0,2
22/01/2008	14	9,9	9,8	9,9	9,9	9,9	25,81	227,08	29,0	32,6	32,4	0,1	0,2
25/01/2008	15	12,3	12,4	12,3	12,3	12,3	25,66	252,73	31,8	33,4	32,8	0,1	0,2
29/01/2008	16	14,1	14,2	14,1	14,0	14,1	28,39	281,12	33,2	29,6	33,0	0,1	0,2
01/02/2008	17	14,7	15,0	15,1	15,0	15,0	20,41	301,54	31,0	34,6	31,2	0,1	0,2
05/02/2008	18	15,0	15,1	15,1	15,1	15,1	25,82	327,36	32,8	30,2	33,0	0,1	0,2
08/02/2008	19	15,2	15,3	15,4	15,3	15,3	25,25	352,61	32,4	29,8	32,4	0,1	0,2
12/02/2008	20	15,5	15,6	15,6	15,5	15,6	21,79	374,40	31,2	31,6	30,8	0,1	0,2
15/02/2008	21	15,6	16,1	16,3	16,1	16,0	24,32	398,72	33,6	31,8	31,2	0,1	0,2
19/02/2008	22	16,3	16,2	16,3	16,4	16,3	17,35	416,07	29,0	32,2	30,8	0,1	0,2

22/02/2008	23	16,6	16,3	16,4	16,3	16,4	20,77	436,84	31,6	32,2	31,6	0,1	0,2
26/02/2008	24	17,0	16,9	17,0	17,0	17,0	18,81	455,65	30,4	31,4	32,2	0,1	0,2
29/02/2008	25	17,1	17,2	17,1	17,3	17,2	18,93	474,58	31,2	32,6	33,0	0,1	0,2
04/03/2008	26	17,3	17,1	17,3	17,3	17,3	19,61	494,19	31,6	32,2	32,6	0,1	0,2
07/03/2008	27	17,5	17,3	17,4	17,4	17,4	20,39	514,58	32,6	32,8	32,4	0,1	0,2
11/03/2008	28	17,5	17,4	17,5	17,4	17,5	20,03	534,61	32,2	32,4	32,2	0,1	0,2
14/03/2008	29	17,7	17,6	17,6	17,6	17,6	18,86	553,47	31,6	32,6	32,8	0,1	0,2
18/03/2008	30	17,9	17,9	17,7	17,7	17,8	19,01	572,49	31,8	32,4	31,6	0,1	0,2
Mmo + Solo Autoclavado + Pellets													
Data	Nº de Leituras	1	2	3	4	Média	CO₂ Gerado (mg/L)	CO₂ Acumulado (mg/L)	Volume de HCl gasto (mL)				
									Branco	BaCl₂	HCl	HCl	KOH
15/11/2007	0												
16/11/2007	1	30,1	28,5	28,0	29,0	28,9	2,14	2,14	30,6	35,0	31,2	0,1	0,2
23/11/2007	2	24,3	26,2	26,7	27,9	26,3	4,85	6,98	29,8	32,0	30,8	0,1	0,2
30/11/2007	3	24,4	24,3	23,9	24,0	24,2	5,83	12,81	28,6	33,6	28,2	0,1	0,2
07/12/2007	4	21,8	21,9	22,1	22,0	22,0	9,95	22,76	28,6	29,4	30,4	0,1	0,2
14/12/2007	5	20,1	20,0	20,1	20,2	20,1	11,32	34,08	29,0	34,6	32,2	0,1	0,2
21/12/2007	6	11,8	11,6	12,2	21,4	14,3	21,12	55,20	29,8	32,4	33,2	0,1	0,2
28/12/2007	7	7,8	7,8	7,6	7,7	7,7	28,76	83,96	30,6	35,0	33,0	0,1	0,2
31/12/2007	8	5,2	5,2	5,6	5,1	5,3	35,37	119,33	31,0	32,0	30,8	0,1	0,2
04/01/2008	9	3,2	3,1	3,0	3,1	3,1	37,39	156,71	30,8	32,6	28,4	0,1	0,2
08/01/2008	10	1,8	2,0	1,9	2,1	2,0	44,37	201,09	31,8	29,6	31,2	0,1	0,2
11/01/2008	11	3,5	3,7	3,7	3,5	3,6	30,91	232,00	25,8	31,6	31,0	0,1	0,2
15/01/2008	12	5,8	5,8	6,0	6,1	5,9	31,22	263,22	29,2	32,8	31,2	0,1	0,2
18/01/2008	13	9,5	9,4	9,6	9,4	9,5	27,57	290,79	29,4	31,8	30,6	0,1	0,2
22/01/2008	14	11,6	11,7	11,8	11,7	11,7	23,35	314,14	29,0	32,6	32,4	0,1	0,2
25/01/2008	15	14,2	14,0	13,9	13,8	14,0	23,48	337,62	31,8	33,4	32,8	0,1	0,2
29/01/2008	16	15,6	15,5	15,5	16,0	15,7	26,09	363,71	33,2	29,6	33,0	0,1	0,2
01/02/2008	17	15,4	15,6	15,0	15,6	15,4	19,84	383,55	31,0	34,6	31,2	0,1	0,2
05/02/2008	18	15,6	15,6	15,6	15,5	15,6	25,10	408,64	32,8	30,2	33,0	0,1	0,2
08/02/2008	19	15,8	16,5	16,0	16,2	16,1	24,03	432,67	32,4	29,8	32,4	0,1	0,2
12/02/2008	20	16,5	16,2	16,6	16,3	16,4	20,61	453,28	31,2	31,6	30,8	0,1	0,2
15/02/2008	21	16,5	16,5	16,7	16,7	16,6	23,52	476,80	33,6	31,8	31,2	0,1	0,2
19/02/2008	22	17,2	17,0	17,1	17,0	17,1	16,30	493,10	29,0	32,2	30,8	0,1	0,2
22/02/2008	23	17,3	17,2	17,2	17,3	17,3	19,61	512,71	31,6	32,2	31,6	0,1	0,2
26/02/2008	24	17,8	17,8	17,6	17,5	17,7	17,83	530,54	30,4	31,4	32,2	0,1	0,2
29/02/2008	25	18,1	18	18,1	18,1	18,1	17,71	548,25	31,2	32,6	33,0	0,1	0,2
04/03/2008	26	18,2	18,2	18,1	18,1	18,2	18,38	566,63	31,6	32,2	32,6	0,1	0,2
07/03/2008	27	18,3	18,3	18,1	18,2	18,2	19,28	585,91	32,6	32,8	32,4	0,1	0,2

11/03/2008	28	18,5	18,5	18,3	18,4	18,4	18,71	604,62	32,2	32,4	32,2	0,1	0,2
14/03/2008	29	18,5	18,5	18,6	18,5	18,5	17,65	622,27	31,6	32,6	32,8	0,1	0,2
18/03/2008	30	18,7	18,6	18,6	18,7	18,7	17,86	640,13	31,8	32,4	31,6	0,1	0,2
Mmo + Solo Não Autoclavado + Pellets									Volume de HCl gasto (mL)				
Data	Nº de Leituras	1	2	3	4	Média	CO₂ Gerado (mg/L)	CO₂ Acumulado (mg/L)	Branco	BaCl₂	HCl	HCl	KOH
15/11/2007	0												
16/11/2007	1	31,1	29,4	29,2	29,4	29,8	1,04	1,04	30,6	35,0	31,2	0,1	0,2
23/11/2007	2	30,3	29,3	29,1	29,3	29,5	0,41	1,45	29,8	32,0	30,8	0,1	0,2
30/11/2007	3	30,1	28,9	28,8	28,9	29,2	-0,75	0,70	28,6	33,6	28,2	0,1	0,2
07/12/2007	4	29,6	28,5	28,5	28,5	28,8	-0,26	0,43	28,6	29,4	30,4	0,1	0,2
14/12/2007	5	29,4	29,1	29,1	29,2	29,2	-0,25	0,18	29,0	34,6	32,2	0,1	0,2
21/12/2007	6	28,5	28,3	28,5	28,4	28,4	1,87	2,05	29,8	32,4	33,2	0,1	0,2
28/12/2007	7	17,8	17,7	17,8	17,6	17,7	16,19	18,23	30,6	35,0	33,0	0,1	0,2
31/12/2007	8	17,5	17,5	17,5	17,6	17,5	18,53	36,76	31,0	32,0	30,8	0,1	0,2
04/01/2008	9	17,5	17,6	17,6	17,7	17,6	17,82	54,58	30,8	32,6	28,4	0,1	0,2
08/01/2008	10	17,3	17,1	17,2	17,3	17,2	21,67	76,24	31,8	29,6	31,2	0,1	0,2
11/01/2008	11	17,0	17,1	17,1	17,2	17,1	12,11	88,36	25,8	31,6	31,0	0,1	0,2
15/01/2008	12	16,7	16,9	16,7	16,7	16,8	16,70	105,06	29,2	32,8	31,2	0,1	0,2
18/01/2008	13	16,6	16,7	16,5	16,6	16,6	17,71	122,77	29,4	31,8	30,6	0,1	0,2
22/01/2008	14	16,2	16,4	16,4	16,3	16,3	17,11	139,88	29,0	32,6	32,4	0,1	0,2
25/01/2008	15	16,1	16,3	16,1	16,1	16,2	20,62	160,49	31,8	33,4	32,8	0,1	0,2
29/01/2008	16	15,9	16,0	15,9	15,9	15,9	25,68	186,17	33,2	29,6	33,0	0,1	0,2
01/02/2008	17	15,7	15,6	15,8	15,7	15,7	19,46	205,63	31,0	34,6	31,2	0,1	0,2
05/02/2008	18	15,7	15,8	15,8	15,7	15,8	24,84	230,47	32,8	30,2	33,0	0,1	0,2
08/02/2008	19	15,3	15,5	15,3	15,5	15,4	25,10	255,57	32,4	29,8	32,4	0,1	0,2
12/02/2008	20	15,1	15,4	15,1	15,5	15,3	22,17	277,74	31,2	31,6	30,8	0,1	0,2
15/02/2008	21	15,6	15,6	15,7	15,5	15,6	24,91	302,65	33,6	31,8	31,2	0,1	0,2
19/02/2008	22	15,7	15,4	15,7	15,7	15,6	18,28	320,93	29,0	32,2	30,8	0,1	0,2
22/02/2008	23	15,9	15,8	15,9	15,9	15,9	21,49	342,41	31,6	32,2	31,6	0,1	0,2
26/02/2008	24	15,9	15,9	16,0	15,9	15,9	20,28	362,70	30,4	31,4	32,2	0,1	0,2
29/02/2008	25	16,2	16,1	16,2	16,2	16,2	20,28	382,98	31,2	32,6	33,0	0,1	0,2
04/03/2008	26	16,3	16,3	16,2	16,3	16,3	20,94	403,92	31,6	32,2	32,6	0,1	0,2
07/03/2008	27	16,9	16,8	16,9	16,7	16,8	21,16	425,08	32,6	32,8	32,4	0,1	0,2
11/03/2008	28	17,2	17,1	17,3	17,1	17,2	20,40	445,48	32,2	32,4	32,2	0,1	0,2
14/03/2008	29	17,6	17,7	17,5	17,5	17,6	18,93	464,41	31,6	32,6	32,8	0,1	0,2
18/03/2008	30	17,9	17,9	17,9	17,8	17,9	18,91	483,32	31,8	32,4	31,6	0,1	0,2

Apêndice 3. Atividade respiratória obtida para *Pleurotus Tailândia*.

Data	Nº de Leituras	Mmo + Solo Autoclavado + Garrafa							Volume de HCl gasto (mL)				
		1	2	3	4	Média	CO ₂ Gerado (mg/L)	CO ₂ Acumulado (mg/L)	Branco	BaCl ₂	HCl	HCl	KOH
15/11/2007	0												
16/11/2007	1	28,5	27,5	29,0	26,7	27,9	3,36	3,36	30,6	35,0	31,2	0,1	0,2
23/11/2007	2	22,0	23,4	26,9	25,8	24,5	7,25	10,62	29,8	32,0	30,8	0,1	0,2
30/11/2007	3	25,2	25,4	26,0	24,8	25,4	4,26	14,87	28,6	33,6	28,2	0,1	0,2
07/12/2007	4	24,3	24,0	24,2	24,1	24,2	6,66	21,53	28,6	29,4	30,4	0,1	0,2
14/12/2007	5	21,8	22,0	21,9	22,1	22,0	8,97	30,50	29,0	34,6	32,2	0,1	0,2
21/12/2007	6	20,3	20,0	20,2	20,3	20,2	13,04	43,53	29,8	32,4	33,2	0,1	0,2
28/12/2007	7	11,4	13,0	13,2	11,6	12,3	23,01	66,54	30,6	35,0	33,0	0,1	0,2
31/12/2007	8	9,3	9,2	9,3	9,1	9,2	29,94	96,48	31,0	32,0	30,8	0,1	0,2
04/01/2008	9	6,4	6,6	6,4	6,2	6,4	32,93	129,41	30,8	32,6	28,4	0,1	0,2
08/01/2008	10	4,1	3,9	4,1	4,0	4,0	41,29	170,70	31,8	29,6	31,2	0,1	0,2
11/01/2008	11	3,0	3,1	3,4	3,1	3,2	31,54	202,24	25,8	31,6	31,0	0,1	0,2
15/01/2008	12	5,6	5,8	5,6	5,7	5,7	31,56	233,80	29,2	32,8	31,2	0,1	0,2
18/01/2008	13	8,8	8,8	8,9	8,8	8,8	28,47	262,26	29,4	31,8	30,6	0,1	0,2
22/01/2008	14	10,2	10,5	10,1	10,0	10,2	25,37	287,64	29,0	32,6	32,4	0,1	0,2
25/01/2008	15	12,5	12,6	12,4	12,5	12,5	25,43	313,06	31,8	33,4	32,8	0,1	0,2
29/01/2008	16	14,1	14,2	13,8	13,8	14,0	28,58	341,64	33,2	29,6	33,0	0,1	0,2
01/02/2008	17	15,5	14,5	15,5	15,4	15,2	20,06	361,70	31,0	34,6	31,2	0,1	0,2
05/02/2008	18	15,1	15,3	15,1	15,0	15,1	25,75	387,45	32,8	30,2	33,0	0,1	0,2
08/02/2008	19	15,7	15,6	15,7	15,6	15,7	24,73	412,19	32,4	29,8	32,4	0,1	0,2
12/02/2008	20	15,9	15,6	15,9	15,6	15,8	21,51	433,70	31,2	31,6	30,8	0,1	0,2
15/02/2008	21	16,5	15,9	15,6	15,9	16,0	24,39	458,09	33,6	31,8	31,2	0,1	0,2
19/02/2008	22	17,3	17,2	17,1	17,3	17,2	16,09	474,18	29,0	32,2	30,8	0,1	0,2
22/02/2008	23	17,4	17,3	17,4	17,3	17,4	19,47	493,65	31,6	32,2	31,6	0,1	0,2
26/02/2008	24	17,7	17,6	17,8	17,7	17,7	17,80	511,44	30,4	31,4	32,2	0,1	0,2
29/02/2008	25	17,9	17,9	17,8	17,9	17,9	17,98	529,43	31,2	32,6	33,0	0,1	0,2
04/03/2008	26	18,0	18,2	18,2	18,1	18,1	18,41	547,84	31,6	32,2	32,6	0,1	0,2
07/03/2008	27	18,2	18,2	18,3	18,2	18,2	19,28	567,12	32,6	32,8	32,4	0,1	0,2
11/03/2008	28	18,5	18,5	18,4	18,4	18,5	18,67	585,80	32,2	32,4	32,2	0,1	0,2
14/03/2008	29	18,7	18,7	18,6	18,7	18,7	17,44	603,24	31,6	32,6	32,8	0,1	0,2
18/03/2008	30	18,9	18,8	18,7	18,9	18,8	17,62	620,86	31,8	32,4	31,6	0,1	0,2
Data	Nº de Leituras	Mmo + Solo Não Autoclavado + Garrafa							Volume de HCl gasto (mL)				
		1	2	3	4	Média	CO ₂ Gerado (mg/L)	CO ₂ Acumulado (mg/L)	Branco	BaCl ₂	HCl	HCl	KOH

16/11/2007	1	25,9	25,9	26,0	25,9	25,9	5,88	5,88	30,6	35,0	31,2	0,1	0,2
23/11/2007	2	25,4	25,7	25,6	25,7	25,6	5,78	11,65	29,8	32,0	30,8	0,1	0,2
30/11/2007	3	25,1	25,1	25,2	25,3	25,2	4,49	16,14	28,6	33,6	28,2	0,1	0,2
07/12/2007	4	24,9	24,9	24,7	24,9	24,9	5,61	21,75	28,6	29,4	30,4	0,1	0,2
14/12/2007	5	24,1	24,0	24,2	24,1	24,1	6,23	27,98	29,0	34,6	32,2	0,1	0,2
21/12/2007	6	23,6	23,6	23,5	23,4	23,5	8,52	36,50	29,8	32,4	33,2	0,1	0,2
28/12/2007	7	12,8	12,6	12,5	12,6	12,6	22,60	59,10	30,6	35,0	33,0	0,1	0,2
31/12/2007	8	12,5	12,4	12,5	12,5	12,5	25,47	84,57	31,0	32,0	30,8	0,1	0,2
04/01/2008	9	11,8	11,8	11,6	11,7	11,7	25,75	110,32	30,8	32,6	28,4	0,1	0,2
08/01/2008	10	11,6	11,4	11,4	11,6	11,5	30,18	140,49	31,8	29,6	31,2	0,1	0,2
11/01/2008	11	11,2	11,3	11,1	11,2	11,2	20,33	160,82	25,8	31,6	31,0	0,1	0,2
15/01/2008	12	10,5	10,3	10,5	10,5	10,5	25,15	185,97	29,2	32,8	31,2	0,1	0,2
18/01/2008	13	10,5	10,5	10,3	10,4	10,4	26,25	212,23	29,4	31,8	30,6	0,1	0,2
22/01/2008	14	10,8	10,9	10,8	10,8	10,8	24,53	236,76	29,0	32,6	32,4	0,1	0,2
25/01/2008	15	11,1	11,4	11,4	11,3	11,3	27,01	263,77	31,8	33,4	32,8	0,1	0,2
29/01/2008	16	11,2	11,2	11,1	11,3	11,2	32,70	296,47	33,2	29,6	33,0	0,1	0,2
01/02/2008	17	11,6	11,5	11,7	11,6	11,6	24,67	321,14	31,0	34,6	31,2	0,1	0,2
05/02/2008	18	11,9	12,0	11,9	11,9	11,9	30,41	351,55	32,8	30,2	33,0	0,1	0,2
08/02/2008	19	11,9	12,1	11,9	12,0	12,0	30,16	381,71	32,4	29,8	32,4	0,1	0,2
12/02/2008	20	12,3	12,3	12,4	12,5	12,4	26,21	407,92	31,2	31,6	30,8	0,1	0,2
15/02/2008	21	12,5	12,7	12,7	12,7	12,7	28,99	436,91	33,6	31,8	31,2	0,1	0,2
19/02/2008	22	12,6	12,5	12,6	12,5	12,6	22,48	459,39	29,0	32,2	30,8	0,1	0,2
22/02/2008	23	12,9	13	12,9	12,9	12,9	25,52	484,91	31,6	32,2	31,6	0,1	0,2
26/02/2008	24	13,2	13,4	13,5	13,2	13,3	23,93	508,83	30,4	31,4	32,2	0,1	0,2
29/02/2008	25	13,3	13,4	13,4	13,3	13,4	24,09	532,93	31,2	32,6	33,0	0,1	0,2
04/03/2008	26	13,9	13,8	13,8	13,8	13,8	24,29	557,21	31,6	32,2	32,6	0,1	0,2
07/03/2008	27	14,5	14,5	14,4	14,6	14,5	24,28	581,49	32,6	32,8	32,4	0,1	0,2
11/03/2008	28	14,8	14,6	14,7	14,7	14,7	23,77	605,26	32,2	32,4	32,2	0,1	0,2
14/03/2008	29	14,9	14,9	14,8	14,7	14,8	22,64	627,90	31,6	32,6	32,8	0,1	0,2
18/03/2008	30	15,3	15,7	15,3	15,3	15,4	22,27	650,17	31,8	32,4	31,6	0,1	0,2
		Mmo + Solo Autoclavado + Pellets							Volume de HCl gasto (mL)				
Data	Nº de Leituras	1	2	3	4	Média	CO ₂ Gerado (mg/L)	CO ₂ Acumulado (mg/L)	Branco	BaCl ₂	HCl	HCl	KOH
16/11/2007	1	26,7	26,7	26,6	26,3	26,6	5,06	5,06	30,6	35,0	31,2	0,1	0,2
23/11/2007	2	24,5	19,6	19,6	23,4	21,8	11,03	16,09	29,8	32,0	30,8	0,1	0,2
30/11/2007	3	26,0	26,8	26,8	26,6	26,6	2,68	18,78	28,6	33,6	28,2	0,1	0,2
07/12/2007	4	24,1	24,3	24,1	24,2	24,2	6,62	25,40	28,6	29,4	30,4	0,1	0,2

14/12/2007	5	21,8	21,7	22,0	21,8	21,8	9,12	34,53	29,0	34,6	32,2	0,1	0,2
21/12/2007	6	19,6	19,5	20,1	19,4	19,7	13,78	48,31	29,8	32,4	33,2	0,1	0,2
28/12/2007	7	14,1	14,1	14,5	14,2	14,2	20,59	68,90	30,6	35,0	33,0	0,1	0,2
31/12/2007	8	7,2	7,4	7,2	7,1	7,2	32,69	101,59	31,0	32,0	30,8	0,1	0,2
04/01/2008	9	4,1	4,0	4,0	3,6	3,9	36,27	137,86	30,8	32,6	28,4	0,1	0,2
08/01/2008	10	2,5	2,6	2,5	2,4	2,5	43,55	181,41	31,8	29,6	31,2	0,1	0,2
11/01/2008	11	3,1	2,8	2,8	3,0	2,9	31,85	213,26	25,8	31,6	31,0	0,1	0,2
15/01/2008	12	6,8	6,6	6,7	6,6	6,7	30,22	243,48	29,2	32,8	31,2	0,1	0,2
18/01/2008	13	7,9	7,9	8,2	8	8,0	29,61	273,09	29,4	31,8	30,6	0,1	0,2
22/01/2008	14	10,1	10,2	10,0	10,1	10,1	25,51	298,60	29,0	32,6	32,4	0,1	0,2
25/01/2008	15	11,8	12,3	12,0	12,0	12,0	26,05	324,65	31,8	33,4	32,8	0,1	0,2
29/01/2008	16	14,1	14,0	14,2	14,2	14,1	28,35	353,01	33,2	29,6	33,0	0,1	0,2
01/02/2008	17	15,5	15,3	15,3	15,3	15,4	19,90	372,91	31,0	34,6	31,2	0,1	0,2
05/02/2008	18	15,4	15,7	15,7	15,6	15,6	25,06	397,97	32,8	30,2	33,0	0,1	0,2
08/02/2008	19	15,4	15,9	15,8	15,6	15,7	24,69	422,66	32,4	29,8	32,4	0,1	0,2
12/02/2008	20	16,3	16,1	16,1	16,2	16,2	20,92	443,58	31,2	31,6	30,8	0,1	0,2
15/02/2008	21	16,5	16,6	16,6	16,4	16,5	23,63	467,21	33,6	31,8	31,2	0,1	0,2
19/02/2008	22	17,1	6,8	17	16,9	14,5	19,88	487,09	29,0	32,2	30,8	0,1	0,2
22/02/2008	23	17,4	17,4	17,3	17,3	17,4	19,47	506,56	31,6	32,2	31,6	0,1	0,2
26/02/2008	24	17,6	17,5	17,6	17,7	17,6	17,94	524,50	30,4	31,4	32,2	0,1	0,2
29/02/2008	25	17,8	17,9	17,8	17,9	17,9	18,02	542,52	31,2	32,6	33,0	0,1	0,2
04/03/2008	26	17,9	18	18	18,1	18,0	18,58	561,10	31,6	32,2	32,6	0,1	0,2
07/03/2008	27	18,1	18,1	18	18,2	18,1	19,45	580,55	32,6	32,8	32,4	0,1	0,2
11/03/2008	28	18,2	18,3	18,1	18,2	18,2	19,01	599,56	32,2	32,4	32,2	0,1	0,2
14/03/2008	29	18,5	18,4	18,4	18,5	18,5	17,75	617,31	31,6	32,6	32,8	0,1	0,2
18/03/2008	30	18,6	18,6	18,5	18,6	18,6	17,96	635,27	31,8	32,4	31,6	0,1	0,2
Mmo + Solo Não Autoclavado + Pellets													
Volume de HCl gasto (mL)													
Data	Nº de Leituras	1	2	3	4	Média	CO ₂ Gerado (mg/L)	CO ₂ Acumulado (mg/L)	Branco	BaCl ₂	HCl	HCl	KOH
16/11/2007	1	29,9	29,8	31,2	31,1	30,5	0,13	0,13	30,6	35,0	31,2	0,1	0,2
23/11/2007	2	29,5	29,6	29,5	29,6	29,6	0,34	0,47	29,8	32,0	30,8	0,1	0,2
30/11/2007	3	29,4	29,4	28,4	29,5	29,2	-0,75	-0,28	28,6	33,6	28,2	0,1	0,2
07/12/2007	4	29,1	29,0	29,2	29,1	29,1	-0,75	-1,03	28,6	29,4	30,4	0,1	0,2
14/12/2007	5	28,7	28,6	28,8	28,7	28,7	0,38	-0,65	29,0	34,6	32,2	0,1	0,2
21/12/2007	6	28,2	28,3	28,1	28,3	28,2	2,14	1,49	29,8	32,4	33,2	0,1	0,2
28/12/2007	7	17,5	17,4	17,5	17,6	17,5	16,47	17,96	30,6	35,0	33,0	0,1	0,2
31/12/2007	8	17,5	17,5	17,2	17,5	17,4	18,67	36,62	31,0	32,0	30,8	0,1	0,2
04/01/2008	9	17,1	17,2	17,2	17,5	17,3	18,29	54,91	30,8	32,6	28,4	0,1	0,2

08/01/2008	10	17,2	17,1	17,3	17,3	17,2	21,67	76,58	31,8	29,6	31,2	0,1	0,2
11/01/2008	11	16,8	16,9	17,0	16,9	16,9	12,39	88,97	25,8	31,6	31,0	0,1	0,2
15/01/2008	12	16,7	16,8	16,7	16,7	16,7	16,73	105,70	29,2	32,8	31,2	0,1	0,2
18/01/2008	13	16,5	16,5	16,5	16,6	16,5	17,81	123,52	29,4	31,8	30,6	0,1	0,2
22/01/2008	14	16,1	16,3	16,3	16,2	16,2	17,24	140,76	29,0	32,6	32,4	0,1	0,2
25/01/2008	15	16,1	16,4	16,1	16,2	16,2	20,55	161,31	31,8	33,4	32,8	0,1	0,2
29/01/2008	16	15,7	15,9	15,7	15,8	15,8	25,90	187,21	33,2	29,6	33,0	0,1	0,2
01/02/2008	17	15,5	15,8	15,8	15,7	15,7	19,46	206,67	31,0	34,6	31,2	0,1	0,2
05/02/2008	18	15,5	15,2	15,6	15,5	15,5	25,28	231,95	32,8	30,2	33,0	0,1	0,2
08/02/2008	19	15,4	15,1	15,4	15,4	15,3	25,21	257,16	32,4	29,8	32,4	0,1	0,2
12/02/2008	20	15,3	15,4	15,4	15,3	15,4	22,07	279,23	31,2	31,6	30,8	0,1	0,2
15/02/2008	21	15,0	15,3	15,2	15,2	15,2	25,49	304,72	33,6	31,8	31,2	0,1	0,2
19/02/2008	22	15,0	15,4	15,3	15,4	15,3	18,75	323,48	29,0	32,2	30,8	0,1	0,2
22/02/2008	23	15,6	15,7	15,6	15,7	15,7	21,80	345,27	31,6	32,2	31,6	0,1	0,2
26/02/2008	24	15,7	15,5	15,6	15,7	15,6	20,70	365,98	30,4	31,4	32,2	0,1	0,2
29/02/2008	25	15,8	15,9	15,9	15,9	15,9	20,68	386,66	31,2	32,6	33,0	0,1	0,2
04/03/2008	26	15,9	15,5	15,9	15,9	15,8	21,59	408,25	31,6	32,2	32,6	0,1	0,2
07/03/2008	27	16,0	15,9	16,0	16,0	16,0	22,30	430,55	32,6	32,8	32,4	0,1	0,2
11/03/2008	28	16,1	15,9	16,2	16,1	16,1	21,90	452,45	32,2	32,4	32,2	0,1	0,2
14/03/2008	29	16,0	16,2	16,2	16,1	16,1	20,89	473,34	31,6	32,6	32,8	0,1	0,2
18/03/2008	30	16,5	16,4	16,5	16,4	16,5	20,85	494,18	31,8	32,4	31,6	0,1	0,2

Apêndice 4. Produção enzimática obtida nos ensaios realizados - FSS.

FERMENTAÇÃO SEMI-SÓLIDA - GARRAFA - *Pleurotus 001*.

Ensaio	Variáveis												Lacase			Lignina Peroxidase			Manganês Peroxidase		
	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	X12	30 dias	60 dias	90 dias	30 dias	60 dias	90 dias	30 dias	60 dias	90 dias
1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	0,000	0,210	0,520	0,000	0,000	0,000	0,322	0,000	0,650
2	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	0,000	0,225	0,000	0,000	0,631	0,000	0,700	0,000	0,755
3	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	0,000	0,311	0,596	0,000	0,000	0,136	0,555	0,000	0,000
4	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	0,000	0,000	0,323	0,405	0,323	0,119	0,652	0,000	0,932
5	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,126	0,454	0,000	0,753

6	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	0,000	0,130	0,486	0,273	0,197	0,119	0,801	0,000	1,049
7	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	0,000	0,228	0,000	0,366	0,000	0,000	0,241	0,000	0,930
8	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	0,000	0,176	1,124	0,466	0,000	0,137	0,637	0,318	1,425
9	1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	0,000	0,000	1,075	0,000	0,000	0,146	0,332	0,000	1,430
10	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	0,000	0,000	0,000	0,251	0,000	0,151	0,000	0,690	0,000
11	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	0,000	0,000	0,599	0,582	0,717	0,000	0,000	0,000	1,677
12	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	0,000	0,236	0,343	0,376	0,090	0,125	0,256	0,986	0,932
13	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	1	0,000	0,148	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,269	0,000
14	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	0,000	0,222	1,152	0,000	0,287	0,156	0,000	0,538	1,560
15	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1	0,000	0,197	0,891	0,000	0,000	0,103	0,161	0,000	1,843
16	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0,000	0,172	0,799	0,000	0,179	0,000	0,781	0,000	3,856
17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,000	0,284	1,275	0,699	1,577	0,161	1,166	1,525	5,291
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,000	0,287	1,277	0,699	1,541	0,154	1,076	1,614	5,022
19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,000	0,269	1,280	0,681	1,559	0,174	1,199	1,435	5,291
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,000	0,294	1,277	0,717	1,541	0,154	1,166	1,614	5,470

FERMENTAÇÃO SEMI-SÓLIDA - GARRAFA - *Pleurotus Tailândia*.

Ensaios	Variáveis												Lacase			Lignina Peroxidase			Manganês Peroxidase		
	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	X12	30 dias	60 dias	90 dias	30 dias	60 dias	90 dias	30 dias	60 dias	90 dias
1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	0,000	0,185	0,164	0,556	0,000	0,950	0,000	0,560	0,000
2	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	0,000	0,000	0,000	0,860	1,953	0,000	0,000	0,420	1,106
3	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	0,000	0,165	0,184	1,290	1,236	0,323	0,170	0,700	0,628
4	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	0,000	0,000	0,000	0,448	0,502	0,556	0,000	0,204	1,152
5	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	0,000	0,196	0,302	0,914	0,000	0,000	0,000	0,663	0,000
6	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	0,000	0,133	0,387	0,401	0,197	0,000	0,136	0,000	0,000
7	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	0,000	0,000	0,000	0,000	2,580	0,860	0,000	0,000	1,408
8	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,358	0,914	0,000	0,672	1,332
9	1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	0,000	0,000	0,374	0,143	0,287	0,000	0,000	0,203	0,000
10	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	0,000	0,000	0,000	0,376	0,000	0,125	0,000	0,000	1,125
11	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	0,000	0,145	0,000	0,340	0,878	1,150	0,000	0,000	1,305
12	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	0,000	0,174	0,000	0,842	1,075	0,681	0,000	0,000	0,484
13	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	1	0,000	0,138	0,120	1,159	0,932	1,138	0,000	0,000	0,636
14	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	0,000	0,164	0,000	0,000	0,125	0,000	0,145	0,000	1,152
15	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1	0,000	0,000	0,151	1,290	0,914	0,197	0,199	0,856	0,000

16	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0,000	0,144	0,107	0,806	0,466	0,000	0,159	0,614	1,470
17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,000	0,294	0,553	0,000	0,000	0,896	0,269	0,897	1,614
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,000	0,297	0,550	0,000	0,000	0,842	0,218	0,897	1,525
19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,000	0,297	0,548	0,000	0,000	0,896	0,359	0,986	1,614
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,000	0,294	0,550	0,000	0,000	0,788	0,269	1,076	1,507

FERMENTAÇÃO SEMI-SÓLIDA - PELLETS - *Pleurotus 001*.

Ensaio	Variáveis												Lacase			Lignina Peroxidase			Manganês Peroxidase		
	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	X12	30 dias	60 dias	90 dias	30 dias	60 dias	90 dias	30 dias	60 dias	90 dias
1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,361	1,435	0,435	0,000
2	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	0,323	0,342	0,000	0,000	0,000	0,256	1,174	0,000	0,000
3	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	0,241	0,000	0,000	0,699	0,000	0,000	2,636	0,000	0,000
4	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	0,123	0,282	0,000	1,381	0,000	0,000	2,824	0,000	0,000
5	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	0,243	0,000	0,000	0,143	0,000	0,396	1,430	0,493	0,000
6	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	0,353	0,000	0,000	0,784	0,000	0,000	0,000	0,306	0,000
7	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	0,177	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,076	0,000	0,000
8	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	0,471	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,457	0,511	0,000
9	1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	0,100	0,000	0,000	0,788	0,000	0,196	1,188	0,000	0,000
10	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	0,000	0,230	0,000	0,000	0,000	0,376	0,000	0,359	0,000
11	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	0,000	0,000	0,000	1,079	0,000	0,595	0,000	0,000	0,000
12	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	0,000	0,000	0,000	0,573	0,000	0,197	0,000	0,000	0,000
13	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	2,022	0,000	0,000
14	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	0,200	0,376	0,000	0,000	0,000	0,358	1,936	0,448	0,000
15	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1	0,325	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,975	0,000	0,000
16	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0,281	0,359	0,000	0,000	0,000	0,000	2,169	0,318	0,000
17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,261	0,159	0,000	1,434	0,000	0,663	5,919	0,538	0,000
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,300	0,141	0,000	1,469	0,000	0,556	7,264	0,717	0,000
19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,289	0,138	0,000	1,416	0,000	0,788	6,098	0,538	0,000
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,305	0,159	0,000	1,469	0,000	0,753	7,982	0,628	0,000

FERMENTAÇÃO SEMI-SÓLIDA - PELLETS - *Pleurotus Tailândia*.

Ensaio	Variáveis												Lacase			Lignina Peroxidase			Manganês Peroxidase		
	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	X12	30 dias	60 dias	90 dias	30 dias	60 dias	90 dias	30 dias	60 dias	90 dias
1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,256	0,000
2	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,645	0,000	0,000	0,000
3	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,358	1,318	0,000	0,000
4	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	2,318	0,538	0,000
5	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
6	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,699	0,717	0,717	0,000
7	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,201	1,256	0,000
8	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,609	0,000	0,430	0,000
9	1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,269	0,000
10	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,205	0,000	0,000
11	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,609	0,663	0,000	0,000
12	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,573	0,000	0,000	0,000
13	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
14	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,628	1,256	0,000
15	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,345	0,000	0,000
16	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,599	1,125	1,435	0,000
17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,673	0,115	0,000	1,577	4,820	1,434	3,677	1,883	0,000
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,809	0,113	0,000	1,595	4,856	1,469	3,587	1,883	0,000
19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,758	0,118	0,000	1,559	4,874	1,559	3,946	1,973	0,000
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,814	0,115	0,000	1,541	4,964	1,452	2,959	1,794	0,000

Apêndice 5. Produção enzimática obtida nos ensaios realizados - FS.

FERMENTAÇÃO SUBMERSA - GARRAFA - *Pleurotus 001*.

Ensaio	Variáveis													Lacase			Lignina Peroxidase			Manganês Peroxidase		
	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	X12	X13	30 dias	60 dias	90 dias	30 dias	60 dias	90 dias	30 dias	60 dias	90 dias
1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	0,687	0,435	0,000	0,000	0,000	0,000	1,762	3,362	7,058
2	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	0,372	0,801	0,000	0,000	0,000	0,000	1,416	6,547	6,098
3	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	0,774	0,947	0,000	0,000	0,000	0,000	1,919	3,587	8,071
4	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	0,000	0,891	0,000	0,000	0,000	0,000	2,650	1,256	8,878
5	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	0,765	0,728	0,000	0,000	0,000	0,000	2,425	4,438	8,789
6	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	0,000	0,952	0,000	0,000	0,000	0,000	3,829	1,367	6,457
7	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	0,000	0,769	0,000	0,000	0,000	0,000	2,466	2,604	6,120
8	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	0,480	0,133	0,000	0,000	0,000	0,000	3,990	2,775	3,631
9	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	0,000	0,233	0,000	0,000	0,000	0,000	2,574	3,829	7,174
10	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	0,589	0,233	0,000	0,000	0,000	0,000	1,596	1,188	4,224
11	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	0,143	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,278	2,726	4,574
12	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	0,690	0,486	0,000	0,000	0,000	0,000	2,824	3,134	5,470
13	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	3,085	5,470	8,340
14	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	0,594	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	2,071	1,623	5,022
15	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	0,676	0,200	0,000	0,000	0,000	0,000	6,995	4,161	2,870
16	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	0,433	0,374	0,000	0,000	0,000	0,000	6,726	1,927	8,520
17	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	0,561	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	4,591	2,816	5,112
18	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	0,000	0,253	0,000	0,000	0,000	0,000	1,972	4,161	9,327
19	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	4,574	3,291	5,650
20	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0,579	0,108	0,000	0,000	0,000	0,000	4,394	3,946	7,443
21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,983	1,011	0,000	0,000	0,000	0,000	7,354	9,237	11,031
22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,788	1,116	0,000	0,000	0,000	0,000	7,443	9,416	10,851
23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,870	1,080	0,000	0,000	0,000	0,000	7,264	9,237	10,582
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,986	1,272	0,000	0,000	0,000	0,000	7,354	9,327	10,941

FERMENTAÇÃO SUBMERSA - GARRAFA - *Pleurotus Tailândia*.

Ensaio	Variáveis													Lacase			Lignina Peroxidase			Manganês Peroxidase		
	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	X12	X13	30 dias	60 dias	90 dias	30 dias	60 dias	90 dias	30 dias	60 dias	90 dias
1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	3,498	0,000	2,726
2	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	0,000	0,000	0,123	0,000	0,000	0,000	3,004	6,188	3,125
3	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	0,000	0,128	0,000	0,000	0,000	0,000	7,577	5,892	2,174
4	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	0,000	0,113	0,151	0,000	0,000	0,000	7,085	4,009	4,789
5	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	0,000	0,000	0,140	0,000	0,000	0,000	6,142	3,878	2,085
6	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	0,000	0,103	0,143	0,000	0,000	0,000	8,878	4,215	0,000
7	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	0,000	0,000	0,115	0,000	0,000	0,000	5,694	6,443	3,354
8	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	0,000	0,000	0,136	0,000	0,000	0,000	8,878	5,367	2,968
9	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	0,000	0,125	0,169	0,000	0,000	0,000	6,278	2,892	3,587
10	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	0,000	0,111	0,128	0,000	0,000	0,000	6,367	3,408	2,636
11	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	0,000	0,148	0,000	0,000	0,000	0,000	7,237	3,816	3,174
12	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	0,000	0,109	0,000	0,000	0,000	0,000	8,609	3,623	4,215
13	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	0,000	0,000	0,128	0,000	0,000	0,000	0,000	4,394	2,740
14	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	0,000	0,000	0,177	0,000	0,000	0,000	7,354	4,905	2,843
15	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	0,000	0,000	0,146	0,000	0,000	0,000	5,112	5,354	2,063
16	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	0,000	0,000	0,155	0,000	0,000	0,000	3,318	3,712	3,188
17	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	0,000	0,161	0,144	0,000	0,000	0,000	7,892	4,305	1,345
18	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	0,000	0,164	0,151	0,000	0,000	0,000	7,327	1,582	0,000
19	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	3,228	3,291
20	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0,000	0,108	0,000	0,000	0,000	0,000	8,430	6,547	4,036
21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,000	0,172	0,200	0,000	0,000	0,000	10,197	8,161	5,022
22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,000	0,174	0,205	0,000	0,000	0,000	10,313	8,430	5,470
23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,000	0,187	0,202	0,000	0,000	0,000	10,224	8,699	5,740
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,000	0,172	0,205	0,000	0,000	0,000	10,672	8,161	5,112

FERMENTAÇÃO SUBMERSA - PELLETS - *Pleurotus 001*.

Ensaio	Variáveis													Lacase			Lignina Peroxidase			Manganês Peroxidase		
	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	X12	X13	30 dias	60 dias	90 dias	30 dias	60 dias	90 dias	30 dias	60 dias	90 dias
1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	0,333	0,297	0,000	0,000	0,000	0,000	3,899	4,932	0,000
2	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	0,252	0,000	0,000	0,000	0,000	0,269	6,501	0,000	0,000
3	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	0,000	0,000	0,000	0,190	0,000	0,000	0,000	5,650	0,000
4	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	0,000	0,133	0,000	0,000	0,520	0,000	0,000	2,443	3,677
5	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	0,000	0,000	0,000	0,323	0,681	0,000	0,000	0,448	1,883
6	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	0,351	0,246	0,000	0,000	0,573	0,473	3,999	1,667	7,352
7	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	0,295	1,139	0,000	0,000	0,125	0,000	2,688	4,438	9,909
8	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	0,244	0,166	0,000	0,000	0,000	0,000	2,827	6,547	9,730
9	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	0,000	0,264	0,000	0,000	0,000	0,204	0,000	10,403	0,000
10	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,197	0,000	0,000	0,807	4,932
11	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,340	0,340	0,000	0,269	0,179
12	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	0,000	0,283	0,000	0,000	0,340	0,391	0,179	9,058	11,300
13	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	0,341	0,000	0,000	0,412	0,000	0,573	0,000	3,856	3,767
14	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,287	0,000	4,305	0,000	0,359
15	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	0,000	0,000	0,000	0,179	0,000	0,631	17,936	2,063	10,313
16	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	0,000	0,000	0,000	0,835	0,269	0,330	6,905	3,408	0,000
17	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,358	0,469	13,452	4,394	0,897
18	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	0,361	0,000	0,000	0,000	0,143	0,556	2,421	0,269	2,063
19	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	0,258	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0,354	0,115	0,000	0,000	0,000	0,233	11,748	9,058	14,080
21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,576	0,443	0,148	1,631	1,165	0,556	24,483	14,618	23,227
22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,471	0,456	0,115	1,523	1,057	0,771	22,868	14,528	20,806
23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,468	0,317	0,120	1,523	1,093	0,717	25,021	13,900	23,137
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,532	0,456	0,108	1,577	1,129	0,878	26,366	14,528	22,510

FERMENTAÇÃO SUBMERSA - PELLETS - *Pleurotus Tailândia*.

Ensaio	Variáveis													Lacase			Lignina Peroxidase			Manganês Peroxidase		
	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	X12	X13	30 dias	60 dias	90 dias	30 dias	60 dias	90 dias	30 dias	60 dias	90 dias
1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	0,000	0,110	0,000	0,000	0,000	0,323	0,000	0,291	1,560
2	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	0,000	0,197	0,000	0,000	0,000	0,502	2,690	0,179	0,000
3	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	0,000	0,398	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,829	0,000
4	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	0,000	0,282	0,000	0,000	0,000	1,452	0,000	1,036	1,663
5	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	0,000	0,176	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,623	0,000
6	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	0,000	0,258	0,000	0,000	0,000	0,215	2,332	0,807	0,000
7	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	0,000	0,174	0,000	0,000	0,394	0,591	0,000	1,403	1,470
8	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	0,000	0,147	0,000	0,000	0,000	0,000	1,520	0,905	1,663
9	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,290	0,807	1,547	0,000
10	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	2,509	1,166	1,704	0,000
11	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	0,000	0,180	0,000	0,000	0,290	0,000	0,000	0,740	0,000
12	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	0,000	0,292	0,000	0,000	0,000	0,663	0,000	0,892	1,870
13	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,376	0,000	1,663	0,609	0,000
14	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	0,000	0,192	0,000	0,000	0,390	0,110	1,704	1,188	1,411
15	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,614	0,547	1,843
16	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	0,000	0,305	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,767	1,228
17	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	0,000	0,156	0,000	0,000	0,270	0,358	0,000	1,502	1,098
18	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	0,000	0,328	0,000	0,000	0,147	0,000	0,179	1,009	1,345
19	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,251	0,161	0,000	0,327	0,000
20	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0,000	0,315	0,000	0,000	0,282	0,000	0,000	1,574	4,753
21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,000	0,410	0,000	0,000	0,502	3,064	8,609	2,511	7,264
22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,000	0,515	0,000	0,000	0,520	4,749	8,430	2,690	7,712
23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,000	0,422	0,000	0,000	0,502	3,154	8,789	2,242	7,174
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,000	0,456	0,000	0,000	0,663	4,265	8,520	2,511	7,264

Apêndice 6. Coeficientes de regressão gerados a partir dos resultados obtidos na produção enzimática.

FSS - GARRAFA - *Pleurotus* 001

30 dias					60 dias					90 dias				
Variáveis	Efeito	Erro Padrão	t(7)	p-valor	Variáveis	Efeito	Erro Padrão	t(7)	p-valor	Variáveis	Efeito	Erro Padrão	t(7)	p-valor
Média	0,52483	0,11962	4,38733	0,00321	Média	0,44950	0,21436	2,09693	0,07421	Média	1,94341	0,63568	3,05722	0,01840
Proporção: FA/FT	0,32715	0,26749	1,22304	0,26089	Proporção: FA/FT	-0,02411	0,47933	-0,05030	0,96129	Proporção: FA/FT	-0,43070	1,42142	-0,30301	0,77069
Qtde. FA/FT	-0,00295	0,26749	-0,01103	0,99151	Qtde. FA/FT	-0,11041	0,47933	-0,23034	0,82441	Qtde. FA/FT	-1,02390	1,42142	-0,72034	0,49466
(NH ₄) SO ₂	0,03859	0,26749	0,14428	0,88935	(NH ₄) SO ₂	0,03639	0,47933	0,07592	0,94161	(NH ₄) SO ₂	-0,37504	1,42142	-0,26385	0,79950
KH ₂ PO ₄	-0,01233	0,26749	-0,04608	0,96453	KH ₂ PO ₄	-0,10365	0,47933	-0,21624	0,83497	KH ₂ PO ₄	0,16256	1,42142	0,11436	0,91216
Uréia	-0,05873	0,26749	-0,21955	0,83249	Uréia	0,21575	0,47933	0,45011	0,66624	Uréia	-0,78922	1,42142	-0,55523	0,59602
MgSO ₄ .7H ₂ O	-0,05881	0,26749	-0,21986	0,83225	MgSO ₄ .7H ₂ O	-0,06895	0,47933	-0,14385	0,88968	MgSO ₄ .7H ₂ O	-0,01748	1,42142	-0,01230	0,99053
CaCl ₂	-0,19099	0,26749	-0,71400	0,49834	CaCl ₂	0,28301	0,47933	0,59043	0,57346	CaCl ₂	-0,19402	1,42142	-0,13650	0,89527
FeSO ₄ .7H ₂ O	-0,21039	0,26749	-0,78653	0,45735	FeSO ₄ .7H ₂ O	-0,03087	0,47933	-0,06440	0,95045	FeSO ₄ .7H ₂ O	-0,23500	1,42142	-0,16533	0,87336
MnSO ₄ . H ₂ O	-0,22059	0,26749	-0,82468	0,43675	MnSO ₄ . H ₂ O	0,20347	0,47933	0,42449	0,68395	MnSO ₄ . H ₂ O	-0,28480	1,42142	-0,20036	0,84690
CoSO ₄ .H ₂ O	-0,11829	0,26749	-0,44223	0,67166	CoSO ₄ .H ₂ O	0,13621	0,47933	0,28417	0,78450	CoSO ₄ .H ₂ O	-0,66008	1,42142	-0,46438	0,65647
ZnSO ₄ .7H ₂ O	-0,22999	0,26749	-0,85980	0,41837	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,09813	0,47933	0,20472	0,84361	ZnSO ₄ .7H ₂ O	-0,55364	1,42142	-0,38950	0,70849
Qtde. PET	-0,02143	0,26749	-0,08012	0,93839	Qtde. PET	0,17767	0,47933	0,37066	0,72185	Qtde. PET	-0,17394	1,42142	-0,12237	0,90605

FSS - GARRAFA - *Pleurotus* Tailândia

30 dias					60 dias					90 dias				
Variáveis	Efeito	Erro Padrão	t(7)	p-valor	Variáveis	Efeito	Erro Padrão	t(7)	p-valor	Variáveis	Efeito	Erro Padrão	t(7)	p-valor
Média	0,09615	0,03719	2,58519	0,03620	Média	0,43743	0,12041	3,63278	0,00837	Média	0,90292	0,19343	4,66799	0,00229
Proporção: FA/FT	-0,02452	0,08317	-0,29484	0,77667	Proporção: FA/FT	0,07807	0,26925	0,28997	0,78024	Proporção: FA/FT	-0,29935	0,43252	-0,69210	0,51117
Qtde. FA/FT	-0,05849	0,08317	-0,70328	0,50459	Qtde. FA/FT	-0,06411	0,26925	-0,23810	0,81862	Qtde. FA/FT	0,03909	0,43252	0,09039	0,93051
(NH ₄) SO ₂	0,01169	0,08317	0,14056	0,89218	(NH ₄) SO ₂	-0,05186	0,26925	-0,19261	0,85273	(NH ₄) SO ₂	0,19865	0,43252	0,45928	0,65996
KH ₂ PO ₄	-0,01740	0,08317	-0,20925	0,84022	KH ₂ PO ₄	-0,12998	0,26925	-0,48276	0,64400	KH ₂ PO ₄	-0,38765	0,43252	-0,89626	0,39988
Uréia	-0,06706	0,08317	-0,80640	0,44654	Uréia	-0,13767	0,26925	-0,51132	0,62485	Uréia	-0,22857	0,43252	-0,52847	0,61351
MgSO ₄ .7H ₂ O	-0,03085	0,08317	-0,37100	0,72161	MgSO ₄ .7H ₂ O	-0,28782	0,26925	-1,06899	0,32055	MgSO ₄ .7H ₂ O	0,25991	0,43252	0,60093	0,56683
CaCl ₂	0,02738	0,08317	0,32927	0,75158	CaCl ₂	-0,00383	0,26925	-0,01422	0,98905	CaCl ₂	0,05737	0,43252	0,13264	0,89821
FeSO ₄ .7H ₂ O	-0,05137	0,08317	-0,61769	0,55634	FeSO ₄ .7H ₂ O	0,01220	0,26925	0,04531	0,96512	FeSO ₄ .7H ₂ O	-0,08729	0,43252	-0,20182	0,84580
MnSO ₄ . H ₂ O	-0,06482	0,08317	-0,77944	0,46126	MnSO ₄ . H ₂ O	-0,14992	0,26925	-0,55681	0,59500	MnSO ₄ . H ₂ O	-0,18173	0,43252	-0,42016	0,68697
CoSO ₄ .H ₂ O	0,02514	0,08317	0,30231	0,77120	CoSO ₄ .H ₂ O	-0,11754	0,26925	-0,43655	0,67558	CoSO ₄ .H ₂ O	-0,15379	0,43252	-0,35556	0,73265
ZnSO ₄ .7H ₂ O	-0,02228	0,08317	-0,26788	0,79651	ZnSO ₄ .7H ₂ O	-0,24564	0,26925	-0,91233	0,39193	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,21645	0,43252	0,50043	0,63212
Qtde. PET	-0,01516	0,08317	-0,18229	0,86053	Qtde. PET	0,09227	0,26925	0,34269	0,74189	Qtde. PET	-0,00913	0,43252	-0,02110	0,98376

FSS - PELLETS - *Pleurotus 001*

30 dias					60 dias					90 dias				
Variáveis	Efeito	Erro Padrão	t(7)	p-valor	Variáveis	Efeito	Erro Padrão	t(7)	p-valor	Variáveis	Efeito	Erro Padrão	t(7)	p-valor
Média	2,42931	0,84568	2,87262	0,02390	Média	0,26453	0,06662	3,97102	0,00539	Média	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
Proporção: FA/FT	0,01324	1,89099	0,00700	0,99461	Proporção: FA/FT	-0,04580	0,14896	-0,30745	0,76744	Proporção: FA/FT	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
Qtde. FA/FT	0,42232	1,89099	0,22333	0,82965	Qtde. FA/FT	-0,14584	0,14896	-0,97909	0,36015	Qtde. FA/FT	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
(NH ₄) SO ₂	-0,09458	1,89099	-0,05002	0,96151	(NH ₄) SO ₂	0,17040	0,14896	1,14397	0,29025	(NH ₄) SO ₂	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
KH ₂ PO ₄	-0,54208	1,89099	-0,28666	0,78267	KH ₂ PO ₄	-0,15914	0,14896	-1,06834	0,32082	KH ₂ PO ₄	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
Uréia	-0,81044	1,89099	-0,42858	0,68111	Uréia	0,16702	0,14896	1,12128	0,29916	Uréia	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
MgSO ₄ .7H ₂ O	-0,45206	1,89099	-0,23906	0,81791	MgSO ₄ .7H ₂ O	-0,04242	0,14896	-0,28476	0,78407	MgSO ₄ .7H ₂ O	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
CaCl ₂	-0,09830	1,89099	-0,05198	0,95999	CaCl ₂	-0,02912	0,14896	-0,19551	0,85055	CaCl ₂	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,05988	1,89099	0,03167	0,97562	FeSO ₄ .7H ₂ O	-0,03250	0,14896	-0,21820	0,83350	FeSO ₄ .7H ₂ O	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
MnSO ₄ . H ₂ O	-0,87466	1,89099	-0,46254	0,65773	MnSO ₄ . H ₂ O	0,07498	0,14896	0,50335	0,63017	MnSO ₄ . H ₂ O	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
CoSO ₄ .H ₂ O	-0,71344	1,89099	-0,37728	0,71714	CoSO ₄ .H ₂ O	-0,19260	0,14896	-1,29297	0,23706	CoSO ₄ .H ₂ O	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,31698	1,89099	0,16763	0,87162	ZnSO ₄ .7H ₂ O	-0,13784	0,14896	-0,92538	0,38556	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
Qtde. PET	0,53926	1,89099	0,28517	0,78377	Qtde. PET	0,00434	0,14896	0,02912	0,97758	Qtde. PET	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000

FSS - PELLETS - *Pleurotus Tailândia*

ariáveis	Efeito	Erro Padrão	t(7)	p-valor	Variáveis	Efeito	Erro Padrão	t(7)	p-valor	Variáveis	Efeito	Erro Padrão	t(7)	p-valor
Média	1,23456	0,45386	2,72013	0,02976	Média	0,73445	0,22740	3,22977	0,01446	Média	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
Proporção: FA/FT	-0,22679	1,01487	-0,22347	0,82955	Proporção: FA/FT	-0,09199	0,50848	-0,18091	0,86156	Proporção: FA/FT	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
Qtde. FA/FT	0,19547	1,01487	0,19261	0,85274	Qtde. FA/FT	-0,37883	0,50848	-0,74502	0,48052	Qtde. FA/FT	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
(NH ₄) SO ₂	0,39725	1,01487	0,39143	0,70712	(NH ₄) SO ₂	-0,15925	0,50848	-0,31319	0,76326	(NH ₄) SO ₂	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
KH ₂ PO ₄	0,24617	1,01487	0,24256	0,81530	KH ₂ PO ₄	-0,19947	0,50848	-0,39228	0,70652	KH ₂ PO ₄	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
Uréia	-0,53425	1,01487	-0,52642	0,61486	Uréia	0,02011	0,50848	0,03955	0,96956	Uréia	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
MgSO ₄ .7H ₂ O	-0,51273	1,01487	-0,50522	0,62892	MgSO ₄ .7H ₂ O	0,08737	0,50848	0,17182	0,86844	MgSO ₄ .7H ₂ O	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
CaCl ₂	0,10917	1,01487	0,10757	0,91736	CaCl ₂	-0,09199	0,50848	-0,18091	0,86156	CaCl ₂	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,06771	1,01487	0,06672	0,94867	FeSO ₄ .7H ₂ O	-0,27135	0,50848	-0,53365	0,61011	FeSO ₄ .7H ₂ O	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
MnSO ₄ . H ₂ O	-0,69119	1,01487	-0,68106	0,51772	MnSO ₄ . H ₂ O	-0,19947	0,50848	-0,39228	0,70652	MnSO ₄ . H ₂ O	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
CoSO ₄ .H ₂ O	-0,00293	1,01487	-0,00289	0,99778	CoSO ₄ .H ₂ O	-0,71513	0,50848	-1,40640	0,20241	CoSO ₄ .H ₂ O	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,21699	1,01487	0,21381	0,83679	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,18167	0,50848	0,35728	0,73141	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
Qtde. PET	-0,24245	1,01487	-0,23890	0,81803	Qtde. PET	-0,33861	0,50848	-0,66592	0,52679	Qtde. PET	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000

FS - GARRAFA - *Pleurotus 001*

30 dias					60 dias					90 dias				
Variáveis	Efeito	Erro Padrão	t(10)	p-valor	Variáveis	Efeito	Erro Padrão	t(10)	p-valor	Variáveis	Efeito	Erro Padrão	t(10)	p-valor
Média	3,85626	0,53196	7,24910	0,00003	Média	4,22609	0,76736	5,50734	0,00026	Média	7,17639	0,56027	12,80880	0,00000
Proporção: FA/FT	-0,93948	1,16547	-0,80609	0,43894	Proporção: FA/FT	0,05759	1,68119	0,03426	0,97335	Proporção: FA/FT	-0,42569	1,22749	-0,34680	0,73593
Qtde. FA/FT	-0,89324	1,16547	-0,76642	0,46114	Qtde. FA/FT	0,85074	1,68119	0,50604	0,62380	Qtde. FA/FT	0,20577	1,22749	0,16763	0,87021
(NH ₄) SO ₂	-1,02862	1,16547	-0,88257	0,39819	(NH ₄) SO ₂	-1,09103	1,68119	-0,64896	0,53098	(NH ₄) SO ₂	-0,62298	1,22749	-0,50753	0,62279
KH ₂ PO ₄	-0,75958	1,16547	-0,65173	0,52927	KH ₂ PO ₄	0,72961	1,68119	0,43398	0,67352	KH ₂ PO ₄	-0,55566	1,22749	-0,45268	0,66044
Uréia	-0,98193	1,16547	-0,84251	0,41919	Uréia	-0,34754	1,68119	-0,20672	0,84037	Uréia	-0,00306	1,22749	-0,00250	0,99806
MgSO ₄ .7H ₂ O	-0,06719	1,16547	-0,05765	0,95516	MgSO ₄ .7H ₂ O	-0,75908	1,68119	-0,45151	0,66125	MgSO ₄ .7H ₂ O	-0,85958	1,22749	-0,70027	0,49973
CaCl ₂	-0,41636	1,16547	-0,35725	0,72833	CaCl ₂	-0,39793	1,68119	-0,23669	0,81767	CaCl ₂	0,85146	1,22749	0,69366	0,50369
FeSO ₄ .7H ₂ O	1,07801	1,16547	0,92495	0,37677	FeSO ₄ .7H ₂ O	0,16007	1,68119	0,09521	0,92603	FeSO ₄ .7H ₂ O	-1,17972	1,22749	-0,96108	0,35917
MnSO ₄ . H ₂ O	0,30135	1,16547	0,25857	0,80121	MnSO ₄ . H ₂ O	-0,48220	1,68119	-0,28682	0,78011	MnSO ₄ . H ₂ O	0,13943	1,22749	0,11359	0,91181
CoSO ₄ .H ₂ O	0,82690	1,16547	0,70950	0,49422	CoSO ₄ .H ₂ O	-0,48932	1,68119	-0,29106	0,77696	CoSO ₄ .H ₂ O	-2,51879	1,22749	-2,05198	0,06728
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,61239	1,16547	0,52545	0,61073	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,07481	1,68119	0,04450	0,96538	ZnSO ₄ .7H ₂ O	-0,52150	1,22749	-0,42485	0,67994
Agitação	0,08783	1,16547	0,07536	0,94141	Agitação	0,30284	1,68119	0,18013	0,86065	Agitação	0,87580	1,22749	0,71349	0,49186
Qtde. PET	-1,25935	1,16547	-1,08055	0,30527	Qtde. PET	0,11167	1,68119	0,06642	0,94835	Qtde. PET	0,35025	1,22749	0,28534	0,78121

FS - GARRAFA - *Pleurotus Tailândia*

30 dias					60 dias					90 dias				
Variáveis	Efeito	Erro Padrão	t(10)	p-valor	Variáveis	Efeito	Erro Padrão	t(10)	p-valor	Variáveis	Efeito	Erro Padrão	t(10)	p-valor
Média	6,67020	0,72413	9,21136	0,00000	Média	4,88371	0,54863	8,90158	0,00001	Média	3,15343	0,34264	9,20328	0,00000
Proporção: FA/FT	1,38990	1,58648	0,87609	0,40154	Proporção: FA/FT	-0,57395	1,20200	-0,47750	0,64327	Proporção: FA/FT	-0,94299	0,75069	-1,25617	0,23761
Qtde. FA/FT	-0,89338	1,58648	-0,56312	0,58576	Qtde. FA/FT	0,42776	1,20200	0,35587	0,72933	Qtde. FA/FT	-0,55110	0,75069	-0,73413	0,47973
(NH ₄) SO ₂	0,40000	1,58648	0,25213	0,80605	(NH ₄) SO ₂	-0,42235	1,20200	-0,35138	0,73260	(NH ₄) SO ₂	1,08278	0,75069	1,44238	0,17977
KH ₂ PO ₄	-1,14790	1,58648	-0,72355	0,48592	KH ₂ PO ₄	-0,51474	1,20200	-0,42823	0,67756	KH ₂ PO ₄	0,54470	0,75069	0,72560	0,48472
Uréia	1,08499	1,58648	0,68390	0,50958	Uréia	0,12997	1,20200	0,10813	0,91603	Uréia	-0,02826	0,75069	-0,03764	0,97072
MgSO ₄ .7H ₂ O	1,02235	1,58648	0,64441	0,53381	MgSO ₄ .7H ₂ O	0,71573	1,20200	0,59545	0,56478	MgSO ₄ .7H ₂ O	-0,13587	0,75069	-0,18100	0,85999
CaCl ₂	0,46093	1,58648	0,29053	0,77734	CaCl ₂	-0,02974	1,20200	-0,02475	0,98075	CaCl ₂	0,43709	0,75069	0,58225	0,57329
FeSO ₄ .7H ₂ O	-0,03930	1,58648	-0,02477	0,98073	FeSO ₄ .7H ₂ O	0,05651	1,20200	0,04702	0,96343	FeSO ₄ .7H ₂ O	-0,40662	0,75069	-0,54167	0,59991
MnSO ₄ . H ₂ O	-1,10293	1,58648	-0,69520	0,50276	MnSO ₄ . H ₂ O	-0,99459	1,20200	-0,82745	0,42729	MnSO ₄ . H ₂ O	-0,80662	0,75069	-1,07451	0,30784
CoSO ₄ .H ₂ O	-0,89680	1,58648	-0,56528	0,58435	CoSO ₄ .H ₂ O	0,96954	1,20200	0,80660	0,43866	CoSO ₄ .H ₂ O	0,16363	0,75069	0,21798	0,83183
ZnSO ₄ .7H ₂ O	1,27715	1,58648	0,80502	0,43953	ZnSO ₄ .7H ₂ O	-1,06733	1,20200	-0,88796	0,39542	ZnSO ₄ .7H ₂ O	-0,34570	0,75069	-0,46050	0,65501
Agitação	-1,89211	1,58648	-1,19265	0,26054	Agitação	-0,90762	1,20200	-0,75509	0,46761	Agitação	0,34939	0,75069	0,46543	0,65160
Qtde. PET	-1,18918	1,58648	-0,74957	0,47078	Qtde. PET	-1,29410	1,20200	-1,07662	0,30694	Qtde. PET	-0,83096	0,75069	-1,10693	0,29424

FS - PELLETS – *Pleurotus 001*

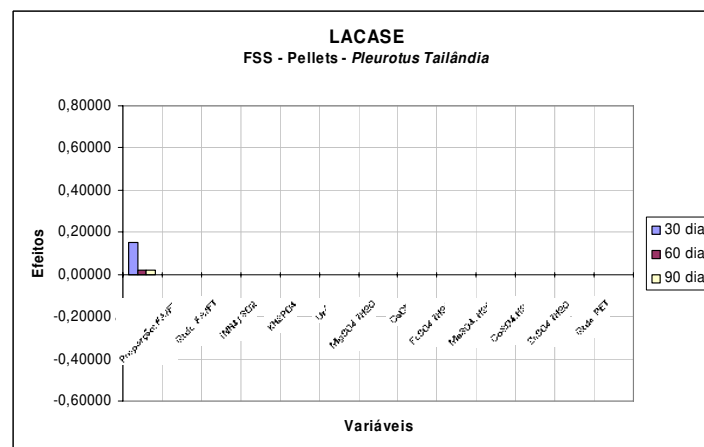
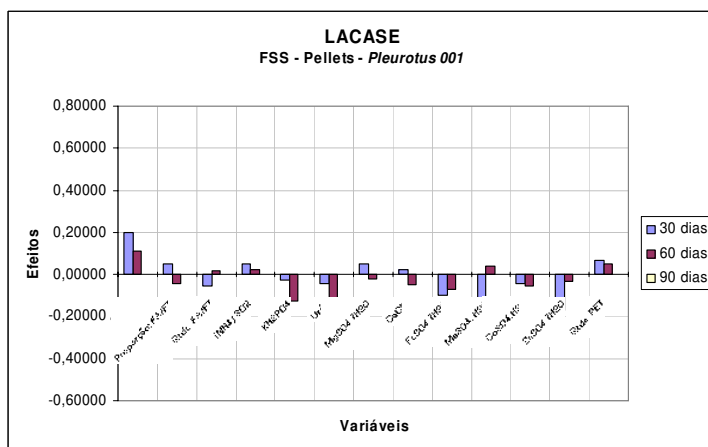
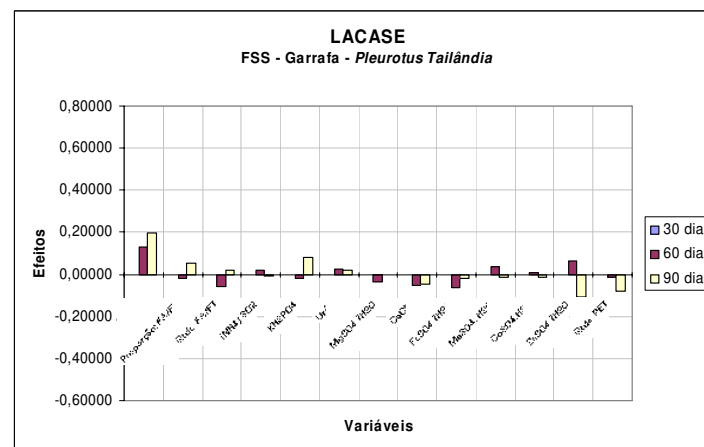
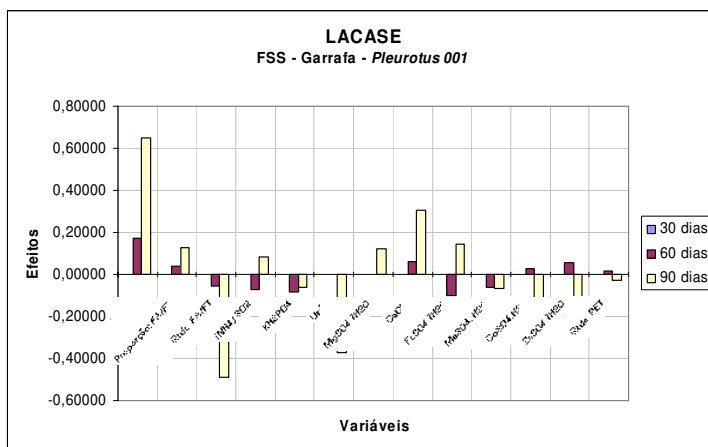
30 dias					60 dias					90 dias				
Variáveis	Efeito	Erro Padrão	t(10)	p-valor	Variáveis	Efeito	Erro Padrão	t(10)	p-valor	Variáveis	Efeito	Erro Padrão	t(10)	p-valor
Média	7,31658	2,48950	2,93897	0,01481	Média	5,30355	1,39999	3,78829	0,00355	Média	7,08834	2,29002	3,09532	0,01134
Proporção: FA/FT	-0,49279	5,45423	-0,09035	0,92979	Proporção: FA/FT	-0,45886	3,06722	-0,14960	0,88405	Proporção: FA/FT	1,56913	5,01718	0,31275	0,76090
Qtde. FA/FT	-3,99887	5,45423	-0,73317	0,48029	Qtde. FA/FT	-0,35124	3,06722	-0,11451	0,91110	Qtde. FA/FT	-1,44412	5,01718	-0,28783	0,77935
(NH ₄) SO ₂	-4,90649	5,45423	-0,89958	0,38950	(NH ₄) SO ₂	1,88463	3,06722	0,61444	0,55265	(NH ₄) SO ₂	-0,06278	5,01718	-0,01251	0,99026
KH ₂ PO ₄	-1,45340	5,45423	-0,26647	0,79529	KH ₂ PO ₄	-0,61730	3,06722	-0,20126	0,84453	KH ₂ PO ₄	-1,14777	5,01718	-0,22877	0,82366
Uréia	-3,30820	5,45423	-0,60654	0,55768	Uréia	-0,62911	3,06722	-0,20511	0,84160	Uréia	-2,84286	5,01718	-0,56662	0,58346
MgSO ₄ .7H ₂ O	-0,03529	5,45423	-0,00647	0,99497	MgSO ₄ .7H ₂ O	-0,04191	3,06722	-0,01367	0,98937	MgSO ₄ .7H ₂ O	2,42122	5,01718	0,48259	0,63978
CaCl ₂	-3,82095	5,45423	-0,70055	0,49956	CaCl ₂	-0,82370	3,06722	-0,26855	0,79373	CaCl ₂	0,52911	5,01718	0,10546	0,91810
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,85350	5,45423	0,15648	0,87877	FeSO ₄ .7H ₂ O	0,71609	3,06722	0,23347	0,82011	FeSO ₄ .7H ₂ O	1,07602	5,01718	0,21447	0,83449
MnSO ₄ . H ₂ O	0,74452	5,45423	0,13650	0,89413	MnSO ₄ . H ₂ O	-0,60234	3,06722	-0,19638	0,84825	MnSO ₄ . H ₂ O	-0,30505	5,01718	-0,06080	0,95272
CoSO ₄ .H ₂ O	3,23673	5,45423	0,59344	0,56607	CoSO ₄ .H ₂ O	-2,58585	3,06722	-0,84306	0,41890	CoSO ₄ .H ₂ O	-0,78022	5,01718	-0,15551	0,87951
ZnSO ₄ .7H ₂ O	1,83799	5,45423	0,33699	0,74309	ZnSO ₄ .7H ₂ O	2,42740	3,06722	0,79140	0,44708	ZnSO ₄ .7H ₂ O	-1,14777	5,01718	-0,22877	0,82366
Agitação	-1,79419	5,45423	-0,32895	0,74898	Agitação	-0,04335	3,06722	-0,01413	0,98900	Agitação	-2,71703	5,01718	-0,54155	0,59999
Qtde. PET	-2,87062	5,45423	-0,52631	0,61015	Qtde. PET	-2,84578	3,06722	-0,92781	0,37536	Qtde. PET	-5,22807	5,01718	-1,04203	0,32193

FS - PELLETS – *Pleurotus Tailândia*

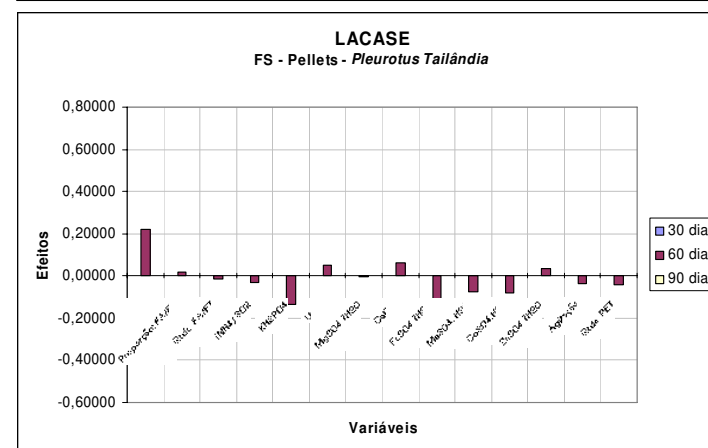
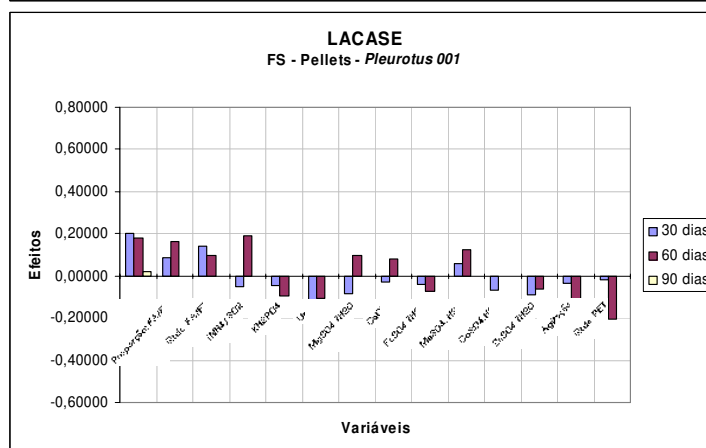
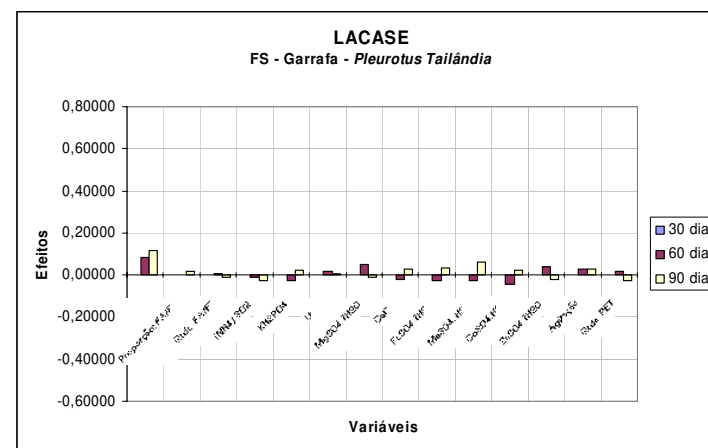
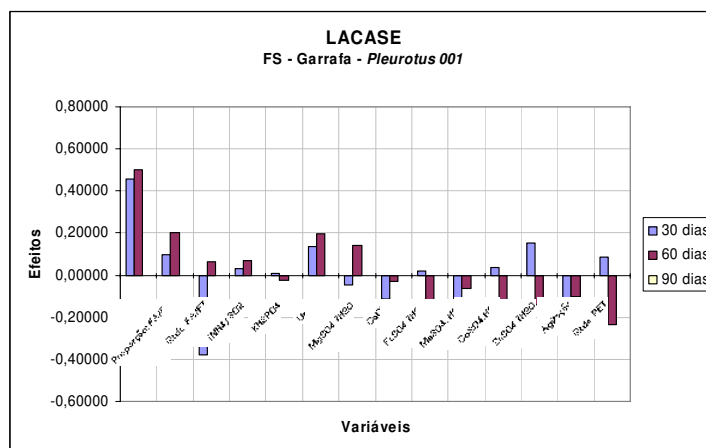
30 dias					60 dias					90 dias				
Variáveis	Efeito	Erro Padrão	t(10)	p-valor	Variáveis	Efeito	Erro Padrão	t(10)	p-valor	Variáveis	Efeito	Erro Padrão	t(10)	p-valor
Média	2,00096	0,94342	2,12095	0,05993	Média	1,26796	0,21183	5,98589	0,00014	Média	2,05505	0,76115	2,69994	0,02232
Proporção: FA/FT	0,20982	2,06694	0,10152	0,92115	Proporção: FA/FT	0,01531	0,46409	0,03300	0,97433	Proporção: FA/FT	-0,18918	1,66759	-0,11345	0,91192
Qtde. FA/FT	0,47075	2,06694	0,22775	0,82443	Qtde. FA/FT	-0,17674	0,46409	-0,38083	0,71130	Qtde. FA/FT	-1,09482	1,66759	-0,65653	0,52631
(NH ₄) SO ₂	-0,32826	2,06694	-0,15881	0,87698	(NH ₄) SO ₂	0,17657	0,46409	0,38048	0,71155	(NH ₄) SO ₂	-0,06291	1,66759	-0,03773	0,97065
KH ₂ PO ₄	0,52456	2,06694	0,25379	0,80480	KH ₂ PO ₄	-0,21162	0,46409	-0,45599	0,65814	KH ₂ PO ₄	-0,64470	1,66759	-0,38661	0,70715
Uréia	0,37224	2,06694	0,18009	0,86068	Uréia	0,20731	0,46409	0,44671	0,66461	Uréia	-1,08869	1,66759	-0,65285	0,52858
MgSO ₄ .7H ₂ O	-0,01253	2,06694	-0,00606	0,99528	MgSO ₄ .7H ₂ O	0,16592	0,46409	0,35752	0,72813	MgSO ₄ .7H ₂ O	-0,40171	1,66759	-0,24089	0,81451
CaCl ₂	-0,35430	2,06694	-0,17142	0,86732	CaCl ₂	-0,01360	0,46409	-0,02931	0,97720	CaCl ₂	0,13979	1,66759	0,08383	0,93485
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,56043	2,06694	0,27114	0,79180	FeSO ₄ .7H ₂ O	-0,05841	0,46409	-0,12587	0,90233	FeSO ₄ .7H ₂ O	-0,41352	1,66759	-0,24797	0,80917
MnSO ₄ . H ₂ O	0,52555	2,06694	0,25427	0,80444	MnSO ₄ . H ₂ O	-0,07354	0,46409	-0,15846	0,87725	MnSO ₄ . H ₂ O	-0,21893	1,66759	-0,13128	0,89815
CoSO ₄ .H ₂ O	0,37125	2,06694	0,17961	0,86104	CoSO ₄ .H ₂ O	-0,19550	0,46409	-0,42126	0,68247	CoSO ₄ .H ₂ O	-0,24768	1,66759	-0,14853	0,88488
ZnSO ₄ .7H ₂ O	-0,54349	2,06694	-0,26294	0,79793	ZnSO ₄ .7H ₂ O	-0,04219	0,46409	-0,09091	0,92936	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,13096	1,66759	0,07853	0,93895
Agitação	-0,06634	2,06694	-0,03209	0,97503	Agitação	-0,13358	0,46409	-0,28784	0,77935	Agitação	-0,54962	1,66759	-0,32959	0,74851
Qtde. PET	-0,42506	2,06694	-0,20565	0,84119	Qtde. PET	0,11653	0,46409	0,25110	0,80683	Qtde. PET	-0,90762	1,66759	-0,54427	0,59818

Apêndice 7. Efeitos gerados a partir dos resultados obtidos na produção enzimática.

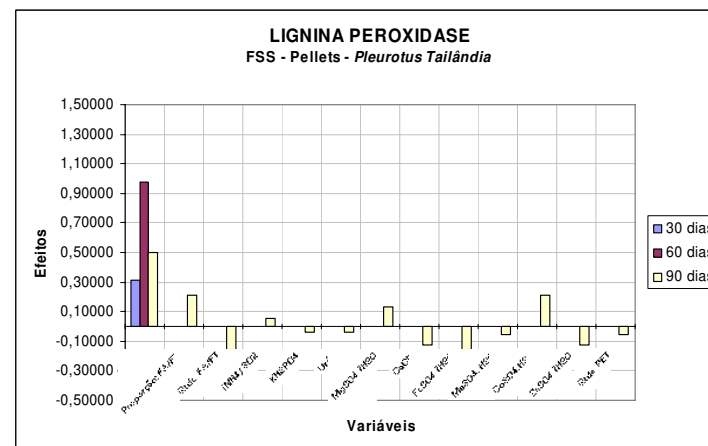
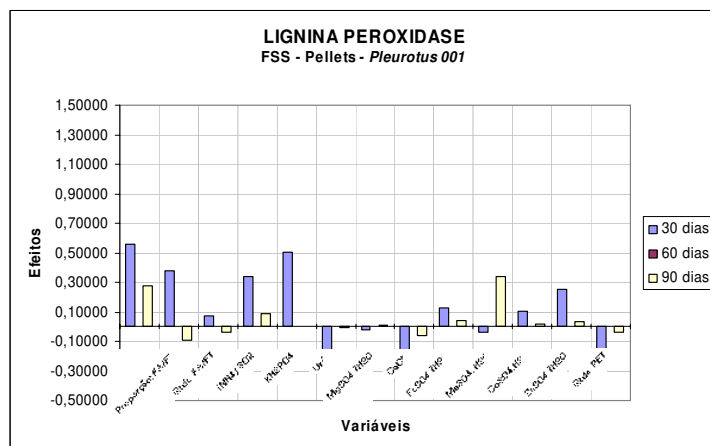
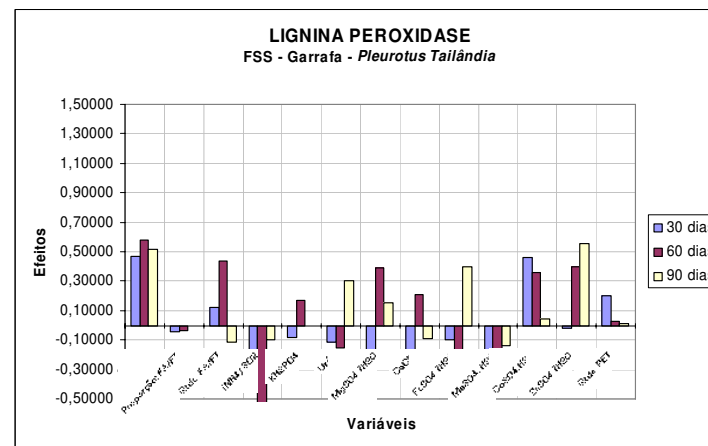
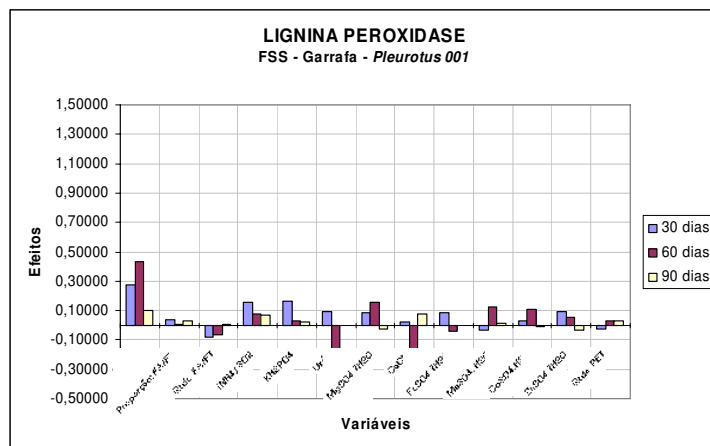
LACASE



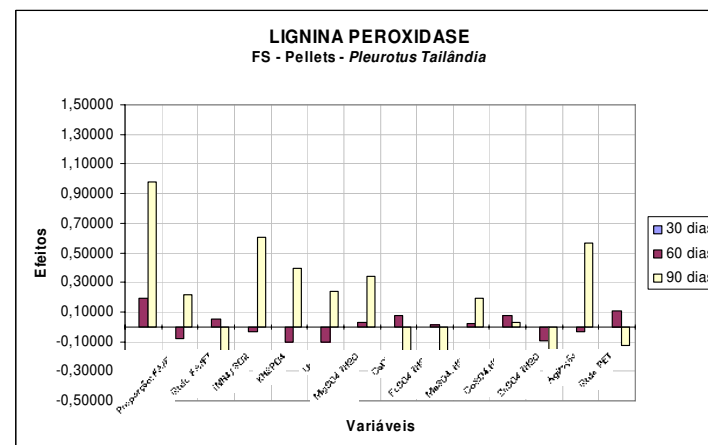
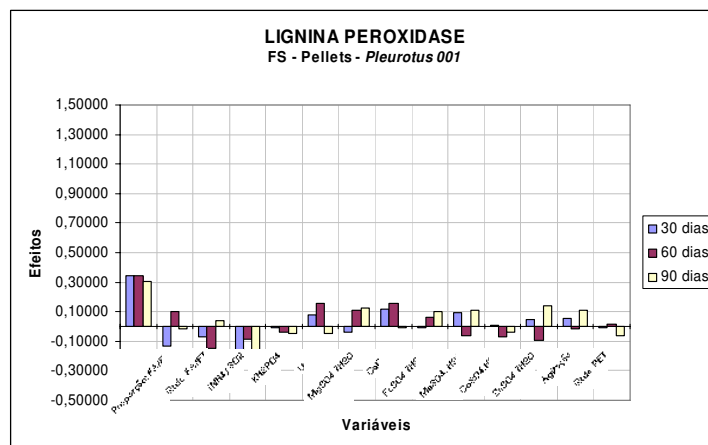
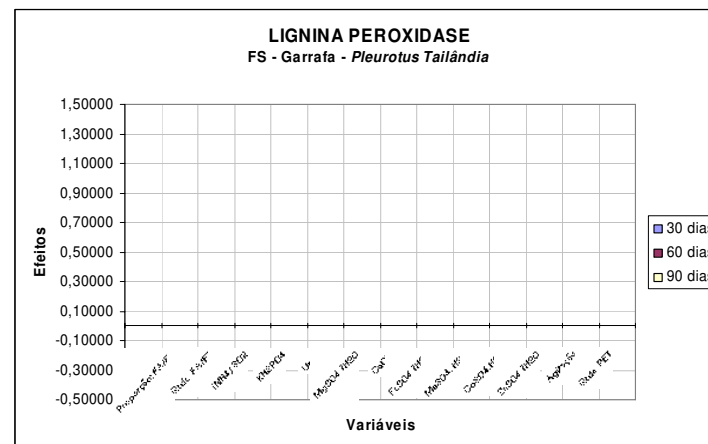
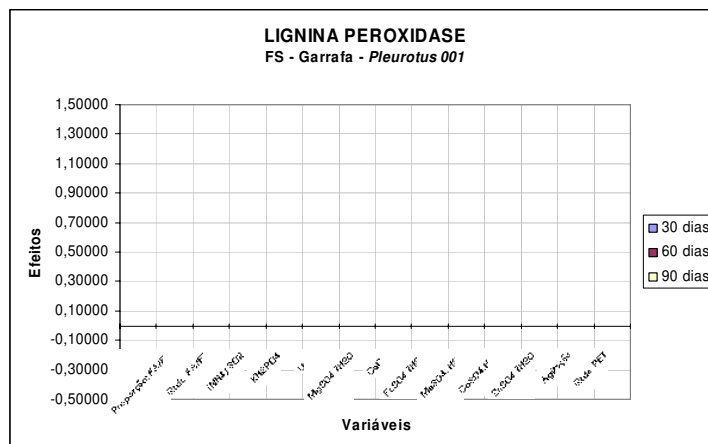
LACASE



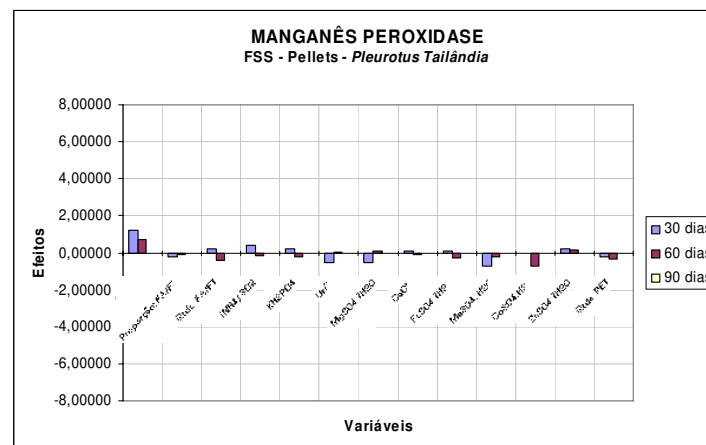
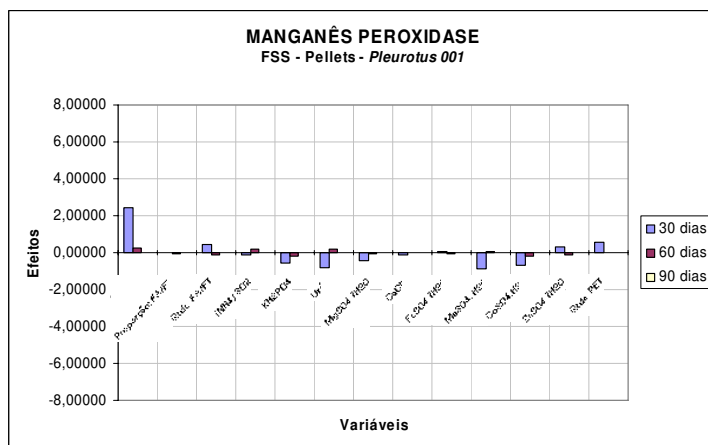
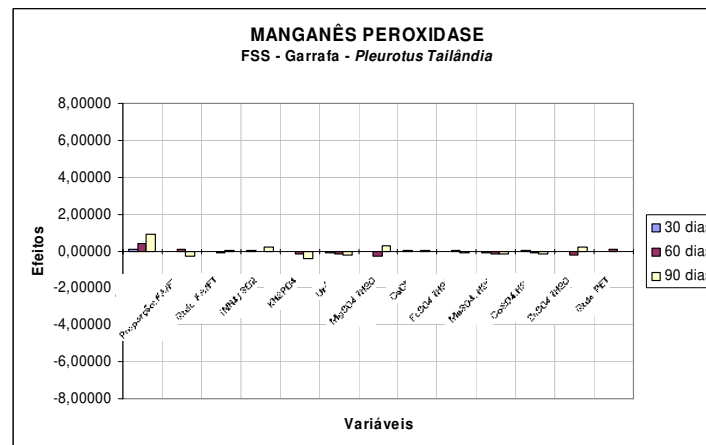
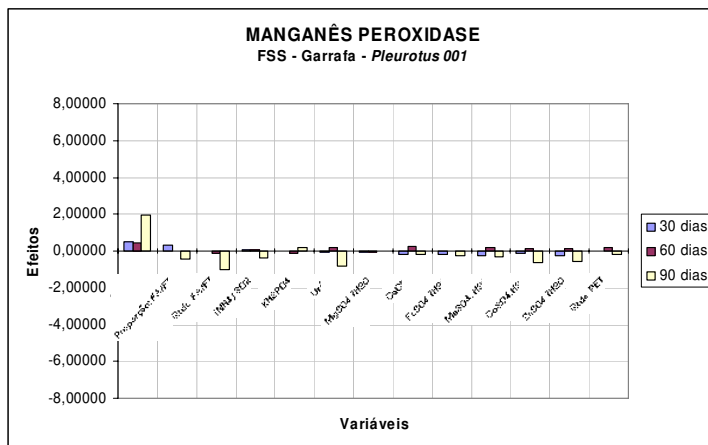
LIGNINA PEROXIDASE



LIGNINA PEROXIDASE



MANGANÊS PEROXIDASE



MANGANÊS PEROXIDASE

