

Produção de biocompósito com macrofungo e resíduo de palmeira

Lorena Benathar Ballod Tavares¹, Zaira Chiodini Pedri², Cristiane Vieira Helm³,
Washington Luiz Esteves Magalhães³

¹ Laboratório de Engenharia Bioquímica, Universidade Regional de Blumenau - FURB, Blumenau (SC).

² Mestrado em Engenharia Ambiental - PPGEA, Universidade Regional de Blumenau - FURB, Blumenau (SC).

³ Embrapa Florestas. Estrado da Ribeira, km 111, Cep.83411-000, Colombo, PR

E-mail: lorena@furb.br

Introdução

Nos últimos anos tem surgido grande interesse nas tecnologias “verdes” que utilizam materiais naturais para obtenção de produtos de menor impacto ambiental. São materiais que atendem premissas fundamentais como a minimização do consumo de energia, manutenção dos recursos e redução da poluição. Desta forma os recursos naturais podem ser largamente usados dando origem aos compósitos.

Basicamente, a definição de compósito é dada quando um material é constituído por dois ou mais constituintes (fases) diferentes. Ou ainda, definido como uma combinação de dois ou mais materiais distintos, cada um dos quais retém as suas propriedades específicas para criar um novo material com propriedades que não podem ser alcançados por qualquer um dos componentes isoladamente. Usualmente, a fase matriz pode ser um metal, um polímero ou um cerâmico, que confere estrutura ao material compósito preenchendo os espaços vazios que ficam no reforço e mantendo-o na sua posição (Ventura, 2009).

Várias pesquisas na área de compósitos estão sendo realizados na busca da aplicação de recursos naturais, destacando-se o uso de fibras constituídas principalmente por polímeros de lignina, celulose e hemicelulose (Wilbon et al., 2013), tais como as fibras de pupunha (Magalhães et al., 2013). Por se tratar de um material leve, resistente, de fácil disponibilidade e baixo custo, o uso das fibras naturais na confecção de compósitos é antigo, e destacam-se como materiais a madeira, ossos, parte de algumas plantas, dentre outros (Ventura, 2009).

A palmeira real (*Archontophoenix alexandrae*) e a pupunha (*Bactris gasipaes*) são palmeiras ricas em fibras lignocelulósicas e usadas na agroindústria do palmito (Rodrigues e Durigan, 2007). Ambas são cultivadas no Brasil desde os anos 90, sendo que a pupunha tem grande potencial econômico, uma vez que produz 300 gramas de palmito por planta/ano, com a propriedade de haver o perfilhamento da planta mãe, que chega a mais de 15 perfilhos. Isso permite repetir cortes para remoção do palmito sem necessidade de replantio da área, por vários anos (Bacellar e d'Almeida, 2010).

No entanto, um dos principais desafios para o uso das fibras de palmeiras nos compósitos é o desenvolvimento de uma interface fibra/matriz com boas propriedades mecânicas. No caso das fibras lignocelulosicas uma de suas propriedades é a de ser higroscópica (d'Almeida et al., 2013), característica interessante em se tratando da obtenção de compósitos em que a matriz é constituída por micélio de fungos basiomicetos, constituindo um biocompósito.

Para o fungo colonizar a fibra, é necessário haver baixa umidade no sistema e uma atividade de água inferior a 0,99. Além disso, para a obtenção de um compósito com fibra natural e matriz micelial, a composição nutricional da fibra, bem como do sistema

em que ocorre a produção do compósito, será fator dependente do aumento da densidade das hifas. Portanto, estudar condições nutricionais para obtenção de micélio é necessário quando se busca produzir um compósito biológico cuja matriz é de natureza fúngica.

Palavras-chave: nitrogênio; fibra; micélio; matriz.

Objetivo

O objetivo desse trabalho foi estudar a influência de diferentes fontes de nitrogênio para obter um biocompósito com micélio de *Lentinula edodes* EF50 e bainhas de pupunha, empregando um planejamento de misturas que pudesse proporcionar o aumento da densidade de formação das hifas para uma adequada interface fibra/matriz.

Metodologia

O fungo *L. edodes* EF 50 utilizado para obtenção do biocompósito com fibra de pupunha foi mantido a 4° C em placas de Petri com batata dextrose ágar (BDA). O repique do fungo foi realizado a cada 3 meses.

As bainhas de pupunha utilizadas no estudo foram coletadas em uma propriedade particular localizada em Massaranduba (Santa Catarina), cujo corte da palmeira é realizado semanalmente. As bainhas externas dispensadas no solo e as obtidas na agroindústria de palmito em conserva foram transportadas ao Laboratório de Engenharia Bioquímica da Universidade de Blumenau (FURB) e trituradas até atingir cerca de 2,5 cm de comprimento. Em seguida foram suplementadas com uma fonte amilácea e três fontes de nitrogênio (sulfato de amônio, nitrato de potássio, farelo de soja) e transferidas para frascos cilíndricos de 500 mL para esterilização em autoclave. Após resfriamento, as fibras foram inoculadas com micélio de *L. edodes* EF50 cultivado em meio BDA que foi previamente triturado por 15 segundos em solução com diferentes sais minerais.

Foi aplicado um planejamento experimental de mistura com três repetições no ponto central constituído de sete tratamentos (T) de iguais concentrações em nitrogênio para avaliar o efeito da composição das misturas nas seguintes variáveis de resposta: valores de pH, umidade e atividade de água na colonização das fibras de pupunha visando a formação da matriz micelial do compósito. Foram realizadas triplicatas de cada um dos tratamentos, com as combinações apresentadas na tabela 1. Por haver um pedido de patente do processo, alguns itens do método foram excluídos.

Tabela 1. Percentual das fontes de nitrogênio utilizadas nos ensaios de produção do biocompósito

Tratamentos (T)	Sulfato de amônio	Nitrato de potássio	Farelo de soja
1	100	0	0
2	0	100	0
3	0	0	100
4	0	50	50
5	50	50	0
6	50	0	50
7	33	33	34

As bainhas foram caracterizadas quanto às propriedades nutricionais. Com exceção da análise de fibra alimentar e dos carboidratos, as demais foram realizadas em triplicata e

de acordo com a metodologia oficial do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2005). Quanto aos carboidratos digeríveis, foi usado o método de Somogyi (1945) para determinar os açúcares solúveis redutores, bem como para os açúcares solúveis totais e o amido, após procedimento de hidrólise enzimática. Os açúcares solúveis não redutores foram obtidos por diferença.

A fibra alimentar insolúvel, a fibra alimentar solúvel e a fibra alimentar total foram determinadas pelo método enzimático oficial de Prosky et al. (1992) e usando amostra em quadruplicata, de cerca de 1g.

As determinações físico-químicas do biocompósito com micélio de *L. edodes* e fibras de pupunha foram realizadas quanto à resistência à compressão axial no biocompósito, colocando-se as amostras em uma prensa de compressão, conforme recomendações da NBR 7190 (ABNT, 1997). A leitura do pH foi determinada em 1g de amostra de cada tratamento suspenso em 10 mL de água destilada em equipamento digital modelo GEHAKA PG1800. A atividade de água foi determinada mediante uso do equipamento AQUA LAB, modelo Series 3TE, e o teor de umidade foi realizado pela pesagem das amostras de cada tratamento antes e depois da secagem em balança analítica SHIMATZU modelo AUY 220 e posterior realização da massa seca em estufa com circulação mecânica FANEM modelo 320E.

Resultados

A composição da fibra de pupunha é apresentada na tabela 2, e mostra alta concentração em polímeros que são representados, principalmente, pela celulose e hemicelulose. A degradação desses pode ocorrer pela ação de enzimas produzidas por fungos, tais como *L. edodes*. No entanto, esses polímeros também podem servir como material suporte para formação de uma rede de hifas, quando o meio estiver favorável quanto às condições nutricionais. As fibras lignocelulósicas são excelentes matérias-primas para formação de compósitos (Silva et al, 2009). No caso do compósito em que a matriz é constituída por micélio, a composição nutricional da fibra é fator significativo na formação das hifas, fato observado na pupunha.

Tabela 2. Composição nutricional ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) e valor calórico ($\text{kcal} \cdot 100\text{g}^{-1}$) das fibras de pupunheira em base seca ($\text{m} \cdot \text{m}^{-1}$)

Constituintes	Fibra de pupunha	Desvio Padrão
Água (como umidade)	3,3	$\pm 0,43$
Minerais (cinzas)	4,2	$\pm 1,52$
Proteínas ((%NT-%NNP) x 6,25)	4,7	$\pm 2,09$
Nitrogênio total	1,5	$\pm 0,71$
Nitrogênio não proteico	0,8	$\pm 0,52$
Lipídios (extrato etéreo)	0,9	$\pm 0,19$
Fibra total (FT)	63,2	$\pm 2,95$
Fibra insolúvel (FI)	59,0	$\pm 2,51$
Fibra solúvel (FS)	4,2	$\pm 0,55$
Carboidratos totais	22,3	$\pm 4,44$
Açúcar solúvel redutor	10,4	$\pm 3,66$
Açúcar solúvel não redutor	6,3	$\pm 1,44$
Amido	5,6	$\pm 2,19$
Somatório	98,5	$\pm 2,09$
Valor calórico total	120,4	$\pm 11,83$

Os carboidratos solúveis representaram mais de 16% dos constituintes das fibras de pupunha que podem ser assimiláveis pelo fungo. No entanto, considerando a obtenção da matriz micelial para geração do biocompósito, as fontes de nitrogênio testadas é que atuaram como principais estimulantes da formação da rede de hifas.

Aos 12 dias do processo de colonização das fibras por *L. edodes*, o tratamento com maior concentração em farelo de soja (T3) estavam totalmente colonizado, formando uma interfase fibra/matriz micelial com uma resistência de compressão de 229 Pa.

As demais fontes de nitrogênio testadas nesse trabalho não favoreceram a formação das hifas. Além disso, os tratamentos com sulfato de amônio (T1) e o nitrato de potássio (T2) mostraram diminuição do pH (4,0) quando comparado aos tratamentos com farelo de soja (pH igual a 6,0). Não houve influência significativa ($p < 0,05$) das fontes de nitrogênio no teor de umidade (embora tenha sido observada redução da umidade em alguns tratamentos) e de a_w , sendo os valores médios próximos de 55% e 0,970, respectivamente (Figuras 1a e 1b).

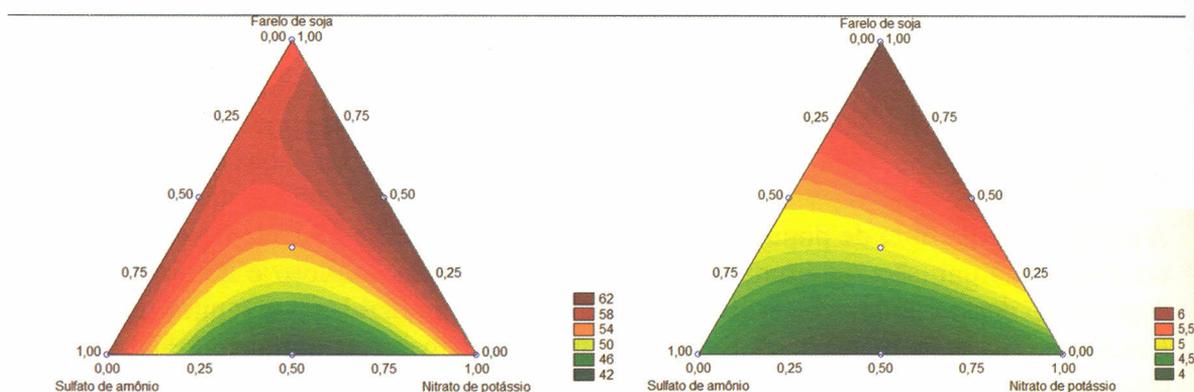


Figura 1a. Curvas de nível para Umidade

Figura 1b. Curvas de nível para valores de pH

Os maiores valores de umidade foram encontrados para as composições localizadas próximo aos três vértices das fontes de nitrogênio, enquanto para o pH foram os localizados próximos ao vértice da fonte de N com farelo de soja.

Os resultados de formação de biomassa micelial nas fibras de pupunha corroboraram com os estudos aos quais os basidiomicetos se devolvem melhor na presença de aminoácidos. Isso foi observado nos tratamentos com farelo de soja, onde a interface fibra/matriz micelial formou uma estrutura compacta, homogênea e densa (Figura 2).

O compósito BEA.15[®] também foi produzido em outros recipientes com formas variadas de modo a estender as possibilidades de aplicação. Em todos eles, o farelo de soja influenciou significativamente na densidade micelial. Vários autores relatam diferenças de crescimento micelial de *L. edodes* em sistemas com material lignocelulósico conforme a concentração e o tipo de fonte de nitrogênio (Boyle, 1998; d'Agostini et al, 2011).

A degradação da lignina das fibras também é importante para a obtenção das hifas, uma vez que pode permitir que os fungos tenham acesso aos componentes contendo nitrogênio, carboidratos simples, micronutrientes e vitaminas. Nos tratamentos com farelo de soja, dada sua natureza orgânica com alta concentração em aminoácidos, a degradação da lignina, considerando o tempo de cultivo de 12 dias, parece ter sido restrita.

Conclusões

A atividade de água é um parâmetro que indica a quantidade de água disponível para facilitar o movimento molecular para as transformações ocorrerem ou para o aumento da densidade micelial. Nesse trabalho, as fontes de nitrogênio testadas não interferiram nesse parâmetro, e os valores encontrados nos distintos tratamentos foram próprios para o estímulo à densidade micelial para a obtenção do compósito com fibras de pupunha.

A concentração e o tipo da fonte de nitrogênio foram fatores limitantes para a formação de micélio. O farelo de soja proporcionou densidade micelial compacta, intensa e resistente, quando comparada as demais fontes testadas, fato que está relacionado com a presença de aminoácidos nesse componente da mistura. As fibras de pupunha, com essa fonte em N ficaram cobertas por uma rede de hifas que quando colocadas em recipientes com distintas formas, gerou um compósito com interessantes possibilidades funcionais.

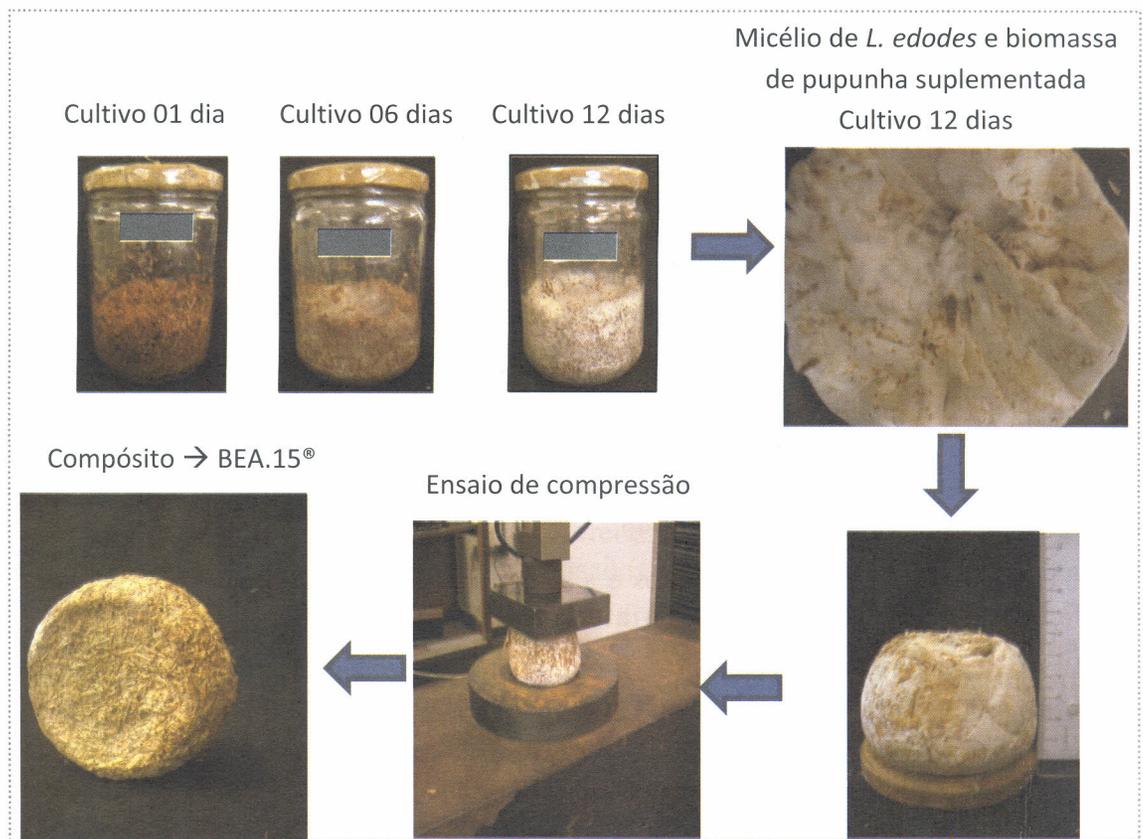


Figura 2. Compósito (BEA.15®) com fibras de pupunha e micélio de *L.edodes* EF50

Agradecimentos: À CAPES e CNPq pelas bolsas de pesquisa; à Embrapa Florestas pelo suporte analítico; aos professores da FURB/Blumenau (SC), Dra. Rita de Cássia Siqueira Curto Valle pelo apoio na análise estatística e ao Dr. Jackson Roberto Eleoterio pelo fornecimento de material e suporte nos ensaios mecânicos.

Referencias

BACELLAR, R.; d'ALMEIDA, J.R.M. Microstructural characterization and evaluation of thermal, mechanical and wear properties of pupunha (*Bactris gasipaes*) pseudostem. **Polym. Renew. Resources**, v. 1, 123-142, 2010.

BOYLE, D. Nutritional factors limiting the growth of *Lentinula edodes* and other white-rot fungi in wood. **Soil Biol. Biochem.** v. 30, n. 6, 817-823, 1998.

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

d'AGOSTINI, E.C.; MANTOVANI, T.R.D.; VALLE, J.S.; PACCOLA-MEIRELLES, L.D; COLAUTO, N.B.; LINDE, G.A. Low carbon/nitrogen ratio increases laccase production from basidiomycetes in solid substrate cultivation. **Sci. Agric.**, v.68, n.3, 295-300, 2011.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. Brasília: Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2005. 1018p.

MAGALHÃES, W.L.E.; PIANARO, S.A.; GRANADO, C.J.F.; SATYANARAYANA, K.G.. Preparation and characterization of polypropylene/heart-of-peach palm sheath composite. **Journal of Applied Polymer Science**. 127, 1285–1294, 2013.

PROSKY, L.; ASP, N.G.; FURDA, I.; SCHWEIZER, T.F.; DEVIRES, J.W. Determination of insoluble and soluble dietary fibre in foods and food products: collaborative study. **Journal of the Association of Official Analytical Chemistry**, 75: 360-367, 1992.

RODRIGUES, A.S.; DURIGAN, M.E. **O agronegócio do palmito no Brasil**. Instituto Agrônômico do Paraná (IAPAR). 2007. 131p.

SILVA, R.; HARAGUCHI, S.K.; MUNIZ, E.C.; RUBIRA, A.F. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. **Quim. Nova**, v. 32, n. 3, 661-671, 2009.

SOMOGYI, M. A new reagent for the determination of sugar. **The Journal of Biological Chemistry**, 160: 61-68, 1945.

VENTURA, A.M.F.M. Os Compósitos e a sua aplicação na Reabilitação de Estruturas metálicas. **Ciência e Tecnologia dos Materiais**, v. 21, n. 3/4, 2009.

WILBON, P.A; CHU, F.; TANG, C. Progress in Renewable Polymers from Natural Terpenes, Terpenoids, and Rosin. **Macromol. Jour**, Rapid Commun. v.34, 8–37, 2013.