



Estudo das microondas como processo de controlo antifúngico na madeira

Mestrado em Engenharia da Energia e do Ambiente

Nuno Filipe Tomé Arruda

Leiria, setembro de 2021



Estudo das microondas como processo de controlo antifúngico na madeira

Mestrado em Engenharia da Energia e do Ambiente

Nuno Filipe Tomé Arruda

Dissertação realizada sob a orientação da Professora Doutora Helena Manuela Pala Dias de Sousa e da Professora Doutora Judite dos Santos Vieira

Leiria, setembro de 2021

Originalidade e Direitos de Autor

A presente dissertação é original, elaborada unicamente para este fim, tendo sido devidamente citados todos os autores cujos estudos e publicações contribuíram para a elaborar.

Reproduções parciais deste documento serão autorizadas na condição de que seja mencionado o Autor e feita referência ao ciclo de estudos no âmbito do qual o mesmo foi realizado, a saber, Curso de Mestrado em Engenharia da Energia e do Ambiente, no ano letivo 2019/2020, da Escola Superior de Tecnologia e Gestão do Instituto Politécnico de Leiria, Portugal, e, bem assim, à data das provas públicas que visaram a avaliação destes trabalhos.

Para a Margarida, Paulo, Milton e Carolina.

“Nada começa que não tenha de acabar, tudo o que começa nasce do que acabou”

José Saramago

Agradecimentos

Em primeiro lugar agradecer aos meus pais, irmão e namorada pelo apoio incansável. O suporte deles nos piores momentos fez-me avançar. Sem eles o caminho teria sido ainda mais difícil.

Um agradecimento enorme às minhas orientadoras, Professora Doutora Helena Pala e Professora Doutora Judite Vieira, membros integrados do LSRE-LCM, financiado por fundos nacionais através da FCT/MCTES (PIDDAC): Financiamentos Base-UIDB/50020/2020 e Programático-UIDP/50020/2020, pela paciência, disponibilidade e sabedoria. Também pelo empenho em que as coisas fossem na melhor direção possível. A elas um muitíssimo obrigado.

Agradecer também aos Técnicos de Laboratório André Fonseca e Maria Carlos que foram incansáveis quando andava a percorrer os laboratórios como um perdido. A sua ajuda foi essencial na concretização desta tese.

Um agradecimento ao projeto BuildfromForest e ao Professor Doutor Rafael Caldeirinha, que me concederam a oportunidade de desenvolver esse projeto e desafiar-me num campo desconhecido.

Obrigado ao LNEC, na pessoa da Doutora Lina Nunes, pelo fornecimento da estirpe do fungo em estudo.

Por fim, agradecer a todos os que de uma forma ou outra contribuíram para a realização desta tese.

Um bem-haja a todos!

Resumo

O presente estudo centra-se na problemática da degradação da madeira através de elementos bióticos, dos quais os fungos da podridão são um exemplo. É importante encontrar soluções que permitam o controlo de tais ameaças, que colocam em causa a integridade de edifícios e causam prejuízos económicos avultados. Assim, pretendeu-se criar uma forma rápida de proteger a madeira contra o fungo da podridão castanha *Gloeophyllum trabeum*, com recurso a uma tecnologia que tem por base a radiação microondas. Para tal, foi estudado o efeito da temperatura na eliminação do fungo, em meios de cultura e em provetes de madeira, mediante aplicação de diferentes potências de radiação (90W, 180W e 270W) e tempos de exposição (3, 10 e 20 minutos). A condição de irradiação identificada como satisfatória para reduzir a viabilidade do fungo resume-se à aplicação de uma potência de 90W durante 20 minutos. Apesar dos resultados promissores na inativação dos fungos recorrendo a radiação microondas, tendo-se observado uma redução de viabilidade de cerca de 88% (ensaios em meio de cultura), verificou-se que a radiação microondas não atua como tratamento preventivo no aparecimento do fungo (ensaios realizados nos provetes de madeira).

Palavras-chave: “Microondas”, “Proteção da Madeira,” *Gloeophyllum trabeum*”, “Tratamento Preventivo”

Abstract

This study is focused on the wood degradation problem through biotic elements, like root fungi. It is urgent to find solutions who will allow to control such problems, who are dangerous to buildings and responsible for enormous economic losses. So, it was an ambition to create a procedure, fast and effective, to protect wood against harms, such as *Gloeophyllum trabeum*, using microwave radiation. The development of this work is focused in creating a working methodology that allow for the removal of the fungi where the effect of temperature is studied, using culture medium, irradiation power (90W, 180W e 270W) and exposure times (3, 10 e 20 minutes). Experimental irradiation conditions at a power of 90W for 20 minutes were identified as satisfactory to reduce the fungus viability. Despite the promising results in the inactivation of the fungus using microwave radiation, having observed a reduction in viability of about 88% (tests in culture medium), it was found that microwave radiation does not act as a preventive treatment in the appearance of the fungus (tests performed on wood samples).

Keywords: “Microwaves”, “Wood Protection”, “*Gloeophyllum trabeum*”, Preventive Treatment”

Índice

Originalidade e Direitos de Autor.....	iii
Agradecimentos	v
Resumo	vi
Abstract	vii
Lista de Figuras	x
Lista de Tabelas.....	xii
Lista de siglas, acrónimos e abreviaturas.....	xiii
1. Introdução.....	1
2. Características da Madeira	3
2.1. Composição Química	3
2.2. Estrutura	6
2.3. Ultra Estrutura.....	8
2.4. Propriedades Físicas e Mecânicas.....	10
2.4.1. Humidade	12
2.4.2. Densidade	13
2.4.3. Durabilidade	14
2.4.4. Dureza	15
2.4.5. Elasticidade	15
2.4.6. Resistência à Tração.....	16
2.4.7. Resistência à Compressão	17
2.4.8. Resistência ao Corte/Cisalhamento	17
2.4.9. Resistência à Flexão	17
2.5. Propriedades Térmicas	18
2.5.1. Condução Térmica	18
2.5.2. Expansão Térmica	18
2.5.3. Temperatura de Combustão	19
3. A degradação da madeira.....	21
3.1. A ação dos fungos sobre a madeira.....	22
3.2. Tratamentos preventivos da madeira.....	24
4. Tratamento da madeira por microondas	27

4.1.	Efeito da radiação microondas na madeira	28
4.2.	Eliminação de fungos recorrendo a microondas	34
5.	Metodologia.....	38
5.1.	Avaliação do perfil de temperatura no meio de cultura agar	38
5.2.	Avaliação do perfil de temperatura nos provetes de madeira.....	40
5.3.	Estudo da variação do teor de humidade nos provetes de madeira.....	41
5.4.	Verificação da viabilidade do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i>	42
5.5.	Estudo preliminar da ação do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> em provetes de madeira (1ª fase)	44
5.6.	Estudo preliminar da ação do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> em provetes de madeira (2ª fase)	46
5.7.	Monitorização da exposição prolongada de provetes de madeira ao fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i>	50
6.	Resultados e discussão.....	52
6.1.	Avaliação do perfil de temperatura do meio de cultura agar	52
6.2.	Avaliação do perfil de temperatura nos provetes de madeira.....	54
6.3.	Estudo da variação do teor de humidade nos provetes de madeira.....	58
6.4.	Verificação da viabilidade do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i>	59
6.5.	Estudo preliminar da ação do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> em provetes de madeira (1ª fase)	62
6.6.	Estudo preliminar da ação do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> em provetes de madeira (2ª fase)	67
6.7.	Monitorização da exposição prolongada de provetes de madeira ao fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i>	73
7.	Conclusões e Sugestões de trabalho futuro	79
7.1.	Conclusões	79
7.2.	Sugestões de trabalho futuro	79
	Referências Bibliográficas	80

Lista de Figuras

Figura 1 – Direção das fibras na madeira.....	3
Figura 2 – Estrutura química da celulose	4
Figura 3 – Estrutura química das hemiceluloses	5
Figura 4 – Estrutura química de uma lenhina de madeira macia	5
Figura 5 – Tipos de células da madeira.....	6
Figura 6 – Raio medular	7
Figura 7 – Estrutura interior da madeira	8
Figura 8 – Representação de uma célula vegetal	9
Figura 9 – Lamela média	10
Figura 10 – Anisotropia na madeira.....	11
Figura 11 – Direção da fibra em relação aos três eixos ortogonais	11
Figura 12 – Efeitos da distorção na madeira condicionada pela sua anisotropia	13
Figura 13 – Propagação das rachaduras.....	15
Figura 14 – Direções de tração	16
Figura 15 – Direções de compressão	17
Figura 16 – Tensões geradas com a ação da força de flexão	18
Figura 17 – Espectro de radiação	27
Figura 18 – Madeira <i>Paulownia</i> após tratamento com microondas.....	29
Figura 19 – Estado das células após modificação moderada por radiação microondas.....	30
Figura 20 – Amostra de <i>Eucalyptus obliqua</i> após modificação intensiva por microondas.....	30
Figura 21 – Encolhimento Volumétrico devido às radiações microondas	32
Figura 22 – Modificação do Módulo de Elasticidade e do Módulo de Rigidez em função da energia de MO aplicada em diferentes espécies de madeira.....	34
Figura 23 – Procedimento experimental usado no estudo da variação do teor de humidade nos provetes de madeira.....	41
Figura 24 – Perfil de temperatura do meio agar após exposição à radiação microondas	53
Figura 25 – Aspeto das amostras de meio nutritivo agar após exposição à radiação microondas	54
Figura 26 – Variação da temperatura média nos provetes de madeira durante o período de exposição à radiação microondas	54

Figura 27 – Perfil de temperatura do provete sujeito a 180W (amostra seca) nos tempos estudados, entre 2 e 12 min.....	56
Figura 28 – Perfil de temperatura do provete sujeito a 270W (amostra seca) nos tempos estudados, entre 2 e 12 min.....	57
Figura 29 – Aspeto dos provetes antes e após irradiação (a seco).....	57
Figura 30 – Crescimento do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> em agar extrato de malte a 5%, a 33°C durante 7 dias.	62
Figura 31 – Estudo preliminar da ação do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> em provetes de madeira (1ª fase) .	64
Figura 32 – Incubação dos provetes previamente expostos à ação do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> em meio de cultura agar	66
Figura 33 – Estudo preliminar da ação do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> em provetes de madeira (2ª fase): Provetes provenientes dos Ensaios de crescimento	69
Figura 34 – Estudo preliminar da ação do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> em provetes de madeira (2ª fase): Provetes originais (exemplo do comportamento em meio agar)	70
Figura 35 – Contaminações microbiológicas identificadas nos ensaios realizados.....	72
Figura 36 – Placas de Petri com meio agar incubadas a 33°C, após processo de esterilização em autoclave	73
Figura 37 – Monitorização da exposição prolongada de provetes de madeira ao fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i>	76

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Composição química da madeira.....	4
Tabela 2 – Composição relativa de madeiras duras e macias.....	4
Tabela 3 – Densidade média da madeira de várias espécies de árvores	14
Tabela 4 – Resultados de propriedades mecânicas da madeira sujeita a diversos tratamentos	32
Tabela 5 – Densidade da madeira antes e depois da aplicação de radiações MO	33
Tabela 6 – Condições de eliminação de alguns fungos mediante aplicação de radiação MO	36
Tabela 7 – Ensaio realizados na avaliação do perfil de temperatura no meio agar.....	39
Tabela 8 – Condições de exposição do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> à radiação microondas nos ensaios de verificação da viabilidade	43
Tabela 9 – Condições experimentais testadas em provetes de madeira	46
Tabela 10 - Condições experimentais testadas em provetes de madeira	47
Tabela 11 – Valores de temperatura do meio agar quando exposto à radiação microondas	52
Tabela 12 – Variação da massa dos provetes de madeira ao longo do procedimento experimental	58
Tabela 13 – Viabilidade do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> quando exposto a uma dose única de radiação microondas.....	60
Tabela 14 – Viabilidade do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> quando exposto a doses múltiplas de radiação microondas.....	60
Tabela 15 – Viabilidade do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> após esterilização	61
Tabela 16 - Estudo preliminar da ação do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> em provetes de madeira (1ª fase)..	62
Tabela 17 - Incubação dos provetes previamente expostos à ação do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> em meio de cultura agar.....	65
Tabela 18 - Estudo preliminar da ação do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> em provetes de madeira (2ª fase)..	68
Tabela 19 – Monitorização da exposição prolongada de provetes de madeira ao fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i>	74

Lista de siglas, acrónimos e abreviaturas

CH	Conteúdo de Humidade
CV	Coefficiente de Variação
GP	Grau de Polimerização
MDR	Módulo de Rutura
ME	Módulo de Elasticidade
MO	Microondas
UV	Ultravioleta

1. Introdução

A madeira tem sido usada desde os primórdios da história em diferentes contextos, um dos quais a colocou num papel de especial importância: o da construção. Por ser um recurso renovável, barato e disponível é amplamente utilizado para fins de sustentação, decoração e revestimento, ainda que ao longo dos tempos tenham surgido outros materiais que conseguiram igualar o seu desempenho estrutural, tal como o betão e o aço. No entanto, com o avanço dos processos e técnicas de tratamento da madeira, tornou-se possível aplicá-la em larga escala neste setor, bem como assegurar a sua manutenção e durabilidade, o que se revelou uma condição preponderante nesta sua tarefa estrutural e estética.

Devido à sua grande utilidade e versatilidade, é importante que se encontrem formas de a proteger contra elementos bióticos e abióticos. Atualmente já existem diversos tipos de tratamento que ajudam a combater estas adversidades, mas que encontram na sua aplicabilidade algumas desvantagens, nomeadamente o facto de não se poderem aplicar *in situ*, serem de implementação morosa e não remediativos. Dada a necessidade de estudar técnicas que colmatem estas especificidades, o âmbito deste projeto centra-se em explorar o potencial da radiação microondas como forma de remediação e prevenção no controlo de pragas, mais concretamente no combate aos fungos da podridão castanha. Este tipo de tecnologia evidencia-se como uma alternativa prática devido às suas características: é um processo rápido, comparativamente a soluções mais tradicionais, como por exemplo os processos industriais de modificação térmica, conseguindo atingir temperaturas idênticas; e permite a aplicação *in situ*, através da construção de um gerador portátil, uma vez ultrapassadas eventuais barreiras à proteção da radiação emanada.

Sendo o objetivo deste trabalho estudar o uso de radiação microondas na prevenção antifúngica da madeira, foi desenvolvida uma metodologia de atuação para identificar as temperaturas suportadas pelos meios de cultura e pelos provetes e verificar a viabilidade do fungo quando exposto à radiação microondas em meio agar. Espera-se com este trabalho de investigação i) determinar em que condições de potência e tempo de exposição não há atividade fúngica, ii) contribuir indiretamente para a redução do ataque de fungos nas madeiras, através do tratamento por radiação microondas e iii) contribuir para que as

empresas do setor possam desenvolver tecnologia adequada, adotando esta prática no tratamento de madeiras com função estrutural.

De modo a contextualizar a temática do estudo serão abordados aspetos teóricos sobre as características da madeira, assim como sobre a degradação que sofre e os tipos de tratamento correntemente utilizados (capítulos 2 a 3). Também serão apresentados conceitos essenciais no âmbito da radiação microondas (capítulo 4), para facilitar a compreensão da parte experimental do trabalho descrita no capítulo 5. Por fim, os resultados deste estudo e as conclusões serão apresentados nos capítulos 6 e 7, respetivamente.

2. Características da Madeira

A madeira, devido às suas características e abundância como matéria-prima, tornou-se no material de construção mais usado ao longo da história. Como material orgânico proveniente das árvores, a madeira tem uma estrutura celular composta por fibras orientadas longitudinalmente (Figura 1). Enquanto que as propriedades da madeira são, em larga escala, determinadas por processos de fabricação que alteram a configuração das suas fibras, as características básicas transitam do material original para o produto final (G.Williamson, 2002).

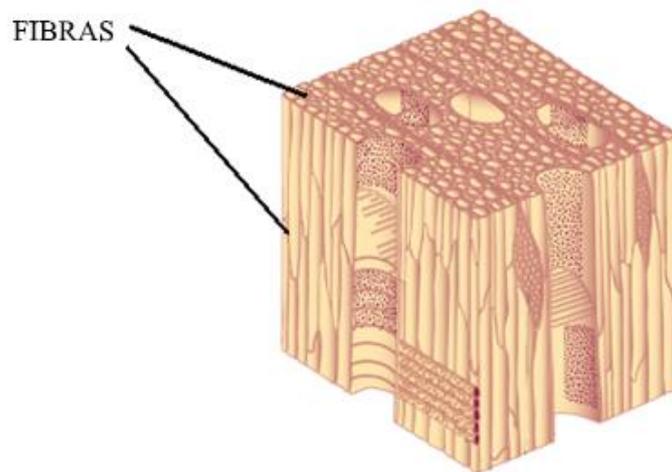


Figura 1 – Direção das fibras na madeira (adaptado de Chen *et al.*, 2020)

As madeiras podem ser originárias de árvores de madeira dura ou macia: diferente do que se possa pensar, esta classificação não é baseada na densidade nem no facto de a madeira ser mais ou menos dura. As árvores de madeira dura são aquelas que perdem a sua folhagem no inverno, enquanto que as de madeira macia são as de folhas em forma de agulha e que se mantêm verdes ao longo de todo o ano (G.Williamson, 2002).

2.1. Composição Química

No que concerne aos seus elementos básicos, a madeira é composta essencialmente por carbono, oxigénio e hidrogénio (Tabela 1). Os principais compostos orgânicos nela presentes são a lenhina, a celulose e a hemicelulose. A sua composição relativa varia, dependendo do tipo de madeira, crescimento do espécime, estado de maturação da árvore e localização no tronco (Tabela 2) (G.Williamson, 2002).

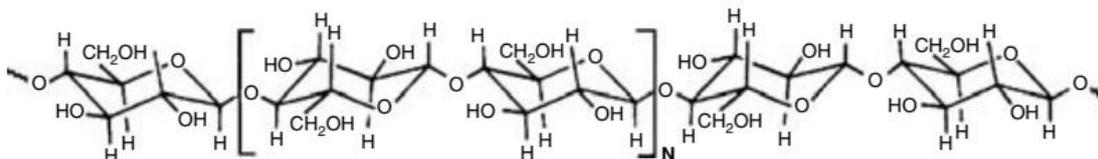
Tabela 1 – Composição química da madeira (Coutinho, 1999)

Carbono	49%
Oxigénio	44%
Hidrogénio	6%
Azoto	1%
Cinzas (matéria mineral)	1%

Tabela 2 – Composição relativa de madeiras duras e macias (G.Williamson, 2002)

	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lenhina (%)
Madeira dura	40-44	15-35	18-25
Madeira macia	40-44	20-32	25-35

A celulose é o composto orgânico mais abundante no planeta Terra (R. Rowell *et al.*, 2012). Encontra-se principalmente em plantas e animais marinhos, embora seja também possível encontrá-la, em menor escala, em algas, fungos, bactérias e invertebrados (Habibi *et al.*, 2010). Este polissacarídeo é constituído por unidades monoméricas de β -D-glucose (Morais *et al.*, 2005). O número de unidades presente na celulose representa o grau de polimerização (GP). A celulose da madeira poderá conter um GP entre 9000 – 10000 (R. Rowell *et al.*, 2012). A Figura 2 mostra a estrutura parcial da celulose.

**Figura 2** – Estrutura química da celulose (retirado de Rowell *et al.*, 2012)

As hemiceluloses são polissacarídeos com um GP menor que a celulose (aproximadamente de 100 a 200 GP). Possuem mais do que um tipo de açúcar e as suas designações são muitas vezes determinadas pelo tipo de açúcar que contêm (R. Rowell *et al.*, 2012). Podem ser classificadas em 4 famílias: as xilanas (constituídas principalmente por pentoses e ácidos urónicos), as mananas (têm na sua cadeia principal manoses e glucoses), as glucanas (das quais fazem partes o amido) e as galactanas (com ramificações de ramnoses, arabinoses e galactoses) (Holtzapfle, 2003) (Isabel, 2014). De acordo com Rowell *et al.* (2012), as hemiceluloses da família dos xilanas existem de forma predominante nas madeiras duras, enquanto que as madeiras macias têm, na sua maioria, hemiceluloses do tipo mananas e galactanas. Na Figura 3 é possível observar a estrutura química da xilana e da manana, neste caso a Glucomanana.

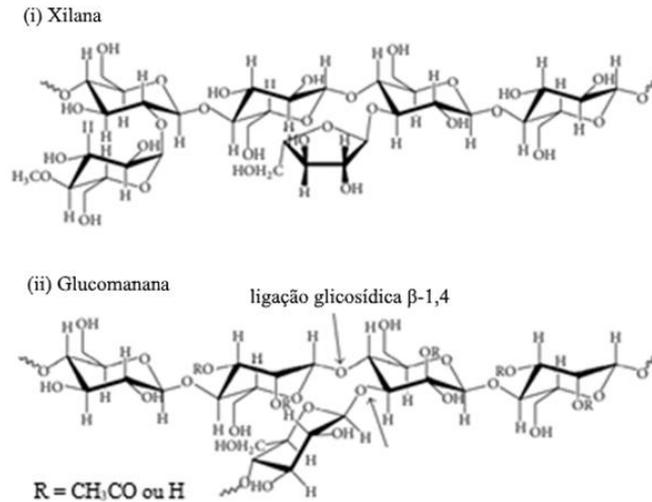


Figura 3 – Estrutura química das hemiceluloses (retirado de: Lee *et al.*, 2014)

Por ser responsável pela agregação das células, a lenhina é um importante componente da parede celular, proporcionando rigidez à parede, além de permitir a sua estanqueidade (Hon & Shiraishi, 2000). Está presente nas plantas superiores e, por isso, organismos como fungos, algas e líquenes não possuem lenhina (Fengel & Wegner, n.d.). As lenhinas são, de forma geral, formadas por monómeros de hidroxifenilo (sem metóxilos), guaiacil (possui um metóxilo) e siringil (possui 2 grupos metóxilo), cuja predominância determina a sua designação – as de madeiras macias (Figura 4) são, maioritariamente, denominadas de lenhinas de guaiacilo, fruto da polimerização do álcool coniferílico; já as de madeira dura são lenhinas siringilo-guaiacilo, com polímeros de álcoois sinapílico e coniferílico (R. M. Rowell, 2005).

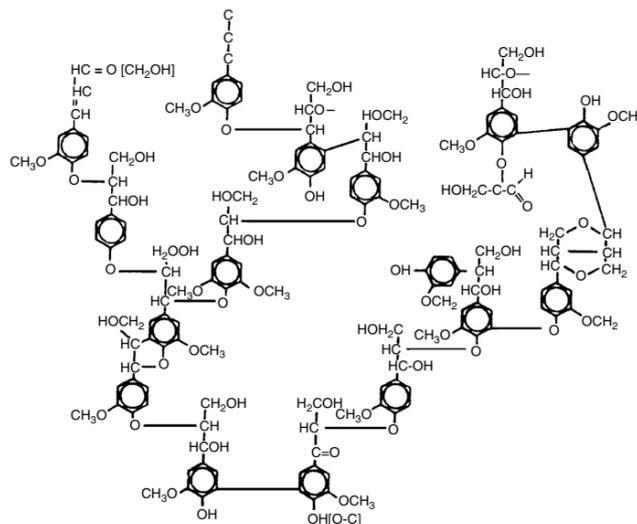


Figura 4 – Estrutura química de uma lenhina de madeira macia

2.2.Estrutura

A madeira é constituída principalmente por células alongadas, apresentando vazio interno e tendo diferentes tamanhos e formas, de acordo com a sua função. A Figura 5 demonstra a variedade de estruturas celulares existentes na madeira.

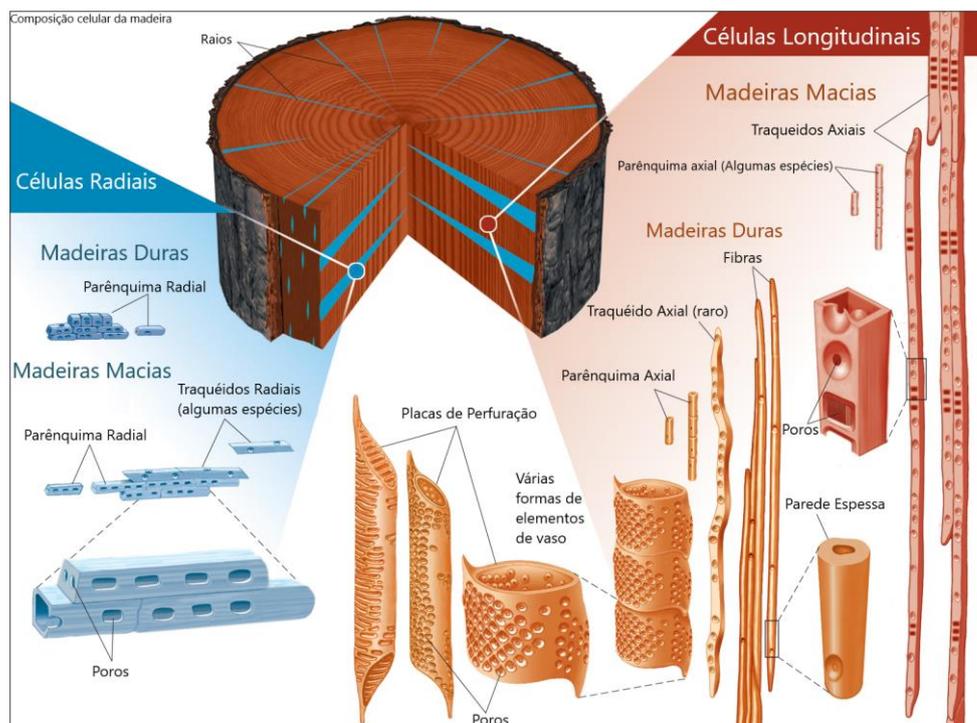


Figura 5 – Tipos de células da madeira (retirado de Tsoumis, n.d.)

Na madeira encontram-se traqueídeos, vasos, raios medulares e fibras. Os **traqueídeos** são células alongadas, fechadas e pontiagudas, com comprimento de 3 a 4 mm e diâmetro de 45µm (Varela, 2015); têm uma dupla função, podendo servir de condutores da seiva ou de suporte mecânico (Coutinho, 1999). Já os **vasos** são tubos longitudinais de células. Cada vaso é formado por células longitudinais e tubulares justapostas, visíveis a olho nu, abertas nas extremidades; a sua função é permitir o fluxo da seiva através do lenho. Podem ser múltiplos ou simples, com diâmetros compreendidos entre os 20 e 500 µm (Coutinho, 1999). Os **raios** são conjuntos de células que se estendem de forma radial desde a parte mais exterior do tronco até ao seu cerne (Carlquist, 1988) (Figura 6). Têm função estrutural, aumentando principalmente a resistência das células longitudinais (Stalnaker & Harris, 1997). Por último, as **fibras** são formas celulares com paredes grossas e pequenos vazios internos, denominados lúmen; variam de comprimento entre 500 e 1500 µm (Varela, 2015). Existem variados tipos de fibras, sendo que a sua função principal é a de suporte estrutural. Algumas servem de

armazenamento a metabolitos, enquanto que outras realizam o transporte de água (Patten *et al.*, 2010). Nas designadas madeiras macias, as fibras da madeira de lenho tardio (de parede celular espessa) providenciam resistência, enquanto as da madeira de lenho inicial conduzem água e minerais. Já nas madeiras duras, as fibras apenas realizam função de suporte (Fengel, 1989).

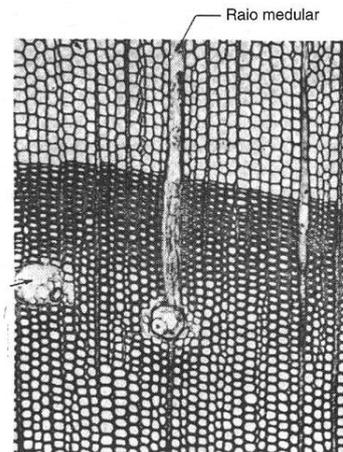


Figura 6 – Raio medular (<http://estacio.webaula.com.br/cursos/gon854/aula1.html>)

A observação da madeira mostra as diferenças estruturais existentes entre madeiras duras e macias (Figura 5), entre diferentes espécies e entre o borne e o cerne (Figura 7a). Essas diferenças resultam do desenvolvimento e crescimento do tecido da madeira (Fengel, 1989). Este tecido é composto por células que, consoante as suas características, desenvolvem funções de estrutura, condução de água e armazenamento de alimentos (National Institute of Industrial Research (India). Board of Consultants & Engineers., 2009).

As madeiras macias e as madeiras duras são distinguíveis pelo tipo de células constituintes e suas funcionalidades (Fengel, 1989), tendo em comum os traquéidos e as fibras (Fahlén, 2005). As madeiras macias são formadas predominantemente por traquéidos, pelo que apresentam uma textura mais uniforme, e, como tal, são mais fáceis de trabalhar. Já as madeiras duras possuem uma maior diversidade celular, nomeadamente vasos, fibras, traquéidos, células parenquimais e raios, tornando-se difíceis de trabalhar (Butterfield, 1968).

A madeira pode ainda ser proveniente de diferentes partes do tronco: do cerne ou do borne (Figura 7a). O cerne é a zona mais interior de um tronco de madeira e apresenta uma coloração mais escura. À medida que as árvores envelhecem, a zona central do tronco

acumula nutrientes que são metabolizados em vários constituintes, como ceras, óleos, resinas, gorduras e taninos, juntamente com compostos aromáticos e corantes. Por sua vez, o borne é a parte mais clara e externa do tronco. É a zona mais recente e é onde ocorre o transporte de água e nutrientes essenciais ao crescimento da árvore (G.Williamson, 2002).

O diferente ritmo de crescimento das árvores ao longo do ano também dá origem a regiões distintas na madeira do tronco. Em condições favoráveis (ex. na primavera) a árvore cresce a um ritmo superior, formando a madeira de lenho inicial; a madeira de lenho tardio forma-se quando a árvore tem um crescimento mais lento, sendo que esta parte da madeira é mais escura (Figura 7b) (G.Williamson, 2002).

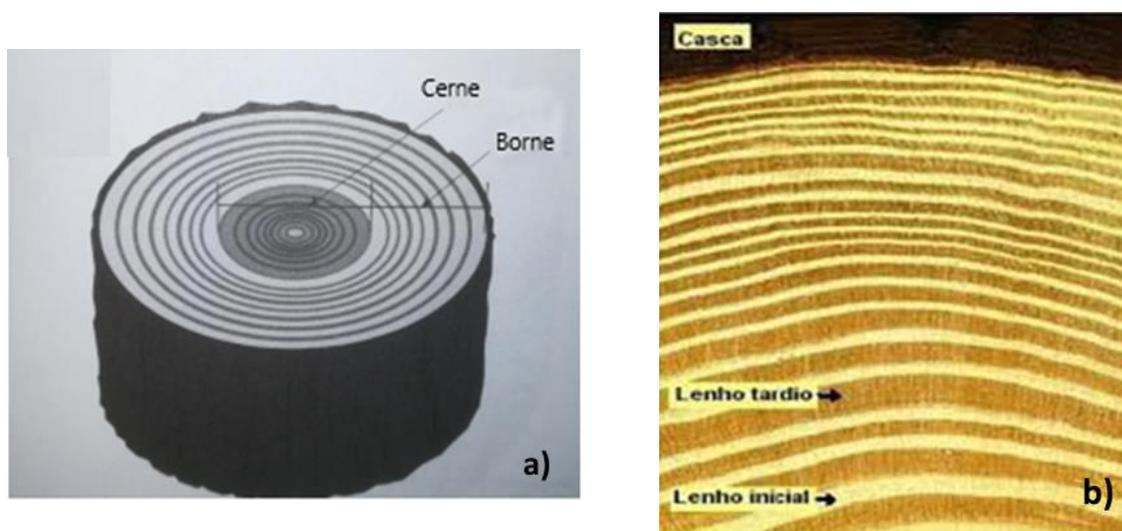


Figura 7 – Estrutura interior da madeira

(a) Cerne vs Borne
(adaptado de G.Williamson, 2002)

(b) Lenho inicial vs Lenho tardio
(Potulski, n.d.)

2.3. Ultra Estrutura

A ultra estrutura diz respeito à constituição da parede celular. Esta é composta por duas camadas principais: a parede primária (P) e a parede secundária, constituída pela camada externa (S1), a camada média (S2) e a camada interna (S3). A unir as diversas células surge a lamela média (LM). O lúmen compreende o espaço vazio que se encontra dentro das células. (W. Carvalho *et al.*, 2009)(R. M. Rowell, 2005). Uma esquematização da ultra estrutura pode ser encontrada na Figura 8.

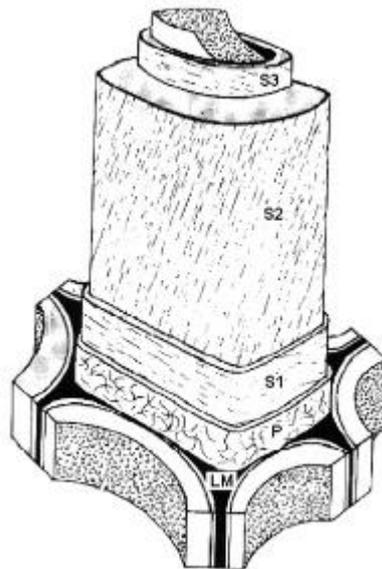


Figura 8 – Representação de uma célula vegetal (adaptado de Carvalho *et al.*, 2009)

A lamela média funciona como forma de agregação entre as células e é uma camada sem celulose (Fengel & Wegner, n.d.). Está ligada à parede primária e, uma vez que esta última é muito fina, dificilmente se distinguem uma da outra. A parede primária apresenta grandes quantidades de lenhina (cerca de 84%), 13,3% de hemicelulose e 0,7% de celulose. A parede S1 é composta por 51,7% de lenhina, 30% de celulose e 18,3% de hemicelulose, enquanto a S2 tem uma percentagem inferior de lenhina, cerca de 15,1%, contando com 54,3% de celulose e 30,6% de hemicelulose. A S3 é composta maioritariamente por hemiceluloses (87%) e celulose (13%), tendo pouca ou nenhuma lenhina (R. Rowell, 2005).

De acordo com R. M. Rowell (2005b), a camada S2 é das que mais contribui para a generalidade das propriedades da parede celular, sendo também a camada mais espessa, das três que compõem a parede secundária. A camada S3 é a responsável pelo transporte da água, o que justifica a sua baixa composição em lenhina (uma vez que é uma molécula hidrofóbica). A Figura 9 resume a constituição das várias camadas, em função do tipo de madeira onde estão presentes.

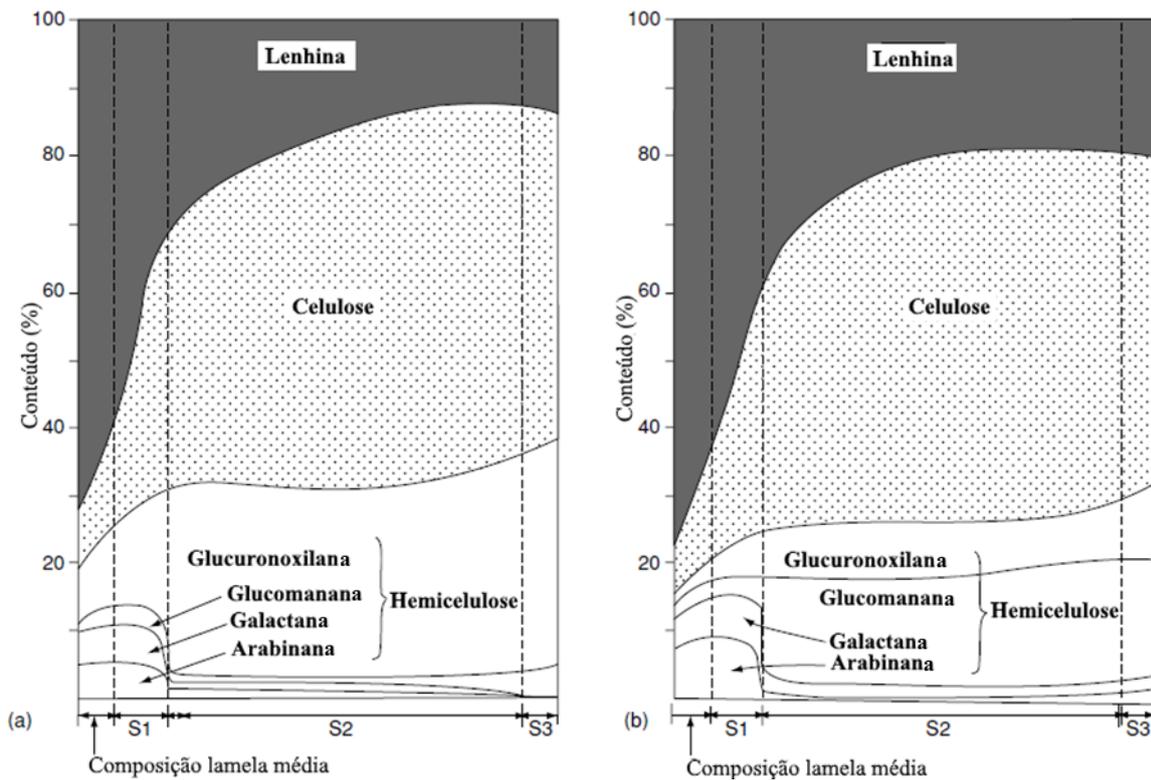


Figura 9 – Lamela média: a) madeira dura e b) madeira macia. (adaptado de Holtzapfle, 2003)

2.4. Propriedades Físicas e Mecânicas

A natureza da madeira e a interação entre as diferentes variáveis a que está sujeita a árvore quando se desenvolve torna-a individual nas suas propriedades. Deste modo, importa referir que a prevalência das propriedades de seguida enumeradas (físicas e mecânicas) pode sofrer alteração consoante as condições em que a madeira estudada se desenvolve (Green *et al.*, 1917).

De um modo geral, as propriedades e aparência da madeira são influenciadas pela orientação da superfície relativamente à sua posição no tronco, pelo que a madeira se assume como um material anisotrópico. A sua anisotropia evidencia-se quando a propagação de um determinado fenómeno físico é condicionado pelos seus três eixos ortogonais – o radial, o tangencial e longitudinal (G.Williamson, 2002). Estas direções em relação ao tronco da madeira podem ser observadas na Figura 10.

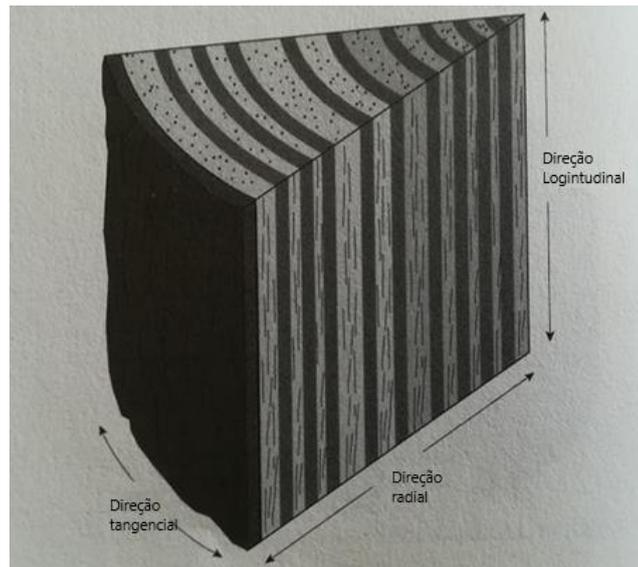


Figura 10 – Anisotropia na madeira (G.Williamson, 2002)

Na madeira, a direção em que a fibra se encontra (Figura 11) coincidente com o eixo longitudinal é a direção principal da movimentação da água no xilema da madeira, e é a direção preferencial da propagação de eventuais rachaduras (Kramer, 2006).

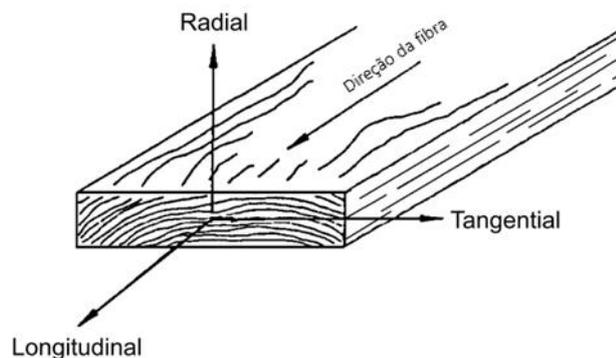


Figura 11 – Direção da fibra em relação aos três eixos ortogonais (Green *et al.*, 1917)

As **propriedades físicas** da madeira podem ser vistas como marcas de identidade das diversas espécies de madeira existentes. Desde a capacidade que têm de acumular água, até à densidade, estas características modelam o desenvolvimento da árvore e condicionam o tipo de madeira que dela advirá. São condições preponderantes para o seu desempenho nas diversas utilizações e processos afetos à madeira. Contam-se como propriedades físicas, a humidade, a densidade e a durabilidade.

2.4.1. Humidade

A madeira é um material higroscópico, o que significa que tem capacidade de regular o seu teor de água, com o intuito de manter o equilíbrio com o meio envolvente. Ao teor da água na madeira chama-se conteúdo de humidade (CH) (Equação 1), e representa o peso da água por peso de madeira seca (G.Williamson, 2002). Neste contexto, entende-se por madeira seca a madeira seca/aquecida a uma temperatura igual ou superior à temperatura de ebulição da água (Merriam-webster, 2020). Em consequência desta categorização, a humidade é fulcral na determinação do comportamento e das características da madeira, tal como as condições de origem da árvore influenciam as propriedades desse material. As trocas de humidade que decorrem entre a madeira e o ar são condicionadas pelo conteúdo de humidade no material e pela temperatura e humidade relativa do ar (Glass Samuel V; Zelinka, 2010).

$$CH(\%) = \frac{m_{\text{água}}}{m_{\text{madeira seca}}} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Onde CH, conteúdo de humidade;

$m_{\text{água}}$, massa de água na madeira;

$m_{\text{madeira seca}}$, massa da madeira seca.

A madeira pode reter água tanto nas cavidades como nas paredes celulares. Essa água pode considerar-se **água livre**, quando se apresenta no estado líquido ou no estado gasoso, surgindo no lúmen celular/cavidades; ou **água quimicamente ligada**, mantida deste modo através de interações intermoleculares entre si e a parede celular da madeira (Glass Samuel V; Zelinka, 2010). A água quimicamente ligada pode representar até cerca de 30% da água da estrutura celular. Quando as paredes celulares estão saturadas de água e não existe água nas cavidades atinge-se o ponto de saturação das fibras (G.Williamson, 2002).

A madeira encolhe (retrai) e expande (entumece) quando o CH varia. Quando a água que está quimicamente presente nas paredes celulares se perde, a madeira encolhe. Quando é adicionada, a madeira expande (G.Williamson, 2002). Estas alterações ocorrem em função da humidade e da temperatura relativas do ar, que estimulam a madeira a ajustar-se melhor às condições envolventes (Glass Samuel V; Zelinka, 2010). A água livre presente no lúmen ou nas cavidades não afeta as suas propriedades.

O conteúdo de humidade é um fator crucial no que diz respeito à **estabilidade dimensional** da madeira. Quando supera o ponto de saturação das fibras, a madeira é considerada

dimensionalmente estável. Caso contrário, nada acontece – o que significa que não há expansão ou encolhimento das suas células, na sequência da oscilação na quantidade da água quimicamente ligada.

Considerando esta característica e tendo em conta que a madeira é um material anisotrópico, a expansão das suas células ocorre nos 3 sentidos segundo os quais o material se organiza (Figura 10). A madeira sofre menos alterações no sentido longitudinal (ao longo do grão), seguida da direção radial; é maioritariamente ao longo dos anéis de crescimento anual (sentido tangencial) que a madeira entumece e retrai de forma mais pronunciada. Fruto destas alterações a madeira ganha distorções conforme as ilustradas na Figura 12 (Glass Samuel V; Zelinka, 2010).

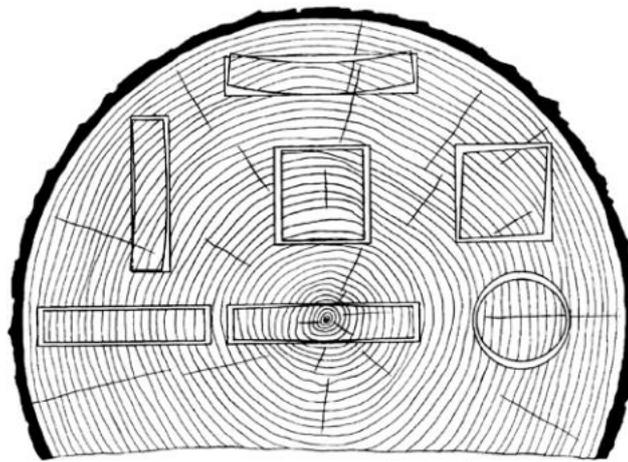


Figura 12 – Efeitos da distorção na madeira condicionada pela sua anisotropia (Glass Samuel V; Zelinka, 2010)

2.4.2. Densidade

A densidade é uma característica determinante na qualidade da madeira. Não obstante, é fortemente influenciada por múltiplas variáveis, quer internas quer externas, o que faz com que se manifeste de formas consideravelmente díspares dentro e fora da espécie (Poubel *et al.*, 2011).

Em termos teóricos, a densidade (massa volúmica, de acordo com o Sistema Internacional de Unidades) de um material é o quociente entre a sua massa e volume, genericamente expressa em kg/m^3 . A densidade relativa é amplamente utilizada na caracterização de madeiras e refere-se ao quociente entre a massa volúmica da substância e a massa volúmica da água a uma temperatura especificada. Como a madeira é um material que vê o seu volume

a alterar-se em consequência do CH, e uma vez que a temperatura influencia grandemente a humidade do ar, a sua densidade varia na mesma proporção – neste sentido, pré-determinar a temperatura no cálculo da densidade relativa ajuda a entender o comportamento das madeiras e a ajustar as suas propriedades à sua funcionalidade (Glass Samuel V; Zelinka, 2010). A densidade é utilizada como indicador da qualidade do material, pois está diretamente ligada à espessura das paredes celulares: enquanto que as madeiras usadas na construção de estruturas serão tipicamente mais densas, a indústria da pasta de papel prefere madeiras de baixa densidade (Barnett & Jeronimidis, 2003). Na Tabela 3 está presente a densidade média da madeira de diferentes espécies de árvores.

Tabela 3 – Densidade média da madeira de várias espécies de árvores (Li *et al.* (2014), Pretzsch *et al.* (2018), Emi & Aguiar, (2008)

Espécie	Densidade média (kg/m ³)
Abeto	446
Pinheiro Silvestre	458
Faia	126
Pinheiro Marítimo	474

2.4.3. Durabilidade

De acordo com Brischke (2018), a durabilidade da madeira traduz a sua resistência a organismos destruidores, quando sujeita à influência do meio onde se insere. Esta resistência é uma característica intrínseca à madeira e está dependente da qualidade dos seus componentes.

A durabilidade natural da madeira varia em função da espécie florestal a que pertence, assim como dentro da mesma espécie, entre o cerne e o borne. No entanto, em todos os casos, a durabilidade é maior na madeira de cerne do que na de borne (Henriques, 2020). Isto acontece porque, ao longo da fase de transição do borne para o cerne, ocorrem transformações físicas e químicas, que resultam numa diminuição da permeabilidade do recentemente formado cerne, acompanhadas do consequente aumento da sua durabilidade, devido à introdução de produtos repelentes e tóxicos para fungos e insetos (Verbist *et al.*, 2018).

A madeira, como um material sólido, possui a capacidade de sofrer uma qualquer deformação. Neste sentido, as **propriedades mecânicas** deste material pré-definem a sua

capacidade e condicionam o modo como reage a essa deformação. Em termos mecânicos, a categorização da madeira remete não só para a anisotropia, mas também para o facto de que esta é um material ortotrópico. Ou seja, considera-se que a madeira se comporta de forma consistente, mas independente em cada um dos seus três eixos ortogonais (Green *et al.*, 1917). Consideram-se propriedades físicas, a dureza, a elasticidade, a resistência à tração, a resistência à compressão, a resistência ao corte e a resistência à flexão.

2.4.4. Dureza

A dureza de uma madeira é a medida de energia necessária para que em si haja propagação de rachaduras (H.E.Desch & J.M, 1996). Esta energia dissipa-se quando há libertação de tensão, resultante da ação de uma carga. No entanto, a propagação das rachaduras pode ser impedida, desde que o material tenha alguma forma de absorver a energia que é libertada, ou se houver uma absorção do impacto da carga. A madeira apresenta 6 direções de propagação de rachaduras (Figura 13), sendo que a sua dureza é superior transversalmente ao grão, enquanto que é inferior ao longo do grão (Hughes *et al.*, 2015).

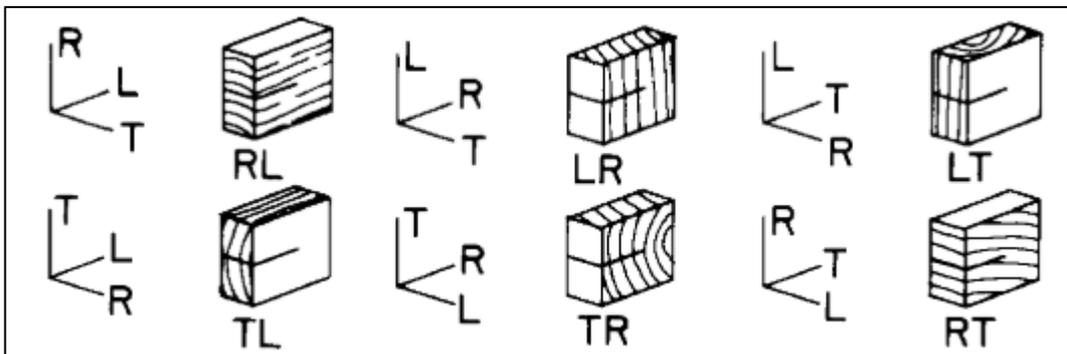


Figura 13 – Propagação das rachaduras.

L, R e T referem-se às direções Longitudinal, Radial e Tangencial, respetivamente. A primeira letra diz respeito à orientação do plano da rachadura perpendicularmente à direção notada, enquanto a segunda letra indica a direção da propagação da rachadura. Por exemplo, “TL” refere-se a uma rachadura orientada perpendicularmente ao plano tangencial e que se propaga de forma longitudinal relativamente ao grão (Hughes *et al.*, 2015).

2.4.5. Elasticidade

A elasticidade de um material é condicionada pela sua capacidade de assumir a sua forma original quando cessa a tensão exercida por uma carga considerada leve (Green *et al.*, 1917).

De uma forma genérica, o Módulo de Elasticidade (ME) é função da compressão aplicada e da consequente deformação originada. O ME define o limite da elasticidade da madeira,

quando esta passa de um comportamento elástico, capaz de retornar a sua forma prévia antes da ação de uma força, para um viscoelástico, quando essa característica inicial já não é retomada (Mec, 2007). No que concerne especificamente à madeira e à sua ortotropia, torna-se relevante dirigir a cada um dos seus 3 eixos um módulo de elasticidade diferente, ou seja, um Módulo de Elasticidade longitudinal, tangencial e radial. Os rácios destes módulos, assim como as suas constantes, variam entre espécies e de acordo com o teor de humidade e com a densidade relativa (Green *et al.*, 1917).

Outra propriedade elástica importante é o Módulo de Rigidez (MR) ou de cisalhamento, que indica a resistência da madeira à deformação, causada por tensões de corte. Esta propriedade varia de espécie para espécie (Cai & Robert, 2006).

Uma das propriedades a referir, no que toca à resistência da madeira, é o Módulo de Rutura (MDR). Este reflete a capacidade máxima de carga de uma madeira, até que esta se dobre (Green *et al.*, 1917).

2.4.6. Resistência à Tração

A resistência à tração da madeira é a força máxima que este material consegue sustentar até sofrer uma rutura. Essa resistência ocorre tanto perpendicularmente, como paralelamente à disposição das suas fibras, como mostra a Figura 14 (Green *et al.*, 1917)(Mello, 2007). Tendencialmente, a resistência à tração perpendicular é menor que a resistência à tração paralela, uma vez que na direção perpendicular, as fibras não conseguem acompanhar a extensão do movimento executado. Na direção paralela, os feixes de fibras longitudinais apresentam uma elevada resistência, pois esta direção é também a direção das ligações primárias dos principais constituintes químicos da parede celular das fibras (Baião, 2014).

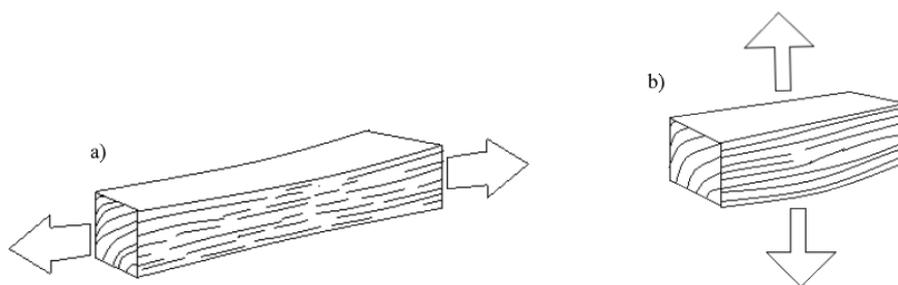


Figura 14 – Direções de tração; (a) direção paralela e b) direção perpendicular. (Mello, 2007)

2.4.7. Resistência à Compressão

A resistência à compressão traduz o limite evidenciado pelas fibras da madeira quando sujeitas a uma força de compressão (Figura 15). Esta força pode ocorrer tanto paralela como perpendicularmente à disposição das fibras (Green *et al.*, 1917). De acordo com Baião (2014), os valores da resistência à compressão na direção perpendicular são inferiores aos da direção paralela – isto acontece porque as fibras, quando sujeitas a uma compressão perpendicular, compactam e originam grandes deformações. Esta compactação impede a ocorrência de danos maiores nas fibras, conferindo-lhes mais resistência (Mello, 2007).

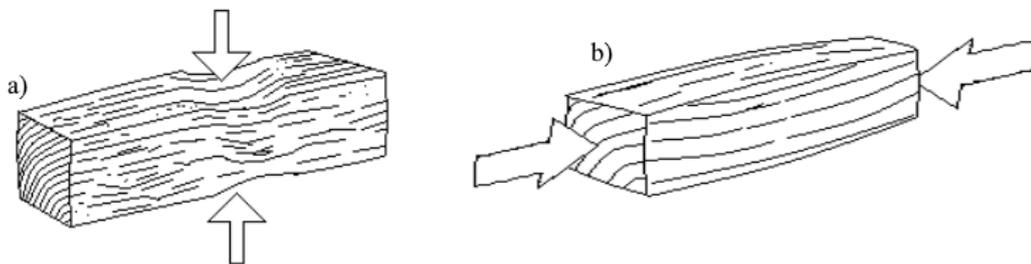


Figura 15 – Direções de compressão(a) compressão perpendicular; b) compressão paralela)
(Mello, 2007)

2.4.8. Resistência ao Corte/Cisalhamento

As tensões de cisalhamento/corte podem ocorrer nas direções perpendiculares ou paralelas às fibras. A tensão de cisalhamento perpendicular não é considerada, uma vez que, quando a madeira é sujeita a forças de cisalhamento perpendiculares às fibras, ocorrem outros tipos de falhas antes de haver corte (Mello, 2007) (Baião, 2014). Assim, a tensão de cisalhamento paralela é a mais importante e prende-se com a capacidade que a madeira tem em resistir ao deslizamento interno de uma parte sobre a outra, ao longo das fibras (David W. Green, Jerrold E. Winandy, 1999).

2.4.9. Resistência à Flexão

Quando a madeira é sujeita a forças de flexão desenvolvem-se outros tipos de tensão, nomeadamente de cisalhamento, de compressão e de tração tal como mostrado na Figura 16 (Mello, 2007). A rutura acaba por ocorrer quando é atingido o limite de resistência à tração. A resistência à flexão depende da geometria da madeira em estudo e da força exercida (Baião, 2014).

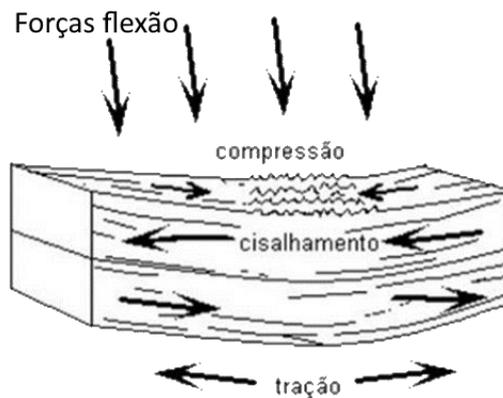


Figura 16 – Tensões geradas com a ação da força de flexão (Mello, 2007)

2.5. Propriedades Térmicas

Conhecer o comportamento térmico da madeira é preponderante quando o objeto da sua utilização tem como fator condicionante a temperatura. As propriedades térmicas que importa referir são a condução, a expansão, a temperatura de combustão e a reação dos compostos estruturais à variação da temperatura (G. Williamson, 2002).

2.5.1. Condução Térmica

A condução térmica é a taxa de transferência de calor que ocorre num material sujeito a uma mudança de temperatura. A condutividade térmica da madeira é afetada pela densidade, teor de humidade e direção do grão (alinhamento de fibras na mesma direção) (G. Williamson, 2002). Em média, a condutividade térmica é cerca de 5 a 10% maior na direção do grão do que na direção transversal. Por ser um material poroso, a madeira é um mau condutor, tendo, por isso, um baixo coeficiente de condutividade térmica ($\lambda = 0.0216 \text{ Kcal/m.h.}^\circ\text{C}$) (Moreschi, 2005).

2.5.2. Expansão Térmica

A expansão térmica na madeira acontece com o aumento da temperatura. No entanto, em condições normais, a expansão térmica da madeira ocorre simultaneamente com o encolhimento provocado pela perda de humidade, pelo que, ao longo do tempo, regista-se um encolhimento do material (em vez de uma expansão), pois as alterações dimensionais

provocadas pelo aumento da temperatura são menos significativas do que as provocadas pela alteração do teor de humidade.

2.5.3. Temperatura de Combustão

A combustão é um processo de degradação da madeira que depende da taxa de aquecimento, da temperatura, da presença de ar e da fonte de ignição. A madeira começa a carbonizar (temperatura de combustão) quando é aquecida para além dos 100°C. A degradação térmica ocorre de forma sequencial (G. Williamson, 2002):

- A temperaturas entre os 110-150°C, a madeira carboniza progressivamente, havendo a possibilidade de ocorrer combustão se não houver dissipação do calor e dos compostos voláteis;
- A temperaturas entre os 150-200°C, a carbonização ocorre de forma mais rápida e a possibilidade de combustão aumenta;
- A temperaturas entre os 200-280°C, ocorre carbonização rápida e provável combustão;
- A temperaturas superiores a 280°C, a combustão espontânea ocorre rapidamente.

O aumento da temperatura altera a composição química da madeira, através da degradação dos compostos da parede celular. A hemicelulose é a estrutura mais facilmente afetada. Durante a degradação, dá-se a libertação de ácido acético que funciona como um catalisador da despolimerização dos polissacarídeos, formando-se formaldeídos, furfuro e aldeídos (B. M. Esteves & Pereira, 2009). A degradação das hemiceluloses agrava-se com o aumento da temperatura e do tempo de exposição, evidenciando-se a partir dos 100°C e 48 horas de aquecimento (C. A. S. Hill, 2006a).

A celulose é degradada, de forma geral, a temperaturas superiores à da degradação da hemicelulose. A celulose cristalina altera-se a temperaturas entre 300 e 340°C, enquanto a celulose amorfa pode apresentar reduções no seu grau de polimerização a temperaturas de 150°C, sendo assim mais suscetível à temperatura. Quando degradada, a celulose produz grupos carboxílico e carbonilo, CO₂, CO e, principalmente, 1,6-anidrido-β-D-glucose (C. A. S. Hill, 2006a). Salientar que o nível de cristalização da celulose aumenta à medida que a celulose amorfa é degradada, tornando-a assim menos suscetível à elevação da temperatura (B. M. Esteves & Pereira, 2009).

A lenhina é o composto da parede celular mais resistente à degradação térmica, uma vez que só sofre alterações mais significativas a temperaturas acima de 280°C (C. A. S. Hill, 2006a). B. M. Esteves & Pereira (2009) referem que a madeira, quando é sujeita a tratamentos térmicos (como os referidos no ponto 3.2) aumenta em teor de lenhina.

A degradação dos polímeros da parede celular, nomeadamente das hemiceluloses e da lenhina, é responsável pela alteração das propriedades mecânicas da madeira (Kačíková *et al.*, 2013).

De acordo com B. M. Esteves & Pereira (2009), o Módulo de Rutura (MDR) é tanto menor quanto maior a temperatura a que é sujeita a madeira. Segundo C. A. S. Hill (2006a), a diminuição do MDR ocorre em função do tipo de tratamento aplicado, nomeadamente da atmosfera onde se dá o aquecimento e da presença de humidade. Relativamente ao Módulo de Elasticidade (ME), Kubojima *et al.* (2000) verificaram um comportamento irregular, quando a madeira é sujeita a elevadas temperaturas: durante o aquecimento em atmosfera de hidrogénio o seu comportamento foi constante ao longo do tempo; enquanto que na presença de ar, sofreu variações, observando-se uma ligeira redução do ME (Yun *et al.*, 1999).

A perda de massa e o aumento da estabilidade dimensional também são consequências do efeito térmico sobre as madeiras. A perda de massa ocorre de forma diferente em cada tipo de madeira e depende da temperatura. No processo há libertação de compostos voláteis, resultante da degradação das hemiceluloses e das lenhinas (Candelier *et al.*, 2016). O aumento da estabilidade dimensional deve-se às mudanças químicas que ocorrem a elevadas temperaturas, pelo facto de se formarem polímeros que são menos higroscópicos do que os anteriores (B. M. Esteves & Pereira, 2009).

3. A degradação da madeira

A madeira é particularmente suscetível aos efeitos adversos do ambiente que a rodeia, nomeadamente à deterioração físico-química e biológica.

A degradação físico-química ocorre essencialmente devido aos agentes atmosféricos, às malformações aquando do crescimento da árvore, aos agentes químicos e à ação do fogo. Através da ação da chuva, a madeira sofre variações bruscas de humidade que criam tensões internas e reduzem a sua resistência mecânica. Por outro lado, os raios ultravioleta da radiação solar descolorem a madeira, através do efeito da fotodegradação, e os raios infravermelhos, através de sucessivos ciclos de aquecimento e arrefecimento, provocam fendas longitudinais na madeira.

A má formação da árvore também pode ter efeitos adversos na madeira. Por exemplo, o crescimento irregular promove o desvio das fibras, o que pode conduzir a uma fraca capacidade de resposta estrutural do material. Já os efeitos de produtos químicos na madeira podem levar a uma alteração da coloração. A exposição a ambientes ácidos pode promover a destruição das cadeias de carbono, deixando a madeira com um aspeto fibroso, e a exposição a ambientes alcalinos pode instigar a destruição da lenhina e das hemiceluloses, levando a uma perda de resistência e consistência (Rodrigues, 2004).

No que à degradação biológica concerne, o seu papel é particularmente importante: é responsável por alterações na parede celular e na coloração da madeira e, em muitos casos, culmina com o seu apodrecimento. Este tipo de degradação deve-se muito frequentemente à ação de fungos e insetos, nomeadamente térmitas (Rodrigues, 2004).

Por forma a diminuir os efeitos da degradação físico-química e biológica da madeira foram desenvolvidos processos de modificação que permitem alterar o material, tanto a nível químico como físico, para combater as falhas que possam existir e melhorar o seu desempenho estrutural (Hill, 2006b).

3.1. A ação dos fungos sobre a madeira

Os fungos são organismos xilófagos que promovem a degradação da madeira através da excreção de enzimas. Estas enzimas, atuando sobre os seus constituintes, causam a alteração da estrutura do material.

Em todo o caso, e para levar a cabo essa ação, os fungos necessitam de condições favoráveis para o seu desenvolvimento, identificando-se a humidade, a temperatura, o pH e os nutrientes como os mais importantes nesse processo. Outros fatores poderão ser referidos, nomeadamente a concentração de oxigénio, a luz solar e a presença de esporos (Adan, 1994) (Rocha, 2017). A influência destes fatores poderá variar em função das espécies de fungos em causa. A **humidade** é um fator essencial, pois a água é necessária para o processo de alimentação dos fungos. A existência da humidade nos substratos é favorável quando o seu teor varia entre 80 e 100%, sendo que a 100% o crescimento de fungos é dificultado pela dissolução dos nutrientes (Rocha, 2017). Preponderante também é a **temperatura** ambiente no desenvolvimento dos fungos, uma vez que estes não possuem forma de controlar a sua temperatura interior. O intervalo ideal de temperatura para o crescimento de fungos varia entre os 22°C e os 35°C, podendo, no entanto, haver crescimento no intervalo de 35°C a 52°C. Quando estão abaixo da temperatura ideal, alguns fungos ficam adormecidos; quando são atingidas temperaturas muito elevadas, nem todos os fungos são eliminados. Geralmente os esporos são mais resistentes do que os micélios, sendo necessárias temperaturas superiores para a sua eliminação (Adan, 1994). O **pH** afeta os fatores abióticos do solo, tais como a existência de carbono, nutrientes e a solubilidade de metais (Rousk *et al.*, 2009). O intervalo de pH ótimo para a existência de fungos é de 2,2 a 9,6 (Adan, 1994). Os **nutrientes** existentes no solo também são importantes, pois os fungos necessitam de carbono, hidrogénio, enxofre, fósforo, magnésio e potássio para se desenvolverem. Estes elementos são essenciais ao seu processo metabólico (Pardo *et al.*, 1989).

Em termos de classificação, os fungos podem ser **cromogéneos** ou **da podridão**. Os cromogéneos predominam nos raios lenhosos e provocam alterações de coloração, sem grandes consequências na resistência físico-mecânica da madeira. Este tipo de fungo pode viver muitos anos em estado latente, mesmo quando as condições do meio não são propícias ao seu desenvolvimento (Rodrigues, 2004). Contrariamente aos primeiros, os fungos de podridão branca e castanha estão classificados entre os mais destrutivos e causadores das maiores perdas económicas (Thybring, 2017).

Os fungos atacam tanto o cerne como o borne da madeira (Highley, 2011). Para tal, produzem uma grande variedade de enzimas, entre as quais as digestivas, como as carbohidrases e as oxirredutases. Estas enzimas, que degradam os polissacarídeos e a lenhina da madeira (Lundell *et al.*, 2014), são excretadas para o substrato onde os fungos estão instalados, transformando-o e permitindo-lhes a absorção dos produtos de que necessitam (Srivastava *et al.*, 2013).

Os fungos da podridão castanha derivam dos fungos da podridão branca através da perda seletiva de mecanismos de biodegradação (por exemplo, os fungos do grupo *Gloeophyllum* e *Postia*) (Hatakka & Hammel, 2011). Estes degradam a celulose e a hemicelulose, causando a sua despolimerização (Łucejko *et al.*, 2018), e modificam a lenhina de forma parcial (Abdel-Hamid *et al.*, 2013), recorrendo tanto a sistemas enzimáticos, como não enzimáticos (Shimokawa *et al.*, 2004). Os processos não enzimáticos, apesar de não estarem ainda devidamente identificados, ocorrem numa fase inicial do ataque e em meio extracelular, podendo envolver a produção de radicais hidroxilo (reação de Fenton), ou outros, igualmente reativos (Kerem *et al.*, 1999). Os processos enzimáticos contribuem para a continuidade do processo de degradação, catalisando as reações de despolimerização da estrutura da célula através de enzimas oxidativas e hidrolíticas, que atacam a celulose e a hemicelulose, transformando-as em monómeros; já a lenhina é apenas modificada (Shimokawa *et al.*, 2004; Tewalt & Schilling, 2010).

Usando também processos enzimáticos, os fungos da podridão branca degradam a celulose, a hemicelulose e a lenhina (Gonçalves & Loguercio-Leite, 2001). A degradação da celulose e da hemicelulose é realizada com recurso a exoglucanases, endoglucases e β -glucosidases, sendo que as duas primeiras decompõem as cadeias de onde resultam produtos que são depois processados pelas β -glucosidases (Daniel, 2016) (Baldrian & Valášková, 2008). A degradação da lenhina varia entre espécies e o seu sistema de degradação envolve três principais enzimas: as peroxidases de lenhinas, peroxidases de manganês e lacases (Goodell *et al.*, 2008). A lacase é responsável pela decomposição da estrutura molecular da lenhina, enquanto que as outras enzimas se envolvem em processos oxidativos (Srivastava *et al.*, 2013).

São vários os fungos da podridão castanha existentes na natureza. Alguns exemplos são: o *Gloeophyllum trabeum*, um dos fungos da podridão mais comum em Portugal (Fernandes, 2014); o *Serpula lacrymans*, considerado um dos fungos mais destrutivos e incontroláveis

no continente europeu; e o *Coniophora puteana* que, num estudo a casas dinamarquesas, revelou ser a segunda espécie mais abundante (Schmidt, 2007b). Além destes, existe uma enorme variedade de espécies que pode ser encontrada em todo o globo.

A espécie em estudo no presente trabalho é a *Gloeophyllum trabeum* (Pers.) Murrill, do reino *fungi*, filo *Basidiomycota* e classe *Agaricomycetes* (*Catalogue of Life*, n.d.), tendo sido seleccionada por ser uma dos mais comuns no país.

No desenvolvimento do *Gloeophyllum trabeum* há a destacar a influência da humidade e da temperatura. Para que haja colonização, o teor de humidade deverá ser, no mínimo, de 25%, e para que a degradação da madeira ocorra, 31%, sendo que os valores ótimos se encontram entre os 46 e 179%. O excesso de humidade inibe a ação do fungo, não sendo viável o seu ataque à madeira para valores superiores a 191%. O crescimento ótimo necessita de uma gama de temperatura entre os 30°C e 37,5°C, sendo igualmente inibidores quaisquer valores fora deste intervalo. Por exemplo, no caso de uma exposição prolongada de 2 semanas, valores de temperatura acima dos 45°C são letais para o fungo cultivado em meio experimental (agar). Se se verificarem temperaturas de 80°C, o tempo de exposição que conduz à morte é significativamente inferior (1 hora) (Schmidt, 2007b).

3.2. Tratamentos preventivos da madeira

Com o intuito de combater a ação dos fungos, é necessário que a madeira seja preservada através de tratamentos eficazes, que permitam minimizar as suas fragilidades. Estas poderão estar relacionadas, por exemplo, com o teor de humidade, a fraca estabilidade e a baixa resistência à biodegradação e à radiação ultravioleta (UV) (Sandberg, n.d.).

Os processos de tratamento de madeira podem envolver a modificação térmica, química ou da superfície e a impregnação.

De acordo com Bruno & Helena (n.d.) e Militz (2002), o interesse comercial pelo processo de **modificação térmica** tem aumentado ao longo dos anos. Nos tratamentos realizados na Europa, a madeira é sujeita a temperaturas entre os 160°C e os 260°C, seguindo as seguintes fases: aquecimento, tratamento, arrefecimento e estabilização (a principal diferença entre os diversos processos reside na forma como estas fases se desenrolam). As variáveis de operação mais relevantes no tratamento são: o tempo e a temperatura, a atmosfera, o tipo de

sistema (aberto ou fechado, seco ou húmido), a espécie da madeira, e o recurso a catalisadores (Hill, 2006a).

Os processos de modificação térmica com mais sucesso são: *Thermowood* (originário da Finlândia), *Plato* (Holanda), *Bois Perdure* e *Rectification* (França) e *Oil Heat Treatment* (Alemanha).

O processo *Thermowood* é o que tem mais aplicação na Europa (B. M. Esteves & Pereira, 2009). Pode ocorrer em 3 etapas: (i) o aumento rápido da temperatura até 100°C, recorrendo a vapor, seguido do aumento suave até 130°C, onde se dá a secagem e se reduz o teor de humidade da madeira para valores próximos de 0; (ii) o tratamento por calor, durante o qual a temperatura aumenta para valores entre os 185°C e os 215°C; e, por fim, o acondicionamento, onde a madeira é arrefecida e humidificada (Association, 2003).

O processo *Plato* utiliza madeira verde e inclui a hidrotermólise, durante a qual a madeira é exposta a temperaturas de 160-190°C durante 4 –5 horas, em condições húmidas e com pressões acima da pressão atmosférica; a secagem normal até 10% de humidade, durante 3 a 5 dias; o tratamento térmico a seco, que decorre a temperaturas de 170°-190°C; e a estabilização (B. M. Esteves & Pereira, 2009).

O processo *Rectification* consiste no aquecimento gradual de madeira previamente seca (12% de humidade) até temperaturas de 210 –240°C, numa atmosfera rica em hidrogénio e com apenas cerca de 2% de oxigénio na sua composição (Jämsä & Viitaniemi, 2001).

O procedimento *Bois Perdure* utiliza madeira recentemente cortada, que é seca de forma rápida, utilizando vapor de água e gases de combustão produzidos pela prévia subida da temperatura na madeira, quando esta é aquecida a temperaturas entre 200 e 240°C. Os gases de combustão gerados são reinjetados na câmara de combustão (B. M. Esteves & Pereira, 2009).

No processo *Oil Heat Treatment*, a madeira é colocada numa câmara selada onde entra em contacto com um óleo a alta temperatura (geralmente óleo vegetal a 220°C). Após o tratamento, o óleo é retirado e a madeira arrefecida (Rapp & Sailer, 2002).

As alterações que se registam após aplicação dos tratamentos térmicos prendem-se com a melhoria na estabilidade dimensional, o aumento da resistência aos ataques de organismos microbiológicos, o aumento da capacidade para quebrar e formar rachaduras e a alteração

de coloração com escurecimento do material. A extensão das modificações é condicionada pelo tipo de tratamento efetuado (Hill, 2006a).

A grande parte dos processos de **modificação química** tem por princípio a reação entre os grupos hidroxilo da celulose e da hemicelulose, presentes nas paredes celulares da madeira, com um reagente químico, que culmina na substituição deste grupo por um composto hidrofóbico. Esta ação diminui a higroscopicidade da madeira e conduz a um material com melhores propriedades. O método químico mais utilizado é a acetilação com anidrido acético. Este método diminui o ponto de saturação das fibras, aumentando a estabilidade dimensional; aumenta a resistência aos fungos, mesmo se o material estiver em contacto com o solo, e a resistência aos raios UV (B. Esteves, 2011).

A **modificação da superfície** altera essencialmente as propriedades da superfície da madeira, tais como a resistência à degradação pela luz solar e às condições climáticas. Um exemplo de modificação deste tipo é a ativação enzimática, que recorre a enzimas, nomeadamente fenol-oxidases, peroxidases e lacases (C. A. S. Hill, 2006a), para promover a união entre madeiras sem recurso a resinas. A desvantagem deste processo prende-se com os elevados custos, pelo que não é aplicado em grande escala (B. Esteves, 2011).

A **impregnação** compreende a introdução de compostos químicos nas paredes das células da madeira, que reagem e formam um outro que bloqueia o acesso aos grupos hidroxilo, presentes sobretudo na celulose e hemicelulose, diminuindo assim a higroscopicidade da madeira. O método de impregnação que sofreu uma maior evolução ao longo dos últimos anos foi a furfurilação. A furfurilação consiste na impregnação da madeira com uma mistura de álcool furfurílico e catalisadores, seguida de aquecimento (Sandberg *et al.*, 2017). O processo conduz a uma diminuição da humidade de equilíbrio, ao aumento da estabilidade dimensional (retração e expansão) da madeira e da resistência aos xilófagos marinhos. Além disso, a madeira tratada é ligeiramente mais resistente às condições climáticas do que a não tratada, e apresenta maior dureza (B. Esteves, 2014).

4. Tratamento da madeira por microondas

Muitas fontes naturais ou criadas pelo Homem geram energia na forma de ondas eletromagnéticas. Estes tipos de ondas compreendem campos magnéticos e elétricos que interagem de forma diferente com os sistemas biológicos – células, plantas, animais e seres humanos (OMS, 1998).

As ondas podem ser caracterizadas pelo seu comprimento de onda, frequência e energia. Em termos de categorização, dividem-se em radiação ionizante e radiação não-ionizante (Figura 17). As **radiações ionizantes** são ondas eletromagnéticas de elevada frequência (elevada energia), cuja energia dos fotões é capaz de provocar ionização (OMS, 1998). Estas ondas compreendem parte do espectro da radiação UV, raios-X, raios gama e radiação nuclear (Anguera, 2012). A **radiação não-ionizante** apresenta fotões com baixos valores de energia, não sendo capazes de ionizar. Estas incluem parte do espectro da radiação ultravioleta, visível, microondas e infravermelhos (OMS, 1998).

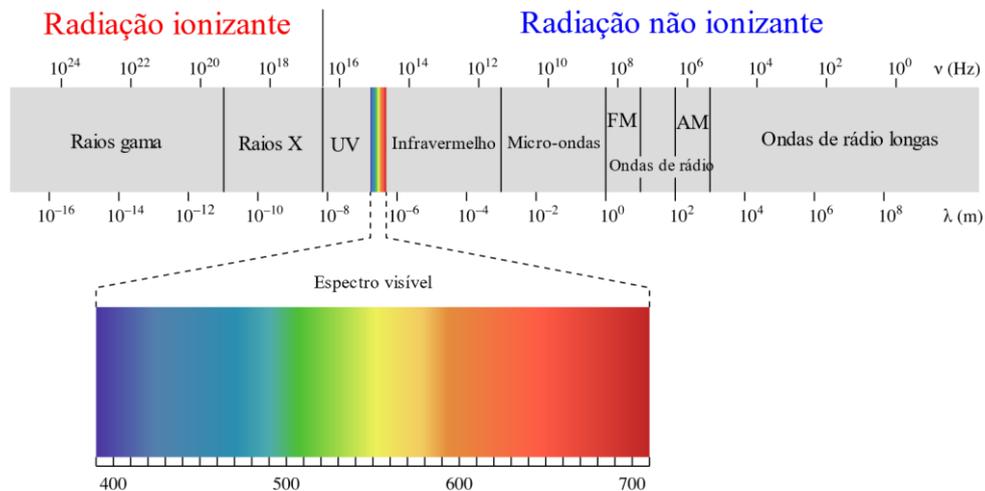


Figura 17 – Espectro de radiação (Wikipédia, 2019)

As radiações microondas são uma forma de energia em que a energia aplicada é convertida em calor. Estão associadas a qualquer radiação eletromagnética que esteja no intervalo de frequência de 300 MHz até 300 GHz, situando-se, no espectro eletromagnético, entre a radiação infravermelha e as ondas de rádio (Yuen & Hameed, 2009).

Ainda no espectro eletromagnético existem, segundo Tang, Xia, Fu & Gou (2008), três níveis de transição de energia: nível de energia associado ao movimento dos eletrões, nível de energia respeitante à vibração das moléculas e nível de energia da rotação molecular, sendo este último o que se refere às transições resultantes de radiação microondas.

Em termos comportamentais, as radiações microondas podem interagir com os materiais através de processos de polarização ou de condução. Estes processos dão origem a perdas dielétricas (Reinosa *et al.*, 2019), associadas à efetividade do material em converter energia elétrica em calor (Estel *et al.*, 2008). O aquecimento por microondas depende principalmente de repetidas polarizações de moléculas polares. A resistência a essas polarizações provoca as perdas dielétricas e, como resultado, há um aquecimento volumétrico (Huang *et al.*, 2018). A ação da radiação microondas difere dos métodos convencionais de transferência de energia na forma de calor – condução, radiação e convecção: enquanto que nestes, o aquecimento é feito da superfície para o interior, o aquecimento por microondas gera calor no material em si, que depois dispersa por todo o volume (Oghbaei & Mirzaee, 2010), sendo, por isso, designado de aquecimento volumétrico.

O rápido desenvolvimento dos equipamentos de microondas levou a que o aquecimento através destas ondas tenha aplicação em diversas áreas, tais como processamento de alimentos, telecomunicações, secagem de madeira e secagem de cerâmica (Yuen & Hameed, 2009).

4.1. Efeito da radiação microondas na madeira

O aproveitamento das radiações microondas como forma de tratamento térmico da madeira não é muito usual. Começou por ser utilizado na produção de materiais de construção, primeiro com o intuito de secar a madeira e, mais tarde, na sua conceção, conferindo-lhe elevada resistência mecânica, nomeadamente madeira microlamelada colada. Neste processo, o único efeito comprovado é o efeito térmico que depende da potência e frequência das radiações microondas (MO), mas também da composição do material, do seu estado físico e da sua estrutura. Os materiais que contêm água disponível na sua composição, como a madeira, são capazes de absorver as radiações microondas com conseqüente incremento da temperatura (Sciences & Republic, 2014).

A modificação da madeira quando sujeita à radiação microondas pode ser classificada em 3 níveis (Torgovnikov & Vinden, 2009):

- **Baixa**, quando ocorre a rutura das membranas porosas das células, a resina derrete e ocorre a rutura parcial dos tilos (Figura 18);
- **Moderada**, quando ocorre a rutura das membranas porosas, a resina ferve, ocorre a destruição dos tilos e a rutura das células radiais (Figura 19);
- **Elevada**, quando ocorre a rutura das membranas porosas das células, a resina ferve, ocorre a destruição dos tilos e a rutura das células radiais das células principais e paredes de vasos, assim como a formação de cavidades, principalmente nos planos radiais e longitudinais (Figura 20).

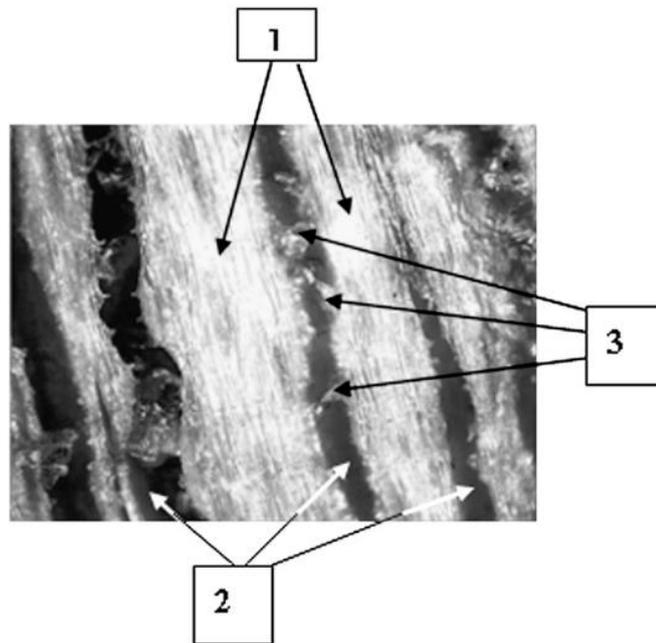


Figura 18 – Madeira *Paulownia* após tratamento com microondas (Torgovnikov & Vinden, 2009).
1 – células fibrosas da madeira; 2- vasos; 3 – os tilos dos vasos estão destruídos.

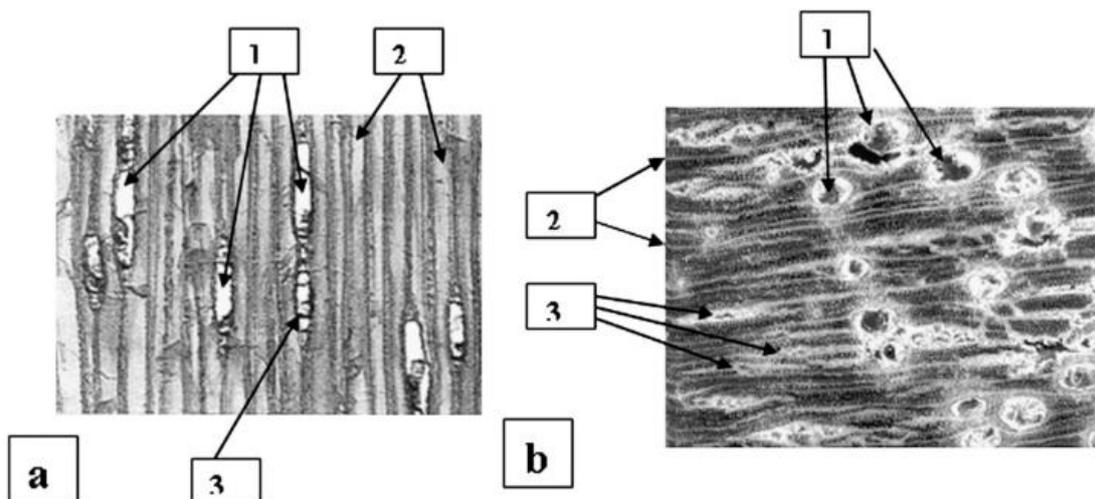


Figura 19 – Estado das células após modificação moderada por radiação microondas (Torgovnikov & Vinden, 2009). (a) Corte tangencial de madeira de *Radiata pine*: 1- raios com células destruídas; 2 – traqueídos com células integras; 3 – raios com células integras. (b) corte transversal da madeira *Eucalyptus globulus*: 1 – vasos; 2 – as linhas brancas são originalmente raios; 3 – linhas brancas mais espessas são raios que sofreram rutura.

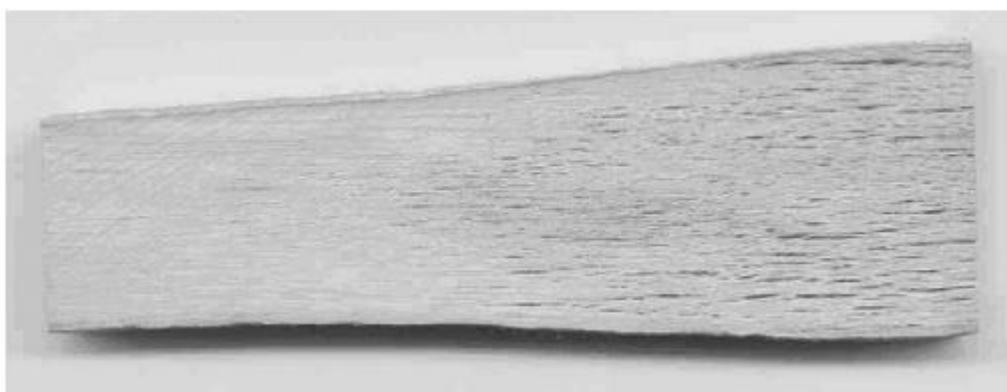


Figura 20 – Amostra de *Eucalyptus obliqua* após modificação intensiva por microondas (Torgovnikov & Vinden, 2009). (esquerda) madeira não modificada; (direita) madeira que sofreu ação das radiações microondas

A aplicação de elevadas intensidades de MO (kWh/m^3) em madeiras com alto teor de humidade gera elevadas pressões no interior das células (G.Torgovnikov, P.Vinden, 2009). O aumento da energia das MO resulta na formação de espaços nos planos radiais e longitudinais. Estes espaços podem dar origem a alterações na porosidade, permeabilidade, densidade, resistência, flexibilidade e capacidade de encolher e dilatar (Torgovnikov & Vinden, 2013).

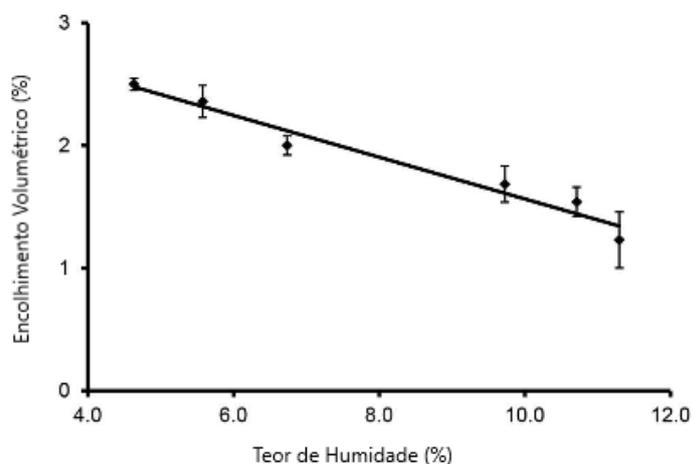
O aumento da permeabilidade da madeira ocorre porque a humidade presente diminui rapidamente, quando esta é sujeita às radiações microondas. A evaporação da água cria uma grande pressão de vapor no interior da madeira, levando a que os seus elementos mais frágeis, nomeadamente algumas células, sejam destruídos e formem vias para a libertação do vapor de água, facilitando o transporte de fluídos (Mou *et al.*, 2017). O fenómeno descrito pode também ser responsável pelo aumento da taxa de secagem da madeira e pela diminuição do tempo necessário para a desidratação. Mou *et al.* (2017) verificaram que a taxa de secagem aumentou 171% e o tempo de secagem diminuiu em 65% em amostras sujeitas à acção das MO, comparativamente com amostras não tratadas. No entanto, Oloyede & Groombridge (2000) alertaram que, uma vez que o aquecimento por microondas ocorre do interior para o exterior, o vapor de água gerado no interior não tem vias definidas para se libertar, quando as camadas superficiais da madeira ainda não sofreram alterações na sua estrutura. Os autores consideraram que o facto do vapor de água ficar preso no interior da madeira pode levar a um efeito adverso na sua resistência. Em todo o caso, um baixo grau de modificação da madeira pelas MO aumenta a sua permeabilidade em cerca de 1,1 a 1,5 vezes, um grau de modificação médio aumenta 1000 vezes a permeabilidade, e um elevado grau pode transformar a madeira num material altamente poroso (Torgovnikov & Vinden, 2009).

Machado (2006) observou alterações na resistência da madeira à compressão, após aquecimento através de microondas a uma potência de 500W, tendo verificado que a perda de resistência aumentava com o tempo de exposição (10% *versus* 20%, em períodos de 5 e 10 minutos, respetivamente). Por sua vez, Oloyede & Groombridge (2000) realizaram testes de tração em amostras de madeira aquecidas e concluíram que a resistência da madeira varia com o tipo de aquecimento usado. Os resultados obtidos podem ser observados na Tabela 4.

Tabela 4 – Resultados de propriedades mecânicas da madeira sujeita a diversos tratamentos (Oloyede & Groombridge, 2000)

Método de Secagem (12% de teor humidade)	Resistência à tração (MPa)	Módulo de elasticidade (GPa)	Limite de Elasticidade (MPa)
Ambiente	63 (σ 3,2)	3,98 (σ 0,15)	18,7 (σ 2)
Forno Convencional (103°C)	68 (σ 2,6)	4,12 (σ 0,15)	18,2 (σ 2,2)
Forno Convencional (50°C)	74 (σ 2,8)	4,2 (σ 0,16)	18,9 (σ 1,14)
Aquecimento por MO (1.6kW)	29 (σ 2,6)	1,5 (σ 0,074)	8,2 (σ 1,2)
Aquecimento por MO (800 W)	52 (σ 1,4)	2,74 (σ 0,09)	11,1 (σ 0,36)

De acordo com o estudo realizado por Sethy, Torgovnikov, Vinden & Przewloka (2016), o tratamento por MO leva a um encolhimento volumétrico da madeira. Isto é verificado pelos autores através da diminuição do teor de humidade nos provetes de 13 para 6%, o que provoca um aumento do encolhimento volumétrico em cerca de 2,0 a 2,4% (Figura 21). O estudo não considera o tipo de encolhimento, se radial ou tangencial, pelo facto de as madeiras utilizadas não serem perfeitamente radiais ou tangenciais.

**Figura 21** – Encolhimento Volumétrico devido às radiações microondas (adaptado de Sethy *et al.*, 2016)

Segundo Torgovnikov & Vinden (2009), as radiações MO afetam a densidade da madeira, tendo em conta a espécie e o grau de modificação do material (Tabela 5). A modificação da madeira por MO leva à rutura de raios celulares, criando vazios no interior da madeira; estes vazios diminuem a densidade média da parede celular e consequentemente da madeira.

Uma vez que a irradiação com microondas gera um aumento da temperatura na madeira, pode observar-se o fissuramento do material, tanto no interior como na superfície. Tal ocorre quando a resistência à secagem excede a resistência da madeira à tração perpendicular à direção das fibras, resultando na separação das mesmas, devido ao facto de haver uma perda de humidade e um conseqüente encolhimento (Harris *et al.*, 2008).

É de esperar que quanto maior a intensidade do processo, maior a ocorrência de fissuras, tanto interiores como de superfície. Em parte, esta premissa foi corroborada por Balboni *et al* (2018), que verificaram um maior número de fissuras interiores quanto mais intenso o tratamento com microondas. No caso das fissuras superficiais, os autores verificaram uma maior ocorrência quando aplicada uma menor intensidade de microondas.

Tabela 5 – Densidade da madeira antes e depois da aplicação de radiações MO
(adaptado de Torgovnikov & Vinden, 2009)

Espécie	Frequência (GHz)	Energia MO aplicada (MJ/m ³)	Teor de Humidade Inicial (%)	Densidade antes das MO (kg/m ³)	Densidade depois das MO (kg/m ³)	Rácio de densidade antes e depois das MO
<i>Pinus Radiata</i> (cerne)	0,99	590	33 a 36	419	363	1,16
<i>Pseudotsuga menziesii</i> (cerne)	0,922	520	31 a 41	474	433	1,09
<i>Eucalyptus obliqua</i>	2,45	1080	82 a 100	778	686	1,13
<i>Eucalyptus regnans</i>	0,933	1230	97 a 128	552	497	1,11
<i>Eucalyptus globulus</i>	0,922	1010	79 a 105	596	551	1,08
<i>Paulownia tomentosa</i>	0,922	880	140	266	257	1,04

De acordo com o trabalho de Torgovnikov & Vinden (2009), as propriedades plásticas da madeira, como o Módulo de Elasticidade (ME) e o Módulo de Rigidez (MR), diminuem depois da irradiação com MO, se o grau de modificação da madeira for significativo. Segundo os autores, a evolução da variação do ME e do MR nos planos tangenciais e radiais, depende do nível de energia aplicado à madeira (Figura 22). Como se pode verificar, tanto o ME como o MR sofrem uma diminuição com o aumento da energia incidente. No caso do *Pinus radiata*, a redução é mais significativa e ocorre a um nível de energia de MO mais baixo do que no *Eucalyptus obliqua* (4% a 26%, no ME e no MR, a 208 MJ/m³; versus 12%

no ME e 17 % no MR, a 410 MJ/m³, respetivamente), o que demonstra a influência das características da madeira no comportamento do material exposto à radiação.

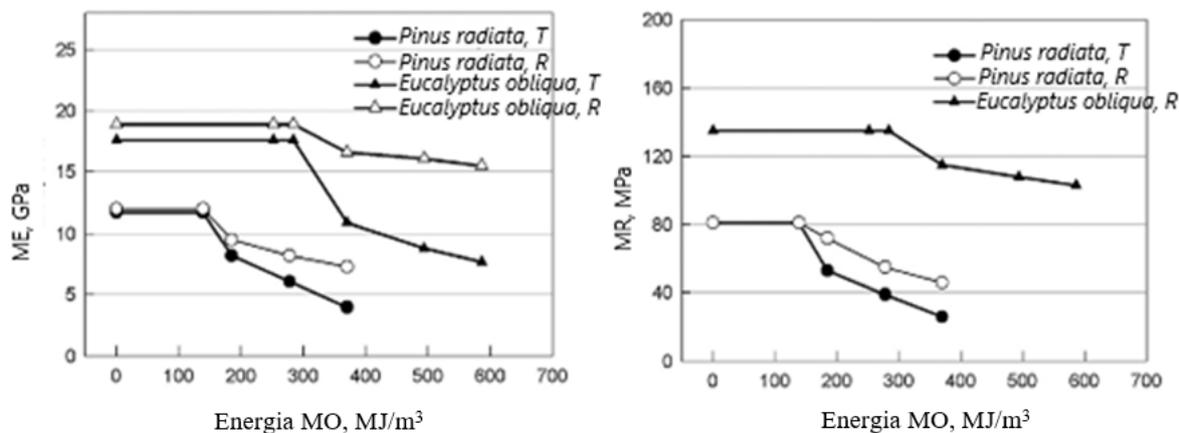


Figura 22 – Modificação do Módulo de Elasticidade e do Módulo de Rigidez em função da energia de MO aplicada em diferentes espécies de madeira (Torgovnikov & Vinden, 2009).

ME – Módulo de elasticidade; MR – Módulo de Rigidez; T – transformações no plano tangencial; R – transformações no plano radial (*Messmate / The Wood Database - Lumber Identification (Hardwood)*, n.d.)

4.2. Eliminação de fungos recorrendo a microondas

Desde meados do século XVIII, a comunidade científica demonstrou interesse pela interação entre os campos eletromagnéticos e os processos biológicos, nas suas mais variadas frequências, entre as quais as microondas (Banik *et al.*, 2003).

O efeito da radiação microondas nos microrganismos ainda é uma questão em estudo. A discussão anda em torno do facto de que a inativação se deve aos efeitos térmicos (absorção de calor gerado por microondas) (Gorny *et al.*, 2007), e que após atingir a temperatura letal, acaba por matar o microrganismo (Lakins *et al.*, 2008). Outra opção prende-se com os efeitos não térmicos, ou seja o efeito da transferência de energia do campo eletromagnético até às macromoléculas, que altera depois a sua estrutura (Gorny *et al.*, 2007). Existem quatro abordagens para explicar os efeitos não térmicos, nomeadamente: o aquecimento seletivo, a eletroporação, a rutura da membrana celular e o acoplamento do campo magnético.

De acordo com o conceito de **aquecimento seletivo**, as radiações microondas aquecem os organismos sólidos de forma mais rápida que o meio circundante, o que leva à sua morte. A ocorrência de **eletroporação** resulta na libertação de compostos celulares e consequente perda de viabilidade das células, e está associada ao aparecimento de poros/orifícios na membrana celular provocado pelo potencial elétrico que se gera no microrganismo. A **ruptura da membrana celular** é responsável pela morte celular pela variação de tensão elétrica na célula. Por último, a disrupção nas células é causada pelo **acoplamento do campo magnético**, levando à sua lise (Lakins *et al.*, 2008).

Existem alguns estudos que incentivam a utilização das microondas como forma de combate ao crescimento e propagação de diversos tipos de fungos. Entre estes, há que destacar o realizado por Cerchiara *et al* (2018): com o intuito de proceder à conservação de um livro que estava degradado e infestado pelo fungo *Aspergillus versicolor*, foram aquecidas amostras de papel contaminado a três temperaturas, nomeadamente, a 30°C, 58°C e 63°C, recorrendo a um microondas comum. Este procedimento foi realizado durante 30 dias, e os resultados demonstraram que para temperaturas de 30°C houve um aumento na viabilidade dos esporos, enquanto nas amostras expostas a 58°C e a 63°C, o crescimento dos fungos parou, sem causar qualquer tipo de dano ao papel.

Payette *et al.* (2015) testaram a eficácia da radiação microondas em quatro espécies de fungos, nomeadamente, *Gremmeniella abietina*, *Heterobasidion annosum*, *Chondrostereum purpureum*, e *Mycosphaerella populorum*, tendo como objetivo determinar a menor combinação tempo/temperatura que permitiria eliminá-los. Os autores irradiaram os fungos a 50°C, 55°C, 60°C, 65°C, 70°C, 75°C e 90°C, durante 0,5, 1,0 e 2,0 minutos, recorrendo a um processador de microondas. A Tabela 6 mostra a temperatura e tempo necessários para eliminar os fungos testados. Verifica-se que a irradiação dos fungos é possível, mas as condições de ensaio dependem da espécie em causa, indicando uma diferente resistência à radiação nas espécies testadas. Note-se ainda, que não é possível estabelecer uma relação direta entre a redução da temperatura e o aumento do tempo necessário à irradiação, sendo que, para cada espécie, os resultados apresentam um intervalo de confiança significativo para a temperatura identificada como letal.

Tabela 6 – Condições de eliminação de alguns fungos mediante aplicação de radiação MO (Payette *et al.*, 2015)

Fungos	0,5 min	1 min	2 min
<i>G. abietina</i>	75,2 ± 14,3°C	64,2°C ± 8,5	92,5°C ± 26,6
<i>H. annosum</i>	102°C ± 22,3	84,2°C ± 18,9	86,2°C ± 19,3
<i>C. purpureum</i>	118,1°C ± 30,4	173,6°C ± 59,3	232°C ± 104,2
<i>M. populorum</i>	74,5°C ± 12,9	135,3°C ± 40	78,5°C ± 16,9

Outros autores reportaram um efeito positivo na eliminação de fungos com MO. Tubajika *et al.* (2007), por exemplo, trataram amostras de madeira infestadas por diferentes tipos de fungos da podridão, entre eles o *Gloeophyllum trabeum*, com radio frequência. Utilizaram um forno industrial de 40 kW, onde as amostras foram sujeitas a temperaturas entre os 60°C e os 70°C durante 2 minutos. Após o tratamento, foram obtidas percentagens de eliminação dos fungos de 98% - 100%.

Por fim, refere-se ainda o trabalho desenvolvido por Gorny *et al* (2007). Estes autores dedicaram-se ao estudo dos efeitos da radiação microondas na viabilidade de esporos de fungos (*Aspergillus versicolor* e *Penicillium brevicompactum*) e de bactérias *Actinomycetales* (*Thermoactinomyces vulgaris* e *Streptomyces albus*). Testaram a exposição a densidades de radiação de 10 e 60 mW/cm², e tempos de exposição de 5, 30 e 60 minutos, durante o crescimento em meio de cultura agar, painéis de madeira e painéis de gesso. As amostras foram incubadas em ambientes húmidos e ambientes secos.

De um modo geral, os autores verificaram a viabilidade dos fungos estudados varia dependendo da estirpe, das condições de crescimento, da intensidade da radiação, do tempo de exposição e da combinação intensidade da radiação/tempo de exposição. Em particular, verificaram que:

- A viabilidade do *A. Versicolor* em agar (ambiente húmido) diminui, à exceção das condições 60 mW/30 min, 10 mW/60 min e 60 mW/60 min, em que houve um ligeiro aumento relativo ao controlo; em ambiente seco, houve um aumento da viabilidade dos esporos do fungo, exceto na condição 60 mW/30 min. No painel de madeira e na parede de gesso, a viabilidade diminuiu de forma geral, tanto no ambiente húmido como no seco.
- No caso do *P. Brevicompactum*, a viabilidade diminuiu quando cultivado em meio agar, para todas as condições experimentais, quer em ambiente húmido ou seco. No painel de madeira, a viabilidade diminuiu em ambos os ambientes, à exceção das

condições 60 mW/5 min (seco) e 10 mW/30 min (húmido). Relativamente à parede de gesso, tanto em ambiente húmido como em seco, houve uma diminuição da viabilidade, exceto no ensaio com 60 mW/5 min (seco).

- A viabilidade do *T. Vulgaris* em meio agar e ambiente húmido aumentou, contrariamente ao que se verificou nos ensaios em meio seco. No que diz respeito ao crescimento em painel de madeira, verificou-se um aumento da viabilidade dos esporos nos dois ambientes, com exceção para os ensaios que decorrem com 10 mW/60 min e 60 mW/60 min, em ambiente seco. A tendência de aumento de viabilidade também foi observada na parede de gesso, em ambiente seco e húmido.
- Relativamente ao *S. Albus*, verificou-se um aumento da viabilidade na condição 10 mW/30 min, em meio agar e ambiente seco; e uma redução nas condições 10 mW/30 min e 60 mW/30 min, em meio agar e ambiente húmido. Os ensaios nos painéis de madeira e na parede de gesso revelaram que os esporos, nos dois tipos de ambiente, aumentaram a sua viabilidade, com a exceção do ensaio realizado a 10 mW/5 min (ambiente húmido e painel de madeira).

Todos os autores descritos concluíram que a inibição dos fungos pela ação das microondas se devia ao efeito da temperatura sobre estes organismos.

5. Metodologia

Para proceder ao estudo da radiação microondas como técnica de prevenção antifúngica da madeira, foi definida uma metodologia de atuação que implicou a utilização de provetes de madeira de **Pinheiro Bravo** (*Pinus pinaster Aiton*), espécie com maior expressão no território nacional português e que tem uma grande utilização na indústria dos móveis; e do **fungo da podridão castanha** *Gloeophyllum trabeum*, umas das principais ameaças às construções em madeira.

O estudo desenvolvido seguiu várias etapas, nomeadamente:

- i. Avaliação dos perfis de temperatura no meio de cultura agar e em provetes de madeira, quando sujeitos ao processo de irradiação com microondas, com a finalidade de identificar as melhores condições experimentais, atendendo à temperatura atingida no processo e ao estado físico dos materiais após a exposição;
- ii. Avaliação do teor de humidade nos provetes de madeira ao longo do procedimento experimental, com o intuito de identificar a variação da concentração de água nas amostras durante as várias etapas do processo, o que poderá afetar as características do material e a ação do fungo *Gloeophyllum trabeum*;
- iii. Análise da viabilidade do fungo *Gloeophyllum trabeum*, após exposição à radiação microondas;
- iv. Avaliação da ação do fungo *Gloeophyllum trabeum* em provetes de madeira não tratados e pré-tratados com radiação microondas.

Uma vez que no decurso do trabalho foram identificados ensaios em que se verificou o crescimento de espécies contaminantes desconhecidas, foi ainda realizado um estudo de despiste, na tentativa de identificar a proveniência da contaminação.

5.1. Avaliação do perfil de temperatura no meio de cultura agar

A avaliação do perfil de temperaturas realizou-se em meio de cultura agar a 5%, colocado em placas de Petri de vidro de 9 mm de diâmetro, depois de expostas à radiação microondas durante diferentes intervalos de tempo. Com este estudo pretendeu definir-se as condições

experimentais potência/tempo de exposição mais adequadas ao tratamento preventivo da madeira e/ou à inativação do fungo *Gloeophyllum trabeum*. Na identificação destas condições foram assumidos os seguintes requisitos: (i) mínima alteração do meio, viabilizando a recuperação do fungo e o seu posterior estudo; e (ii) uma temperatura igual ou superior a 80°C (valor recomendado na literatura para a inativação do fungo em causa (Schmidt, 2007a)).

Na irradiação do meio de cultura foi usado um microondas CASO MCGR30 CeramicChef e para a análise do perfil de temperatura, após o período de radiação, usou-se uma câmara termográfica Fluke Ti450.

Para a realização destes ensaios procedeu-se da seguinte forma:

- A. Preparou-se o meio de cultura agar extrato de malte 5%;
- B. Colocou-se o meio agar em placas de Petri de vidro de 9 mm de diâmetro (1/3 da placa);
- C. Após a solidificação do meio, as placas foram colocadas no centro do microondas, individualmente, e irradiadas segundo as condições descritas na Tabela 7;
- D. No final do período de irradiação, abriu-se o microondas e procedeu-se à análise da temperatura do meio com a câmara termográfica;
- E. Efetuou-se o registo fotográfico do aspeto do meio de cultura;
- F. Para cada condição de ensaio efetuou-se apenas 1 teste.

Tabela 7 – Ensaios realizados na avaliação do perfil de temperatura no meio agar

Potência (W) \ Tempo exposição (min)	1,5	2	3	4	5	7	10	12
90						✓	✓	✓
180					✓	✓	✓	✓
270		✓		✓		✓	✓	✓
360		✓	✓	✓				
450		✓	✓					
540		✓						
810	✓							

5.2. Avaliação do perfil de temperatura nos provetes de madeira

O perfil de temperaturas nos provetes de madeira foi efetuado em amostras secas e molhadas, sujeitas a radiação MO, de modo a verificar como variava a temperatura consoante o teor de humidade.

Assumiu-se que os melhores resultados estariam associados aos provetes que atingissem temperaturas médias mais elevadas, sem sofrerem alterações significativas a nível físico (mudança de cor e/ou aparecimento de fissuras). As condições experimentais testadas tiveram em conta os resultados obtidos nos testes com o meio nutritivo agar em placa de Petri (Secção 5.1), tendo-se assumido um tempo de exposição total de 12 minutos irradiados a 90W, 180W e 270W.

Na irradiação dos provetes de madeira foi usado um microondas CASO MCGR30 CeramicChef e para a análise do perfil de temperatura, após o período de radiação, usou-se uma câmara termográfica Fluke Ti450.

Nestes ensaios utilizaram-se provetes acondicionados de duas formas:

- i. Acondicionamento à temperatura e humidade ambiente, no laboratório, durante um intervalo de tempo não controlado, mas superior a 2 semanas;
- ii. Acondicionamento num gobelé com água da torneira a temperatura ambiente, durante 2 horas.

Para a realização destes ensaios, procedeu-se do seguinte modo:

- i. Irradiou-se um provete de cada vez, nas condições experimentais definidas;
- ii. A cada minuto, abriu-se o microondas e avaliou-se o perfil de temperatura do provete com a câmara termográfica;
- iii. Observou-se o aspeto dos provetes de madeira após a irradiação;
- iv. Repetiu-se este procedimento até que o período de tempo estipulado para o ensaio terminasse;
- v. No final dos ensaios, efetuou-se o registo fotográfico do aspeto dos provetes de madeira;
- vi. Para cada condição de ensaio efetuou-se apenas 1 teste.

5.3. Estudo da variação do teor de humidade nos provetes de madeira

A variação do teor de humidade nos provetes durante o procedimento experimental foi avaliada através da pesagem em diferentes momentos do processo, tendo-se assumido que as perdas/ganhos de massa se devem exclusivamente a perdas/ganhos de água na madeira. Neste caso, as condições de irradiação testadas foram 90W – 10 min e 180W – 3 min, sendo que o procedimento experimental seguido está esquematizado na Figura 23. Utilizaram-se 4 provetes na condição 90W – 10 min e 5 provetes na 180W – 3 min.

As pesagens efetuadas (em balança de precisão 0,01 g KERN, modelo ABJ 220-4M) tiveram como objetivo determinar a variação de massa nos provetes em 4 condições experimentais, nomeadamente após a secagem em estufa, após a irradiação com microondas, e após estabilização à temperatura e humidade ambiente durante 4 dias, e mais tarde, depois de 7 dias. Uma vez que a secagem e a irradiação com MO promoveram uma elevação significativa da temperatura nos provetes, estes foram estabilizados num exsiccador durante 2 horas, antes de se proceder à pesagem.

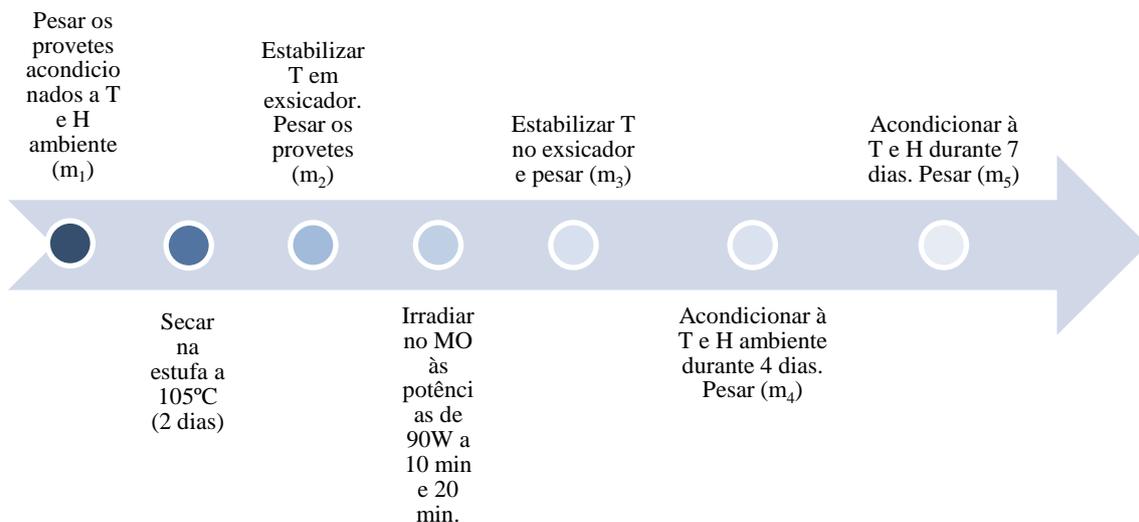


Figura 23 – Procedimento experimental usado no estudo da variação do teor de humidade nos provetes de madeira

A avaliação do efeito de cada etapa na variação da massa dos provetes foi feita com base na seguinte estimativa (Equações 2 a 7):

$$\text{Efeito da secagem (\%)} = \frac{m_2 - m_1}{m_1} * 100$$

Equação 2

$$\text{Efeito da irradiação (\%)} = \frac{m_3 - m_2}{m_2} * 100 \quad \text{Equação 3}$$

$$\text{Efeito do acondicionamento a T, H amb durante 4 dias (\%)} = \frac{m_4 - m_3}{m_3} * 100 \quad \text{Equação 4}$$

$$\text{Efeito do acondicionamento a T, H amb durante 7 dias (\%)} = \frac{m_5 - m_3}{m_3} * 100 \quad \text{Equação 5}$$

$$\text{Efeito da secagem, radiação e estabilização a 4 dias (\%)} = \frac{m_4 - m_1}{m_1} * 100 \quad \text{Equação 6}$$

$$\text{Efeito da secagem, radiação e estabilização a 7 dias (\%)} = \frac{m_5 - m_1}{m_1} * 100 \quad \text{Equação 7}$$

5.4. Verificação da viabilidade do fungo *Gloeophyllum trabeum*

Os ensaios de viabilidade efetuados tiveram por finalidade identificar o efeito da radiação MO na eliminação do fungo *Gloeophyllum trabeum*. A avaliação da viabilidade teve por base o método colorimétrico de brometo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazólio (MTT). Este procedimento foi selecionado pela sua simplicidade: o MTT é um corante tetrazólio que reage com as desidrogenases das mitocôndrias das células viáveis, sofrendo uma redução. Esta redução forma um produto insolúvel e de cor diferente, que identifica eficazmente as células vivas (Mahajan *et al.*, 2012) (Dias *et al.*, 1999). O procedimento experimental seguido contemplou as seguintes etapas:

- i. Cultivou-se o fungo *Gloeophyllum trabeum* em placas de Petri com meio agar extrato de malte 5%, a 33°C, durante 7 dias;
- ii. Submeteu-se o fungo presente nas placas de Petri à radiação microondas (ensaios em duplicado), nas condições indicadas na Tabela 8. As condições experimentais foram selecionadas de modo a garantir uma temperatura igual ou superior a 80°C, indicada como sendo letal para este fungo (Schmidt, 2007b). Com a utilização de ciclos de exposição à radiação, pretendeu-se identificar uma possível irradiação periódica que

possibilitasse uma eliminação mais eficaz e permanente dos fungos. A autoclavagem e a exposição à radiação ultravioleta, processos de esterilização correntes em laboratório, foram utilizadas como tratamento adicional em alguns casos, com o objetivo de eliminar totalmente o fungo, simulando a condição de viabilidade 0%;

- iii. Retirou-se uma amostra de fungo de dimensão 15 x 5 mm das placas de Petri (expostas e não expostas à radiação);
- iv. Aplicou-se o método colorimétrico MTT.

Tabela 8 – Condições de exposição do fungo *Gloeophyllum trabeum* à radiação microondas nos ensaios de verificação da viabilidade

Potência (W)	Tempo (min)	Tipo de Exposição	Tratamento adicional
90	3	Irradiação Única	-
90	10	Irradiação Única	-
90	10	Irradiação Única	Autoclave a 121°C, 20 min
90	10	Irradiação Única	Autoclave a 121°C, 20 min + Radiação UV, 4 horas
90	20	Irradiação Única	-
90	3 + 7 + 10	Ciclo de exposição, com um intervalo de 1 hora entre cada irradiação	-
90	10 + 10 + 10 + 10	Ciclo de exposição, com um intervalo de 1 hora entre cada irradiação	-
180	3	Irradiação Única	-

A aplicação do método colorimétrico MTT seguiu os seguintes passos:

- i. Coloca-se a amostra de fungo (exposta ou não exposta à radiação) num tubo esterilizado;
- ii. Adicionou-se 1000 µL de MTT ao tubo (0,5 mg/mL);
- iii. Incubou-se durante 16 horas a 22°C;
- iv. Centrifugou-se a mistura (1500 rpm x 5 min) e removeu-se o meio líquido;
- v. Adicionou-se 500 µL de 1-propanol à fração sólida e agitou-se em vortex para permitir a lise das células;
- vi. Retirou-se 100 µL do sobrenadante e filtrou-se;
- vii. Mediu-se a absorvância a 560 nm num espectrofotómetro UV-VIS Cary 50;

- viii. Realizou-se a medição de um branco com propanol, de modo a eliminar a sua influência da análise;
- ix. Determinou-se a viabilidade do fungo de acordo com a Equação 8.

$$\% \text{ células viáveis} = \frac{(Abs_{amostra} - Abs_{branco})}{(Abs_{controlo} - Abs_{branco})} \times 100 \quad \text{Equação 8}$$

Em que:

$Abs_{amostra}$, é a absorvância da amostra de fungo exposto a radiação,

$Abs_{controlo}$, é a absorvância da amostra de fungo não exposto a radiação,

Abs_{branco} , é a absorvância do propanol.

O método colorimétrico foi adaptado para o presente estudo e baseado no estudo de (Freimoser *et al.*, 1999). Os resultados da aplicação do método apresentaram coeficientes de variação (CV) entre 16 e 13%.

5.5. Estudo preliminar da ação do fungo *Gloeophyllum trabeum* em provetes de madeira (1ª fase)

O estudo da ação do fungo *Gloeophyllum trabeum* em provetes de madeira considerou amostras tratadas e não tratadas com microondas. As condições de potência/intervalo de tempo testadas no pré-tratamento dos provetes foram selecionadas de acordo com os resultados obtidos nos ensaios de avaliação do perfil de temperatura. A escolha dessa condição baseou-se no estado dos provetes após a irradiação por microondas, tendo sido evitada a utilização de potências elevadas, que carbonizam o material; e na temperatura atingida à sua superfície (pelo menos 80°C, para garantir a eliminação do fungo).

As condições de crescimento usadas foram as consideradas ótimas para o fungo *Gloeophyllum trabeum*, nomeadamente inoculação em meio agar extrato de malte a 5% e incubação a 33°C (Schmidt, 2007b), tendo-se verificado um desenvolvimento efetivo do fungo após 7 dias.

Os provetes usados no estudo encontravam-se à temperatura e humidade ambiente, sendo que não sofreram qualquer tipo de ação antes de serem sujeitos ao procedimento experimental.

Foi seguida a seguinte ordem de etapas:

- i. Incubou-se o fungo *Gloeophyllum trabeum* em frascos de vidro contendo agar extrato de malte a 5% (cerca de 1/3 do frasco), durante 7 dias a 33°C;
- ii. Mantiveram-se os provetes de madeira à temperatura e humidade ambiente, no laboratório, durante um intervalo de tempo não controlado, mas superior a 2 semanas;
- iii. Irradiaram-se os provetes no microondas à potência de 90 W durante 10 minutos ou 180 W durante 3 minutos; e deixaram-se estabilizar à temperatura e humidade ambiente durante 2 dias;
- iv. Ensaios em branco: colocaram-se os provetes, não tratados (não expostos a radiação) e tratados nas condições potência/tempo selecionadas, em frascos contendo agar extrato de malte a 5% (cerca de 1/3 do frasco), na ausência de fungo, e procedeu-se à incubação a 33°C. Estes ensaios são usados como referência, tendo sido formulados com o objetivo de permitir identificar eventuais alterações decorrentes da colocação dos provetes no meio de cultura e identificar diferenças associadas à exposição dos provetes (tratados e não tratados em condições idênticas) ao fungo *Gloeophyllum trabeum*;
- v. Ensaios de controlo: colocaram-se os provetes não tratados em frascos contendo agar extrato de malte a 5% (cerca de 1/3 do frasco), na presença do fungo *Gloeophyllum trabeum*, e procedeu-se à incubação a 33°C. Os ensaios de controlo serviram para observar o modo de crescimento do fungo em provetes não tratados, permitindo através da comparação com o observado nos ensaios de crescimento em provetes pré-tratados, verificar o eventual efeito preventivo da radiação;
- vi. Ensaios de crescimento: colocaram-se os provetes irradiados nos frascos de vidro, em contacto com o fungo, e procedeu-se à incubação a 33°C;
- vii. Observaram-se as amostras em intervalos de tempo de 15 dias, durante 2 meses, para identificar eventuais alterações no provete, no meio de crescimento e no fungo.

Os ensaios realizados encontram-se resumidos na Tabela 9. No caso dos ensaios em branco, foi efetuado apenas 1 ensaio por condição; nos ensaios de controlo fizeram-se duplicados; e nos ensaios de crescimento do fungo *Gloeophyllum trabeum* em provetes irradiados fizeram-se 8 repetições.

Tabela 9 – Condições experimentais testadas em provetes de madeira (ensaios preliminares – 1ª fase)

Ensaio realizado	Condições experimentais
Branco	Proвете não exposto à radiação (colocado em agar extrato de malte a 5%, na ausência de fungo)
	Proвете exposto a 90W, 10 min (colocado em agar extrato de malte a 5%, na ausência de fungo)
	Proвете exposto a 180W, 3 min (colocado em agar extrato de malte a 5%, na ausência de fungo)
Controlo	Proвете não exposto à radiação (colocado em agar extrato de malte a 5%, na presença de fungo)
Ensaio de Crescimento	Proвете exposto a 90W, 10 min (colocado em agar extrato de malte a 5%, na presença de fungo)
	Proвете exposto a 180W, 3 min (colocado em agar extrato de malte a 5%, na presença de fungo)

No fim dos ensaios, os provetes usados nos ensaios de controlo e nos *Ensaio de crescimento* foram retirados dos frascos e incubados a 33°C, em placas de Petri com meio agar extrato de malte a 5%, sem a presença do fungo inicial. Com este procedimento pretendeu-se verificar se o fungo *Gloeophyllum trabeum* presente nos ensaios em frasco se tinha alojado nos provetes durante o período de incubação e se se desenvolveria se colocado em condições ótimas de crescimento; ou se o pré-tratamento com radiação MO tinha surtido efeito e não permitiria o crescimento do fungo. As primeiras placas de Petri foram observadas após 15 dias.

5.6. Estudo preliminar da ação do fungo *Gloeophyllum trabeum* em provetes de madeira (2ª fase)

Uma vez que no decorrer dos ensaios preliminares em provetes de madeira (Secções 5.5. e 6.5) foi detetada a presença de contaminação microbiana, foi realizado um estudo complementar, com o objetivo de identificar a sua origem. Os ensaios realizados incidiram sobre os provetes de madeira, a contaminação observada e o processo de esterilização aplicado na preparação do meio agar.

I. Provetes de madeira

De modo a verificar a incidência e, se possível, a origem da contaminação observada nos ensaios preliminares, desenvolveu-se um estudo complementar, utilizando provetes

provenientes dos *Ensaio de crescimento* e provetes originais. Os ensaios realizados encontram-se resumidos na Tabela 10.

Tabela 10 – Condições experimentais testadas em provetes de madeira (ensaios preliminares – 2ª fase)

Ensaio realizado	Condições experimentais	Objetivo
Branco	Agar extrato de malte a 5%	Comprovar a não contaminação do meio de cultura
Provetes provenientes dos Ensaio de crescimento *	Provete exposto a 90W, 10 min	Verificar o efeito de um tratamento de irradiação com MO no desenvolvimento da contaminação microbiana
	Provete exposto a 180W, 3 min	
Provetes originais	Provete não tratado	Observar o eventual aparecimento de contaminações e identificar a sua origem (processos de irradiação, esterilização e/ou secagem)
	Provete exposto a 90W, 10 min	
	Provete exposto a 180W, 3 min	
	Provete não tratado e húmido	
	Provete esterilizado em autoclave	
	Provete esterilizado em autoclave e seco	

* Condição prévia: provetes expostos a radiação MO e colocados em agar extrato de malte a 5%, na presença de fungo; retirados do frasco e colocados em agar extrato de malte a 5%, na ausência de fungo (incubação a 33°C)

O procedimento experimental aplicado seguiu as seguintes etapas:

- i. Preparou-se o meio de cultura agar extrato de malte a 5% e esterilizou-se em autoclave (121°C durante 15 minutos à pressão de 1 atm);
- ii. Colocou-se o meio agar em placas de Petri, enchendo cerca de 1/3 das placas, e deixou-se solidificar;
- iii. Ensaio em Branco: incubação do meio de cultura agar extrato de malte a 5% a 33°C;
- iv. Provetes provenientes dos *Ensaio de crescimento*:
 - Selecionaram-se aleatoriamente 4 provetes, do grupo de 8 amostras que integraram os *Ensaio de crescimento*, escolhendo 2 para cada uma das condições potência/tempo previamente testadas;
 - Irradiaram-se os provetes no microondas à potência de 90 W durante 10 minutos (2 amostras) ou 180 W durante 3 minutos (2 amostras) (usando, em cada provete, as mesmas condições a que foram sujeitos na 1ª fase do estudo - secção 5.5); e deixaram-se estabilizar à temperatura e humidade ambiente durante 2 horas;
 - Colocaram-se os provetes irradiados em placas de Petri com meio agar extrato de malte a 5%, na ausência de fungo, e procedeu-se à incubação a 33°C;
- v. Provetes originais:

- Usaram-se provetes de madeira acondicionados à temperatura e humidade ambiente, no laboratório, durante um intervalo de tempo não controlado, mas superior a 2 semanas (provetes não tratados)

- Os provetes não tratados foram processados de acordo com o objetivo pretendido:

Proвете não tratado e húmido (3 ensaios): colocaram-se os provetes dentro de copos com água durante 2 dias; decorrido este período, os provetes foram retirados dos copos e o excesso de água presente na sua superfície foi removido.

Provetes irradiados (1 provete por condição potência/tempo testada): irradiaram-se os provetes no microondas à potência de 90 W durante 10 minutos ou 180 W durante 3 minutos; e deixaram-se estabilizar à temperatura e humidade ambiente, durante cerca de 2 a 3 horas;

Proвете esterilizado (3 ensaios): esterilizaram-se os provetes em autoclave (121°C e 1 atm, durante 15 minutos) e deixaram-se estabilizar no exsiccador durante cerca de 1 a 2 horas.

Proвете esterilizado e seco (3 ensaios): esterilizaram-se os provetes em autoclave (121°C e 1 atm, durante 15 minutos), procedeu-se à secagem em estufa (105°C durante 2 dias) e deixou-se estabilizar no exsiccador durante 2 a 3 horas.

- Colocaram-se os provetes, não tratados (apenas sujeitos ao acondicionamento no laboratório, 4 ensaios), não tratados e húmidos, tratados nas condições potência/tempo selecionadas (90 W durante 10 minutos e 180 W durante 3 minutos), esterilizados e esterilizados e secos, em placas de Petri com meio agar extrato de malte a 5%, na ausência de fungo, e procedeu-se à incubação a 33°C;

- vi. Os provetes foram monitorizados diariamente (exceto ao fim de semana), tendo sido retirados da estufa, fotografados e colocados novamente a incubar, durante um período de 6 dias (*Ensaios de crescimento*) e 15 dias (provetes originais).

II. Contaminação microbiana

Procedeu-se à repicagem da contaminação microbiana observada em alguns dos frascos monitorizados no âmbito dos *Ensaios de crescimento*, de modo a promover o seu

crescimento e eventualmente a sua identificação. O procedimento experimental cumpriu as seguintes etapas:

- i. Retirou-se uma amostra da contaminação microbiana observada no Ensaio em Branco e no Ensaio de Controlo (90W – 10min, sem fungo), com um bisturi e uma pinça, inoculou-se em meio agar extrato de malte a 5% e incubou-se a 33°C.
- ii. Após 1 semana retirou-se a placa da estufa e observou-se.
- iii. Procedeu-se à identificação de algumas das espécies, através da consulta de artigos e bases de dados com referência às contaminações mais comuns da madeira ((American Society for Microbiology, n.d.), (Hussain, 2015), (Jariwala, 2018), (Tan *et al.* 2013), (L. Carvalho, 2013)).

III. Processo de esterilização do meio de cultura

Com o objetivo de verificar a eficácia do processo de esterilização utilizado na preparação do meio de cultura agar, seguiu-se o seguinte procedimento:

- i. Preparou-se o meio de cultura agar extrato de malte a 5% e esterilizou-se em autoclave a 121°C, durante 15 minutos, à pressão de 1 atmosfera (procedimento padrão de esterilização em microbiologia);
- ii. Colocou-se o meio agar em placas de Petri (encheu-se 1/3 da placa);
- iii. Ensaio de Controlo: Após a solidificação do meio, procedeu-se à incubação das placas a 33°C (2 Ensaios);
- iv. Ensaio de Verificação: Após a solidificação do meio, aplicou-se novo procedimento de esterilização e, após arrefecimento das placas, procedeu-se à incubação a 33°C (2 Ensaios);
- v. Após 5 dias, retiraram-se as placas da incubação e observou-se o resultado. Foi efetuado registo fotográfico dos resultados obtidos.

5.7. Monitorização da exposição prolongada de provetes de madeira ao fungo *Gloeophyllum trabeum*

Os ensaios associados à monitorização da *exposição prolongada* de provetes de madeira ao fungo *Gloeophyllum trabeum* foram realizados, tendo em consideração os aspetos verificados como essenciais no âmbito do estudo preliminar. Assim, a sua formulação teve em consideração a potência da radiação microondas e o tempo de exposição dos provetes à irradiação que determinam a temperatura mínima necessária à eliminação do fungo, sem causar a degradação dos provetes; a variação do teor de humidade dos provetes, a diminuição da viabilidade do fungo após o tratamento, assim como as contaminações que foram registadas e suas possíveis fontes.

Como tal, optou-se por aplicar uma dose de radiação microondas única, nas condições 90 W – 20 min, em cada tratamento, devido à necessidade de limitar a ocorrência de contaminações durante o processo. Foi também a condição que, no estudo da variação do teor de humidade nos provetes de madeira, conduziu a uma menor alteração do estado do material.

Nesta etapa do trabalho, foi seguido o seguinte procedimento:

- i. Cultivou-se o fungo *Gloeophyllum trabeum* em frascos de vidro contendo agar extrato de malte a 5% (cerca de 1/3 do frasco), a 33°C, durante 7 dias;
- ii. Secaram-se os provetes de madeira em estufa durante 2 dias a 105°C;
- iii. Pesaram-se os provetes, depois de estabilizados à temperatura ambiente em exsiccador;
- iv. Efetuaram-se os seguintes ensaios:
 - Ensaio em Branco (Fungo): os frascos de vidro contendo agar extrato de malte a 5% (cerca de 1/3 do frasco) e o fungo *Gloeophyllum trabeum* foram mantidos em incubação a 33°C, sem contacto com os provetes de madeira (realizado em triplicado);
 - Ensaio em Branco (Provetes): colocaram-se os provetes não tratados (não expostos a radiação) e tratados na condição potência/tempo seleccionada (90 W durante 20 min) em frascos contendo agar extrato de malte a 5% (cerca de 1/3 do frasco), na ausência do fungo, e incubaram-se na estufa a 33°C (foram realizados 2 ensaios para cada condição);

- Ensaio de controlo: colocaram-se os provetes não tratados em frascos contendo agar extrato de malte a 5% (cerca de 1/3 do frasco), na presença do fungo, e incubaram-se na estufa a 33°C (realizado em duplicado);
 - Ensaio de crescimento (tratamento dos provetes com irradiação única): irradiaram-se os provetes de madeira a 90 W durante 20 min e deixaram-se a estabilizar no exsiccador. Colocaram-se os provetes tratados em frascos contendo agar extrato de malte a 5% (cerca de 1/3 do frasco), na presença do fungo *Gloeophyllum trabeum*, e incubaram-se na estufa a 33°C;
 - Ensaio de crescimento (tratamento dos provetes com irradiação periódica): irradiaram-se os provetes de madeira a 90 W durante 20 min e deixaram-se a estabilizar no exsiccador. Colocaram-se os provetes tratados em frascos contendo agar extrato de malte a 5% (cerca de 1/3 do frasco), na presença do fungo *Gloeophyllum trabeum*, e incubaram-se na estufa a 33°C. Mensalmente, retiraram-se os provetes dos frascos e irradiaram-se a 90 W durante 20 min, deixando-os estabilizar a temperatura no exsiccador, antes de voltar a colocar no frasco e a incubar na estufa a 33°C.
- v. Observaram-se os ensaios ao longo do tempo, num período total de 8 semanas, e registaram-se as alterações.
- vi. No final, os provetes foram secos em estufa durante 2 dias, a 105°C, e pesados, depois de estabilizados à temperatura ambiente em exsiccador, para avaliar eventuais perdas de massa no material, devido à ação degradadora do fungo *Gloeophyllum trabeum*.

6. Resultados e discussão

6.1. Avaliação do perfil de temperatura do meio de cultura agar

Este estudo permitiu verificar o estado físico do meio agar após exposição à radiação microondas, assim como identificar as temperaturas atingidas no final do processo. A Tabela 11 agrega os valores de temperatura registados e a Figura 24 mostra o perfil de distribuição da temperatura na placa de Petri.

Tabela 11 – Valores de temperatura do meio agar quando exposto à radiação microondas

Tempo de exposição (min)	Potência (W)	T máx superfície (C°)	T mín superfície (C°)	T média (C°)	ΔT (C°)
1,5	810	103,0	58,5	87,6	44,5
2	270	83,0	63,4	72,4	19,6
	540	88,3	70,4	77,7	17,9
	360	84,2	61,3	73,9	22,9
	450	90,2	70,2	82,3	20,0
3	450	130,7	78,5	104,9	52,2
	360	99,3	64,1	79,7	35,2
4	270	102,3	54,3	89,6	48,0
	360	114,0	49,0	100,1	65,0
6	180	80,1	50,7	68,7	29,4
7	90	75,2	55,4	67,0	19,8
	180	100,8	66,9	84,6	33,9
	270	120,9	68,2	99,7	52,7
10	90	81,9	51,3	74,0	30,6
	180	107,7	56,1	90,3	51,6
	270	118,1	34,6	100,9	83,5
12	90	75,7	46,3	64,1	29,4
	180	93,5	55,6	82,9	37,9
	270	126,7	79,9	104,7	46,8

Como se pode verificar a partir da Figura 24, o aquecimento do agar não foi uniforme, verificando-se, em alguns casos, variações significativas de temperatura na mesma amostra. Estas variações aconteceram principalmente nas placas sujeitas a potências mais elevadas e, tendo por base a mesma potência, nas amostras sujeitas a um tempo de exposição superior. Assim sendo, considera-se que a temperatura média é a que representa melhor o aquecimento da placa. De notar que é possível atingir temperaturas diferentes com a mesma potência, assim como temperaturas semelhantes com potências diferentes, variando apenas o tempo a

que as placas estão sujeitas à radiação microondas. De uma forma geral, os ensaios cumpriram com a premissa de atingir temperaturas acima de 80°C, exceto nos seguintes casos: 540 W – 2 minutos ($T_{\text{média}} = 77,7\text{C}^\circ$); 360 W – 2 minutos ($T_{\text{média}} = 73,2\text{C}^\circ$); 270 W – 2 minutos ($T_{\text{média}} = 72,4\text{C}^\circ$); 180 W - 6 minutos ($T_{\text{média}} = 68,7\text{C}^\circ$); 90 W – 12 minutos ($T_{\text{média}} = 64,1\text{C}^\circ$); 90 W – 10 minutos ($T_{\text{média}} = 74,0\text{C}^\circ$) e 90 W – 7 minutos ($T_{\text{média}} = 67,0\text{C}^\circ$) (Tabela 11).

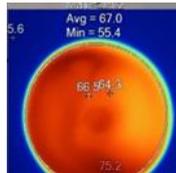
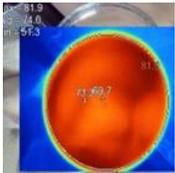
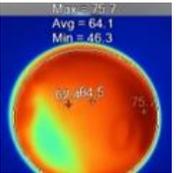
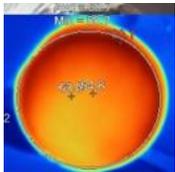
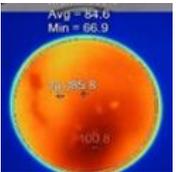
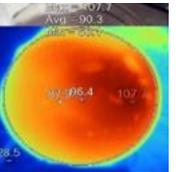
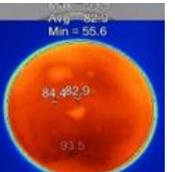
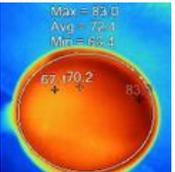
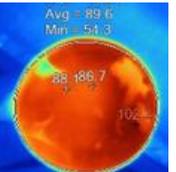
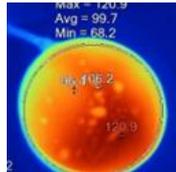
90W	-	-	-			
180W	-	-				
270W			-		-	-
Potência Tempo	2 min	4 min	6 min	7 min	10 min	12 min

Figura 24 – Perfil de temperatura do meio agar após exposição à radiação microondas

A par do registo da temperatura, foi efetuado um registo fotográfico da aparência do agar depois da exposição à radiação. O aspeto final do agar variou em função da potência e tempo de exposição (Figura 24). Nas potências e tempos de exposição mais elevados, o agar sofre alterações, passando de uma substância gelatinosa para uma substância caramelizada e quebradiça.

De acordo com a informação presente nas Figura 24 e Figura 25, o agar torna-se quebradiço quando as temperaturas são muito próximas dos 100°C.

90W	-	-	-			
180W	-	-				
270W			-		-	-
Potência Tempo	2 min	4 min	6 min	7 min	10 min	12 min

Figura 25 – Aspeto das amostras de meio nutritivo agar após exposição à radiação microondas

6.2. Avaliação do perfil de temperatura nos provetes de madeira

A Figura 26 mostra a variação da temperatura média nos provetes ao longo do tempo de exposição à radiação microondas.

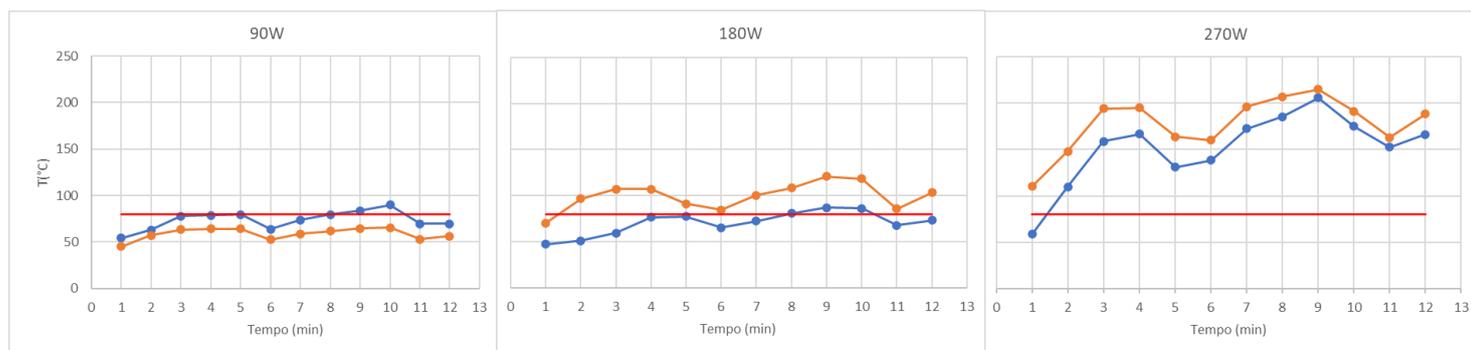


Figura 26 – Variação da temperatura média nos provetes de madeira durante o período de exposição à radiação microondas (a laranja os provetes secos, a azul os molhados e a vermelho a linha de temperatura a 80°C, valor mínimo para eliminar o fungo *Gloeophyllum trabeum*)

Observando a figura supra, constata-se que a temperatura média atingida nos provetes molhados foi mais elevada do que a observada nos secos, quando as amostras foram irradiadas a 90W, mas quando os provetes foram irradiados à potência de 180W e 270W, foram as amostras secas que apresentaram valores superiores de temperatura. Esta diferença pode estar relacionada com a evaporação da água presente nos provetes húmidos, que

quando ocorre de forma significativa pode ser responsável por uma diminuição da temperatura.

Na verdade, espera-se que nos provetes secos a radiação microondas aplicada gere calor, que se acumula no material, conduzindo a um aumento de temperatura. Este aumento será tanto maior quanto mais elevada for a potência da radiação aplicada, como demonstram os resultados obtidos (Figura 26). Quando os provetes estão húmidos, parte da energia térmica gerada será gasta na evaporação da água presente nos provetes, justificando o decréscimo de temperatura. Esta situação verifica-se nos provetes molhados irradiados a 180W e 270W, nos quais a elevação da temperatura foi superior. No entanto, como nos provetes irradiados a 90W a temperatura média atingida é inferior a 100°C, a perda de água por evaporação foi menos significativa do que nas potências mais elevadas, não se verificando o decréscimo esperado. Assume-se que se o tempo de exposição fosse mais prolongado, os provetes molhados e os secos acabariam por atingir a mesma temperatura.

Além disso, no caso dos provetes irradiados a 90W, o aquecimento das amostras húmidas pode ter sido mais rápido do que o que ocorreu nas secas, justificando a temperatura mais elevada no mesmo intervalo de tempo.

Verifica-se ainda que a temperatura tende a aumentar à medida que aumenta o tempo de exposição e que, aproximadamente de 5 em 5 minutos, a temperatura sofre uma diminuição. O facto de o provete ser retirado do equipamento de minuto a minuto para registo do perfil térmico não atenua este aspeto. Tendo isto em consideração, a oscilação poderá dever-se ao funcionamento do equipamento eletromagnético que compõe o microondas, podendo haver um intervalo de tempo onde deixa de existir por parte deste a libertação de radiação. Esta situação não terá ocorrido no estudo de Gorny *et al* (2008), pois em vez de um microondas comercial, os autores utilizaram um gerador de microondas dedicado ao efeito. A temperatura mais alta foi atingida aos minutos 9 e 10, tanto nos provetes secos como nos molhados.

De um modo geral, no decurso do período de exposição testado, as potências mais elevadas (180W e 270W) garantem temperaturas superiores a 80°C nos provetes secos, considerada como valor mínimo capaz de promover a eliminação do fungo *Gloeophyllum trabeum* (excetua-se a condição 180W, minuto 1). No caso dos provetes molhados, apenas a potência de 270W parece ser eficaz. Nos ensaios a 90W, os provetes apenas ultrapassam os 80°C aos minutos 9 e 10, quando as amostras se encontram molhadas.

Uma vez que não foi efetuada a pesagem dos provetes durante o procedimento, não é possível avaliar a perda de humidade que poderá ter ocorrido na madeira na sequência da elevação da temperatura e que serviria de suporte a esta na análise.

Apesar dos provetes apresentarem uma superfície mais pequena do que as placas de Petri, o perfil de distribuição de temperatura é também pouco uniforme. As Figura 27 e Figura 28 mostram os resultados obtidos nos provetes sujeitos a 180W e 270W (amostra seca) nos tempos estudados, 2 a 12 minutos. O mesmo tipo de comportamento foi observado nos provetes sujeitos a 90W.

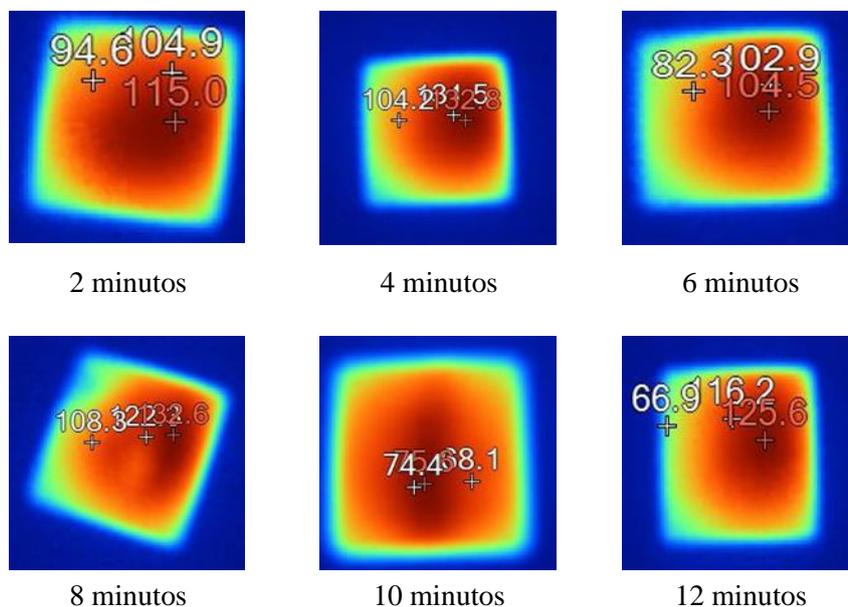


Figura 27 – Perfil de temperatura do provete sujeito a 180W (amostra seca) nos tempos estudados, entre 2 e 12 min

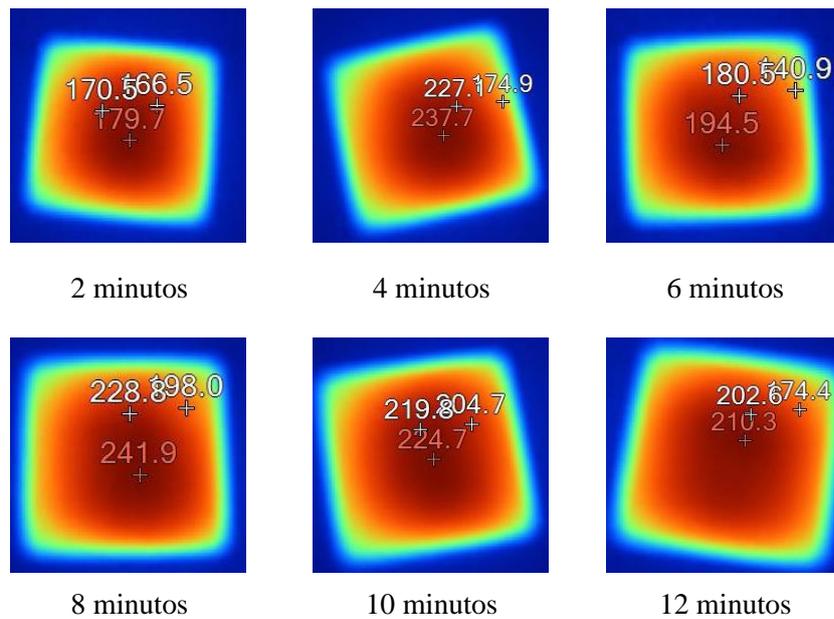


Figura 28 – Perfil de temperatura do provete sujeito a 270W (amostra seca) nos tempos estudados, entre 2 e 12 min

Note-se ainda que o provete que foi sujeito à potência de 270W sofreu alterações de cor (Figura 29), apresentando-se ligeiramente carbonizado ao fim de 4 minutos de exposição, e que decorridos 7 minutos estas alterações aumentaram, observando-se ainda a libertação de fumo ao minuto 9, tanto no caso das amostras molhadas como das secas. Nas amostras irradiadas a 90W e 180W não se identificaram alterações do aspeto dos provetes.

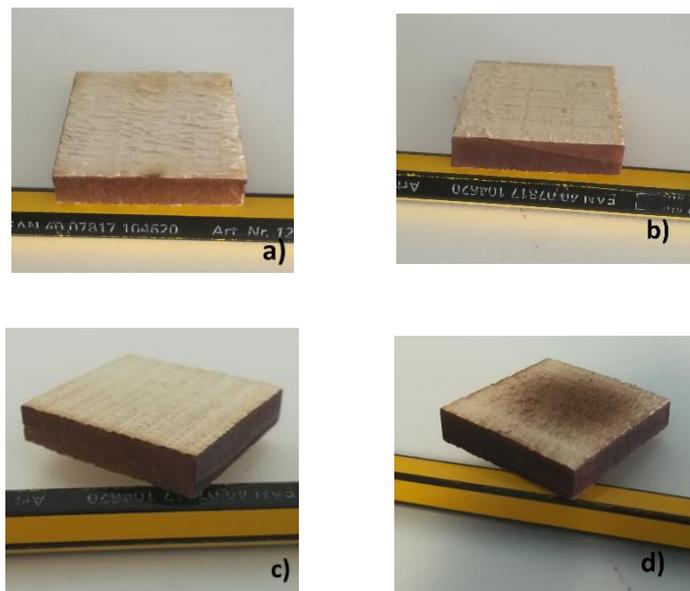


Figura 29 – Aspeto dos provetes antes e após irradiação (a seco). a) 180W, antes da irradiação; b) 180W, depois da irradiação; c) 270W, antes da irradiação; d) 270W, depois da irradiação.

6.3. Estudo da variação do teor de humidade nos provetes de madeira

A variação do teor de humidade nos provetes de madeira foi avaliada, assumindo que as perdas/ganhos de massa que ocorreram durante o processo se devem exclusivamente a perdas/ganhos de água na madeira. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 12.

Tabela 12 – Variação da massa dos provetes de madeira ao longo do procedimento experimental

Amostra	Efeito da secagem	Efeito da irradiação	Efeito do acondicionamento (4 dias)	Efeito do acondicionamento (7 dias)	Efeito da secagem, irradiação e acondicionamento (4 dias)	Efeito da secagem, irradiação e acondicionamento (7 dias)
Provetes expostos a 90W, 10 min	-8,12%	2,50%	4,46%	4,60%	-1,62%	-1,49%
	-7,96%	2,12%	4,78%	4,88%	-1,52%	-1,42%
	-8,74%	1,69%	6,00%	6,14%	-1,64%	-1,50%
	-8,26%	1,95%	5,10%	5,23%	-1,71%	-1,58%
Média e CV	-	2,06% ± 0,30%	5,08% ± 0,57%	5,21% ± 0,58%	-1,62% ± 0,07%	-1,50% ± 0,06%
Provetes expostos a 90W, 20 min	-7,24%	1,42%	4,66%	4,78%	-1,54%	-1,42%
	-6,82%	0,74%	5,16%	5,28%	-1,29%	-1,18%
	-7,12%	0,44%	5,59%	5,72%	-1,49%	-1,37%
	-7,10%	0,30%	5,76%	5,87%	-1,46%	-1,35%
	-7,11%	0,56%	5,40%	5,50%	-1,54%	-1,45%
Média e CV	-7,61% ± 0,63%*	0,69% ± 0,39%	5,31% ± 0,38%	5,43% ± 0,38%	-1,47% ± 0,09%	-1,36% ± 0,09%

* Calculado com base nos valores obtidos em todos os ensaios realizados (amostras 90W, 10 min e 90W, 20min), uma vez que as condições experimentais de secagem foram iguais.

Através da análise dos resultados da Tabela 12, verifica-se que a etapa da secagem a 105°C é responsável pela maior perda de massa nos provetes (em média 7,61% da sua massa inicial). No entanto, atendendo ao valor do coeficiente de variação (CV=0,63%), esta perda não acontece com a mesma extensão em todos os provetes. Considerando que a retoma de água nos provetes durante a estabilização à temperatura e humidade ambiente (4 ou 7 dias) também ocorreu com variações significativas, é provável que o teor de humidade inicial nos provetes fosse diferente, justificando as diferenças identificadas na perda de água durante o processo. Na verdade, espera-se que a perda de água livre durante o processo de secagem a 105°C ocorra à mesma velocidade em amostras do mesmo material.

A irradiação dos provetes após secagem conduziu a um aumento de massa, indicando que durante esta etapa o material adsorve água. Uma vez que a elevação de temperatura durante a exposição à radiação microondas é inferior à utilizada durante a secagem (80°C *versus*

105°C), parece evidente que a retoma de água pode ocorrer durante o processo. Note-se que os provetes radiados a 90W durante 10 minutos adsorveram mais humidade do que expostos durante 20 minutos, provavelmente porque a temperatura atingida na exposição mais prolongada é mais elevada e faz-se sentir durante mais tempo, reduzindo a taxa de adsorção de água.

O acondicionamento durante 4 e 7 dias evidenciou um aumento significativo de massa nas amostras, associado à retoma de água ao material. No geral, a extensão da retoma é equivalente em todos os provetes e mostra que a estabilização por um período superior a 4 dias não conduz à retenção de uma maior quantidade de água.

A avaliação conjunta das etapas de secagem, irradiação e acondicionamento (4 ou 7 dias) permite fazer um balanço final do efeito de todo o procedimento, verificando-se que depois do acondicionamento as amostras apresentam um menor teor de água. De acordo com o relatado anteriormente, a perda de água resulta da remoção inicial de água na secagem a 105°C; e as etapas de irradiação e acondicionamento promovem a retoma de água. Esta última decorre de modo mais lento do que a perda, pelo que, ao fim de 7 dias, os provetes de madeira não atingiram ainda o teor de água inicial.

6.4. Verificação da viabilidade do fungo *Gloeophyllum trabeum*

A viabilidade do fungo *Gloeophyllum trabeum* foi verificada após a irradiação com MO, tendo-se procedido à exposição em dose única e em doses múltiplas. As Tabela 13 e Tabela 14 apresentam os resultados obtidos.

No que concerne à exposição em dose única, os resultados apresentados na Tabela 13 indicam que os ensaios que garantem uma menor viabilidade do fungo estão associados à exposição a uma potência de 90W durante um período de 10 min e 20 min. Nestas condições, a viabilidade do fungo após a exposição variou entre 16% (90W, 10 min) e 28% (90W, 20 min).

A irradiação do fungo durante 3 min não parece ser suficiente para dar resposta ao objetivo do presente trabalho, ou seja, atuar como tratamento preventivo/curativo da madeira sob ação do fungo *Gloeophyllum trabeum*. A exposição a 90W garantiu uma viabilidade média de 60% e a 180W conduziu a uma dispersão nos resultados entre 8% e 39%. Provavelmente, o reduzido tempo de irradiação não permitiu a exposição do fungo a temperaturas elevadas

durante o período necessário a uma maior extensão de danos e, idealmente, à sua eliminação. No caso da exposição a 180W, é possível que o tempo de irradiação tenha ainda condicionado a distribuição uniforme da temperatura mais elevada na superfície da placa de Petri, justificando a variação dos resultados obtidos.

Tabela 13 – Viabilidade do fungo *Gloeophyllum trabeum* quando exposto a uma dose única de radiação microondas

Tempo Potência	3 min		10 min		20 min	
	90W	66%	53%	16%	24%	28%
65%		56%	21%	20%	17%	22%
180W	24%	32%	-		-	
	39%	23%	-		-	
	13%	8%	-		-	
	11%	12%	-		-	

A Tabela 14 apresenta os resultados dos ensaios de viabilidade do fungo *Gloeophyllum trabeum* quando exposto a doses múltiplas de radiação.

Tabela 14 – Viabilidade do fungo *Gloeophyllum trabeum* quando exposto a doses múltiplas de radiação microondas

Tempo Potência	3 min		+ 7 min		+ 10 min		-		-	
	90W	66%	53%	33%	50%	6%	22%	-	-	-
65%		56%	47%	18%	13%	7%	-	-	-	-
Tempo Potência	-		10 min		+ 10 min		+ 10 min		+ 10 min	
	-	-	32%	34%	22%	33%	35%	38%	26%	30%
90W	-	-	19%	14%	30%	23%	3%	8%	14%	39%

Atendendo aos resultados, a exposição do fungo ao ciclo de radiação MO 3+7+10 min (90W) permite um decréscimo na sua viabilidade ao longo do tratamento, conduzindo a valores finais entre 6 e 22%. Aparentemente, o ciclo 4x10min (90W) não acrescenta vantagens, já que, após as 4 exposições (40 min de tempo total de irradiação), a viabilidade média do fungo é superior à obtida com o ciclo 3+7+10 min (90W), correspondente a um tempo total de irradiação de 20 min (27% versus 12%, respetivamente).

De qualquer modo, os resultados obtidos após exposição do fungo à radiação MO não são conclusivos relativamente à opção de usar uma irradiação única ou ciclos de radiação. Na

verdade, a exposição do fungo num ciclo 3+7min (90W) permitiu uma menor redução da viabilidade do fungo do que a exposição única durante 10 min (valores médios de 37% *versus* 25%, respetivamente); e as exposições em ciclo 3+7+10 min (90W), 2x10min e exposição única 20 min indicam uma maior eficiência para o ciclo 3+7+10 min (90W) e menor para o ciclo 2x10min (valores médios de 12% *versus* 27% *versus* 20%, respetivamente). A discrepância de resultados pode ser justificada pelo modo de funcionamento do MO. Durante a execução dos ensaios houve a perceção de que o processo de irradiação não acontecia sempre de forma contínua, podendo afetar a exposição das amostras à radiação. Identificou-se a alteração da sonoridade do funcionamento do MO em determinados momentos e verificou-se um decréscimo da temperatura nos provetes irradiados, a cada 5 minutos de exposição (Figura 26).

Os resultados dos ensaios que incluíram a autoclavagem e a exposição a radiação ultravioleta, com o objetivo de eliminar totalmente o fungo *Gloeophyllum trabeum* por esterilização, simulando a condição de viabilidade 0%, estão presentes na Tabela 15.

Tabela 15 – Viabilidade do fungo *Gloeophyllum trabeum* após esterilização

Potência	Tempo	Tratamento adicional	Viabilidade	
90 W	10 min	Autoclave a 121°C, 20 min	48%	77%
			11%	6%
90 W	10 min	Autoclave a 121°C, 20 min + radiação UV, 4 horas	18%	23%
			16%	17%

Como se pode verificar e ao contrário do que se esperava, a perda de viabilidade do fungo *Gloeophyllum trabeum* não foi total depois da aplicação dos processos de esterilização. No caso a que foi sujeito apenas a autoclavagem depois da irradiação com MO, os resultados obtidos são particularmente divergentes, variando entre 6 e 77%, para a qual não se encontra uma justificação satisfatória.

Relativamente ao processo de esterilização por UV, considera-se que poderá não ter sido suficientemente prolongado, ou não ter sido aplicado nas melhores condições, pois durante o procedimento a lâmpada desligou-se e a caixa de Petri estava aberta e em contacto com o ar. Acrescenta-se ainda que o fungo *Gloeophyllum trabeum* também pode apresentar alguma resistência à radiação UV. Efetivamente, Selbmann, Isola, Zucconi e Onofri (2011) estudaram fungos com alguma resistência à radiação UV-B.

6.5. Estudo preliminar da ação do fungo *Gloeophyllum trabeum* em provetes de madeira (1ª fase)

O cultivo do fungo *Gloeophyllum trabeum* em frascos de vidro contendo agar extrato de malte a 5%, a 33°C, durante 7 dias permitiu um crescimento efetivo do microrganismo, idêntico ao ilustrado na Figura 30.



Figura 30 – Crescimento do fungo *Gloeophyllum trabeum* em agar extrato de malte a 5%, a 33°C durante 7 dias.

O estudo da ação do fungo sobre os provetes de madeira tratados e não tratados decorreu durante 15 dias. A Tabela 16 resume os resultados obtidos e a Figura 31 ilustra as observações mais relevantes.

Tabela 16 – Estudo preliminar da ação do fungo *Gloeophyllum trabeum* em provetes de madeira (1ª fase)

Ensaio realizado	Condições experimentais	Observações
Branco	Provete não exposto à radiação (colocado em agar extrato de malte a 5%, na ausência de fungo)	Desenvolvimento de uma substância castanha
	Provete exposto a 90W, 10 min (colocado em agar extrato de malte a 5%, na ausência de fungo)	Desenvolvimento de uma substância castanha
	Provete exposto a 180W, 3 min (colocado em agar extrato de malte a 5%, na ausência de fungo)	Sem alterações
Controlo	Provete não exposto à radiação (colocado em agar extrato de malte a 5%, na presença de fungo)	Desenvolvimento do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> no agar e presença de pontuações brancas nos provetes
Ensaio de Crescimento	Provete exposto a 90W, 10 min (colocado em agar extrato de malte a 5%, na presença de fungo)	Desenvolvimento do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> no agar e presença de pontuações brancas nos provetes
	Provete exposto a 180W, 3 min (colocado em agar extrato de malte a 5%, na presença de fungo)	Desenvolvimento do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> no agar e presença de pontuações brancas nos provetes

Como se pode verificar, após 15 dias de incubação verificou-se o aparecimento generalizado de uma substância não identificada nos ensaios em que os provetes (tratados e não tratados) foram colocados em meio agar, na ausência de fungo (Figura 31(b)). Excetua-se desta situação, o provete irradiado nas condições 180W-10 min (Figura 31(c)).

Todos os provetes colocados na presença do fungo *Gloeophyllum trabeum* apresentaram evidência de invasão por parte de microrganismos contaminantes, tendo sido observados pontos brancos na parte lateral das amostras (Figura 31(d) a Figura 31(i)).

Estes resultados parecem indicar que existe uma fonte de contaminação não identificada, que se desenvolve quando tem o meio propício (meio agar sem fungo), mesmo quando o provete é sujeito a uma irradiação de 90W durante 10 minutos. O não aparecimento da espécie no ensaio em branco em que o provete foi exposto a 180W, 3 min (Figura 31(c)) poderá indicar uma inibição de crescimento nestas condições de irradiação; ou a não existência desta contaminação no provete original.

Verificou-se também que, após 15 dias, o fungo *Gloeophyllum trabeum* teve a capacidade de se expandir para os provetes de madeira e que as diferentes condições experimentais não tiveram qualquer efeito inibitório sobre o desenvolvimento do fungo nos provetes (Figura 31(f) e 31(g)).

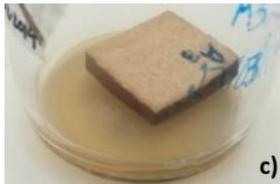
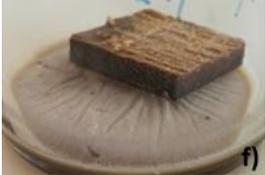
Ensaio em Branco			
Controlos sem radiação		-	-
		-	-
Incubação em meio agar c/fungo	-		
	-		
	S/ Pré-Tratamento	90W-10min	180W-3min

Figura 31 – Estudo preliminar da ação do fungo *Gloeophyllum trabeum* em provetes de madeira (1ª fase)

De modo a verificar se o fungo *Gloeophyllum trabeum* efetivamente se tinha alojado na madeira durante o período de incubação e se se desenvolveria se colocado em condições ótimas de crescimento, ou se, pelo contrário, o pré-tratamento com radiação MO tinha surtido efeito e não permitiria o seu crescimento, os provetes foram retirados dos frascos e novamente incubados em placas de Petri com meio agar extrato de malte a 5%. A Tabela 17 resume os resultados obtidos.

Tabela 17 – Incubação dos provetes previamente expostos à ação do fungo *Gloeophyllum trabeum* em meio de cultura agar

Condições experimentais prévias		Observações
Controlo	Provete não exposto à radiação (colocado em agar extrato de malte a 5%, na presença de fungo)	1 ensaio com contaminação microbiana 1 ensaio com mistura de contaminantes
Ensaio de Crescimento	Provete exposto a 90W, 10 min (colocado em agar extrato de malte a 5%, na presença de fungo)	3 ensaios com contaminação microbiana (iguais) 3 ensaios com contaminação fungal escura (iguais) 2 ensaios com contaminação fungal e microbiana (iguais)
	Provete exposto a 180W, 3 min (colocado em agar extrato de malte a 5%, na presença de fungo)	1 ensaios com contaminação microbiana 4 ensaios com contaminação fungal branca (iguais) 2 ensaios com contaminação fungal escura (iguais)

A observação das placas de Petri ao longo do tempo permitiu verificar que o fungo *Gloeophyllum trabeum* não se desenvolveu na placa de agar, identificando-se o desenvolvimento de contaminação microbiana (diferente da detetada anteriormente). A

Figura 32 mostra a situação descrita. A condição 180 W – 3 min não representada na tabela evidenciou resultados semelhantes à condição 90 W – 10 min.

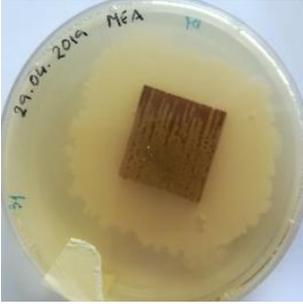
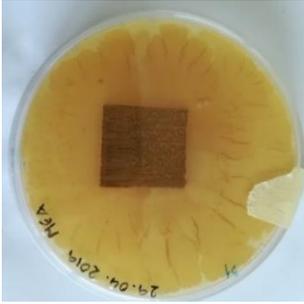
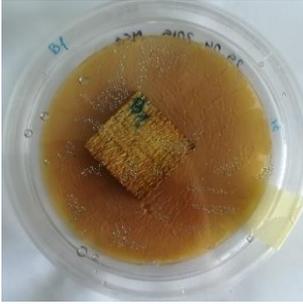
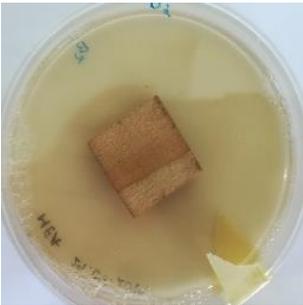
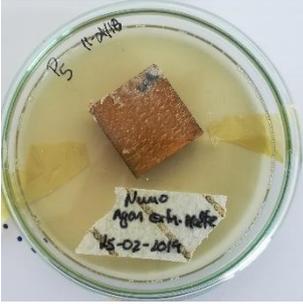
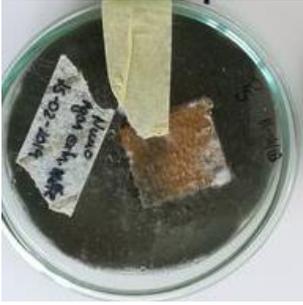
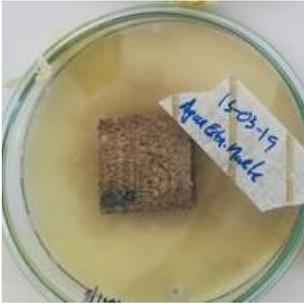
<p>Controlo</p> <p>(Provetes não exposto à radiação e colocado em agar extrato de malte a 5%, na presença de fungo)</p>			
			
	<p>Condição Experimental</p> <p>Tempo de incubação</p>		
	Dia da incubação	7 dias	18 dias
<p>Ensaio de Crescimento</p> <p>Provetes exposto a 180W, 3 min e colocado em agar extrato de malte a 5%, na presença de fungo</p>			
			
	<p>Condição Experimental</p> <p>Tempo de incubação</p>		
	2 dias	3 dias	6 dias

Figura 32 – Incubação dos provetes previamente expostos à ação do fungo *Gloeophyllum trabeum* em meio de cultura agar

Face aos resultados obtidos, pensa-se que as contaminações detetadas poderão ter origem nos provetes de madeira, contribuindo para isto o facto dos provetes terem estado expostos

em ambiente de laboratório e não terem sido sujeitos a esterilização antes da incubação. O não aparecimento de contaminação nos frascos onde cresceu o fungo *Gloeophyllum trabeum* poderá ser justificado pela competitividade entre espécies. Nas situações em que o fungo foi cultivado em ambiente estéril e se conseguiu estabelecer com um bom nível de desenvolvimento as outras espécies não tiveram oportunidade de crescer. Quando os provetes foram retirados dos frascos e incubados nas placas de Petri com meio de cultura agar, as outras espécies, provavelmente de crescimento mais rápido, implantaram-se primeiro, dificultando o desenvolvimento do fungo *Gloeophyllum trabeum* no meio.

6.6. Estudo preliminar da ação do fungo *Gloeophyllum trabeum* em provetes de madeira (2ª fase)

Com o objetivo de verificar a incidência e, se possível, identificar a origem da contaminação microbiana observada na 1ª fase de ensaios, procedeu-se a um estudo complementar envolvendo testes que incidiram sobre os provetes de madeira, a contaminação observada e o processo de esterilização aplicado na preparação do meio agar.

I. Provetes de madeira

Os resultados do estudo complementar com provetes de madeira encontram-se registados na Tabela 18.

Como se pode verificar, o meio de cultura agar não pode constituir fonte da contaminação, pois não se verificou qualquer crescimento microbiano nas placas de Petri contendo apenas agar, quando foram incubadas a 33°C.

Tabela 18 – Estudo preliminar da ação do fungo *Gloeophyllum trabeum* em provetes de madeira (2ª fase)

Condições experimentais		Observações
Branco	Agar extrato de malte a 5%	Sem alterações
Provetes provenientes dos Ensaios de crescimento *	Provete exposto a 90W, 10 min **	1 ensaio com mistura de contaminações 1 ensaio com contaminação microbiana
	Provete exposto a 180W, 3 min **	1 ensaio com contaminação microbiana 1 ensaio sem alterações
Provetes originais	Provete não tratado **	1 ensaio desenvolveu contaminação ao 11º dia 3 ensaios sem alterações
	Provete não tratado e húmido **	1 ensaio com mistura de contaminações 2 ensaios com contaminação microbiana (diferentes)
	Provete exposto a 90W, 10 min **	Desenvolveu contaminação microbiana ao 5º dia
	Provete exposto a 180W, 3 min **	Desenvolveu contaminação microbiana ao 6º dia
	Provete esterilizado em autoclave **	2 ensaios com contaminação microbiana (diferentes) 1 ensaio sem alterações
	Provete esterilizado em autoclave e seco **	2 ensaios com contaminação microbiana (diferentes) 1 ensaio sem alterações

* Condição prévia: provetes expostos a radiação MO e colocados em agar extrato de malte a 5%, na presença de fungo; retirados do frasco e colocados em agar extrato de malte a 5%, na ausência de fungo (incubação a 33 °C)

** Provetes colocados em agar extrato de malte a 5% e incubados a 33°C

A análise dos provetes provenientes dos *ensaios de crescimento*, expostos novamente à radiação MO e incubados em agar extrato de malte, evidenciaram o crescimento de culturas microbianas que não se identificam com o fungo *Gloeophyllum trabeum*. O desenvolvimento desta contaminação verificou-se em todos os ensaios realizados (com irradiação a 90 W – 10 min e a 180 W – 3 min) (Figura 33). Estes resultados indicam que o tratamento dos provetes com a radiação MO aplicada não afeta o desenvolvimento da contaminação microbiana. Como referido, o crescimento rápido destas espécies poderá impedir o desenvolvimento do fungo *Gloeophyllum trabeum*, que por essa razão não é observado em nenhuma das condições.

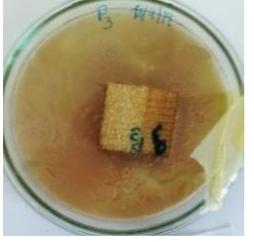
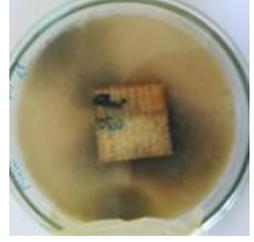
2ª exposição à radiação (90W, 10 min) e incubação em agar				
2ª exposição à radiação (180W, 3 min) e incubação em agar				
<p>Condição Experimental</p> <p>Tempo de incubação</p>	Placa de Crescimento Original	1 dia	2 dias	7 dias

Figura 33 – Estudo preliminar da ação do fungo *Gloeophyllum trabeum* em provetes de madeira (2ª fase): Provetes provenientes dos Ensaios de crescimento

Depois de sujeitos a condições experimentais distintas, a incubação dos provetes originais revelou resultados díspares, não se conseguindo estabelecer qualquer relação entre o crescimento microbiológico observado nas placas e as condições experimentais testadas (Tabela 18 e Figura 33). Além disso, os ensaios realizados não evidenciam a repetibilidade espectável para as mesmas condições experimentais. Note-se, por exemplo, que nas placas de Petri em que foram incubados os provetes esterilizados em autoclave, se verificou o aparecimento de contaminação e, em outra, nas mesmas condições, isso não aconteceu.

A incubação de provetes de madeira (originais) (Figura 34) irradiados com MO nas condições 90 W – 10 min e 180 W – 3 min revelou o desenvolvimento de contaminação microbiana em todos os ensaios realizados, embora de diferentes tipos. A incubação dos provetes não tratados (acondicionados à temperatura e humidade ambiente e húmidos) e esterilizados (secos e não secos) também revelou o desenvolvimento de contaminação microbiológica na generalidade das placas Petri.

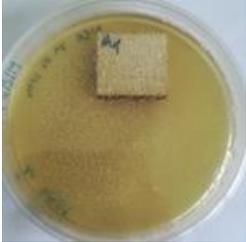
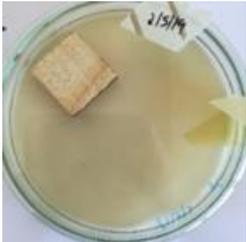
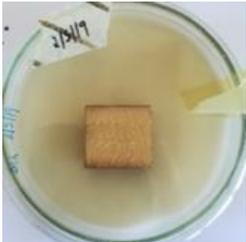
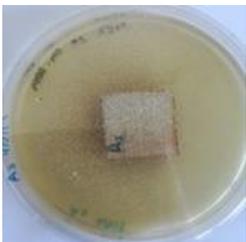
Provetes não tratados			
			
Provetes não tratados e húmido			
Provetes irradiado a 90W-10min			
Provetes irradiado a 180W-3 min			
Condição Experimental	Dia da Incubação	6 dias	13 dias
Tempo de incubação			

Figura 34 – Estudo preliminar da ação do fungo *Gloeophyllum trabeum* em provetes de madeira (2ª fase): Provetes originais (exemplo do comportamento em meio agar)

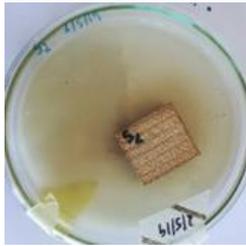
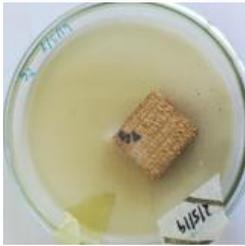
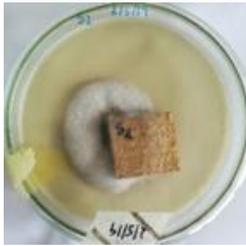
Provetes esterilizados			
Provetes esterilizados e seco			
Condição Experimental	Dia da Incubação	6 dias	13 dias
Tempo de incubação			

Figura 34 (continuação) – Estudo preliminar da ação do fungo *Gloeophyllum trabeum* em provetes de madeira (2ª fase): Provetes originais (exemplo do comportamento em meio agar)

Estes resultados parecem indicar que a contaminação tem origem nos provetes de madeira, não sendo afetada nem pela radiação MO aplicada nem pelo método de esterilização em autoclave. Existe também a possibilidade de a contaminação ser proveniente do processo de secagem em estufa. Esta hipótese é reforçada pelo facto da maior parte dos ensaios realizados com provetes que não foram sujeitos à secagem em estufa não apresentarem contaminações (aproximadamente 4 em 7).

II. Contaminação microbiana

A incubação de uma das primeiras contaminações observadas conduziu a um aumento considerável de material na placa, confirmando a suspeita de que se tratava de um organismo vivo. Outros organismos contaminantes também se desenvolveram, tal como é possível verificar na Figura 35. As contaminações observadas ao longo do procedimento foram registadas, tendo sido possível identificar colónias de *Bacillus subtilis* (American Society for Microbiology, n.d.) (Figura 35(a)); o fungo *Aspergillus niger* (Hussain, 2015) (Jariwala, 2018) (Figura 35(b)); e o fungo *Alternaria longipes* (Tan *et al.* 2013) (Figura 35(c)). De notar também o aparecimento de fungos que se consideraram pertencer à família *Aspergillus* (Figura 35(d)) (L. Carvalho, 2013), cuja subespécie não foi possível identificar.

A identificação de outras espécies contaminantes teria requerido uma análise mais detalhada e especializada, o que não foi realizado neste trabalho.

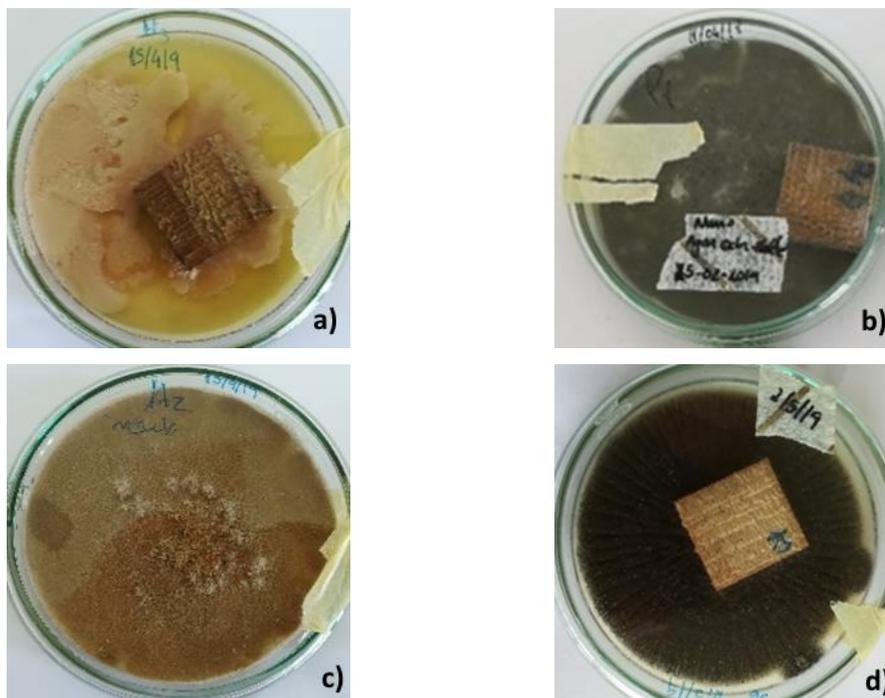


Figura 35 – Contaminações microbiológicas identificadas nos ensaios realizados
 (a) *Bacillus Subtilis* (b) *Aspergillus Niger* (c) *Alternaria Longipes* (d) *Aspergillus* não identificado

III. Processo de esterilização do meio de cultura

Atendendo à aparente ineficácia do processo de esterilização em autoclave na eliminação da contaminação microbiana presente nos provetes de madeira, procedeu-se à validação do método mediante a esterilização e incubação de placas de Petri contendo agar.

Os resultados obtidos após incubação apresentaram diferenças muito significativas, que poderão condicionar as conclusões retiradas dos ensaios realizados. Enquanto numa das placas não se identificou nenhuma contaminação, na correspondente ao ensaio em duplicado verificou-se o crescimento de uma contaminação que não foi identificada (Figura 36). Esta observação lança dúvidas acerca da eficácia da esterilização nas condições em que foi aplicada às placas de Petri e aos provetes de madeira, considerando-se, nesta fase, que esse processo em autoclave pode constituir também uma fonte de contaminação, e/ou promover as condições para o crescimento, justificando eventualmente a disseminação microbiana não prevista, mas presente nos ensaios. Por outro lado, note-se que as placas de Petri preparadas com meio de cultura agar previamente esterilizado em autoclave (em frasco fechado) não

evidenciaram o crescimento de contaminação, pelo que a menor eficiência do método de esterilização poderá estar associada especificamente ao procedimento usado nas placas de Petri e nos provetes de madeira.

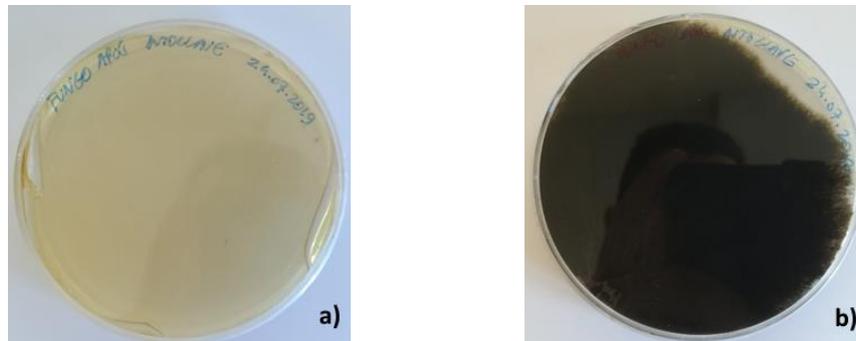


Figura 36 – Placas de Petri com meio agar incubadas a 33°C, após processo de esterilização em autoclave: a) placa sem contaminação; b) placa com contaminação.

6.7. Monitorização da exposição prolongada de provetes de madeira ao fungo *Gloeophyllum trabeum*

As observações registadas durante a monitorização da exposição prolongada dos provetes de madeira ao fungo *Gloeophyllum trabeum* encontram-se resumidas na Tabela 19 e ilustradas na Figura 37.

Tabela 19 – Monitorização da exposição prolongada de provetes de madeira ao fungo *Gloeophyllum trabeum*

Condições experimentais		1ª Observação (t = 4 semanas)	2ª Observação (t = 8 semanas)
Branco (fungo)	Incubação do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> (em meio agar extrato de malte a 5%)	Desenvolvimento do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> nos 3 ensaios. Descoloração do meio de cultura em 2 ensaios.	Sem alterações relativamente à 1ª observação.
Branco (provete)	Provete não exposto à radiação (colocado em agar extrato de malte a 5%, na ausência de fungo)	1 ensaio sem contaminação microbiana. 1 ensaio c/ desenvolvimento de <i>Bacillus Subtilis</i> .	Sem alterações significativas relativamente à 1ª observação: escurecimento dos provetes.
	Provete exposto à radiação (colocado em agar extrato de malte a 5%, na ausência de fungo)	1 ensaio sem contaminação microbiana. 1 ensaio c/ crescimento de bolores, tanto no meio de cultura como no provete	1 ensaio sem contaminação microbiana. 1 ensaio c/ contaminação microbiana: o crescimento dos bolores acentuou-se significativamente e verificou-se o desenvolvimento de <i>Bacillus Subtilis</i> .
Controlo	Provete não exposto à radiação (colocado em agar extrato de malte a 5%, na presença de fungo)	Fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> bem estabelecido no meio de cultura nos 2 ensaios. Indício de desenvolvimento do fungo também nos provetes.	Sem desenvolvimento do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> nos provetes relativamente à 1ª observação. Escurecimento dos provetes.
Ensaio de crescimento	Provete exposto a irradiação única (colocado em agar extrato de malte a 5%, na presença de fungo)	Fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> bem estabelecido no meio de cultura nos 3 ensaios. Desenvolvimento do fungo também nos provetes, sendo menos expressivo num dos ensaios.	Sem desenvolvimento do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> nos provetes relativamente à 1ª observação. Escurecimento dos provetes.
	Provete exposto a irradiação periódica (colocado em agar extrato de malte a 5%, na presença de fungo)	Fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> bem estabelecido no meio de cultura nos 3 ensaios. Desenvolvimento do fungo também nos provetes.	Sem desenvolvimento do fungo <i>Gloeophyllum trabeum</i> nos provetes relativamente à 1ª observação. Escurecimento dos provetes.

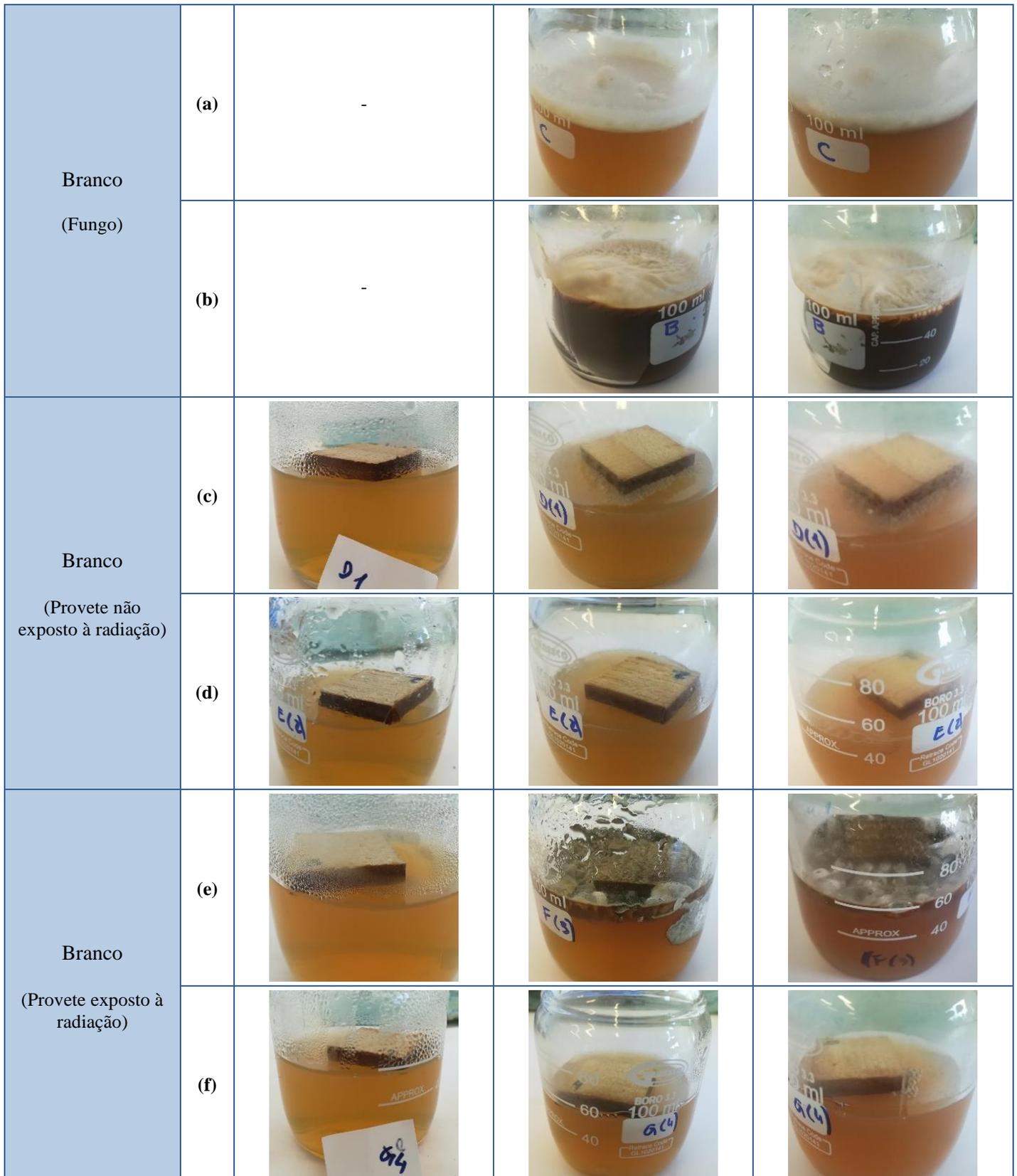


Figura 37 – Monitorização da exposição prolongada de provetes de madeira ao fungo *Gloeophyllum trabeum*

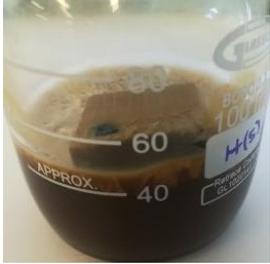
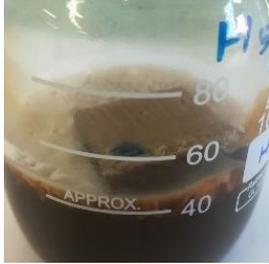
<p>Controlo (Não exposto à radiação)</p>	<p>(g)</p>			
<p>Ensaio de crescimento (Exposto à radiação única)</p>	<p>(h)</p>			
	<p>(i)</p>			
<p>Ensaio de crescimento (Exposto à radiação Periódica)</p>	<p>(j)</p>			
<p>Condição Experimental</p>	<p>Dia de Incubação</p>		<p>4 semanas</p>	<p>8 semanas</p>
<p>Tempo de incubação</p>				

Figura 37 (continuação) – Monitorização da exposição prolongada de provetes de madeira ao fungo *Gloeophyllum trabeum*

Como é possível verificar através da Tabela 19, a incubação do fungo *Gloeophyllum trabeum* em meio agar decorreu com sucesso nas condições experimentais testadas e no período de incubação monitorizado. No entanto, em dois dos ensaios verificou-se alteração de cor do meio (Figura 37(a) versus Figura 37(b)), provavelmente consequência do crescimento mais acentuado do fungo. Isto conduziu a uma exaustão dos nutrientes do meio de cultura, ou ao desenvolvimento do fungo no seu interior, não se ficando apenas pela superfície, contribuindo, assim, para a alteração de cor.

Nos ensaios em que os provetes tratados (irradiados com MO) e não tratados foram mantidos em agar na ausência de fungo (Branco com provete), verificou-se o aparecimento de contaminantes ao fim de 4 ou de 8 semanas. O crescimento foi particularmente evidente nos ensaios que decorreram com provetes irradiados (Figura 37 (e) e Figura 37(f)), identificando-se dois tipos de contaminante: *Aspergillus niger*(e) e *Bacillus Subtilis*, respetivamente. Apenas um dos ensaios com provete não tratado correspondeu às expectativas, não evidenciando nenhuma alteração ao estado inicial da amostra e do agar (Figura 37(d)). Por outro lado, um dos provetes exposto à radiação e colocado em agar extrato de malte a 5%, na ausência de fungo, escureceu durante o período de ensaio, o que poderá dever-se ao aumento do conteúdo de humidade do próprio provete (Figura 37(e)).

Nos ensaios com provetes não tratados (Controlo) e expostos à radiação (contínua ou periódica), colocados em agar extrato de malte a 5% na presença do fungo *Gloeophyllum trabeum*, os provetes sofreram uma alteração de cor, verificando-se que todas as amostras adquiriram uma tonalidade mais escura, muito provavelmente devido à absorção de humidade do meio de cultura (Figura 37(g) a Figura 37(j)).

No decurso dos ensaios constatou-se que o fungo *Gloeophyllum trabeum* se instalou nas amostras de madeira, sendo possível identificar o aparecimento de novos pontos de crescimento nas laterais dos provetes ((Figura 37(i)). Estes resultados estão de acordo com o descrito anteriormente (Secção 6.6), indicando que o tratamento preventivo com MO poderá não ser suficiente para impedir o crescimento do fungo *Gloeophyllum trabeum* na madeira. Isto poderá dever-se à condição experimental testada (90W – 20 min), que não permite uma modificação significativa das propriedades da madeira, devido ao tempo de exposição e à intensidade da radiação, tanto a nível físico (densidade e porosidade, que quando alteradas poderão dificultar o acesso do fungo às cavidades celulares) como químico (degradação/modificação das hemiceluloses, celulosas e lenhina, essenciais ao processo de

degradação do fungo). Por outro, o eventual ganho de humidade no provete pelo contacto com o meio de cultura, indiciado pela alteração da sua coloração, pode criar condições especialmente favoráveis ao desenvolvimento do fungo *Gloeophyllum trabeum*.

Nos ensaios com provetes irradiados periodicamente, o crescimento do fungo *Gloeophyllum trabeum*, após a 2ª irradiação, manteve-se semelhante ao registado na primeira observação. No entanto, é de assinalar que este comportamento também foi o registado nos ensaios de irradiação única, considerando-se, por isso, que o desenvolvimento do fungo foi idêntico nas duas condições. Esta observação poderá indicar que a irradiação periódica, nas condições em que foi aplicada, tal como a exposição única às MO, não apresenta um resultado prático na prevenção da madeira. A semelhança nos resultados poderá estar relacionada com o período de duração dos ensaios, que poderá não ter sido suficientemente longo para o fungo se desenvolver de forma mais evidente nos provetes, fruto da existência de uma fonte de nutrição mais fácil (meio de cultura), evidenciando possíveis diferenças associadas às condições experimentais ((Figura 37(j)); ou, tal como referido anteriormente, as condições de temperatura e intensidade da radiação MO usadas poderão não ter sido suficientes para aumentar a temperatura no interior da madeira até aos níveis letais ao fungo, independentemente do número de ciclos de tratamento.

A variação de massa observada nos provetes depois do período de incubação (8 semanas) não permitiu uma avaliação conclusiva acerca da ação dos fungos sobre os provetes de madeira, devido a um erro experimental que não permitiu avaliar a massa do provete seco, após o ensaio. No entanto, atendendo a que a presença do fungo *Gloeophyllum trabeum* era visível nos ensaios, seria expectável que houvesse uma redução na massa nos provetes. Efetivamente, Cao *et al* (2011) identificaram que a ação do *Gloeophyllum trabeum* em provetes de madeira (tratada e não tratada), após 12 semanas, originou reduções de massa entre 2% e 45% (conforme o tipo de tratamento aplicado). O mesmo tempo de incubação foi utilizado por Calonego *et al* (2013), para avaliar a exposição de provetes de eucalipto ao fungo *Gloeophyllum trabeum*, verificando perdas de massa na ordem dos 50,33 %. Em ambos os estudos o tratamento foi realizado a temperaturas acima dos 100°C e tempos de exposição que variaram entre 1 e 5 horas.

7. Conclusões e Sugestões de trabalho futuro

7.1. Conclusões

O trabalho apresentado teve como objetivo estudar o uso da radiação microondas na prevenção antifúngica da madeira contra o fungo da podridão castanha.

No âmbito da avaliação do perfil de temperatura no meio agar nas condições testadas de 810W – 1,5 min, 540W – 2 min, 450W – 2 e 3 min, 360W – 2, 3 e 4 min, 270W – 4, 7, 10 e 12 min, 180W – 6, 7, 10 e 12 min e 90W – 10 e 12 min foi atingida a temperatura definida como letal para o fungo *Gloeophyllum trabeum* (acima de 80°C). O mesmo aconteceu nos provetes de madeira molhados sujeitos a 90W – 9 e 10 min, 180W – 8, 9 e 10 min, 270W – 2 a 12 min e nos provetes secos nas condições 180W – 2 a 12 min e 270W – 2 a 12 min. Isto revelou-se promissor quanto ao potencial da radiação microondas no tratamento preventivo da madeira e/ou na inativação do fungo *Gloeophyllum trabeum*. No entanto, verificou-se uma distribuição não uniforme da temperatura, tanto nos provetes de madeira, como nas placas com agar, o que acabou por condicionar a eficiência do método. Além disso, concluiu-se que o teor de humidade presente nos provetes influenciava a temperatura atingida durante a irradiação, traduzindo-se num fator de controlo de processo adicional: quando irradiados a 90 W, os provetes molhados atingiram temperaturas superiores aos secos; enquanto a 180W e 270W, os provetes molhados atingiram temperaturas inferiores.

O estudo da variação do teor de humidade nos provetes de madeira permitiu concluir que ao longo de todo o procedimento experimental o provete perde humidade, em particular na etapa da secagem em estufa. Esta perda não é transversal a todo o processo, inclusive na etapa de irradiação onde se verificou um ligeiro aumento do nível de humidade.

Nos ensaios de avaliação da viabilidade do fungo *Gloeophyllum trabeum* em placa de Petri verificou-se que os tempos de exposição mais baixos apresentaram maiores valores de viabilidade do que os longos. Os ciclos de irradiação testados não se revelaram mais eficazes que os de irradiação única, identificando-se a condição de irradiação única de 90W durante 20 minutos como a mais promissora, sendo capaz de reduzir a viabilidade do fungo a 12%. Apesar disso, quando aplicada aos provetes de madeira, esta condição não foi capaz de alterar as propriedades do material e assim potenciar a sua proteção antifúngica.

No decorrer dos ensaios de avaliação da ação do fungo *Gloeophyllum trabeum* em provetes de madeira, foram identificadas diversas contaminações, que podem ter tido origem tanto nos provetes de madeira como na fase de secagem dos provetes em estufa. Estas contaminações, nomeadamente bactérias *Bacillus subtilis* e fungos *Aspergillus niger* e *Alternaria longipes*, quando presentes no meio de cultura, impediram o desenvolvimento do fungo *Gloeophyllum trabeum*. Estas observações condicionaram a interpretação dos resultados. Ainda assim, a técnica de proteção da madeira recorrendo ao uso de microondas parece ser promissora, embora seja necessário garantir condições que assegurem uma temperatura uniforme em toda a estrutura irradiada (acima dos 80°C) e eventualmente garantir maior tempo de exposição.

7.2. Sugestões de trabalho futuro

O trabalho realizado permitiu verificar que a radiação microondas é uma forma eficaz de combater os fungos da podridão, nomeadamente o *Gloeophyllum trabeum*, sendo capaz de diminuir a sua viabilidade. Por forma a aprofundar este estudo e melhorar a metodologia de tratamento apresentam-se algumas sugestões de trabalho futuro, nomeadamente:

- Esterilizar os provetes de madeira antes da utilização, para minimizar a probabilidade do aparecimento de contaminações;
- Adequar o procedimento experimental, de modo a minimizar a ocorrência de contaminações e garantir uma melhor avaliação da radiação MO como tratamento preventivo da madeira e/ou na inativação do fungo *Gloeophyllum trabeum*, e permitir uma melhor transposição da técnica para a escala real. Sugere-se, por exemplo que: (i) os provetes sejam mantido em ambiente estéril até à sua utilização; (ii) os equipamentos sejam devidamente higienizados, antes da sua utilização; (iii) o procedimento de autoclavagem seja melhorado; (iv) a manipulação dos provetes e do fungo decorram sempre em câmara de fluxo laminar.
- Utilizar um equipamento de irradiação que permita uma medição da temperatura dos provetes durante o processo e uma distribuição uniforme da radiação, por forma a medir a temperatura instantânea sem interromper o ciclo de irradiação, assim como assegurar que todo o provete se encontra nas mesmas condições de exposição;

- Testar/Utilizar outras condições experimentais que permitam modificar a madeira, tanto a nível físico como químico, e torná-la mais resistente ao fungo.
- Incubar o fungo *Gloeophyllum trabeum* nos provetes de madeira, sem meio de cultura (extrato de agar), garantindo uma ação exclusiva do fungo sobre o material, neste caso, única fonte de nutrientes, e comparar os resultados com a análise já feita.
- Identificar as contaminações que possam existir, recorrendo a meios seletivos específicos e/ou envolvendo especialistas na área, de modo a permitir a identificação da sua origem e identificar formas de prevenção.

Referências Bibliográficas

- Abdel-Hamid, A. M., Solbiati, J. O., & Cann, I. K. O. (2013). Insights into Lignin Degradation and its Potential Industrial Applications. In *Advances in Applied Microbiology* (Vol. 82). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407679-2.00001-6>
- Adan, O. C. G. (1994). *On the fungal defacement of interior finishes*.
- American Society for Microbiology. (n.d.). *No Title*. 2020. <https://jb.asm.org/content/197/13/2129/F3>
- Anguera, M. (2012). Exposição à radiação não-ionizante emitida por equipamentos terapêuticos de microondas e morbidade referida em fisioterapeutas. *Tese de Doutorado, Faculdade de Medicina Da Universidade de São Paulo*.
- Association, F. T. (2003). Thermowood handbook. *Helsinki, Finland, 284*(Snellmaninkatu 13), 4–8.
- Baião, V. das D. C. (2014). *Desempenho teórico e real de vigamentos de madeira*. 141.
- Balboni, B. M., Ozarska, B., Garcia, J. N., & Torgovnikov, G. (2018). Microwave treatment of Eucalyptus macrorhyncha timber for reducing drying defects and its impact on physical and mechanical wood properties. *European Journal of Wood and Wood Products*, 76(3), 861–870. <https://doi.org/10.1007/s00107-017-1260-1>
- Baldrian, P., & Valášková, V. (2008). Degradation of cellulose by basidiomycetous fungi. *FEMS Microbiology Reviews*, 32(3), 501–521. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00106.x>
- Banik, S., Bandyopadhyay, S., & Ganguly, S. (2003). Bioeffects of microwave - a brief review. *Bioresource Technology*, 87(2), 155–159. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00169-4](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00169-4)
- Barnett, J. R., & Jeronimidis, G. (2003). *Wood quality and its biological basis*. Blackwell. <https://books.google.com/books?hl=pt-PT&lr=&id=NhwSMryGzY0C&oi=fnd&pg=PA87&dq=wood+density&ots=9ZSICtIBKn&sig=iKMIHW2Ov-6qADIYgE15flHsk44#v=onepage&q=wood density&f=false>
- Brischke, C. (2018). Timber. In *Long-term Performance and Durability of Masonry Structures: Degradation Mechanisms, Health Monitoring and Service Life Design*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102110-1.00005-4>
- Bruno, E., & Helena, P. (n.d.). Novos métodos de protecção da madeira. *Floresta, Competitividade e Indústria Novos*.
- Butterfield, B. (1968). *1. the Structure of Wood and the Wood*. 1–2.
- Cai, Z., & Robert, J. R. (2006). *CHAPTER 12: Mechanical properties of wood-based composite materials, General Technical report FPL–GTR–190*. 1–12.
- Calonego, F. W., de Andrade, M. C. N., Negrão, D. R., Rocha, C. D., Minihoni, M. T. de

- A., Latorraca, J. V., & Severo, E. T. D. (2013). Behavior of the brown-rot fungus *Gloeophyllum trabeum* on thermally-modified *Eucalyptus grandis* wood. *Floresta e Ambiente*, 20(3), 417–423. <https://doi.org/10.4322/floram.2013.028>
- Candelier, K., Thevenon, M. F., Petrissans, A., Dumarcay, S., Gerardin, P., & Petrissans, M. (2016). Control of wood thermal treatment and its effects on decay resistance: a review. *Annals of Forest Science*, 73(3), 571–583. <https://doi.org/10.1007/s13595-016-0541-x>
- Cao, Y., Lu, J., Huang, R., Zhao, Y., & Wu, Y. (2011). Evaluation of decay resistance for steam-heat-treated wood. *BioResources*, 6(4), 4696–4704. <https://doi.org/10.15376/biores.6.4.4696-4704>
- Carlquist, S. (1988). Rays 6.1. *Comparative Wood Anatomy*.
- Carvalho, L. (2013). *Spergillus e aspergilose – desafios no combate da doença*.
- Carvalho, W., Carrilha, L., Ferraz, A., & Milagres, A. M. F. (2009). Uma visão sobre a estrutura, composição e biodegradação da madeira. *Química Nova*, 32(8), 2191–2195. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422009000800033>
- Catalogue of Life*. (n.d.). Retrieved February 3, 2020, from <http://www.catalogueoflife.org/col/details/species/id/2f7173654f5e328d92b5ca414416f940/synonym/96fe906d3fabb309123d4d18d35cfde3>
- Cerchiara, T., Palermo, A. M., Esposito, G., & Chidichimo, G. (2018). Effects of microwave heating for the conservation of paper artworks contaminated with *Aspergillus versicolor*. *Cellulose*, 25(3), 2063–2074. <https://doi.org/10.1007/s10570-018-1687-5>
- Chen, C., Kuang, Y., Zhu, S., Burgert, I., Keplinger, T., Gong, A., Li, T., Berglund, L., Eichhorn, S. J., & Hu, L. (2020). Structure–property–function relationships of natural and engineered wood. *Nature Reviews Materials*, 5(9), 642–666. <https://doi.org/10.1038/s41578-020-0195-z>
- Coutinho, J. de S. (1999). Madeiras. *Materiais De Construção 1*. https://paginas.fe.up.pt/~jcouti/Madeiras_99.pdf
- Daniel, G. (2016). Fungal Degradation of Wood Cell Walls. In *Secondary Xylem Biology: Origins, Functions, and Applications*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802185-9.00008-5>
- David W. Green, Jerrold E. Winandy, and D. E. K. (1999). Mechanical properties of Wood. *Wood Handbook - Wood as an Engineering Material - Chapter 4, 546*, 213–218. <https://doi.org/10.1557/proc-546-213>
- Dias, N., Nicolau, A., Carvalho, G. S., Mota, M., & Lima, N. (1999). Miniaturization and application of the MTT assay to evaluate metabolic activity of protozoa in the presence of toxicants. *Journal of Basic Microbiology*, 39(2), 103–108. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4028\(199905\)39:2<103::AID-JOBM103>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4028(199905)39:2<103::AID-JOBM103>3.0.CO;2-D)
- Em1, M., & Aguiar, A. (2008). Age trends in genetic parameters of wood density components in 46 half-sibling families of *Pinus pinaster*. 1477, 1470–1477.

<https://doi.org/10.1139/X08-013>

- Esteves, B. (2014). Utilização e comercialização de madeira modificada. *Seminário Intervir Em Construções Existentes de Madeira*, 37–46.
- Esteves, B. (2011). Novos métodos de proteção da madeira. *Congresso Florestal Nacional, Tema 4. Floresta, Competitividade e indústria*, 5–10.
- Esteves, B. M., & Pereira, H. M. (2009). *Wood Modification by Heat Treatment: A Review. 1936*, 1–36.
- Fahlén, J. (2005). The cell wall ultrastructure of wood fibres – effects of the chemical pulp fibre line. *Department of Fibre and Polymer Technology, PhD*, 70.
- Fengel, D. (1989). *Wood: chemistry, ultrastructure, reactions - Google Livros*.
https://books.google.pt/books?hl=pt-PT&lr=&id=x1B4uITKnt0C&oi=fnd&pg=PA1&dq=wood+ultrastructure&ots=edaY0aRu_W&sig=ABp5Cw_Vsv4vVY9F78lg7xbMTj8&redir_esc=y#v=onepage&q=wood+ultrastructure&f=false
- Fengel, D., & Wegner, G. (n.d.). *Fengel · Wegener*.
- Fernandes, P. (2014). A história da madeira como material na arquitetura. *Dissertação de Mestrado*.
- Freimoser, F. M., Jakob, C. A., Aebi, M., & Tuor, U. R. S. (1999). *Bromide] Assay Is a Fast and Reliable Method for Colorimetric Determination of Fungal Cell Densities*. 65(8), 3727–3729.
- G.Torgovnikov, P.Vinden, H. S. (2009). INTENSIVE MICROWAVE RADIATION OF LARGE CROSS SECTION SAWN TIMBER TO. *Proceedings of the 12th International Conference on Microwave and High Frequency Heating*.
- G.Williamson, T. (2002). *APA- Engineered Wood Handbook* (M. Hill (Ed.)).
- Glass Samuel V; Zelinka, S. L. (2010). Wood Handbook, Chapter 04: Moisture Relations and Physical Properties of Wood. *Wood Handbook : Wood as an Engineering Material, GTR-190*, 1–19. <http://www.treesearch.fs.fed.us/pubs/37428>
- Gonçalves, G. V. C., & Loguercio-Leite, C. (2001). Biodiversidade de fungos poróides xilófilos (basidiomycetes), na unidade de conservação ambiental desterro (ucad), ilha de santa catarina, sc, brasil. *Insula. Insula*, 30, 1–19.
- Goodell, B., Qian, Y., & Jellison, J. (2008). Fungal decay of wood: Soft rot-brown rot-white rot. *ACS Symposium Series*, 982(December 2020), 9–31.
<https://doi.org/10.1021/bk-2008-0982.ch002>
- Gorny, R. L., Mainelis, G., & Niesler, A. (2008). *ORIGINAL ARTICLES. January*.
- Gorny, R. L., Mainelis, G., Wlazlo, A., Niesler, A., Lis, D. O., Marzec, S., Siwinska, E., Ludzen-Izbinska, B., Harkawy, A., & Kasznia-Kocot, J. (2007). Viability of Fungal and Actinomycetal Spores After Microwave. *Ann Agric Environ Med*, 14, 313–324.
<https://doi.org/10.1007/BF01254124>
- Green, D. W., Winandy, J. E., & Kretschmann, D. E. (1917). Mechanical properties of

- wood determined. *Science*, 46(1195), 516–517.
<https://doi.org/10.1126/science.46.1195.516-a>
- H.E.Desch, & J.M, D. (1996). *Timber Structure, Properties, Conversion and Use*.
- Habibi, Y., Lucia, L. A., & Rojas, O. J. (2010). Cellulose nanocrystals: Chemistry, self-assembly, and applications. *Chemical Reviews*, 110(6), 3479–3500.
<https://doi.org/10.1021/cr900339w>
- Harris, G. A., Torgovnikov, G., Vinden, P., Brodie, G. I., & Shaginov, A. (2008). Microwave pretreatment of backsawn messmate boards to improve drying quality: Part 1. *Drying Technology*, 26(5), 579–584.
<https://doi.org/10.1080/07373930801944770>
- Hatakka, A., & Hammel, K. E. (2011). Fungal Biodegradation of Lignocelluloses. *Industrial Applications*, 319–340. https://doi.org/10.1007/978-3-642-11458-8_15
- Henriques, D. F. (2020). *Prevenção, tratamento e conservação de madeira em edifícios. April*.
- Highley, T. L. (2011). Wood Handbook-Biodeterioration of Wood. *Wood Handbook - Wood as an Engineering Material, 1*.
- Hill, C. A. S. (2006a). Wood Modification: Chemical, Thermal and Other Processes. In *Wood Modification: Chemical, Thermal and Other Processes*.
<https://doi.org/10.1002/0470021748>
- Hill, C. A. S. (2006b). *Wood Modification - Chapter 2*.
<https://doi.org/10.1002/0470021748>
- Holtzapple, M. T. (2003). Hemicelluloses. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 3060–3071. <https://doi.org/10.1016/b0-12-227055-x/00589-7>
- Hon, D. N. S., & Shiraiishi, N. (2000). Wood and Cellulosic Chemistry, Revised, and Expanded. In *Wood and Cellulosic Chemistry, Revised, and Expanded*.
<https://doi.org/10.1201/9781482269741>
- Hughes, M., Hill, C., & Pfriem, A. (2015). The toughness of hygrothermally modified wood: COST Action FP0904 2010-2014: Thermo-hydro-mechanical wood behavior and processing. *Holzforschung*, 69(7), 851–862. <https://doi.org/10.1515/hf-2014-0184>
- Hussain, H. (2015). Study the effect of Microwaves radiation in the growth of Some isolates fungi. *Journal of the College of Basic Education*.
- Isabel, A. (2014). Isolamento de Xilanas por Precipitação com Antisolventes. *Tese de Mestrado*, 9.
- Jämsä, S., & Viitaniemi, P. (2001). Heat Treatment Of Wood In France – State Of The Art. *Proceeding of COST E22. Environmental Optimisation of Wood Protection*, 19–24.
<https://doi.org/10.1.1.365.6637>
- Jariwala, B. (2018). *ISOLATION AND IDENTIFICATION OF ENDOPHYTIC FUNGI*. 4(1), 1–7.
- Kerem, Z., Jensen, K. A., & Hammel, K. E. (1999). Biodegradative mechanism of the

- brown rot basidiomycete *Gloeophyllum trabeum*: Evidence for an extracellular hydroquinone-driven fenton reaction. *FEBS Letters*, 446(1), 49–54.
[https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(99\)00180-5](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(99)00180-5)
- Kramer, E. M. (2006). Wood Grain Pattern Formation: A Brief Review. *Journal of Plant Growth Regulation*, 25(4), 290–301. <https://doi.org/10.1007/s00344-006-0065-y>
- Kubojima, Y., Okano, T., & Ohta, M. (2000). Bending strength and toughness of heat-treated wood. *Journal of Wood Science*, 46(1), 8–15.
<https://doi.org/10.1007/BF00779547>
- Lakins, D. G., Alvarado, C. Z., Thompson, L. D., Brashears, M. T., Brooks, J. C., & Brashears, M. M. (2008). Reduction of *Salmonella enteritidis* in shell eggs using directional microwave technology. *Poultry Science*, 87(5), 985–991.
<https://doi.org/10.3382/ps.2007-00393>
- Lee, H. V., Hamid, S. B. A., & Zain, S. K. (2014). Conversion of lignocellulosic biomass to nanocellulose: Structure and chemical process. *Scientific World Journal*, 2014(April). <https://doi.org/10.1155/2014/631013>
- Li, Z., Xiao, Y., Asce, F., Wang, R., & Monti, G. (2014). *Studies of Nail Connectors Used in Wood Frame Shear Walls with Ply-Bamboo Studies of Nail Connectors Used in Wood Frame Shear Walls with Ply-Bamboo Sheathing Panels. February 2016.*
[https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)MT.1943-5533.0001167](https://doi.org/10.1061/(ASCE)MT.1943-5533.0001167)
- Łucejko, J. J., Mattonai, M., Zborowska, M., Tamburini, D., Cofta, G., Cantisani, E., Kúdela, J., Cartwright, C., Colombini, M. P., Ribechini, E., & Modugno, F. (2018). Deterioration effects of wet environments and brown rot fungus *Coniophora puteana* on pine wood in the archaeological site of Biskupin (Poland). *Microchemical Journal*, 138, 132–146. <https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2017.12.028>
- Lundell, T. K., Mäkelä, M. R., de Vries, R. P., & Hildén, K. S. (2014). Genomics, lifestyles and future prospects of wood-decay and litter-decomposing basidiomycota. In *Advances in Botanical Research* (1st ed., Vol. 70). Elsevier Ltd.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397940-7.00011-2>
- Machado, J. S. (2006). Effect of Microwave Treatment on Oak Compression Strength . *Silva Lusitana*, 14(1), 51–58.
- Mahajan, S. D., Law, W. C., Aalinkeel, R., Reynolds, J., Nair, B. B., Yong, K. T., Roy, I., Prasad, P. N., & Schwartz, S. A. (2012). Nanoparticle-mediated targeted delivery of antiretrovirals to the brain. In *Methods in Enzymology* (1st ed., Vol. 509). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-391858-1.00003-4>
- Mec, E. (2007). *José António dos Santos*.
- Mello, R. L. de. (2007). *Projtar em madeira: uma nova abordagem*. 65.
- Merriam-webster. (2020). *No Title*. Dictionary. <https://www.merriam-webster.com/dictionary/ovendry>
- Messmate | The Wood Database - Lumber Identification (Hardwood)*. (n.d.). Retrieved March 27, 2019, from <https://www.wood-database.com/messmate/>

- Militz, H. (2002). Heat treatment technologies in Europe : Scientific background and technological state-of-art. *Conference on "Enhancing the Durability of Lumber and Engineered Wood Products," November 2002*, 1–19.
- Morais, S. A. L. de, Nascimento, E. A. do, & Melo, D. C. de. (2005). Análise da madeira de *Pinus oocarpa* parte I: estudo dos constituintes macromoleculares e extrativos voláteis. *Revista Árvore*, 29(3), 461–470. <https://doi.org/10.1590/s0100-67622005000300014>
- Moreschi, J. C. (2005). Propriedades da Madeira. *4a Edição Ed. Curitiba: FUPEF*, 208.
- Mou, Q., Xie, J., Li, X., Wei, Y., He, X., Xiong, X., Li, Y., & Quan, P. (2017). Effect of Microwave Pretreatment on Permeability and Drying Properties of Wood. *BioResources*, 12(2), 3850–3863. <https://doi.org/10.15376/biores.12.2.3850-3863>
- National Institute of Industrial Research (India). Board of Consultants & Engineers. (2009). *The complete technology book on wood and its derivatives*. National Institute of Industrial Research. <https://books.google.pt/books?id=vsl6DwAAQBAJ&pg=PT9&lpg=PT9&dq=storing+cells+wood&source=bl&ots=e3bhYgh79q&sig=ACfU3U3hqoVKds7tE1QPM5U211TvPE9www&hl=pt-PT&sa=X&ved=2ahUKEwj8mpuwrcPiAhUGcBQKHQ5eDmAQ6AEwCnoECAgQAQ#v=onepage&q=storing+cells+wood&f=false>
- Oghbaei, M., & Mirzaee, O. (2010). Microwave versus conventional sintering: A review of fundamentals, advantages and applications. *Journal of Alloys and Compounds*, 494(1–2), 175–189. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2010.01.068>
- Oloyede, A., & Groombridge, P. (2000). The influence of microwave heating on the mechanical properties of wood. *Journal of Materials Processing Technology*, 100(1–3), 67–73. [https://doi.org/10.1016/S0924-0136\(99\)00454-9](https://doi.org/10.1016/S0924-0136(99)00454-9)
- OMS. (1998). Campos electromagnéticos e saúde pública. *Fact Sheet N°182*, 2–5.
- Pardo, E., Marin, S., Ramos, A., & Sanchis, V. (1989). Ecophysiology of Ochratoxigenic Moulds. *Ecophysiology of Ochratoxigenic Moulds, Figure 49*, 243–260. <https://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/8376/Tbmn13de18.pdf?sequence=4&isAllowed=y>
- Patten, A. M., Vassão, D. G., Wolcott, M. P., Davin, L. B., & Lewis, N. G. (2010). Trees: A remarkable biochemical bounty. *Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology*, 3, 1173–1296. <https://doi.org/10.1016/b978-008045382-8.00083-6>
- Payette, M., Work, T. T., Drouin, P., & Koubaa, A. (2015). Efficacy of microwave irradiation for phytosanitation of wood packing materials. *Industrial Crops and Products*, 69(15), 187–196. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.030>
- Potulski, M. D. (n.d.). *Introdução - madeira*.
- Poubel, D. da S., Garcia, R. A., Latorraca, J. V. de F., & Carvalho, A. M. de. (2011). Estrutura Anatômica e Propriedades Físicas da Madeira de *Eucalyptus pellita* F. Muell. *Floresta e Ambiente*, 18(2), 117–126. <https://doi.org/10.4322/loram.2011.029>
- Pretzsch, H., Biber, P., Schütze, G., Kemmerer, J., & Uhl, E. (2018). Forest Ecology and

- Management Wood density reduced while wood volume growth accelerated in Central European forests since 1870. *Forest Ecology and Management*, 429(August), 589–616. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.07.045>
- Rapp, A. O., & Sailer, M. (2002). Heat treatment of wood in Germany - state of the art. *COST Action E*.
- Rocha, A. (2017). AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE FUNGOSEM PAREDES DE TABIQUE E PLACAS DE GESSO CARTONADO COM DIFERENTES SISTEMAS DE PINTURA. *Dissertação de Mestrado*.
- Rodrigues, R. (2004). Construções antigas de madeira: experiência de obra e reforço estrutural. *Tese de Mestrado, Universidade Do Minho*, 240.
- Rousk, J., Brookes, P. C., & Bååth, E. (2009). Contrasting soil pH effects on fungal and bacterial growth suggest functional redundancy in carbon mineralization. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(6), 1589–1596. <https://doi.org/10.1128/AEM.02775-08>
- Rowell, R. (2005). *Wood Chemistry and Wood Composites - Chapter 3*.
- Rowell, R. M. (2005). *Wood Chemistry and Wood Composites*.
- Rowell, R., Rowell, R., Pettersen, R., & Tshabalala, M. (2012). Cell Wall Chemistry. In *Handbook of Wood Chemistry and Wood Composites, Second Edition* (Issue January 2015). <https://doi.org/10.1201/b12487-5>
- Sandberg, D. (n.d.). *Wood Modification-review*. 10, 895–908. <https://doi.org/10.3832/ifor2380-010>
- Sandberg, D., Kutnar, A., & Mantanis, G. (2017). Wood modification technologies - A review. *IForest*, 10(6), 895–908. <https://doi.org/10.3832/ifor2380-010>
- Schmidt, O. (2007a). *Indoor wood-decay basidiomycetes : damage , causal fungi , physiology , identification and characterization , prevention and control*. 261–279. <https://doi.org/10.1007/s11557-007-0534-0>
- Schmidt, O. (2007b). Indoor wood-decay basidiomycetes: Damage, causal fungi, physiology, identification and characterization, prevention and control. *Mycological Progress*, 6(4), 261–279. <https://doi.org/10.1007/s11557-007-0534-0>
- Sciences, W., & Republic, C. (2014). the Suitability of Microwave Heating From the Perspective of Practical Use in. *Tese de Doutoramento*, 59(3), 401–410.
- Selbmann, L., Isola, D., Zucconi, L., & Onofri, S. (2011). Resistance to UV-B induced DNA damage in extreme-tolerant cryptoendolithic Antarctic fungi: detection by PCR assays. *Fungal Biology*, 115(10), 937–944. <https://doi.org/10.1016/J.FUNBIO.2011.02.016>
- Sethy, A. K., Torgovnikov, G., Vinden, P., & Przewloka, S. (2016). Moisture conditioning of wood using a continuous microwave dryer. *Drying Technology*, 34(3), 318–323. <https://doi.org/10.1080/07373937.2015.1052502>
- Shimokawa, T., Nakamura, M., Hayashi, N., & Ishihara, M. (2004). Production of 2,5-

- dimethoxyhydroquinone by the brown-rot fungus *Serpula lacrymans* to drive extracellular Fenton reaction. *Holzforschung*, 58(3), 305–310.
<https://doi.org/10.1515/HF.2004.047>
- Srivastava, S., Kumar, R., & Singh, V. (2013). *Wood Decaying Fungi. January 2013*, 1–4.
- Stalnaker, J. J., & Harris, E. C. (1997). *Structural Design in Wood: Second Edition*.
- Tan, G. yin, Yang, Z. ling, Yuan, Z. lin, & Zhang, S. an. (2013). Morphological, molecular and pathogenic characterization of *Alternaria longipes*, the fungal pathogen causing leaf spot on *Atractylodes macrocephala*. *African Journal of Microbiology Research*, 7(21), 2589–2595. <https://doi.org/10.5897/ajmr12.2091>
- Thybring, E. E. (2017). Water relations in untreated and modified wood under brown-rot and white-rot decay. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 118, 134–142.
<https://doi.org/10.1016/J.IBIOD.2017.01.034>
- Torgovnikov, G., & Vinden, P. (2009). High-intensity microwave wood modification for increasing permeability. *Forest Products Journal*, 59(4), 84–92.
- Torgovnikov, G., & Vinden, P. (2013). Microwave Wood Modification Technology and Its Applications. *Forest Products Journal*, 60(2), 173–182.
<https://doi.org/10.13073/0015-7473-60.2.173>
- Tsoumis, G. T. (n.d.). *Microstructure*. Wood Plant Tissue.
<https://www.britannica.com/science/wood-plant-tissue/Microstructure>
- Tubajika, K. M., Jonawiak, J. J., Mack, R., & Hoover, K. (2007). Efficacy of radio frequency treatment and its potential for control of sapstain and wood decay fungi on red oak, poplar, and southern yellow pine wood species. *Journal of Wood Science*, 53(3), 258–263. <https://doi.org/10.1007/s10086-006-0844-x>
- Varela, M. (2015). Estruturas De De Madeira. In *Relatório de investigação, Departamento de Engenharia Civil, Universidade Federal de Santa Catarina*.
<https://docente.ifrn.edu.br/marciovarela/disciplinas/estruturas-metalica-e-madeira/estrutura-de-madeira/aula-2-tracao-atualizada-1>
- Verbist, M., Nunes, L., Jones, D., & Branco, J. M. (2018). Service life design of timber structures. In *Long-term Performance and Durability of Masonry Structures: Degradation Mechanisms, Health Monitoring and Service Life Design*. Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102110-1.00011-X>
- Wikipédia. (2019). https://pt.wikipedia.org/wiki/Radiação_não_ionizante
- Yuen, F. K., & Hameed, B. H. (2009). Recent developments in the preparation and regeneration of activated carbons by microwaves. *Advances in Colloid and Interface Science*, 149(1–2), 19–27. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2008.12.005>
- Yun, K.-E., Kim, G.-H., & Kim, J.-J. (1999). Effect of Heat Treatment on the Dimensional Stability and the Bending Properties of Radiata Pine Sapwood. In *Mokchea Konghak*.

Errata

Na página 41 onde está escrito “Neste caso, as condições de irradiação testadas foram 90W – 10 min e 180W – 3 min, sendo que o procedimento experimental seguido está esquematizado na Figura 23. Utilizaram-se 4 provetes na condição 90W – 10 min e 5 provetes na 180W – 3 min” deveria estar “Neste caso, as condições de irradiação testadas foram 90W – 10 min e 90W-20 min, sendo que o procedimento experimental seguido está esquematizado na Figura 23. Utilizaram-se 4 provetes na condição 90W – 10 min e 5 provetes na 90W – 20 min.”

Na página 61 onde está escrito “(..)permitiu uma menor redução da viabilidade do fungo do que a exposição única durante 10 min (valores médios de 37% *versus* 25%, respetivamente);” deveria estar “(..)permitiu uma menor redução da viabilidade do fungo do que a exposição única durante 10 min (valores médios de 37% *versus* 20,25%, respetivamente);”

Na página 79 onde está escrito “(..)identificando-se a condição de irradiação única de 90W durante 20 minutos como a mais promissora, sendo capaz de reduzir a viabilidade do fungo a 12%.” deveria estar “(..)identificando-se a condição de irradiação periódica de 90W durante ciclo de 3+7+10 minutos (20 minutos acumulados) como a mais promissora, sendo capaz de reduzir a viabilidade do fungo a 12%.”