

RESSALVA

Alertamos para ausência de Conclusão,
Discussão e Referências bibliográficas, não
incluídas pela autora no arquivo original.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU**

**ESTUDO DA BIODEGRADAÇÃO DAS FIBRAS DE COCO E DE SISAL
VISANDO ÀS APLICAÇÕES NA INDÚSTRIA AUTOMOTIVA**

VERA LÚCIA PIMENTEL SALAZAR

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP – Campus de
Botucatu, para obtenção do título de Doutor
em Agronomia (Energia na Agricultura).

BOTUCATU - SP

Abril - 2005

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU**

**ESTUDO DA BIODEGRADAÇÃO DAS FIBRAS DE COCO E DE SISAL
VISANDO ÀS APLICAÇÕES NA INDÚSTRIA AUTOMOTIVA**

VERA LÚCIA PIMENTEL SALAZAR

Orientador: Prof. Dr. Alcides Lopes Leão

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP – Campus de
Botucatu, para obtenção do título de Doutor
em Agronomia (Energia na Agricultura).

BOTUCATU - SP

Abril - 2005

*“Se teus projetos são para um ano, semeia o grão.
Se forem para dez anos, planta uma árvore.
Se forem para cem anos, instrua o povo.
Semeando uma vez o grão, colherás uma vez;
plantando uma árvore, colherás dez vezes;
instruindo o povo, colherás cem vezes.
Se deres um peixe a um homem,
ele comerá uma vez;
se o ensinares a pescar, ele
comerá a vida inteira.”*

Kuan-Tzu

(sábio chinês, séc. VII a.C.).

OFEREÇO

Aos meus pais,

Francisco e Ana,

pelo amor, apoio, confiança e generosidade sem limites.

DEDICO

A minha irmã,

Fátima,

pelo amor, força e contínuo incentivo em

todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Alcides Lopes Leão pelos ensinamentos, conselhos e confiança na realização deste trabalho.

À Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA) / UNESP - Campus de Botucatu.

À empresa Sisal Pinheiro de Salvador-BA, na pessoa do Sr. Pedro Pinheiro, pela doação de fibras de sisal para a realização deste trabalho.

À empresa Biomix de São Paulo-SP pelo fornecimento de fibras de coco.

Ao Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo (IPT) e, em especial, a Dra. Luisiana Ferreira da Silva, a Dra. Rita de Cássia Paro Alli e ao Dr. José Gregório Cabrera Gomes pelas orientações e discussões bem como o acesso às instalações do Laboratório de Microbiologia Industrial durante todos os ensaios de Biodegradabilidade dos materiais em estudo.

Aos técnicos do Laboratório de Microbiologia Industrial do Agrupamento de Biotecnologia da Divisão de Química do IPT, Aelson Luiz dos Santos, Antônio Fernando Montemor, Luiz Roberto Magossi e, em especial a Maria Alice Alves Wada e a Maria Elizabeth C. P. Mariano pelo constante auxílio no laboratório e amizade.

À bióloga e estagiária, Jane Palugan dos Santos, pela atenção dispensada e auxílio durante os ensaios experimentais realizados junto ao Laboratório de Microbiologia Industrial do Agrupamento de Biotecnologia da Divisão de Química do IPT. E, à secretária, Maria das Graças Fernandes de Oliveira, pelo constante apoio e auxílio em todos os momentos deste trabalho.

A todos os docentes e funcionários do Departamento de Recursos Naturais - Ambientais da Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA) – UNESP/ Botucatu e, em especial, a Carlos Eduardo Luís, a Carlos Roberto de Souza e, ao Sr. Valdomiro Rossi pelo constante auxílio e dedicação durante os experimentos e, pela amizade.

Ao Prof. Dr. Cláudio Sansigolo pela possibilidade de realização dos ensaios de determinação de extrativos totais, lignina, holocelulose e cinzas junto ao Departamento de Recursos Naturais – Florestais da FCA – UNESP/ Botucatu.

Ao técnico de laboratório, Ricardo Marques Barreiros, do Departamento de Recursos Naturais – Florestais da FCA – UNESP/ Botucatu pelas orientações e auxílios durante os ensaios de determinação de extrativos totais, lignina, holocelulose e cinzas.

Às secretárias e amigas, Ana Maria Silva D’Arcadia, Camila Alves Pereira e Sílvia Regina Garcia pelo constante apoio e auxílio em todos os momentos deste trabalho.

Aos amigos de pós-graduação, Adriana Sartori, José Evaristo Gonçalves e Paula Valéria Coiado Chamma pela amizade, convívio e apoio tão especiais.

Especialmente à minha amiga, Fernanda Bueno Sarro, pela incomparável amizade, confiança e apoio durante os anos vividos em Botucatu.

À Amanda Cristobal Rios e Selene de Oliveira pela grande amizade e apoio na realização deste trabalho.

Especialmente às amigas, Suzana Bissacot e Maria Esther Rodrigues Bissacot pela amizade, amparo e afeto durante a minha estadia em Botucatu.

Ao Adriano Reis da Silveira pelo constante incentivo, apoio e companheirismo.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	X
LISTA DE FIGURAS.....	XI
LISTA DE ABREVIATURAS E DE SÍMBOLOS.....	XVI
1 RESUMO.....	01
2 SUMMARY.....	03
3 INTRODUÇÃO.....	05
4 REVISÃO DE LITERATURA.....	07
4.1 Biodegradação.....	07
4.2 Aproveitamento da Fibra de Coco.....	10
4.2.1. Vantagens e Desvantagens da Fibra de Coco.....	12
4.3 Fibras de Sisal.....	13
4.3.1. Importância do Sisal para o Nordeste.....	15
4.3.2. Declínio do Sisal.....	15
4.3.3. Composição química das fibras de sisal e de coco.....	17
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	20
5.1 Análise Elementar de CHN.....	21
5.2 Teste de Biodegradabilidade Imediata pela medida do dióxido de carbono..	22
5.2.1 Fundamento do Teste.....	22
5.2.2 Preparo do Inóculo.....	25
5.2.3 Acompanhamento dos Testes.....	27
5.3 Teste da ação de linhagens selecionadas de fungos sobre polímeros.....	27
5.3.1 Fundamento do Teste.....	28
5.3.2 Microorganismos e preparo do inóculo.....	28
5.3.3 Isolamento e preservação dos fungos.....	32
5.4 Determinação simultânea de extrativos totais, lignina e holocelulose.....	34
5.4.1. Preparo das fibras lignocelulósicas para análise.....	35
5.4.2. Determinação do por cento absolutamente seco das fibras	35
5.4.3. Determinação do teor de extrativos totais e lignina.....	36
5.4.4. Determinação do teor de lignina.....	37
5.4.5. Determinação do teor de celulose pelo método ácido peroxiacético..	38
5.5 Determinação do teor de cinzas.....	39

6	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	40
6.1	Análise Elementar de CHN.....	41
6.2	Teste de Biodegradabilidade Imediata pela medida do dióxido de carbono....	41
6.3	Teste da ação de linhagens selecionadas de fungos sobre polímeros.....	48
6.3.1	Preparo da suspensão de esporos.....	48
6.3.2	Acompanhamento do Teste.....	48
6.4	Determinação simultânea de extrativos totais, lignina e holocelulose.....	105
7	CONCLUSÕES.....	107
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	109
	APÊNDICE	113
	APÊNDICE 1 – NORMAS.....	113
	APÊNDICE 2 – TABELAS (Volumes de HCl gastos na titulação).....	144

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
1 Produção Brasileira de fibras de sisal no período de 1995 a 2004.....	16
2 Composição química de fibras naturais.....	19
3 Microrganismos de referência recomendados pela norma DIN 53739 -1984.....	29
4 Análise Elementar de CHN dos materiais em estudo.....	40
5 Valores de produção de CO ₂ ,diários e acumulados, a partir da amostra de fibra de coco.....	42
6 Valores de produção de CO ₂ ,diários e acumulados, a partir da amostra de fibra de coco com látex.....	44
7 Valores de produção de CO ₂ ,diários e acumulados, a partir da amostra de fibra de sisal.....	46
8 Classificação da intensidade de crescimento fúngico.....	49
9 Interpretação da classificação da intensidade de crescimento fúngico.....	49
10 Avaliação visual da intensidade de crescimento fúngico aos 14 dias de ensaio de cada amostra das fibras em estudo.....	51
11 Determinação de extrativos totais, lignina, holocelulose e cinzas sem a correção do teor de cinzas.....	106

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1 Representação esquemática da planta de sisal (<i>Agave sisalana</i>).....	13
2 Desenho esquemático do teste de biodegradabilidade pela medida do CO ₂	23
3 Forma de apresentação dos resultados do teste de biodegradabilidade.....	24
4 Corpo de prova.....	30
5 Porcentagem do CO ₂ formado a partir da amostra de fibra de coco.....	43
6 Porcentagem do CO ₂ formado a partir da amostra de fibra de coco com látex....	45
7 Porcentagem do CO ₂ formado a partir da amostra de fibra de sisal.....	47
8 Foto do material em estudo, Fibra de coco, sem o inóculo.....	52
9 Foto do material em estudo, Fibra de coco com látex, sem o inóculo.....	53
10 Foto do material em estudo, Sisal, sem o inóculo.....	53
11 Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método B'I ₂ placa 3, aos 14 dias de ensaio.....	54
12 Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MI AS placa 5, aos 14 dias de ensaio.....	54
13 Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MI AI placa 3, aos 14 dias de ensaio.....	55
14 Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MC BS placa 2, aos 14 dias de ensaio.....	55
15 Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MC BS placa 3, aos 14 dias de ensaio.....	56
16 Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MC BS placa 4, aos 14 dias de ensaio.....	56
17 Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MC BI placa 4, aos 14 dias de ensaio.....	57
18 Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MC B'S placa 1, aos 14 dias de ensaio.....	57
19 Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MC B'S placa 3, aos 14 dias de ensaio.....	58
20 Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MC B'S placa 4, aos 14 dias de ensaio.....	58
21 Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MC B'I placa 1, aos 14 dias de ensaio.....	59
22 Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MC B'I placa 2, aos 14 dias de ensaio.....	59
23 Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MC paralelo, aos 14 dias de ensaio.....	60
24 Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MI paralelo, aos 14 dias de ensaio.....	60
25 Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método B'I ₂ placa 2, aos 14 dias de ensaio.....	61
26 Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método MI AS placa 3, aos 14 dias de ensaio.....	61

27	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método MI AS placa 4, aos 14 dias de ensaio.....	62
28	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método MI AS placa 5, aos 14 dias de ensaio.....	62
29	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método MI AI placa 5, aos 14 dias de ensaio.....	63
30	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método MC BS placa 2, aos 14 dias de ensaio.....	63
31	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método MC BS placa 3, aos 14 dias de ensaio.....	64
32	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método MC BS placa 4, aos 14 dias de ensaio.....	64
33	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método MC BI placa 2, aos 14 dias de ensaio.....	65
34	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método MC B'S placa 1, aos 14 dias de ensaio.....	65
35	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método MC B'S placa 5, aos 14 dias de ensaio.....	66
36	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método MC B'I placa 3, aos 14 dias de ensaio.....	66
37	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método MC paralelo, aos 14 dias de ensaio.....	67
38	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método MI paralelo, aos 14 dias de ensaio.....	67
39	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco com látex, método B'I ₂ placa 2, aos 14 dias de ensaio.....	68
40	Detalhe da impregnação da Fibra de coco com látex, método MI AS placa 2, aos 14 dias de ensaio, sem crescimento fúngico.....	68
41	Detalhe da impregnação da Fibra de coco com látex, método MI AS placa 3, aos 14 dias de ensaio, sem crescimento fúngico.....	69
42	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco com látex, método MI AI placa 5, aos 14 dias de ensaio.....	69
43	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco com látex, método MC BS placa 1, aos 14 dias de ensaio.....	70
44	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco com látex, método MC BS placa 3, aos 14 dias de ensaio.....	70
45	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco com látex, método MC BS placa 6, aos 14 dias de ensaio.....	71
46	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco com látex, método MC BI placa 1, aos 14 dias de ensaio.....	71
47	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco com látex, método MC B'S placa 4, aos 14 dias de ensaio.....	72
48	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco com látex, método MC B'S placa 4, aos 14 dias de ensaio.....	72
49	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco com látex, método MC B'I placa 3, aos 14 dias de ensaio.....	73

50	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco com látex, método MC B'I placa 4, aos 14 dias de ensaio.....	73
51	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco com látex, método MC paralelo, aos 14 dias de ensaio.....	74
52	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco com látex, método MI paralelo, aos 14 dias de ensaio.....	74
53	Detalhe da Fibra de coco impregnada com látex, método MI AS placa 2, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio), sem crescimento fúngico.....	75
54	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco com látex, método MI AS placa 3, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	75
55	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco com látex, método MI AI placa 5, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	76
56	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco com látex, método MC BS placa 1, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	76
57	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco com látex, método MC BS placa 3, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	77
58	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco com látex, método MC BS placa 6, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	77
59	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco com látex, método MC BI placa 1, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	78
60	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco com látex, método MC B'S placa 4, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	78
61	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco com látex, método MC B'I placa 3, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	79
62	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco com látex, método MC B'I placa 4, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	79
63	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco com látex, método MI paralelo, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	80
64	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco com látex, método MC paralelo, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	80
65	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método B'I ₂ placa 2, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	81
66	Fibra de coco, método MI AS placa 3, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio), sem crescimento fúngico.....	81
67	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método MI AS placa 4, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	82
68	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método MI AS placa 5, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	82
69	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método MI AI placa 5, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	83
70	Fibra de coco, método MC BS placa 2, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio), sem crescimento fúngico.....	83
71	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método MC BS placa 3, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	84
72	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método MC BS placa 4, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	84

73	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método MC BS placa 5, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	85
74	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método MC BI placa 2, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	85
75	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método MC B'S placa 5, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	86
76	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método MC B'I placa 3, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	86
77	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método MC paralelo, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	87
78	Crescimento fúngico ocorrido na Fibra de coco, método MI paralelo, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	87
79	Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método B'I ₂ , aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	88
80	Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método B'I ₂ , aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	88
81	Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MI AS placa 5, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	89
82	Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MI AI placa 3, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	89
83	Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MC BS placa 2, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	90
84	Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MC BS placa 2, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	90
85	Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MC BS placa 3, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	91
86	Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MC BS placa 4, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	91
87	Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MC BI placa 4, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	92
88	Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MC BI placa 4, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	92
89	Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MC B'S placa 1, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	93
90	Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MC B'S placa 3, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	93
91	Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MC B'S placa 4, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	94
92	Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MC B'I placa 2, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	94
93	Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MC B'I placa 1, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	95
94	Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MC paralelo, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	95
95	Crescimento fúngico ocorrido no Sisal, método MI paralelo, aos 28 dias de ensaio (Final do ensaio).....	96

96	Detalhe da quebra das fibras de sisal, método MI AI placa 1.....	97
97	Detalhe da quebra das fibras de sisal, método MC BI placa 4.....	97
98	Detalhe da quebra das fibras de sisal, método MC BI placa 1.....	98
99	Detalhe da quebra das fibras de sisal, método MC BS placa 4.....	98
100	Detalhe da quebra das fibras de sisal, método MC B'S placa 3.....	99
101	Detalhe da quebra das fibras de sisal, método MC B'S placa 5.....	99
102	Detalhe da quebra das fibras de sisal, método MC B'I placa 1.....	100
103	Detalhe da quebra das fibras de sisal, método MI paralelo.....	100
104	Crescimento fúngico sobre a fibra de coco com látex, método MI AS placa 3.....	101
105	Crescimento fúngico sobre a fibra de coco com látex, método MC BS placa 1.....	101
106	Crescimento fúngico sobre a fibra de coco com látex, método MC BI placa 3.....	102
107	Crescimento fúngico sobre a fibra de coco, método MI AS placa 4.....	102
108	Apodrecimento da fibra de coco pela ação de fungos, método MI AS placa 5.....	103
109	Crescimento fúngico sobre a fibra de coco, método MI AI placa 4.....	103
110	Crescimento fúngico sobre a fibra de coco, método MC BI placa 1.....	104
111	Apodrecimento da fibra de coco, método MC B'S placa 1.....	104
112	Crescimento fúngico intenso sobre a fibra de coco, método MC B'S placa 5....	105

LISTA DE ABREVIATURAS E DE SÍMBOLOS

Abracoco - Associação Brasileira da Agroindústria do Coco

AFNOR - Association Française de Normalization

a.s. - absolutamente seco

ASTM - American Society of Testing and Materials (Sociedade Americana de Testes e Materiais).

Ba (OH)₂ – hidróxido de bário

C - carbono

CHN – carbono, hidrogênio e nitrogênio

cm - centímetro.

cm² - centímetro quadrado.

CO₂ - dióxido de carbono.

CO_{2t} - dióxido de carbono teórico

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento

DIN - Deutsches Institut für Normung

DEFLOR - Defesa Florestal Ltda.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.

EPA - Environmental Protection Agency (Agência de Proteção Ambiental).

FeSO₄ - sulfato ferroso ou sulfato de ferro II

°C - Graus Celsius

g - grama

h - hora

ha - hectare

H - Hidrogênio

H₂O - água

H₂SO₄ - ácido sulfúrico

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IPT - Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo S.A.

ISO - International Standard Organization

KCl - cloreto de potássio

kg - quilograma

K_2HPO_4 - fosfato de potássio bibásico

KH_2PO_4 - fosfato de potássio monobásico

L - litro

m - metro

máx. - máximo

Mg SO_4 - sulfato de magnésio

mín. - mínimo

min - minuto

mg - miligrama

mL - mililitro

N - nitrogênio

$NaNO_3$ - nitrato de sódio

NaOH - hidróxido de sódio

OECD -Organization for Economic Cooperation and Development

p.a. - para análises

pH - potencial hidrogeniônico

% a.s. - por cento absolutamente seco

PS - peso seco

PU - peso úmido

rpm - rotações por minuto

s - segundos

t - toneladas

UE - União Européia

UFC - Unidades formadoras de colônias

UFPA - Universidade Federal do Pará

UNAMAZ - Universidade da Amazônia

1 RESUMO

Neste trabalho são discutidos os resultados referentes aos ensaios de biodegradabilidade de fibras naturais utilizadas pela indústria automobilística: fibra de coco, de coco com látex e de sisal. Estes ensaios foram realizados junto ao Laboratório de Microbiologia Industrial do Agrupamento de Biotecnologia da Divisão de Química do Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo. Apresenta-se uma revisão de literatura sobre biodegradabilidade e sobre as fibras em estudo. Realizou-se a análise elementar de CHN, a qual é um pré-requisito para o Teste da Biodegradabilidade Imediata pela Medida do Dióxido de Carbono Desprendido em Sistema Aberto (norma IBAMA – E.1.1.2. – 1988). Utilizou-se também a norma DIN 53739 (1984) – *Testing of Plastics – Influence of fungi and bacteria – visual evaluation – change in mass or physical properties*, baseada na ISO 846 – 1978. Fez-se a determinação de extrativos totais, de lignina, de holocelulose e do teor de cinzas das fibras em estudo para se conhecer o teor real de lignina, celulose e hemicelulose presentes e, compreender os resultados obtidos nos testes de biodegradação.

A partir do teste de biodegradabilidade (IBAMA E.1.1.2.-1988), observou-se uma taxa de biodegradação de cerca de 10% para todos os materiais em estudo

após 45 dias de ensaio, demonstrando difícil degradação. Nenhum material inibiu a degradação da glicose. No entanto, a porcentagem de degradação da fibra de sisal foi superior a da fibra de coco com látex, considerando-se o mesmo intervalo de tempo de cultivo. Quanto a esse teste, pode-se concluir que 45 dias de ensaio é pouco tempo para a biodegradação dessas fibras naturais levando-se em consideração os teores de lignina, celulose e hemicelulose encontrados por Young (1997) para a fibra de sisal e por Han e Rowell (1997) para a fibra de coco. E, analisando-se os teores de lignina, celulose e hemicelulose determinados neste estudo, verifica-se que o sisal apresenta em média 7% de lignina enquanto a fibra de coco apresenta 31%, justificando a degradação mais rápida da fibra de sisal.

Quanto ao teste da norma DIN 53739 (1984), verificou-se claramente maior crescimento fúngico sobre a fibra de sisal seguido da fibra de coco sem látex. Acredita-se que, no caso da fibra de coco com látex, não ocorreu intenso crescimento fúngico porque o látex natural, em sua preservação durante a sangria, apresenta um bactericida e/ou fungicida segundo Mirica & Rocha (1988). A partir da avaliação dos materiais aos 90 dias de ensaio, verificou-se a quebra das fibras, principalmente de sisal e de coco sem látex, indicando o ataque por fungos e processos de biodegradação.

Esta pesquisa permitirá estabelecer uma metodologia para avaliar a resistência de diferentes fibras naturais bem como de compósitos reforçados com fibras naturais ao ataque de microrganismos.

STUDY OF BIODEGRADATION OF COIR AND SISAL FIBERS AIMING AUTOMOTIVE INDUSTRY APPLICATIONS. Botucatu, 2005. 146p. Tese (Doutorado em Agronomia/ Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: VERA LÚCIA PIMENTEL SALAZAR

Adviser: ALCIDES LOPES LEÃO

2 SUMMARY

Presented in this study are the testing results regarding the biodegradation of natural fibers utilized by automotive industry, in this case, coir and sisal fibers, where the coir fiber was used also as rubberized mat. These biodegradation testing were carried on at the Laboratory of Industrial Microbiology by the Biotechnology Group of the Chemistry Division of the Institute of Technological Research of São Paulo State – IPT. Next is presented a literature review on biodegradation and over the studied fibers, coir and sisal, besides all the details about the testing used to evaluate biodegradation and its respectively obtained results. An elementary analysis of CHN was carried out, which is a prerequisite for the Immediate Biodegradation Test of the Measure of the Carbon Dioxide Released in Open System (standard IBAMA – E.1.1.2. – 1988). Also used was the standard DIN 53739 – 1984 – *Testing of Plastics – Influence of fungi and bacteria – visual evaluation – change in mass or physical properties*, established in the ISO 846 – 1978. Also was realized the determination of total extractives, lignin, holocellulose and ash contents of the studied fibers as well as the determination of its true content and understand the obtained biodegradation testing results.

There was hence observed from the biodegradation test (standard E.1.1.2.-1988) a biodegradation tax about 10% for all the studied material after 45 days of assay, which indicates a difficult degradation. None of the material inhibited the glucose degradation. However, the percentage of sisal degradation was greater than that of the coir fiber with latex. It can be concluded about this test, that a 45 day trial is a short lapse of time for the biodegradation of these natural fibers when the contents of lignin, cellulose and hemicellulose that were found by Young (1997) for the sisal fiber and by Han and Rowell (1997) for the coir fiber are considered. Also analyzing the contents of lignin, cellulose and hemicellulose, which are established by this study, one verifies that the sisal present averages 7% lignin while the coir fiber presents 31%, corroborating the faster degradation of the sisal fiber.

For the test of the standard DIN 53739 (1984), it was clearly verified a larger fungal growth over the sisal fiber followed by the coir fiber without latex. One can believe that, in the case of the coir fiber with latex, the fungal growth did not occur more intensively because the natural latex, in its being preserved during harvesting, presents a bactericide and/or a fungicide according to Mirica & Rocha (1988). It was verified, from the evaluation of the material at 90 days of trial, that the breakage of fibers, mainly those of the sisal and coir without latex, indicates the attack by fungi and biodegradation processes.

This work will allow the establishing of a methodology to evaluate the resistance of the different fibers and natural fibers reinforced composites parts under the attack of microorganisms.

Keywords: Biodegradation, coir, sisal, composites, lignocellulosic fibers

3 INTRODUÇÃO

Os assentos a base de fibra de coco com látex constituem um possível substituto da espuma de poliuretano. O termo assento se refere ao enchimento dos bancos veiculares (SALAZAR, 2000).

Esta opção apresenta uma série de vantagens tanto do ponto de vista técnico quanto ambiental, uma vez que utiliza um produto natural (fibra de coco), que além de gerar mão-de-obra para populações carentes aproveita como matéria-prima um produto que seria descartado como resíduo (SALAZAR, 2000). Segundo Ventura (1994), a fibra de coco constitui-se num produto reciclável, biodegradável, com ótima perspiração garantindo conforto térmico ao usuário do veículo. Destaca também que as fibras de coco com látex são isolantes térmicos mais eficientes que o poliuretano, enquanto a espuma é inadequada ao clima tropical, tornando desconfortável o ato de dirigir principalmente nas estações mais quentes.

Tendo em vista, o crescimento da aplicação de assentos automobilísticos a base de fibra de coco com látex e da aplicação de compósitos com sisal, torna-se importante o estudo da biodegradabilidade dessas fibras naturais, uma vez que após a sua vida útil esses produtos serão descartados. Além disso, é preciso atender a normativa europeia ELV – “End of Life Vehicles”, directive 2000/53 EC (European Community), Article

7, que obriga a reciclagem e/ou compostagem de peças automotivas, não permitindo que sejam incineradas. A maior utilização de fibras naturais nos veículos depende de uma maior recuperação e/ou reciclagem sem a alternativa de queima energética. A compostagem e/ou biodegradação é uma alternativa ambientalmente mais aceita do que a incineração energética. Desta forma, fez-se um estudo sobre a biodegradabilidade dos seguintes materiais: fibra de coco, de coco com látex e de sisal, junto ao Laboratório de Microbiologia Industrial do Agrupamento de Biotecnologia da Divisão de Química do IPT – Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1. Biodegradação

A biodegradação ou biotransformação de um material pode ser definida como um processo de modificação física ou química causada por atividade biológica, sob certas condições de calor, umidade, luz, nutrientes minerais e orgânicos adequados. Também, pode ser definida, como um processo de conversão de um material, por microorganismos, a dióxido de carbono, água, biomassa, sob condições aeróbias ou a metano, dióxido de carbono e biomassa, sob condições anaeróbias (KRUPP & JEWELL, 1992; SWIFT, 1993). Neste processo, se não sobrar carbono residual, considera-se que a biodegradação foi total, isto é, houve mineralização. Se por outro lado, sobrar carbono residual, considera-se que houve uma biodegradação parcial ou uma biotransformação (SWIFT, 1993).

A biodegradação é um método atualmente pesquisado principalmente em relação a materiais poliméricos devido ao intenso uso e descarte dos mesmos pela sociedade. A produção de plásticos nos EUA, por exemplo, excede a 50 milhões de toneladas

por ano, sendo que um terço deste material é usado na indústria de bolsas, capas, xícaras, bandejas para comidas rápidas, embalagens, fraldas e filmes para agricultura (YABANNAVAR & BARTHA, 1994 apud FRANCETTI, 1997). Somente na União Européia (UE), cerca de 10 milhões de toneladas de resíduos plásticos acabam sendo incineradas ou descartadas em aterros (BioMat Net, 2002). O descarte de plásticos no meio ambiente tornou-se um grande problema, pois os plásticos ocupam uma grande fração em volume, isto é, mais de 20% do lixo municipal dos EUA, apesar da fração relativa em massa ser apenas de 10% (SWIFT, 1993). A incineração de resíduos plásticos, em certos casos, pode produzir materiais voláteis e tóxicos, como é o caso do PVC, cuja incineração libera ácido clorídrico, muito tóxico e poluente, dioxinas e furanos (KRUPP & JEWELL, 1992). A reciclagem apenas, não é suficiente para processar a grande quantidade de plásticos descartáveis e, em alguns casos, a qualidade final do plástico não é aceitável comercialmente. Devido a limitações técnicas e financeiras, a reciclagem ainda é muito restrita, menos que dez por cento dos plásticos são atualmente reciclados (GREENPEACE, 2002).

Como resultado do quadro acima apresentado, muitas pesquisas têm sido direcionadas para o desenvolvimento de plásticos e produtos biodegradáveis, os quais requerem para sua modificação ou formulação, o estabelecimento de critérios para avaliar a biodegradabilidade do produto obtido. Além disso, para a correta rotulagem de produtos como biodegradáveis ou compostáveis são necessários testes confiáveis e reprodutíveis (SILVA, 2002)*.

Diversos testes laboratoriais são usados pela indústria, laboratórios e instituições independentes para avaliar a biodegradabilidade de materiais. A grande variedade de processos responsáveis pelo que se denomina biodegradação no ambiente, e mesmo em plantas de tratamento de lixo, levou à formulação de um grande número de testes baseados em diferentes princípios, muitos deles formalizados em normas por instituições como a International Standard Organization (ISO), Deutsches Institut für Normung (DIN), Association Française de Normalization (AFNOR), American Standard Testing Methods (ASTM), Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), etc. (CHANDRA & RUSTGI, 1998).

*SILVA, L.F. (Agrupamento de Biotecnologia, Divisão de Química, IPT – São Paulo/SP). Comunicação pessoal, 2002.

Quando são propostos novos testes de laboratório, uma questão freqüente diz respeito à capacidade das condições empregadas refletirem apropriadamente a biodegradabilidade dos produtos no ambiente ou em uma usina de compostagem, por exemplo. Os ambientes nos quais o material pode ser descartado diferem em muito quanto à população microbiana, pH, temperatura, umidade e pressão, características que não são reproduzidas em laboratório. Outro ponto importante é o equilíbrio entre o tempo de armazenamento necessário ao material *versus* a demanda por uma degradabilidade rápida.

Muitos testes descritos na literatura para medir a biodegradabilidade de materiais poliméricos baseiam-se em uma medida indireta da degradação destes materiais pela ação de microrganismos como, por exemplo, o consumo de oxigênio por parte dos microrganismos em presença da amostra em teste, a quantidade de gás carbônico produzido ou ainda o aumento da biomassa microbiana a partir da transformação da amostra. Qualquer uma destas medidas leva em consideração a capacidade de microrganismos decomporem o material polimérico, transformando-o em CO₂ através do seu metabolismo ou em biomassa pela utilização de oxigênio.

Tanto no ambiente quanto em sistemas de teste de biodegradabilidade, vários são os parâmetros capazes de influir nos resultados alcançados (PAGGA, 1997), entre os quais: (1) enzimas variáveis em função das espécies microbianas atuantes, (2) concentração e propriedades físico-químicas (hidrossolubilidade, volatilidade etc.) do material a ser testado, (3) composição e concentração de nutrientes inorgânicos no meio empregado para o teste, (4) presença ou ausência de outras substâncias degradáveis no meio, (5) condições do sistema empregado na avaliação (volume dos recipientes, aeração, agitação, temperatura etc.), (6) tempo de duração do teste.

Entre os métodos atualmente empregados para avaliar a biodegradabilidade de materiais poliméricos no mundo, destacam-se os métodos enzimáticos (TOMASI et al., 1996), microbiológicos (BENEDICT et al., 1983; CHANDRA & RUSTGI, 1998) e o método direto em solo (MEGAERT et al., 1996). Antes e depois de submeter as amostras aos métodos mencionados, comparam-se a massa, as propriedades mecânicas e o peso molecular ou mesmo mede-se a quantidade dos produtos de degradação gerados.

Segundo Narayan (1993), em geral, a maioria dos testes laboratoriais buscam uma previsão confiável sobre a biodegradabilidade de substâncias, produtos, rejeitos

líquidos e sólidos no ambiente. Nos EUA, UE e Japão há uma tendência na aplicação de testes de compostabilidade de materiais poliméricos, dado o uso da compostagem como forma de tratamento difundida. Apenas nos EUA, desde 1988, por ano, têm-se estabelecido cerca de 470 unidades de compostagem de resíduos domésticos. Esta tendência acabou por dar origem à norma ASTM D6400 - 99 Standard Specification for Compostable Plastics (MOJO, 2001). Numa primeira etapa, especialmente quando se desenvolve um novo material, é importante um teste relativamente mais rápido que os mencionados para avaliar se pode ser considerado “facilmente” biodegradável e reavaliar, se necessário, a sua composição ou formulação.

A medida da transformação de materiais em CO₂ pela ação de microrganismos, como forma de avaliar a biodegradabilidade, foi descrita há mais de duas décadas por Sturm (1973) e Gledhill (1975), tendo gerado modificações na forma de normas OECD, EPA e IBAMA. Embora receba críticas e novos métodos tenham sido propostos, o teste é relativamente rápido (28 dias) e parece ser a técnica preferida para materiais poliméricos, tendo sido especificado pelas autoridades italianas e avaliado pelo Biodegradable Plastic Group of the International Biodeterioration Research Group (CHANDRA & RUSTGI, 1998). Segundo Calmon et al. (2000), trabalhos recentes têm sido publicados no sentido de automatizar as medidas para serem obtidos resultados mais reprodutíveis do que métodos manuais.

4.2. Aproveitamento da Fibra de Coco

O coqueiro (*Cocos nucifera* L.), originado no Sudeste asiático, foi introduzido no Brasil, em 1553, procedente da Ilha de Cabo Verde. A maior parte da área cultivada com coqueiro situa-se na região tropical, ocupando cerca de 300.000 hectares (FERREIRA et. al., 1994), com os Estados do Nordeste respondendo por mais de 95% da produção nacional (EMBRAPA, 1993).

A produção anual nacional das fibras de coco é superior a 7 mil toneladas, sendo que isto representa o uso de apenas uma pequena parcela do total de 900 milhões de cocos anualmente cultivados no país (IBGE, 1996).

No coqueiro, praticamente tudo é utilizado, da casca do coco são extraídas fibras de diferentes comprimentos que servem para fabricação de diversos artigos como tapetes, sacarias, colchões, acolchoados para a indústria automobilística, escovas, pincéis, capachos, cordas marítimas, cama de animais. O coqueiro considerado em nível mundial como a “árvore da vida” por seus múltiplos usos e finalidades, é uma rica fonte de alimento e de energia, além de poder ser utilizado na habitação e nas indústrias de móveis, cosméticos, margarinas, sabões e de fibras, podendo ser utilizado também em artesanato, entre outros. Garante divisas externas para os maiores países produtores, através da exportação de seus principais produtos - copra e óleo - além de assegurar milhares de empregos diretos e indiretos à sociedade (FERREIRA et. al., 1994). Estima-se que 40% da produção brasileira de coco destinam-se à agroindústria, sendo o restante utilizado “in natura” no uso doméstico (50%) e no consumo de água do fruto imaturo - coco verde (10%) (EMBRAPA, 1993). No coqueiro, segundo Ferreira et. al. (1994), praticamente tudo é utilizado: raiz, estipe, inflorescência, folhas, palmito e principalmente o fruto que, mediante uma transformação geralmente simples, gera diversos subprodutos ou derivados, que podem classificar-se em três grupos:

- produtos utilizados para a alimentação mediante o aproveitamento da matéria albuminosa do fruto;
- produtos fibrosos, utilizados em particular, pela indústria têxtil; e
- outros produtos diversos de menor importância.

A fibra de coco apresenta uma resiliência significativa, maior que as outras fibras vegetais (ex.: colchões para ginástica de saltos). Aplicações das fibras de coco incluem a manufatura de colchões para saltos, passarelas, tapetes, capachos para limpar os pés e cordame especial para navios, escovas, vassouras e todo material de enchimento ou almofadas (HARRIES & HARRIES, 1976).

A Mercedes Benz, já há alguns anos, vem adotando uma política ambientalista, procurando reduzir ao máximo e na medida do possível, o uso de materiais que afetem o meio ambiente, seja na fase de processamento do material ou na fase de descarte final da peça. Aliada a esta filosofia, a Daimler Chrysler, juntamente com a UNICEF, UNAMAZ e a Universidade Federal do Pará, deram início ao projeto “POBREZA E MEIO AMBIENTE NA AMAZÔNIA”. Este projeto implantado no Pará visa, além das áreas de

saúde, educação, saneamento e agrosilvicultura, a área de beneficiamento de produtos agroflorestais. Estão compreendidos nesta área as pesquisas com óleos vegetais, pigmentos vegetais, fibras vegetais e látex (MORASSI, 1999)*.

4.2.1. Vantagens e Desvantagens da Fibra de Coco

Segundo a Associação Brasileira da Agroindústria do Coco (Abracoco), o compósito de fibra de coco-látex apresenta várias vantagens em relação à espuma de poliuretano: ótima prontidão do motorista, ótima aeração, biodegradabilidade, reciclabilidade (ex: vaso de fibra de coco – coxim), custo equivalente ao da espuma, oito empregos/operação, produto renovável e combustão sem gases tóxicos. Já a espuma, tem como características a baixa prontidão do motorista, baixa aeração, biodegradabilidade ou reciclabilidade, custo equivalente à fibra de coco, um emprego/operação, produto não renovável e combustão com gases tóxicos (gás cianídrico). Estudos na área médica, encomendados pela Daimler Benz comprovaram que o maior número de casos de hemorróidas ocorre em motoristas de caminhão ou táxi que possuem assentos de espuma, porque estes apresentam menor taxa de aeração e de absorção do suor quando comparados aos assentos de fibra de coco e látex (SALAZAR, 2000).

As vantagens das fibras vegetais comparadas com as fibras sintéticas são: densidade e abrasividade baixas; consumo de energia e custo baixos; atoxicidade; biodegradável; reciclável; altas propriedades de resistência mecânica específica; geração de empregos rurais; utilização como reforço para vários tipos de plásticos e, excelentes propriedades termoacústicas.

A fibra de coco, extraída do coco verde (Coqueiro Anão) do qual se consome apenas a água, está sendo aproveitada por algumas empresas, entre elas, a DEFLORE (Defesa Florestal Ltda.) na produção de telas e mantas biodegradáveis (geotêxteis), que atuam na proteção contra erosões superficiais provocadas pelo impacto e escorrimento da chuva até o

* MORASSI, O. J. (MERCEDES-BENZ do Brasil, São Bernardo do Campo - SP). Comunicação pessoal, 1999.

estabelecimento completo do revestimento vegetal. Segundo a DEFLOR, esses produtos são constituídos 100% por fibras de coco desidratadas entrelaçadas por adesivos naturais, de grande resistência e gramatura, de 300 a 1000g/m², comercializados na forma de bobinas de 2,00 x 25,00 m. A degradabilidade pode ocorrer entre 24 e 60 meses, podendo ainda ser maior o intervalo de tempo. Na manta podem ser inseridos fertilizantes e sementes. Esse produto pode ser utilizado, segundo a DEFLOR, para proteção e recuperação do solo, controle de processos erosivos, aplicação em taludes de grande inclinação, revestimento de canais e canaletas de drenagem, paisagismo, gramados e jardins.

Outra aplicação da fibra de coco, extraída do mesocarpo do coco maduro, tem sido a produção de compósitos para indústria automobilística, destacando-se a fabricação de assentos automobilísticos à base de fibra de coco com látex aplicados na cabine de caminhões Mercedes-Benz e no veículo Classe A.

4.3. Fibras de Sisal

O sisal é originário da parte oriental de Yucatán, México, tendo recebido este nome de uma erva nativa chamada Zizal-Xiu, denominação dada também a um povoado e ao porto por onde a fibra era exportada para mercados externos (MEDINA, 1959). Na Figura 1, temos a representação esquemática de uma planta de sisal.

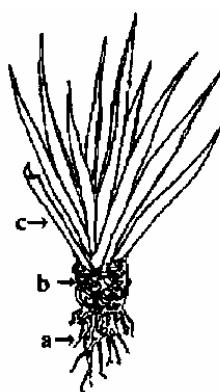


Figura 1. Representação esquemática da planta de sisal (*Agave sisalana*): a - Raízes, b - Caule e c - Folhas.

Introduzido na Bahia, o sisal levou muito tempo para se tornar conhecido e economicamente aproveitado nas regiões semi-áridas de nosso território. Isso se deu a partir de 1939/40, quando passou a ser uma cultura racional. No ano de 1946, o Brasil reverteu a sua posição de importador para a de exportador, e em 1951 já se situava em segundo lugar no tocante à produção mundial (MEDINA, 1959). Da Bahia, foi levado para outros estados nordestinos, onde a sua cultura ocupa mais de 300.000 ha. O sisal é produzido na maioria dos países tropicais, quase todos, coincidentemente subdesenvolvidos, constituindo para eles uma importante fonte geradora de renda interna, emprego e receitas cambiais (BAHIA, 1991).

Do ponto de vista anatômico, as fibras de sisal se inserem no grupo das fibras denominadas “estruturais” cuja função é dar sustentação e rigidez às folhas. Quando se procede a extração, as fibras surgem na forma de feixes, variando em comprimento desde 40 cm até 2 m (média de 1,2 m), mais espessas na base, de seção angular ou quase cilíndrica, de coloração branco-creme (MATTOSO et al., 1997), (MEDINA, 1954).

Cada fibra é composta de um ou mais feixes fibrosos, os quais, por sua vez, são constituídos de um grande número de células justapostas e intimamente ligadas por uma substância de natureza péctica, que não se separa durante as operações de manufatura. Como estas fibras são espessas, ásperas e rígidas, classificam-se no grupo das fibras denominadas “duras” ou vasculares, distinguindo-se do grupo das fibras “macias” ou liberianas (juta, rami, cânhamo, linho) que são de constituição mais fina, macia e flexível (MEDINA, 1954).

A extração das fibras da planta de sisal é feita por corte e descorticamento (desfibramento) da folha, seguida de lavagem, secagem e limpeza da fibra. No Brasil, o desfibramento da folha é realizado em uma máquina denominada “paraibana” (MATTOSO et al., 1997).

A fibra de sisal é uma das fibras vegetais mais rígidas, possuindo alta resistência à tração. As folhas de sisal são formadas predominantemente por dois tipos de fibras: fibra mecânica e fibra “fita” (MATTOSO et al., 1997). Em função de suas características são definidas as suas aplicações.

4.3.1. Importância do sisal para o Nordeste

A importância do sisal para a agricultura nordestina pode ser enfocada segundo vários aspectos, dentre os quais merecem destaque os seguintes (LEAL et al., 1997):

- possibilita a ocupação de uma extensa área de terra seca e solos pobres da região semi-árida do nordeste, principalmente nos estados da Bahia e Paraíba;
- gera atividade econômica em regiões marginais para lavouras de subsistência, que de outra forma, seriam inaproveitadas ou já estariam com os solos degradados por conta da exploração dos cultivos anuais;
- constitui-se em fonte de renda e emprego para enormes contingentes de trabalhadores, exatamente durante o período seco no qual a mão de obra local encontra-se ociosa;
- revela-se como importante fonte de divisas para alguns estados nordestinos, como é o caso da Bahia;
- adapta-se às condições da pequena exploração com predomínio do trabalho familiar sendo, portanto, importante agente de fixação do homem no campo;
- trata-se de uma lavoura, para qual, praticamente inexistente o uso de defensivos e de adubos químicos e, não polui o ambiente tendo ainda condições de fornecer um produto “limpo” (sisal orgânico) livre de resíduos químicos; e
- constitui atividade de apoio à pecuária nas fazendas do semi-árido, quer pelo uso direto da planta na alimentação dos animais, quer através da pastagem nativa nas áreas exploradas com a cultura.

4.3.2. Declínio do sisal

O Brasil é um dos maiores produtores de fibra de sisal, a fibra, contudo, não é o único produto explorado nessa planta. O sisal é um vegetal polivalente, porém tem sido explorado apenas como fornecedor de fibra para os mercados importadores dos EUA e Europa.

Apesar de sua importância para o nordeste, o sisal encontrava-se em total declínio na década de 80, o qual foi devido à falta de: definição de preço mínimo; disponibilidade de crédito para financiamento da lavoura; recuperação das atuais áreas abandonadas de sisal; diversificação da exploração sisaleira no nordeste (BAHIA, 1991).

Na Tabela 1, pode-se observar a produção brasileira de fibras de sisal durante o período de 1995/2004.

Tabela 1. Produção Brasileira de fibras de sisal no período de 1995 a 2004 (LEÃO, 2005).*

Anos	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004
Produção (t) CONAB	140,0	125,0	135,0	135,3	110,0	124,6	127,2	138,1	142,0	139,7
Produção (t) IBGE	118,1	121,4	137,8	115,8	193,6	194,4	181,4	171,3	187,0	188,4

Fonte: Dados da CONAB x IBGE. Elaborado: CONAB.

Estes dados permitem inferir que a adoção do mínimo de tecnologia, por exemplo, a capina dos campos de sisal em produção e a renovação das lavouras mais antigas permitiriam a curto e médio prazo incremento na produção nordestina sem a necessidade de incorporação de novas áreas.

As fibras de sisal se dividem em três tipos de fibras: fibras mecânicas, fibras “fitas” e fibras xilemas. As fibras de sisal são utilizadas na produção de barbantes, cordões, cordas, cabos marítimos e de elevadores, nas indústrias automotivas, para fins geotêxteis, sacolas, tapetes, carpetes, estofamentos, artesanatos diversos, adubos orgânicos, celulose (papéis especiais) e fios agrícolas (*baler twine*) utilizados para amarrar feno e cereais para consumo animal em países de inverno rigoroso (SANTOS, 1997).

O surgimento do polipropileno e polietileno, substitutos sintéticos, influi diretamente nas perspectivas de mercado do produto vegetal, havendo relação imediata com a cotação do barril do petróleo, de onde derivam os sucedâneos sintéticos (SILVA; BELTRÃO, 1999). Nos últimos anos, as novas circunstâncias mundiais tornaram a valorizar a exploração do sisal, inclusive apresentando possibilidades de novas formas de produção e de aproveitamento dos seus produtos. A crise do petróleo implica na elevação dos custos dos

* LEÃO, A. L. (Departamento de Recursos Naturais – Ambientais, FCA, UNESP – Botucatu/SP). Comunicação pessoal, 2005.

sucedâneos sintéticos, tornando os produtos naturais relativamente mais acessíveis. Atualmente, ocorre a substituição de produtos sintéticos por naturais, como a fibra de vidro por fibras e resíduos de sisal, na produção de componentes para veículos. Tais modificações contribuíram para incrementar a demanda do sucedâneo vegetal em cerca de 10.000t, no Brasil, em 1998 (ANDRADE et al., 1999).

A indústria de construção também está aplicando os derivados da cultura do sisal, tendo em vista a necessidade de diminuir o emprego do amianto, por razões de saúde. Os resíduos de sisal vêm sendo utilizados para fazer telhas, tanques e paredes divisórias, em várias partes do mundo (ANDRADE et al., 1999).

É necessário notar que o aumento da produção de sisal no País não gera somente importantes resultados econômicos, mas também contribui decisivamente para a melhoria do aspecto social de significativa parte da população brasileira. Atualmente, estima-se que cerca de 800 mil pessoas têm suas rendas diretamente dependentes da exploração do sisal (ANDRADE et al., 1999).

4.3.3 – Composição química das fibras de sisal e de coco

Partindo da análise química dos vegetais, de um modo geral, encontra-se que o componente químico em maior quantidade nos vegetais é a água. Nos vegetais desidratados, as paredes da célula consistem principalmente de carboidratos que se encontram combinados com lignina com pequenas quantidades de extrativos, proteínas, amido e inorgânicos (SJOSTRON, 1981; ROWELL et al., 1997).

Os componentes químicos estão distribuídos por todas as paredes da célula, as quais são compostas de paredes primárias e secundárias. A composição química também varia dentro de plantas de diferentes localizações geográficas, idade, clima e condições de solo (ROWELL et al., 1997).

Os pesquisadores Chand e Hashmi apud Rowell et al. (1997), encontraram que a densidade de plantas de fibras diminuem de 1,18 para 1,16 g/cm³ quando as plantas estão na idade entre 2 a 5 anos, mas aumentam para 1,27 g/cm³ quando a planta atinge 9 anos. O conteúdo de hemicelulose atinge o ponto mais alto quando a planta alcança 5 anos.

A resistência à tração aumenta de 285 para 393 MPa com um aumento na idade de 2 para 9 anos. Esta mudança na resistência mecânica é explicada em termos da estrutura das fibras da planta (ROWELL et al., 1997).

Existem centenas de registros sobre a composição química dos vegetais. Mas esta grande quantidade de dados apresenta uma dificuldade em sua utilização, uma vez que os procedimentos analíticos em muitos casos são diferentes, variando de laboratório para laboratório, não existindo uma completa descrição do procedimento usado (ROWELL et al., 1997).

A composição química de fibras naturais tem sido relatada por muitos pesquisadores; entretanto, assim como nas dimensões das fibras há uma grande variação na quantidade de produtos químicos específicos relatados para cada tipo diferente de fibra. Algumas destas confusões podem ter relação com alguns pesquisadores relatando a composição química da planta inteira enquanto outros relatam a composição química de uma mecha de fibras ou de uma fibra única. Cada diferente componente dará uma composição relativa diferente. Se os componentes químicos da planta não forem corretamente extraídos, o conteúdo de lignina e outros componentes relatados poderão também estar errado. Por estas razões, os resultados médios relatados na Tabela 2, sobre a composição química de fibras naturais (fibras únicas), devem ser vistos com cautela e com a compreensão que ali pode estar uma grande variação nos resultados (YOUNG, 1994; McDOUGALL et al., 1993).

Tabela 2. Composição química de fibras naturais (%).

Fibra	Celulose	Hemicelulose	Lignina
Palha de trigo	52	27	17
Bagaço	48	22	20
Bambu	35	15	27
Juta	60	15	16
Junco	45	20	23
Linho	60	16	4
Hemp	67	16	8
Rami	69	13	1
Kenaf	57	19	10
Abaca	63	20	6
Sisal	60	12	10
Madeira	45	22	25

Fonte: YOUNG (1997).

Quanto às propriedades químicas da fibra de coco, Han e Rowell (1997) observaram que a fibra de coco possui aproximadamente 44,4% de celulose, 29,3% de lignina, 16,9% de pentosanas, 3,3% de cinzas e 0,4% incluem outros (sílica).

5 MATERIAL E MÉTODOS

Devido ao desconhecimento de uma norma específica para avaliar a biodegradabilidade de fibras naturais procurou-se adaptar duas normas existentes para plásticos, junto ao Laboratório de Microbiologia Industrial do Agrupamento de Biotecnologia da Divisão de Química do IPT – Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo. As normas são: (1) IBAMA – E.1.1.2.- 1988 - *Teste da Biodegradabilidade Imediata pela Medida do Dióxido de Carbono Desprendido em Sistema Aberto* (similar à norma ASTM D 5210-92) e (2) DIN 53739 – 1984 – *Testing of Plastics – Influence of fungi and bacteria*, baseada na ISO 846 – 1978. Ambas as normas encontram-se em anexo no Apêndice 1.

A primeira norma avalia a biodegradação de uma amostra pela ação de microrganismos aleatoriamente coletados no ambiente e que devem transformar a amostra em gás carbônico (CO₂), medido indiretamente em laboratório, por titulometria. O CO₂ monitorado é calculado para determinar sua produção durante o teste e os valores acumulados são comparados àquele teoricamente esperado a partir da composição, em carbono, da amostra. Já a segunda norma permite a observação visual de corpos de prova de uma amostra submetidos ao ataque direto de fungos e bactérias de referência, selecionados para este fim e adquiridos em coleções de culturas microbianas.

No caso, as fibras naturais em estudo são a fibra de coco e a de sisal, sendo que a fibra de coco apresenta-se nas formas in natura e manta. O termo manta refere-se à fibra de coco impregnada com látex.

Antes de iniciar o Teste de Biodegradabilidade, descrito pela norma IBAMA anteriormente citada, realizou-se a análise de CHN da fibra de coco in natura e impregnada com látex e da fibra de sisal. Essa análise foi realizada no Laboratório de Análise Elementar da Central Analítica do Instituto de Química da USP – São Paulo.

5.1. Análise Elementar de CHN

Preparo das Amostras:

Esta análise de CHN é um pré-requisito para se iniciar o Teste de Biodegradabilidade de acordo com a norma IBAMA, anteriormente citada, porque esta exige o conhecimento do teor de carbono total de cada um dos materiais em estudo.

Para a análise de CHN, as fibras em estudo foram previamente moídas junto ao Laboratório de Resíduos Sólidos e Compósitos do Departamento de Recursos Naturais da Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, utilizando-se o moinho de facas, marca Marconi (modelo 680), com tela de 10 mesh. A partir de cada material moído e classificado como fração 40/60 pesou-se no mínimo 100g utilizando-se uma balança eletrônica marca Gehaka modelo BG 8000 (carga mín. 2,5g, máx. 8080g, divisão 0,1g) e, acondicionou-se em sacos plásticos devidamente identificados, os quais foram encaminhados ao Laboratório de Análise Elementar da Central Analítica do Instituto de Química da USP – São Paulo. A partir dessas 100g pesou-se a amostra seca de 1 a 2 mg de cada material em duplicata.

Realizou-se a Análise Elementar de CHN utilizando o equipamento Elemental Analyzer, marca Perkin Elmer (modelo 2400 CHN), nas seguintes condições analíticas:

- temperatura de combustão: 925°C

- temperatura de redução: 640°C

5.2. Teste de Biodegradabilidade Imediata pela medida do dióxido de carbono desprendido em sistema aberto

Como foi dito anteriormente este teste segue a norma IBAMA – E. 1. 1. 2. Teste da Biodegradabilidade Imediata pela Medida do Dióxido de Carbono Desprendido em Sistema Aberto (similar à norma ASTM D 5210 - 1992). Esta norma encontra-se em anexo no Apêndice 1.

Para a realização deste teste são necessários os resultados da Análise Elementar de CHN (Tabela 4 do Cap 6. RESULTADOS E DISCUSSÕES), os quais indicam o teor de carbono total de cada um dos materiais.

5.2.1. Fundamento do teste

Uma substância orgânica é submetida à metabolização por uma cultura mista de microrganismos oriundos do meio ambiente. Tal substância é oferecida como única fonte de carbono e energia, numa solução nutriente mineral definida. Através do metabolismo dos microrganismos, esta fonte de carbono pode ser totalmente consumida, transformando-se em gás carbônico (CO₂) e água.

A partir do teor de carbono inicial do material exposto pode-se prever o total de CO₂ teoricamente esperado para a completa oxidação do conteúdo de carbono do material em teste, ou seja, para a biodegradação total.

Durante o teste, uma massa conhecida seca da amostra do material em estudo é colocada em um frasco estéril contendo solução nutriente. Inocula-se o frasco com uma concentração padronizada de microrganismos de, no mínimo, 10⁵ colônias por mL, oriundos de solo, água, etc.

Para garantir a qualidade do ar comprimido de entrada no sistema monta-se um sistema de purificação do ar com seis frascos plásticos (não podem ser de vidro

devido ao ataque do NaOH concentrado), de 1 L de capacidade, contendo cada um 700 mL de NaOH a 10 M para eliminar a presença de CO₂. Estes frascos são interligados, em linha, através de tubos plásticos apropriados. A extremidade inicial é ligada a um frasco cheio de lã de vidro, seca (para filtragem), o qual é ligado à fonte de ar comprimido. A outra extremidade é ligada a um sistema de distribuição do ar, com tantas saídas quantos forem os frascos de ensaio a serem aerados (Figura 2).

Na saída do sistema, que deve ser livre de vazamentos, faz-se a coleta e medida do CO₂ produzido ao longo do tempo. As medidas do CO₂ formado podem ser realizadas por titulometria, bem como por analisador de gases por infravermelho ou cromatografia de fase gasosa.

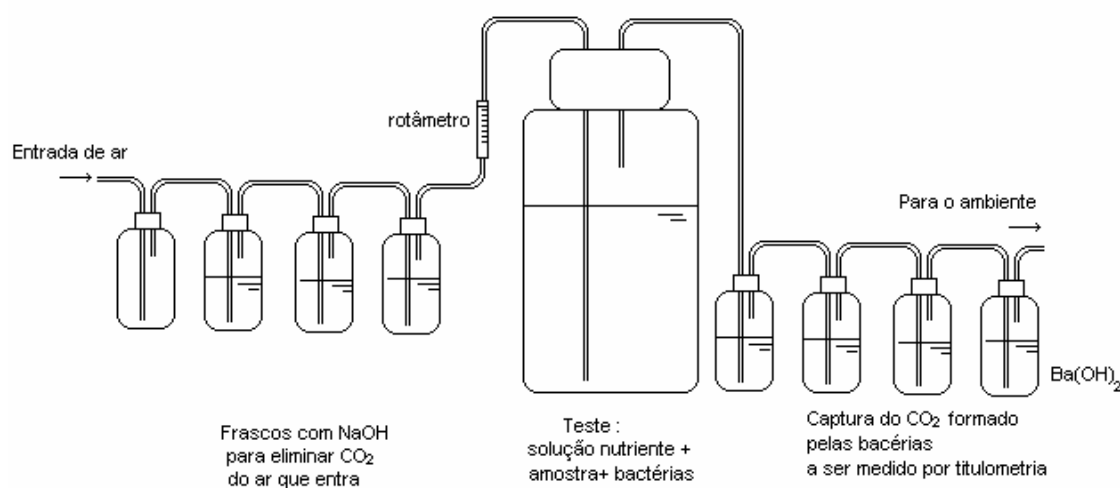


Figura 2. Desenho esquemático do teste de biodegradabilidade pela medida do CO₂ formado em sistema aberto.

Ao final do teste, avalia-se a porcentagem de CO₂ desprendida comparando-a aos valores teóricos previstos (Figura 3). Será considerada “facilmente biodegradável” aquela substância cuja porcentagem de CO₂ desprendido atingir no mínimo 70% do valor teórico em um período de 28 dias, respeitados os critérios de interpretação que levam em conta alguns parâmetros resultantes da degradação de controles realizados simultaneamente à avaliação da amostra, a saber:

- a) Branco: solução nutriente e inóculo
- b) Padrão biodegradável ou controle positivo: solução nutriente, inóculo e uma substância padrão que é reconhecidamente biodegradável (glicose, ácido benzóico, anilina, etc.). Neste caso, utilizou-se como padrão a glicose PA.;
- c) Substância teste: solução nutriente, inóculo e a substância ou material a ser testado.
- d) Inibição para a substância teste ou controle negativo: solução nutriente, inóculo, padrão biodegradável e a substância teste. O controle negativo tem o objetivo de verificar a existência ou não de efeito inibitório da amostra em estudo sobre a biodegradação da glicose.

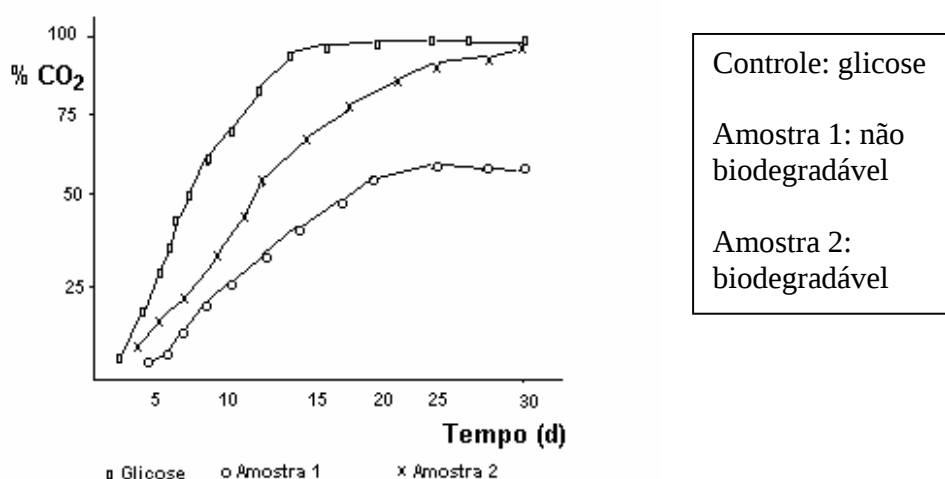


Figura 3. Forma de apresentação dos resultados do teste de biodegradabilidade.

5.2.2. Preparo do inóculo:

Primeiramente coletaram-se 400g de solo microbiologicamente ativo, ou seja, o solo coletado pertence à camada superficial a qual é equivalente aos primeiros 5 cm e deve apresentar uma concentração mínima de 1×10^5 microrganismos. Desses 400g de solo utilizaram-se apenas 100g como descreve a norma IBAMA E.1.1.2.

Preparou-se o inóculo microbiano de acordo com a norma IBAMA E.1.1.2., o qual consistiu numa mistura de solo e água sendo 1 L de solução nutriente com a própria água do lago, adicionando-se 100g de solo. Homogeneizou-se e deixou-se em repouso por 30 min para decantação. O sobrenadante foi filtrado a vácuo em papel de filtro e mantido sob agitação por cerca de 4 h. A seguir, 600 mL do material filtrado foi centrifugado em tubos de centrífuga a $4.000 \times g$, 4°C por 20 min. O sobrenadante foi então descartado e o precipitado foi suspenso em 100 mL de solução nutriente. Após homogeneização foram transferidos 10 mL dessa suspensão (inóculo) para cada frasco âmbar a ser empregado no teste. A determinação do número de microrganismos viáveis foi feita pelo espalhamento de volume conhecido a partir de diluições apropriadas do inóculo em meio ágar nutriente pelo método de “pour plate” e após 48 h fez-se à contagem das unidades formadoras de colônias por unidade de volume (UFC/mL). É necessário que estes valores sejam, no mínimo 10^5 UFC/mL.

5.2.3. Acompanhamento dos Testes

O teste foi montado de acordo com o esquema mostrado na Figura 2, no qual utilizou-se uma fonte de ar comprimido para suprir o metabolismo aeróbio de microrganismos nos diferentes frascos reagentes. Um dia antes de inserir as amostras (24 h), o sistema foi montado por completo, exceto pela ausência das amostras. O sistema então permaneceu com os frascos âmbar reagentes desconectados dos frascos absorvedores de CO_2 para aeração do sistema a uma vazão de 50 - 100 mL/min durante 24 h, numa câmara a $20\text{-}25^\circ\text{C}$, de forma a permitir a eliminação de qualquer matéria orgânica remanescente sobre os microrganismos.

Após 24 h de pré-aeração das soluções nutrientes inoculadas, adicionou-se nos respectivos frascos âmbar a substância padrão biodegradável (glicose), a

substância-teste e a solução para os ensaios de inibição da substância-teste, rotulando os frascos adequadamente da seguinte forma:

- (1) **Branco:** solução nutriente e inóculo
- (2) **Padrão biodegradável ou controle positivo:** solução nutriente, inóculo e uma substância padrão que é reconhecidamente biodegradável (glicose, ácido benzóico, anilina, etc.). Neste caso, utilizou-se como padrão a glicose PA.;
- (3) **Amostra 1:** solução nutriente, inóculo e a substância ou material a ser testado.
- (4) **Amostra 2:** solução nutriente, inóculo e a substância ou material a ser testado.
- (5) **Inibição para a amostra 1:** solução nutriente, inóculo, padrão biodegradável (glicose) e a substância teste.
- (6) **Inibição para a amostra 2:** solução nutriente, inóculo, padrão biodegradável (glicose) e a substância teste.

Em seguida, montou-se um sistema de absorção de CO_2 , o qual consiste em ligar em linha, à saída de ar de cada frasco âmbar reagente, 3 frascos absorvedores de gás (CO_2) de 125 mL, contendo cada um 100 mL de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ a 0,025 N. Após a conexão dos frascos âmbar reagentes com os absorvedores de gás (CO_2), as amostras dos materiais em estudo foram colocadas e deu-se início ao teste.

A quantidade de amostra colocada em cada frasco foi calculada de modo a se ter à concentração de 20mgC/L de solução mineral (correspondendo a 73,32 mg CO_2 /L). Todos os frascos âmbar reagentes (5L) receberam 3 L de solução mineral nutriente e foram inoculados com 10 mL da suspensão microbiana mista. O frasco (1) denominado branco funcionou como controle, continha a solução nutriente e o inóculo, mas nenhuma amostra. No frasco (2) denominado padrão utilizou-se a glicose, que é uma substância considerada facilmente biodegradável. Os frascos (3) e (4) continham as amostras a serem avaliadas. Os frascos (5) e (6) consistiram em ensaios de inibição e possuíam, além das amostras, glicose, a fim de verificar uma possível toxicidade do material que pudesse inibir a degradação da glicose.

Primeiramente, removeu-se o CO_2 que poderia estar presente no ar comprimido que chega ao sistema, sendo que se fez isso através de uma série de 6 frascos plásticos de 1L interligados, contendo 700 mL de solução de NaOH (10M). Deste modo,

evitou-se que o dióxido de carbono existente no ar fosse erroneamente analisado como resultado da metabolização do material. A vazão de ar foi controlada entre 50 e 100 mL/min. O CO₂ resultante da metabolização da amostra foi coletado por uma série de 3 frascos absorvedores de gás (125mL) contendo 100 mL de solução de Ba(OH)₂ a 0,025N. À medida que o dióxido de carbono é coletado nestes frascos, forma-se BaCO₃ e o hidróxido de bário residual foi então titulado manualmente com HCl (0,05N) padronizado para fator próximo a 1, utilizando como indicador fenolftaleína 0,04% em etanol a 70%. Após a titulação dos primeiros frascos, os dois frascos posteriores passaram para a primeira e segunda posição, respectivamente. A terceira posição era então preenchida por um novo frasco, contendo nova solução de Ba(OH)₂.

As titulações no início do teste foram realizadas em intervalos aproximados de 3 em 3 dias e, após 10 dias de ensaio, foram feitas de 5 em 5 dias. Dos valores de HCl, gastos na titulação de cada frasco contendo padrão e amostras, foram descontados o valor do branco e este novo valor foi multiplicado pelo fator 1,10, para se obter o total de CO₂ desprendido, de acordo com a norma. A cada titulação somou-se a nova diferença ao valor obtido anteriormente, de maneira que ao final de 28 dias da duração do teste, tinha-se um valor cumulativo de CO₂. Cada valor acumulado, obtido ao longo das titulações, foi dividido pelo total de CO₂ teórico esperado para a biodegradação total do produto e multiplicado por 100. A partir destes valores percentuais foi montado um gráfico de biodegradabilidade em função do tempo.

5.3. Teste da ação de linhagens selecionadas de fungos sobre polímeros

Como foi mencionado no Cap 5. MATERIAL E MÉTODOS, devido ao desconhecimento de uma norma específica para avaliar a biodegradabilidade de fibras naturais procurou-se adaptar duas normas existentes para plásticos, junto ao Laboratório de Microbiologia Industrial do Agrupamento de Biotecnologia da Divisão de Química do IPT – Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo. As normas são: (1) IBAMA – E. 1. 1. 2. Teste da Biodegradabilidade Imediata pela Medida do Dióxido de Carbono Desprendido em Sistema Aberto (similar à norma ASTM D 5210-92) e (2) DIN 53739 – 1984

– Testing of Plastics – Influence of fungi and bacteria - visual evaluation – change in mass or physical properties, baseada na ISO 846 – 1978.

5.3.1. Fundamento do teste

Segundo a norma DIN 53739 (1984), o teste consiste na exposição de corpos de prova de plásticos à ação de fungos ou bactérias de espécies conhecidas, ou ainda solo, por períodos definidos de tempo sob condições específicas de temperatura e umidade. Utiliza-se uma suspensão mista de esporos de fungos ou de células vegetativas de bactérias para verificação da resistência de filmes plásticos à ação dos mesmos. Após o período de exposição, os corpos de prova são avaliados (se necessário antes e após estarem limpos) através de avaliação visual, ou determinação da mudança de massa e/ou propriedades físicas. Os resultados obtidos são então comparados aos de amostras não tratadas (lote 0) ou amostras estéreis (lote S) mantidas sob as mesmas condições.

Neste caso, colocaram-se corpos de prova das fibras de coco com látex, de coco sem látex e de sisal sob a ação das seguintes linhagens de fungos descritas na Tabela 3.

5.3.2. Microrganismos e preparo do inóculo

Para a implantação deste teste são recomendados, pela Norma DIN 53739 - 1984, os seguintes microrganismos de referência presentes na Tabela 3.

Tabela 3. Microrganismos de referência recomendados pela norma DIN 53739 -1984.

CCT*	Microrganismo	Referência	Meio	Temperatura (°C)
4458	<i>Aspergillus niger</i>	ATCC' 6275	MEA (1)	25
1208	<i>Penicillium funiculosum</i>	IMI" 114933	MEA	25
1211	<i>Gliocladium virens</i>	ATCC 9645	PCA (2)	25
1219	<i>Chaetomium globosum</i>	ATCC 6205	OA (3)	25
1209	<i>Paecilomyces variotti</i>	ATCC 16023	MEA	25

* Coleção de culturas Tropical 'American Type Culture Collection "International Mycological Institute

(1) meio à base de extrato de malte (2) meio à base de cenoura e batata (3) meio à base de aveia

Os microrganismos utilizados fazem parte da coleção de fungos do Laboratório de Microbiologia Industrial do Agrupamento de Biotecnologia – Divisão de Química do IPT. Esses microrganismos foram adquiridos liofilizados, recuperados, avaliados quanto à autenticidade e pureza para serem, então, preservados e empregados na implantação deste teste.

Preparou-se o inóculo a partir do cultivo de cada fungo em separado em Placas de Petri contendo o meio sólido indicado na norma e, após o crescimento em estufa a 25°C, foram coletados os esporos, removendo-se também os resíduos de ágar. De cada cultura, fez-se uma suspensão até se atingir uma concentração de 10^6 esporos /mL. Volumes iguais das diferentes espécies foram misturados e utilizados para inocular os corpos de prova das fibras naturais; neste caso, a fibra de coco sem látex, a manta de fibra de coco com látex e as fibras de sisal.

Os corpos de prova foram confeccionados cortando-se as fibras naturais com 3 cm de comprimento e costurando-as com o próprio fio até formar um quadrado de 3 x 3 cm, ou seja, de 9 cm² como mostra a Figura 4.

O método utilizado refere-se à resistência do material em estudo ao ataque por fungos, descrito na Norma DIN 53739 – 1984, e que abrange os métodos A, B, B'.

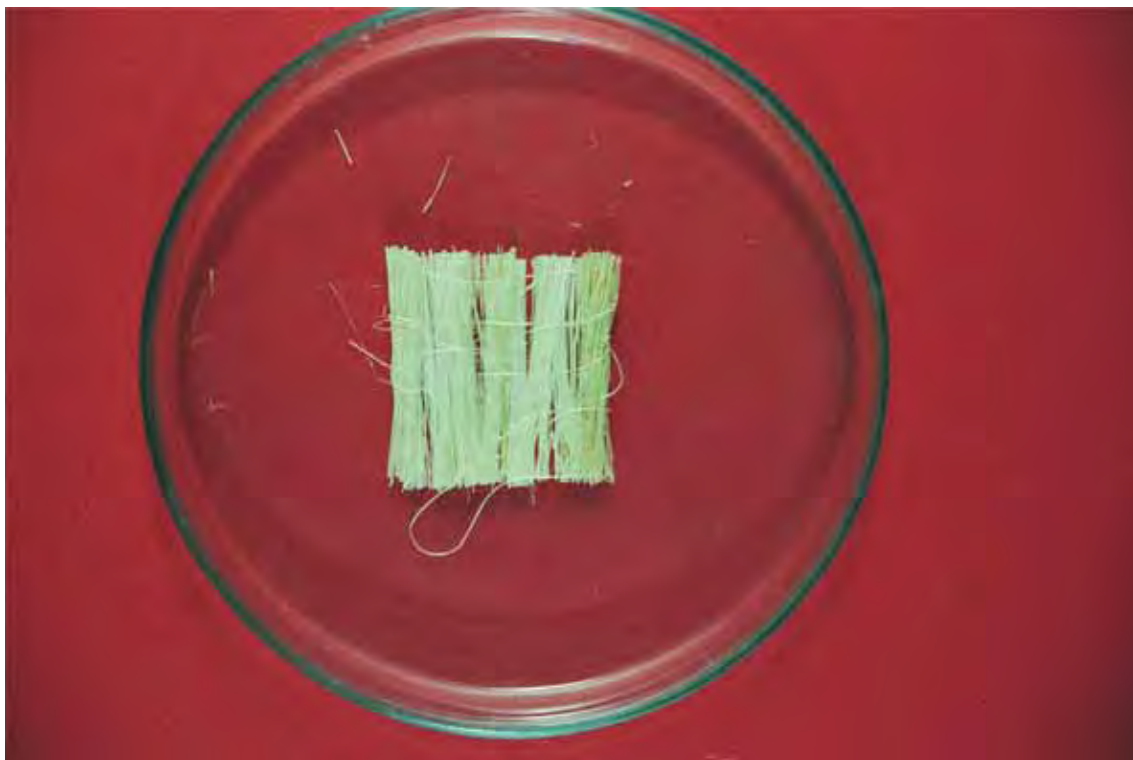


Figura 4. Corpo de prova.

Método A - Teste de crescimento de fungos

As amostras são expostas a uma suspensão mista de esporos de fungos, descritos na Tabela 3, na presença de um meio nutritivo incompleto (sem fonte de carbono) descrito na Norma DIN 53739 – 1984 (Apêndice 1). A aplicação deste método visa avaliar se há ação direta dos fungos sobre o material em estudo, isto é, os fungos só poderão crescer às custas do material (amostra). Portanto, se o material não tiver um componente nutritivo, os fungos não desenvolverão micélio e não haverá deterioração do material.

O objetivo da aplicação deste método é verificar a resistência do material em estudo ao ataque dos fungos quando há ausência de outros materiais orgânicos.

Método B - Determinação do efeito fungistático

As amostras são expostas ao inóculo constituído por uma suspensão mista de esporos de fungos, descritos na Tabela 3, na presença de um meio nutritivo completo, isto é, com fonte de carbono, descrito na Norma DIN 53739 – 1984 (Apêndice 1). Neste método, as amostras são colocadas simultaneamente com o inóculo nas placas de Petri contendo meio nutritivo completo.

Mesmo que o material em estudo não contenha nenhum elemento nutritivo, o fungo poderá crescer sobre as amostras e seus produtos metabólicos (enzimas fúngicas) atacarão o material. Desse modo, será avaliada a ação indireta dos fungos sobre o material, isto é, a influência de enzimas fúngicas sobre a degradação.

Qualquer inibição do crescimento sobre o material em estudo ou no meio de crescimento (zona de inibição) mostrará uma atividade fungistática do material ou a presença de um tratamento fungicida.

Método B' - Determinação do efeito fungistático

Este método é semelhante ao anterior, entretanto, as amostras do material em estudo não são colocadas no meio nutritivo completo ao mesmo tempo em que o inóculo (suspensão mista de esporos de fungos). Primeiro, coloca-se o inóculo no meio nutritivo completo e deixa-se crescer em estufa a 25°C durante três dias. Após esse período, colocam-se as amostras do respectivo material em estudo nas placas de Petri e, as mesmas retornam para a estufa a 25°C até completarem 28 dias.

Recomenda-se que os métodos A, B, B' sejam feitos simultaneamente para que possam ser comparados os resultados. Para cada método são preparados lotes I, que são 5 placas inoculadas com a suspensão de fungos e que contêm as amostras dos materiais em estudo e, os lotes S que contêm as amostras dos materiais em estudo pulverizadas com etanol (70%) antes de serem colocadas sobre o meio de cultura apropriado. Os lotes S funcionam como um tipo de controle.

Devido aos materiais em estudo – fibras naturais – apresentarem em sua composição lignina, celulose e hemicelulose, reconhecidamente polímeros de degradação

lenta, optou-se por ampliar o tempo de ensaio de todos os métodos (A, B, B') de 28 para 90 dias. Avaliando-se as placas de Petri de todos os métodos aos 14, 28 e 90 dias conforme as instruções para avaliação visual descritas na Norma DIN 53739 – 1984 (Apêndice 1, itens 7.1 e 7.2).

É importante ressaltar que as placas foram fotografadas em microscópio estereoscópico, marca Leica modelo MZ8, aos 14 e aos 28 dias correspondendo respectivamente ao meio e ao final do ensaio de acordo com a norma DIN 53739 – 1984. Aos 90 dias de ensaio, todas as placas foram abertas no interior do fluxo laminar e, com o auxílio de duas pinças, verificou-se se ocorreu quebra das fibras das amostras devido ao ataque por fungos. Nas amostras dos respectivos materiais em estudo, nas quais ocorreu quebra das fibras a mesma foi fotografada em microscópio estereoscópico.

As placas, nas quais ocorreu à quebra das fibras das amostras, foram separadas das demais e fez-se o isolamento e preservação dos fungos presentes nas mesmas, seguindo o método descrito no item 5.3.3.

5.3.3. Isolamento e preservação dos fungos

Para isolar os fungos que cresceram em uma mesma placa e que não pertencem ao inóculo, utilizaram-se os seguintes materiais, equipamentos e soluções:

a) Materiais e equipamentos:

- Placas de Petri com meio completo, descrito na Norma DIN 53739 – 1984 (Apêndice 1), composto por:

Solução estoque de sais minerais:

Na NO ₃	2,0 g
KH ₂ PO ₄	0,7 g
K ₂ HPO ₄	0,3 g
KCl	0,5 g
Mg SO ₄ . 7H ₂ O-	0,5 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,01 g
H ₂ O	1000 mL

Após preparar 1L da solução de sais minerais adicionou-se glicose / sacarose, em uma concentração de 30g/L. E, finalmente, adicionou-se ágar nutriente, em uma concentração de 20g/L. Ajustou-se o pH em 6,0 a 6,5 com solução estéril de NaOH 0,01 mol/L. Esterilizou-se em autoclave por 20 min. à 120°C e 1 atm.

Distribuiu-se o meio nas placas e realizou-se o teste de estufa a 30°C durante 24h para verificar se o meio não apresentaria contaminação.

Após o teste de estufa, as placas com meio completo foram estriadas com esporos do fungo que se pretende isolar. Todo esse procedimento foi realizado no interior do fluxo e, logo após, as placas foram colocadas em uma sala climatizada a 25°C na ausência de luz para o crescimento dos fungos. Após o crescimento dos mesmos, as placas foram avaliadas para verificar se realmente cada placa apresentava apenas o crescimento de um único fungo.

A partir do momento que cada placa apresentou apenas o crescimento de um único fungo iniciou-se a preservação do mesmo em eppendorf's com glicerol a 20%, mantidos em freezer a -80°C.

Para a preservação do fungo isolado, abriu-se a placa de Petri no interior do fluxo laminar e, adicionou-se 5 mL de solução salina a 0,85% e, com auxílio de uma espátula raspou-se o crescimento fúngico e transferiu-se o mesmo para um erlenmeyer com bolinhas de vidro previamente autoclavado. Lavou-se novamente a placa de Petri com mais 5 mL da solução salina e transferiu-se para o mesmo erlenmeyer. Fechou-se o erlenmeyer e deixou-se agitando no shaker até 30°C e 200 rpm durante 4 a 5 min, com o

objetivo de quebrar o micélio do fungo e facilitar o processo de filtração em seringas com lã de vidro.

Após agitar no shaker, abriu-se o erlenmeyer no interior do fluxo e filtrou-se o seu conteúdo (solução salina + crescimento fúngico) em seringas com lã de vidro para um tubo de ensaio. Com uma pipeta de 10 mL mediu-se a quantidade de filtrado e adicionou-se quantidade equivalente de glicerol a 20% (ou seja, a relação glicerol a 20% e filtrado de esporos é 1:1), tampou-se o tubo de ensaio com o rodilhão e agitou-se no agitador de tubos. No interior do fluxo, abriu-se o tubo de ensaio e com uma pipeta de 1 mL transferiu-se 1 mL da mistura glicerol a 20% e filtrado de esporos para cada eppendorf. Preservou-se cada fungo em no mínimo 10 a 20 eppendorf's. Etiquetou-se cada eppendorf identificando o fungo e colocando a data da preservação. Em seguida, levou-se ao freezer doméstico por 2 horas para depois armazená-lo no freezer a -80°C.

Os fungos permanecerão no freezer a -80°C até futura identificação da espécie dos mesmos.

5.4. Determinação simultânea de extrativos totais, lignina e holocelulose

As amostras dos materiais em estudo: fibras de coco, de coco com látex e de sisal, foram moídas em macro-moinho Wiley, obtendo-se a fração 10. Posteriormente, cada material moído foi classificado para obtenção da fração 40/60 mesh, a qual foi utilizada para realizar as seguintes análises químicas:

- Preparação das fibras lignocelulósicas para análises químicas (TAPPI T 264 CM-97);
- Extrativos totais (ABTCP M 3/69)
- Lignina Klason (TAPPI T om-98);
- Holocelulose: $100 - (\% \text{ Extrativos totais} + \% \text{ lignina})$
- Celulose (Método do ácido peróxido)

5.4.1. Preparo das fibras lignocelulósicas para análise

1. Deixar os materiais em estudo secarem ao ar e na sombra;
2. Moer no moinho Macrowiley com tela de 10 mesh. Esta amostra é chamada de “fração 10”, (F10);
3. Peneirar através das peneiras de 40 e 60 mesh. A porção moída que atravessar a peneira de 40 e ficar retida na de 60 é chamada de “fração 40/60”, (F40/60);
4. A porção moída que ficar retida na peneira de 40 mesh moer no moinho Macrowiley e peneirar novamente nas peneiras de 40 e 60 mesh;
5. Misturar esta porção moída com aquela obtida no item 3. e homogeneizar muito bem. O conjunto é chamado de “fração 40/60”, (F40/60);
6. Guardar o material moído em saco plástico identificado (projeto, amostra e fração).

5.4.2. Determinação do por cento absolutamente seco das fibras lignocelulósicas moídas (% a.s.):

1. Fazer três determinações em paralelo;
2. Determinar a tara da cápsula de alumínio. Primeiro, colocaram-se as cápsulas de alumínio com as respectivas tampas entreabertas na estufa a $103 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 1 h. Depois as cápsulas de alumínio foram tampadas no interior da estufa e transferidas para o dessecador por 20 min. Em seguida, determinou-se a tara de cada cápsula, utilizando-se balança analítica (marca Scientech, modelo SA 210).
3. Pesquisar diretamente na cápsula 1,0000 g ou 2,0000 g;
4. Transferir para estufa a $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$;

5. Após um tempo mínimo de 4h, retirar da estufa, esperar esfriar em dessecador e pesar;
6. Determinar a % a.s. através da expressão:
$$\% \text{ a.s.} = (\text{PS} / \text{PU}) \times 100$$
onde:
PS = peso do material moído após secagem na estufa.
PU = peso úmido inicial
7. Descartar o resultado aparentemente anormal. Calcular a média aritmética das três determinações.

5.4.3. Determinação do teor de extrativos totais e lignina

1. Pesar o equivalente à 1g absolutamente seco (1g a.s.) do material moído e transferir para um saco de papel de filtro;
2. Colocar o saco de papel de filtro no corpo do extrator;
3. Fazer a extração com diclorometano, etanol-tolueno (1:2) e etanol 96° GL, durante 6 a 8 h em cada solvente, deixando a amostra secar ao ar dentro do saco de papel de filtro após cada extração;
4. Ligar o banho-maria e manter em ebulição (80 a 90°C);
5. Transferir todo o material moído presente no saco de papel de filtro para erlenmeyer de 250 mL;
6. Adicionar 100 mL de água destilada e colocar o erlenmeyer no banho-maria (que já deverá estar fervendo) e cobri-lo com um copo de 50 mL;
7. Agitar suavemente a cada 15 min;
8. Após 3 h, filtrar através de cadinho de vidro sinterizado nº 2 previamente tarado, transferindo todo o material moído do erlenmeyer para o cadinho;
9. Lavar (descontinuadamente) o cadinho com 250 mL de água quente (quase fervendo);

10. Mantê-lo na estufa até peso constante (normalmente deixa-se de um dia para o outro);
11. Retirar o cadinho da estufa, esperar esfriar em dessecador e pesar;
12. Calcular a porcentagem de “Extrativos Totais” através da expressão:
$$\% ET = (1 - \text{peso a.s. do material moído}) \times 100$$

5.4.4. Determinação do teor de lignina

1. Após calcular o teor de extrativos totais, utilizar o mesmo material moído presente no cadinho e transferi-lo para o copo de 50 ou 100 mL;
2. Resfriar o H_2SO_4 72% a 10-12°C;
3. Medir 15 mL de H_2SO_4 72% em uma proveta e transferir para o copo mantê-lo no banho de água a 18-20°C;
4. Agitar e manter o banho a 18 – 20°C durante 2h. Homogeneizar periodicamente e manter o bastão de vidro dentro do copo;
5. Após 2h transferir a amostra para erlenmeyer de 1 L usando 560 mL de água;
6. Ferver durante 4 h mantendo constante o nível do erlenmeyer por adição periódica de água;
7. Após 4 h de fervura deixar a lignina sedimentar totalmente (normalmente equivale deixar de um dia para o outro);
8. Filtrar através de cadinho de vidro sinterizado nº 2, previamente tarado fazendo um fundo com papel de filtro e transferir toda a lignina do erlenmeyer para o cadinho;
9. Lavar o erlenmeyer com água quente (quase fervendo);
10. Lavar (descontinuadamente) a lignina do cadinho com 250 mL de água quente (quase fervendo);
11. Remover o cadinho e secar na estufa até peso constante. Retirar da estufa, esperar esfriar em dessecador e pesar.

12. Calcular a porcentagem da lignina através da expressão:

$$\% \text{ de Lignina} = \text{peso a.s. do resíduo} \times 100$$

13. Calcular a porcentagem de holocelulose através da expressão:

$$\% \text{ de Holocelulose} = 100 - \% \text{ de extrativos totais} - \% \text{ de lignina}$$

5.4.5. Determinação do teor de celulose pelo método do ácido peroxiacético, descrito por Wright & Wallis (1998):

1. Remover os extrativos totais de 1,0000g do material moído. Transferir quantitativamente para um balão de fundo chato de 25 mL;
2. Adicionar ao balão 5,6 g de perborato de sódio tri-hidratado, 25 mL de peróxido de hidrogênio 30% e 25 mL de ácido acético glacial;
3. Levar o balão para banho-maria em óleo (refluxo), temperatura de 120°C por 4 h;
4. Proceder à lavagem com 500 mL de água quente e, em seguida, com 25 mL de etanol;
5. Levar o resíduo à estufa a $100 \pm 5^\circ\text{C}$ até massa constante. Esfriar em dessecador e pesar o cadinho;
6. Calcular o conteúdo em celulose como porcentagem a partir do material de partida.

5.5. Determinação do teor de cinzas (%):

As cinzas foram determinadas segundo a norma TAPPI T 211 om-85. Para a determinação do material inorgânico (cinzas), seguiram-se os passos:

1. Secar os cadinhos em mufla a 600°C e resfriá-los em dessecador para determinar a massa de cada cadinho (tara do cadinho).
2. Pesar 1,0000g do material em estudo no cadinho previamente tarado e, aquecer externamente o cadinho em bico de Bunsen promovendo a combustão lenta da amostra até que não houvesse mais chama no interior. Levar o cadinho a mufla a 600°C por 4h. Após calcinar as amostras, resfriar os cadinhos no dessecador até massa constante e, determinar a massa da cinza.
3. Cálculo do teor de cinzas (%):

$$\% \text{Cinzas} = \frac{m_1}{m_2} \times 100$$

onde:

%Cinzas = Teor percentual de cinzas

m_1 = massa de cinzas (em gramas)

m_2 = massa da amostra seca (em gramas)