

JOSIANE DE LIMA SOUZA

OTIMIZAÇÃO DA MODIFICAÇÃO DE CADEIA DO PHB
COM ANIDRIDO MALEICO E ESTUDO DE
COMPORTAMENTO TÉRMICO

Dissertação de mestrado apresentada ao Instituto de Química da UNESP, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Araraquara, para obtenção do título de Mestre em Química.

Prof. Dr. Clóvis Augusto Ribeiro
Orientador
Profa. Dra. Marisa Spirandeli Crespi
Co-orientadora

Araraquara
2007

JOSIANE DE LIMA SOUZA

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Araraquara, 19 de janeiro de 2007

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Clóvis Augusto Ribeiro (Orientador)
Instituto de Química / UNESP / Araraquara / SP

Prof. Dra. Ana Maria de Guzzis Peplis
Instituto de Química / USP / São Carlos

Prof. Dr. Fernando Luís Fertonani
Instituto de Química / UNESP / Araraquara / SP

AGRADECIMENTOS

A Deus por mais uma etapa de minha vida.

A minha família, meus pais Marcílio e Geny e minhas irmãs Michele e Susane pelo exemplo, apoio e incentivo.

Ao Ademir, pelo companheirismo, amizade e por toda colaboração dedicada neste trabalho.

A orientação do Prof. Dr. Clóvis Augusto Ribeiro.

A Profa. Dra. Marisa Spirandeli Crespi pela co-orientação e atenção dedicada no trabalho de mestrado e estágio docência, a Dra. Luciana Polese pela contribuição e atenção dedicada.

Aos professores e funcionários do Instituto de Química - Unesp.

Aos colegas de laboratório pela convivência e apoio durante este período.

Aos meus amigos Silvana, Néia, Adriana e Rafael por compartilharem e estarem sempre juntos nesta etapa.

RESUMO

O polímero PHB poli(3-hidroxi-butirato) tem despertado interesse comercial, principalmente pelas suas propriedades de biodegradabilidade e biocompatibilidade. Desta forma este trabalho estudou a interação de anidrido maleico com PHB tendo trietilamina como catalisador. As variáveis avaliadas neste estudo foram: a concentração de catalisador, temperatura e tempo de reação. O acompanhamento das modificações obtidas no novo material foi realizado através do comportamento térmico dos filmes formados, determinando-se a temperatura de transição vítrea (T_g), temperatura de cristalização (T_c), temperatura de fusão cristalina (T_m) e porcentagem de cristalização por DSC e estabilidade térmica por TG-DTA, definindo a condição mais adequada para promoção da reação de cadeia por meio de estudo de planejamento e otimização de experimentos. Avaliou-se inicialmente o comportamento térmico dos filmes promovendo a reação na proporção fixa PHB/AM 90/10, definindo as melhores condições de reação em 110 °C, tempo de reação de 1 hora e concentração de catalisador em 5 % (v/v), a partir do planejamento e otimização de experimentos. Estas condições otimizadas foram utilizadas para a promoção da reação da modificação com diferentes proporções de anidrido maleico, entre 0 a 20 % (m/m) em relação ao PHB. Para avaliar a proporção de anidrido maleico presente nos filmes de PHB, foram otimizadas as condições experimentais e determinados os principais parâmetros de validação para a análise simultânea de derivados de PHB e AM, utilizando-se cromatografia em fase gasosa (GC). Os resultados demonstram que o procedimento analítico pode ser aplicado com confiabilidade. Os filmes de PHB/AM analisados por GC-FID e o índice de acidez do PHB homopolímero forneceram resultados da interação de PHB com AM. Estes dados juntamente com os de TG-DTA, onde observou-se a presença de uma etapa de perda de massa referente ao PHB modificado e também pico de fusão referente a esta etapa e os dados de DSC, onde os valores das propriedades térmicas para o PHB modificado apresentaram valores menores de porcentagem de cristalinidade, temperatura de fusão e temperatura de transição vítrea, tornou possível propor um mecanismo de modificação do PHB com anidrido maleico e estabelecer que a proporção PHB/AM que teve maior porcentagem de modificação de cadeia foi a 80/20.

Palavras chave: Reação de transesterificação, Poli(3-hidroxi-butirato), anidrido maleico e modificador de cadeia.

ABSTRACT

PHB poly(3-hydroxybutyrate) homopolymer shows biodegradability and biocompatibility properties, therefore the PHB has been extensively studied. PHB was structurally modified by maleic anhydride (AM). The transesterification reaction PHB/AM with 90/10% w/w was carried out with several concentrations of a proposed catalyst based on a tertiary amine, time and temperature to obtain films by solvent casting. Glass transition temperature (T_g), melting point (T_m), crystallization temperature (T_c) obtained by DSC and thermal degradation studied by TGA were parameters employed to evaluate the optimum conditions of PHB/AM structural modification according to factorial design. According to the results, the most indicated conditions to carried out the PHB modification reaction with AM could be at 110 °C during 1 hour with 5 % v/v triethylamine concentration. These optimized conditions were used to modify the PHB chain, however with different mass proportions of AM (from 0 to 20 %). A gas chromatography (GC) method has been optimized and validated for simultaneous determination of monomeric proportions in PHB/MA films. The results demonstrated that the analytical procedure is a consistent chromatographic method to identification and quantification from PHB and MA isoamilic esters derivatives. PHB/AM films analyzed by GC-FID and the acid value of the PHB homopolymer presented results about the PHB/AM interactions. Additionally, from the DTA, The intermediary step where mass change was detected may due to a new polymeric chain structure that could be formed by the incorporation through transesterification of maleate units, and DSC, that compared to the PHB homopolymer, the PHB/MA film has a lower T_g value and much more pronounced crystallization peak and a similar melting point, result a possible mechanism reaction involving PHB and AM was present. According to the results obtained, the PHB/AM 80/20 was the suitable proportion.

Keywords: transesterification reaction, poly(3-hydroxybutyrate), maleic anhydride and modification of chain.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	10
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1. ASPECTOS GERAIS E MISTURAS POLIMÉRICAS.....	14
2.2. DETERMINAÇÃO DE GRUPAMENTOS ÁCIDOS TERMINAIS .	19
2.3. PLANEJAMENTO E OTIMIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS.....	20
3. OBJETIVOS.....	23
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
4.1. MATERIAIS.....	24
4.2. INSTRUMENTOS.....	24
4.2.1. BALANÇA.....	24
4.2.2. ESTUFA.....	24
4.2.3. BANHO DE AQUECIMENTO.....	25
4.2.4. MESA AGITADORA.....	25
4.2.5. SDT 2960 - SIMULTANEOUS DTA – TGA.....	25
4.2.6. DSC 2910 - CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL.....	25
4.2.7. CROMATÓGRAFO A GÁS.....	26
4.3. CONDIÇÕES E PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....	26
4.3.1. PURIFICAÇÃO DO PHB.....	26
4.3.2. PLANEJAMENTO DOS EXPERIMENTOS.....	26
4.3.3. PREPARAÇÃO DE FILMES DE PHB/AM 90/10 NA PRESENÇA DE CATALISADOR.....	27
4.3.4. PREPARAÇÃO DE FILMES DE PHB/AM NA AUSÊNCIA DE CATALISADOR.....	29
4.3.5. PREPARAÇÃO DE FILMES DE PHB/AM EM DIFERENTES PROPORÇÕES NA PRESENÇA DE CATALISADOR.....	29
4.3.6. PREPARAÇÃO DE FILMES COM ADIÇÃO INVERSA DE REAGENTES.....	30
4.3.7. DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE ACIDEZ DO PHB.....	30
4.3.8. ESTUDO DE COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS FILMES DE PHB/AM.....	31

4.3.8.1. Análises simultâneas empregando Análise Termogravimétrica (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA)	31
4.3.8.2. Análise empregando Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).	31
4.3.9. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE PHB E ANIDRIDO MALEICO POR GC-FID	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	33
5.1. ESTUDO DE COMPORTAMENTO TÉRMICO EMPREGANDO TG-DTA E DSC	33
5.1.1. ESTUDO DE COMPORTAMENTO TÉRMICO DE PHB PURO, FILME DE PHB/AM (90/10) E ANIDRIDO MALEICO NA AUSÊNCIA DO CATALISADOR EMPREGANDO ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TG) E ANÁLISE TÉRMICA DIFERENCIAL (DTA).....	33
5.1.2. ESTUDO DE COMPORTAMENTO TÉRMICO DE FILMES DE PHB/AM (90/10) NA PRESENÇA DO CATALISADOR EMPREGANDO ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TG) E ANÁLISE TÉRMICA DIFERENCIAL (DTA)35	
5.1.3. ESTUDO DE COMPORTAMENTO TÉRMICO DE PHB PURO E DE FILMES DE PHB/AM (90/10) NA AUSÊNCIA DE CATALISADOR EMPREGANDO CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC).....	38
5.1.4. ESTUDO DE COMPORTAMENTO TÉRMICO DE FILMES DE PHB/AM (90/10) NA PRESENÇA DE CATALISADOR EMPREGANDO CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC).....	40
5.2. PLANEJAMENTO DOS EXPERIMENTOS.....	43
5.3. DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE ACIDEZ DO PHB	48
5.4. ESTUDO DE COMPORTAMENTO TÉRMICO EMPREGANDO TG-DTA E DSC	48
5.4.1. ESTUDO DO COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS FILMES DE PHB PURO, PHB/CATALISADOR AM PURO E AM/CATALISADOR COM DIFERENTES PROPORÇÕES EMPREGANDO ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TG) E ANÁLISE TÉRMICA DIFERENCIAL (DTA)48	

5.4.2. ESTUDO DO COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS FILMES DE PHB/AM COM DIFERENTES PROPORÇÕES EMPREGANDO ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TG) E ANÁLISE TÉRMICA DIFERENCIAL (DTA)	52
5.4.3. ESTUDO DO COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS FILMES PHB PURO, PHB/CATALISADOR, AM PURO E AM/CATALISADOR EMPREGANDO CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)	54
5.4.4. ESTUDO DO COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS FILMES DE PHB/AM NA PRESENÇA DE CATALISADOR EM VÁRIAS PROPORÇÕES EMPREGANDO CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)	57
5.5. ESTUDO DE COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS FILMES COM ADIÇÃO INVERSA DE REAGENTES	60
5.5.1. ESTUDO DO COMPORTAMENTO TÉRMICO DE FILMES PREPARADOS COM ADIÇÃO INVERSA DE REAGENTES EMPREGANDO ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TG) E ANÁLISE TÉRMICA DIFERENCIAL (DTA)	60
5.5.2. ESTUDO DO COMPORTAMENTO TÉRMICO DE FILMES PREPARADOS COM ADIÇÃO INVERSA DE REAGENTES EMPREGANDO CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)	64
5.6. ESTUDO DE CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DE PHB E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS	68
5.6.1. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) E ANIDRIDO MALEICO POR CROMATOGRAFIA GASOSA (GC-FID)	68
5.6.1.1. Determinação em filmes de PHB com anidrido maleico na proporção 90/10	68
5.6.1.2. Determinação de PHB e anidrido maleico em filmes com diferentes proporções PHB/AM	72
5.7. PROPOSTA DE MECANISMO DE MODIFICAÇÃO DE CADEIA DE PHB COM AM	74
6. CONCLUSÕES	77
7. TRATAMENTO DE RESÍDUOS	79
8. PROPOSTAS PARA TRABALHOS FUTUROS	80

9. REFERÊNCIAS..... 81

1. INTRODUÇÃO GERAL

Polímeros sintéticos tem sido de grande importância para a sociedade desde meados do século XX. Na maior parte, estes polímeros são sintetizados a partir de derivados do petróleo e apresentam um período muito longo de permanência na natureza tornando-se um sério problema ambiental. Para solução deste problema tem surgido os polímeros naturais ou biopolímeros, os quais degradam mais facilmente na natureza liberando produtos que não agredem o ambiente.

Os polialcanoatos (PHAs) constituem uma classe de polímeros biodegradáveis e biocompatíveis, são produzidos a partir de recursos renováveis como açúcares e ácidos graxos e apresentam propriedades termoplásticas¹. São considerados polímeros termoplásticos, polímeros plásticos com a capacidade de amolecer e fluir quando sujeito a um aumento de temperatura e pressão, porém quando retirado deste processo o polímero solidifica-se adquirindo a forma definida do molde, característico de transformações físicas reversíveis².

Os PHAs degradam-se completamente por ataque microbiano em relativo curto espaço de tempo, em condições adequadas do meio ambiente. Desta forma os biopolímeros tornam-se uma alternativa para reduzir o problema causado pelo uso de plásticos em aplicações de rápida descartabilidade, pois poderiam ser depositados em aterros sanitários, sem causar dificuldades para a degradação de outros materiais constituintes do lixo, portanto teríamos um sistema cíclico e equilibrado³ comparados com os plásticos de origem petrolífera (Figura 1).

A biodegradação ou biodeteriorização dos polímeros biodegradáveis resulta primeiramente da ação de microorganismos, tais como fungos, bactérias e algas de ocorrência natural, gerando CO₂, H₂O, CH₄, componentes celulares, biomassa e outros produtos, como resultado da ação de microorganismos vivos ou enzimas⁴. Apesar de o mecanismo de degradação para alguns materiais biodegradáveis ainda ser esclarecidos, de maneira geral percebe-se duas etapas principais de degradação; a primeira degradação hidrolítica (ataque por moléculas de água) e seguida de uma

degradação enzimática (que pode ocorrer de várias maneiras, não tendo um mecanismo geral por depender de vários tipos de bactérias e vários tipos de biopolímeros)⁵.

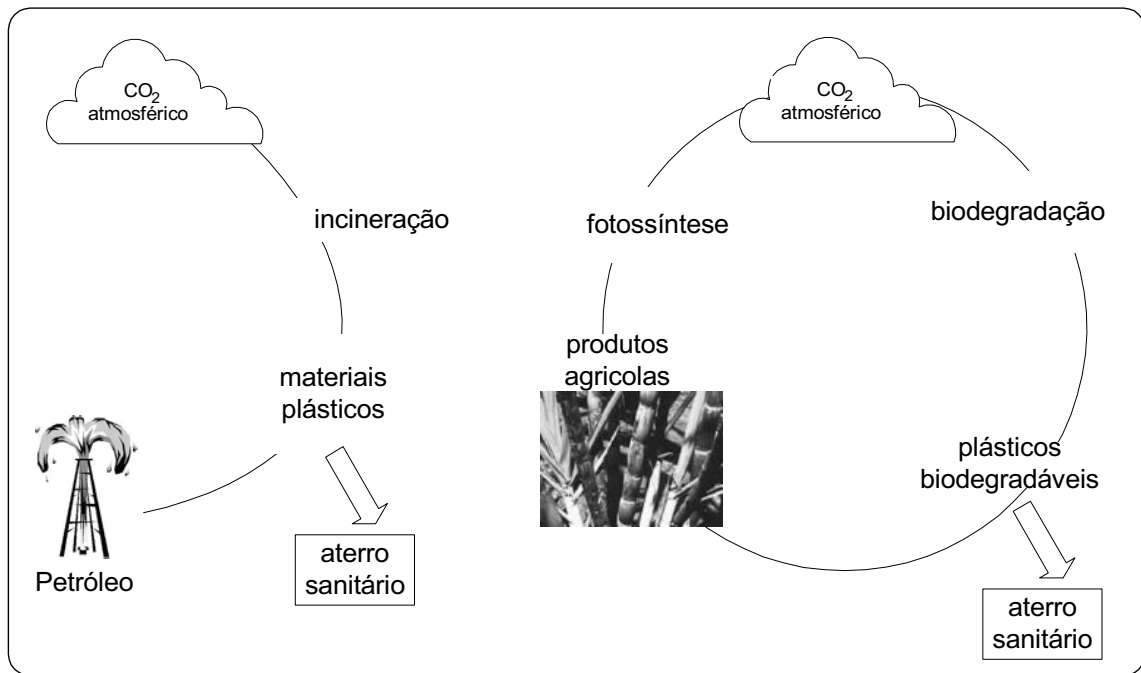


Figura 1: Fluxos de materiais em um sistema não cíclico utilizando plásticos originados a partir do petróleo e em um sistema cíclico utilizando plásticos gerados a partir de matérias-primas renováveis.

A produção de PHA por bactérias se dá em condições de crescimento não balanceadas, onde há excesso de fonte de carbono e limitação dos elementos essenciais à multiplicação celular (fósforo, nitrogênio, enxofre, magnésio etc.). Unidades de PHB são acumuladas pela célula microbiana em forma de grânulos, para serem utilizados como reserva de carbono e energia, podendo apresentar até 80 % da massa seca total da célula⁶.

Entre os PHAs mais estudados encontra-se o poli(3-hidroxibutirato) (PHB), homopolímero (polímero com apenas um tipo de monômero constituinte da cadeia principal) que apresenta propriedades termoplásticas semelhantes às do polipropileno isotático devido à sua cristalinidade e temperatura de fusão similar.

O PHB foi descoberto e identificado inicialmente em 1926, por Maurice Lemoigne que isolou de bactérias e caracterizou PHAs, entre eles o PHB. Somente em 1957

Williamson e Wilkinson redescobriram o polímero, isolaram bactérias produtoras e estudaram o processo de biosíntese⁷.

A produção de PHB pode ocorrer por várias linhagens de bactérias. Há vários estudos realizados visando otimizar melhores condições de produção⁸. Também ocorre a produção de PHB por plantas modificadas geneticamente com genes de bactérias produtoras do polímero^{9 10}.

No Brasil, estudos sobre o PHB começaram no IPT (Instituto de Pesquisas Tecnológica), juntamente com a Copersucar (Cooperativa de produtores de cana, açúcar e álcool do estado de São Paulo LTDA), na década de 90 com a otimização e produção em escala piloto de PHB a partir de açúcar da cana-de-açúcar empregando *Ralstonia eutropha*^{11 12}.

O processo de produção do PHB tem sido normalmente conduzido em duas fases: uma fase de crescimento não limitado para crescimento da biomassa em meio de cultura balanceado seguido de uma fase de limitação ou exaustão de um ou mais elementos nutricionais associado ao fornecimento não limitado de fonte de carbono, para favorecer o acúmulo intracelular do polímero. Produz-se o PHB por meio da fermentação do açúcar invertido proveniente da cana de açúcar, assim a glicose e frutose produzida podem ser assimiladas pela bactéria. Para extrair o PHB inativa-se a célula bacteriana com aquecimento e em seguida utiliza-se um álcool de cadeia média subproduto da produção do etanol para extrair o polímero.

Entre os microorganismos capazes de sintetizar PHB, a espécie *Ralstonia eutropha* tem apresentado as condições mais favoráveis para produção industrial podendo acumular mais de 80 % de sua massa celular em PHB¹³.

A produção do PHB em larga escala acontece pelo processo de fermentação bacteriana, relativamente caro¹⁴, mas apesar disso o PHB tem sido produzido em escala industrial¹⁵, porém o seu custo de produção ainda está muito acima dos custos de produção dos congêneres plásticos de origem petroquímica.

Uma das maneiras de diminuir o custo de produção do polímero está na implantação da planta de produção do PHB dentro de uma usina de açúcar e álcool, pois a energia elétrica e vapor podem ser obtidos de fontes renováveis a partir da queima do bagaço da cana. Os resíduos são basicamente água e matéria orgânica da

bactéria que por sua vez podem ser lançadas na lavoura de cana de açúcar, como fertilizante orgânico e o açúcar fonte de alimento está disponível a baixo preço e em grande quantidade¹⁶.

O PHB conhecido como um poliéster termoplástico biocompatível e biodegradável possui ponto de fusão em torno de 170 °C sendo quebradiço e termicamente instável. Para superar estas desvantagens, geralmente o PHB tem sido melhorado por introdução de vários monômeros de alcenoatos para produzir poliéster ou misturas poliméricas de PHB com outros polímeros^{17 18}.

Estruturalmente considera-se o PHB um poliéster linear, saturado, bastante estável em condições normais, possui estrutura que se degrada lentamente no corpo ou em processos de compostagem.

Para tornar as propriedades e características do PHB mais interessantes em termos de processamento, estudos envolvendo a preparação de filmes com a presença de modificadores de cadeia e/ou condições de preparo que influenciam nas propriedades do produto final, tem-se constituído de importância significativa para aplicabilidades futuras e também para o desenvolvimento desta área.

Os campos em potencial de aplicação para o PHB englobam embalagens para defensivos agrícolas, produtos injetados, tais como, brinquedos e materiais escolares, materiais descartáveis, tais como, pentes, escovas e barbeadores¹⁹. Além disso, por ser biocompatível e facilmente absorvido pelo organismo humano, pode ser empregado na área médico-farmacêutica, prestando-se à fabricação de fios de sutura, próteses ósseas^{20 21} e micro-cápsulas na forma de copolímeros com outros polímeros biodegradáveis²² que liberam gradualmente medicamentos na corrente sanguínea^{23 24 25}

²⁶

Para alcançar condições ótimas no processo industrial de preparação do PHB e obter produtos com melhores propriedades torna-se necessário avaliar o comportamento térmico do PHB e estudar a influência da presença de anidrido maleico (AM)²⁷ como modificador da cadeia polimérica considerando os campos em potencial de aplicação.

A hidroxila presente no final de cadeia do PHB pode ser considerada um nucleófilo fraco, pois a reatividade do oxigênio da hidroxila do grupo ester diminui devido a ressonância, todavia há possibilidade de reagir.

O anidrido maleico pode sofrer abertura no anel por ataque nucleofílico no carbono carbonílico²⁸. Um catalisador ácido (forte) empregado para a reação poderia ao invés de catalisar, quebrar os monômeros do polímero ou não favorecer a reação, portanto a utilização de um catalisador básico torna-se interessante, para promover a possível modificação de cadeia do PHB com anidrido maleico.

Aumentar o tamanho da cadeia polimérica do PHB poderia modificar as propriedades do PHB e torna-lo mais interessante em termos de processamento. Temperatura e tempo de reação são condições importantes em reações de esterificação do PHB, assim otimizar outras temperaturas e outros tempos reacionais podem implicar em ganhos de custo e tempo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. ASPECTOS GERAIS E MISTURAS POLIMÉRICAS

Sintetizado naturalmente por bactérias o poli(3-hidroxi-butirato) apresenta biocompatibilidade e biodegradabilidade com transição vítrea em torno de 5 °C, ponto de fusão cristalina entre 165 e 180 °C e se degrada termicamente logo em seguida à fusão, liberando ácido crotônico independente da atmosfera^{29 30}.

O mecanismo de degradação térmica do PHB tem sido sugerido^{29 30} como sendo praticamente exclusivo por um mecanismo não radicalar de *cis*-eliminação, em que ocorre quebra da cadeia polimérica formando um anel de seis membros como estado de transição. O produto gasoso da decomposição térmica foi identificado por instrumento de Análise Termogravimétrica (TG) acoplado a um Cromatógrafo a Gás (GC) com detecção por Espectrometria de Massas (MS), como sendo o ácido trans-crotônico e seus oligômeros (Figura 2).

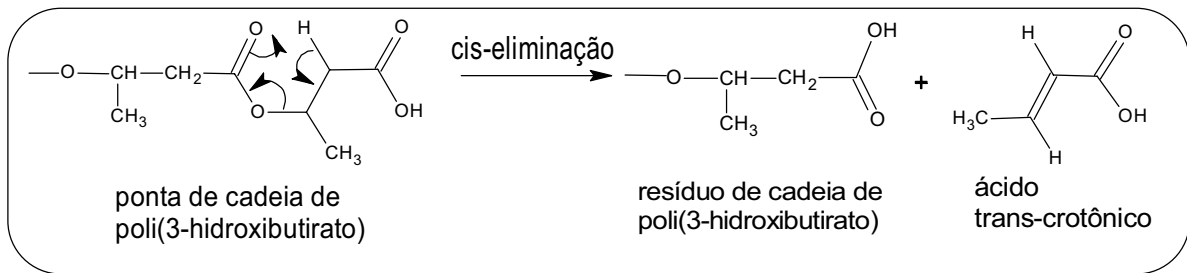


Figura 2: Representação do mecanismo da reação de decomposição térmica do PHB via cis-eliminação com formação do ácido trans-crotônico^{29 30}.

A cristalinidade global do PHB compreende uma ampla faixa entre 50 e 80 %. O elevado grau de cristalinidade do poli(3-hidroxi-4-metilbutirato), se deve à regularidade do processo fermentativo na produção do PHB. A cristalinidade de polímeros semicristalinos apresenta-se como um dos mais importantes fatores a ser considerado na caracterização polimérica.

Sabendo que a cristalinidade afeta os parâmetros mecânicos, físico-químicos e ópticos do polímero, muitos pesquisadores têm se dedicado a estudar tais propriedades por meio da análise térmica, (Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Análise Térmica Diferencial (DTA), Análise Termogravimétrica (TG)), e de técnica Microscópicas, por Difração de Raio-X (XRD), Ensaio Mecânicos, entre outras^{31 32 33 34 35 36 37 38 39}. Quando irradiado por raios gama, a cristalinidade do PHB diminui, principalmente devido as quebras de cadeia que ocorrem no polímero⁴⁰.

De modo geral os esforços vêm sendo direcionados no estudo da cristalinidade: influência nas propriedades do PHB e formação de misturas poliméricas para diminuir a fração cristalina do PHB.

Na composição de misturas poliméricas estudos mostram a dificuldade de obter as mesmas, mesmo que se apresentem miscíveis no estado fundido ocorre segregação de fases quando resfriado. Empregando-se polímero amorfo na composição de misturas poliméricas com PHB ocorre uma diminuição da fração cristalina, porém o PHB cristaliza segregando a fase amorfa. Os estudos mostram que não há modificação da estrutura cristalina do PHB, ou seja, pode haver interferência na velocidade de cristalização e/ou no tamanho dos cristalitos, no entanto não há evidências de que seja

provocada uma modificação do mecanismo e geometria morfológica dos cristais de PHB³¹⁻³⁵.

A possibilidade de modificar estruturalmente o PHB levando a uma ramificação das cadeias poliméricas tem sido estudadas. Desta forma a cristalização do PHB pode ser dificultada e com isso obter o biopolímero com melhores propriedades mecânicas. Em estudo empregando cinética não isotérmica com avaliação segundo o método proposto por Avrami^{41 42 43}, tem sido apresentada a possibilidade de haver influência significativa do modificador de cadeia no processo de cristalização do PHB, podendo ocorrer alteração no mecanismo da reação.

Durante o “5th International Symposium on Natural Polymers and Composites” realizado em 2004 juntamente com o “8th Brazilian Symposium on the Chemistry of Lignins and other Wood Components” trabalhos apresentados indicaram que a cristalinidade pode ser um dos fatores que restringe aplicações comerciais do PHB, pois limita suas propriedades mecânicas. A idéia apresentada como equacionamento para viabilizar o emprego do PHB em substituição aos plásticos convencionais advindos do petróleo foi a realização de estudos de preparação de misturas poliméricas, dos quais somente em condições especiais pode-se obter composições propriamente homogêneas^{44 45 46 47}.

A preparação de misturas com poli(ϵ -caprolactona) (PCL) tem despertado interesse devido às melhores propriedades do PCL, tais como baixo ponto de fusão (aproximadamente 55 °C), elevada estabilidade térmica (aproximadamente 270 °C) e por ser de natureza biodegradável⁴⁸.

Porém as misturas PHB/PCL não se mostram totalmente miscíveis quando preparadas por mistura física, com isso os métodos de preparação de misturas poliméricas em solução tem possibilitado a obtenção de composições parcialmente miscíveis^{44 46}. Métodos de preparação de misturas não convencionais tem sido propostas com o propósito de se conseguir misturas com miscibilidade mais elevada, tal como a utilização de moinho de bolas, no qual as amostras dos polímeros com proporções adequadas são agitadas, sem a utilização de solventes ou mesmo de altas temperaturas.

Em misturas poliméricas de PHB com PCL (poli(ϵ -caprolactona)), preparadas em solução com evaporação do solvente, observou-se diminuição da estabilidade térmica independente da composição das mesmas, ao longo do tempo de degradação. As curvas TG apresentam duas etapas de perda de massa uma de menor estabilidade referente ao PHB com temperatura de perda de massa em 278,8 °C, e outra de maior estabilidade referente ao PCL com temperatura de perda de massa em 415,2 °C. As porcentagens de perda de massa das misturas submetidas às condições de degradação térmica demonstram que o PHB degrada mais rapidamente que o PCL⁴⁹.

Misturas poliméricas de PHB com copoliésteres alifáticos aromáticos não apresentam estabilidade térmica maiores que a do PHB puro e também apresentam etapas de perda de massa distintas nas curvas TG, uma referente ao PHB e outra ao copoliéster⁵⁰.

Reações de transesterificações empregadas com poliésteres aromáticos amorfos, os quais possuem excelentes propriedades mecânicas e com isso uma acentuada estabilidade à biodegradação, tem sido apresentadas. Os resultados obtidos mostraram que houve uma miscibilidade também parcial das misturas PHB/PETG (PETG – poli(tereftalato de etileno-co-tereftalato de 1,4-dimetanol-ciclohexano)) fazendo uso de catalisadores a base de estanho.

A baixa estabilidade térmica do PHB mostra a necessidade de buscar uma adequação do material às condições de processamento, sem perdas significativas das propriedades intrínsecas do polímero.

Desta forma a utilização de aditivo com o intuito de aumentar o intervalo de processamento tem sido apresentada³⁶⁻³⁷. Além de estudo de biodegradabilidade os trabalhos citados mostram avaliação de propriedades mecânicas do PHB, copolímero poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) e PCL, isolados e na presença de várias proporções de amido. As propriedades mecânicas tiveram perdas substanciais, o que inviabilizaria o uso deste aditivo para aumentar o intervalo de processamento, principalmente do PHB e PHB-co-HV, já que o PCL apresenta uma ampla faixa de temperatura favorável ao processamento, tal como foi citado, o PCL tem sido utilizado na preparação de misturas poliméricas com PHB.

Entre outros aditivos utilizados como modificador de cadeia do PHB, estão os polióis. Em estudo comparativo com glicerol e polietileno glicol na presença de catalisador, observou-se que a degradação com polietileno glicol possui velocidade maior que com glicerol, formando-se oligômeros de PHB com vários grupos de hidroxilas reativas livres nos finais de cadeia, as quais poderiam ser usadas em uma próxima etapa para reações de extensão de cadeia⁵¹. Em trabalho avaliando misturas de PHB com várias proporções de polietileno glicol os autores observaram que não há alteração da estabilidade térmica das misturas, todavia o aumento de polietileno glicol reduz a resistência à tração e aumenta o alongamento à quebra em relação ao PHB puro⁵².

O polietileno glicol também pode ser incorporado ao PHB para formar copolímeros utilizando-se isocianatos⁵³ e di-isocianato hexametileno⁵⁴, resultando em boas propriedades de resistência, durabilidade e biodegradabilidade, quando preparado com isocianato forma fases cristalinas com porcentagens cristalizadas menores que as do PHB puro.

O PHB apresenta peso molecular relativamente baixo quando comparado com o polipropileno. Quando submetido às mesmas condições de processamento em extrusora os materiais plásticos de PHB são mais quebradiços, apresentam menor resistência ao impacto e compressão dinâmica, uma vez que o PHB apresenta-se mais rígido e menos flexível, porém, estas características não impedem o PHB de ser utilizado para estocar produtos gordurosos em freezers e microondas⁵⁵.

Plásticos para embalar ou armazenar alimentos a base de PHB apresentam biodegradabilidade em qualquer meio, dependendo das condições o tempo pode variar podendo chegar a alguns meses, mas degrada-se totalmente sempre que descartado o material em ambiente favorável⁵⁶.

Misturas poliméricas utilizando PHB com farinha de madeira⁵⁷ e lignina⁵⁸ são opções para obter misturas que mantêm a propriedade de biodegradabilidade e utilizam matérias primas disponíveis na natureza. Em misturas utilizando farinha de madeira, observou-se que a adição de pequenas porcentagens deste componente implica em misturas que absorvem mais umidade e que sob condições de tempo prolongado de armazenamento de água e produtos químicos são pouco resistentes. A lignina não

apresenta boa interação com o PHB-co-PHV e a mistura polimérica perde em termos de tração e flexão, apesar desta apresentar propriedades térmicas muito semelhantes às do PHB puro.

A interferência de plastificantes na decomposição térmica do PHB foi investigada pelo comportamento da fusão por DSC. Baseado nos picos endotérmicos da fusão cristalina do PHB puro e contendo plastificantes, foi discutida a influência na estabilidade térmica de acordo com tratamentos térmicos em diferentes temperaturas. Os resultados apresentados mostram que a presença dos plastificantes, glicerol e acetato de glicerol e/ou qualquer tratamento térmico acima da fusão do material afeta a estabilidade do PHB, o que foi verificado determinando-se a massa molar no pico (M_p) do cromatograma, por Cromatografia de Permeação em Gel (GPC). Em estudo utilizando citrato de acetil tributílic como agente plastificante em filmes de PHB, observa-se a partir de curvas DSC diminuição na temperatura de fusão, mas sem influência significativa na cristalinidade enquanto que a degradação térmica inicia-se em temperaturas inferiores comparado com o PHB puro⁵⁹.

Estudos de otimização e validação de método cromatográfico para determinação da proporção de HB tem sido apresentado⁶⁰. A análise consiste de hidrólise em meio ácido, seguida de esterificação com metanol, assim os ésteres 3-hidroxibutirato de metila, derivado do PHB e benzoato de metila empregado como padrão interno (PI) obtido da esterificação do ácido benzóico e analisados por Cromatografia Gasosa com detector de ionização em chama (GC-FID) como forma de avaliação da pureza monomérica do PHB.

2.2. DETERMINAÇÃO DE GRUPAMENTOS ÁCIDOS TERMINAIS

Os grupamentos ácidos terminais da cadeia polimérica do PHB são indicações de sítios ativos de possíveis interações com anidrido maleico que podem levar à incorporação de unidades do extensor de cadeia ou mesmo transesterificação. Determinações do índice de acidez, indicativo de grupos ácidos livres, são realizadas empregando-se método teste padrão de acordo com a designação D1639 da *American Society for Testing and Materials* (ASTM) para poliésteres, em que uma massa

conhecida de polímero pode ser titulada com hidróxido de potássio usando fenolftaleína como indicador⁶¹.

O índice de acidez permite relacionar os grupos ácidos terminais encontrados com o número de cadeias presentes e a qualidade de resinas poliésteres que podem ser submetidas à reações⁶². O cálculo do índice de acidez (IA) pode ser realizado aplicando a Equação 1.

$$\text{Equação 1: } IA = \frac{56,1VM}{m},$$

onde V, M e m são respectivamente volume (mL) de KOH necessário para neutralizar os grupamentos carboxílicos livres do PHB, concentração (mg mL⁻¹) da solução de KOH e a massa (g) de PHB. Expressa-se o valor de IA em miligrama de KOH por grama de PHB.

2.3. PLANEJAMENTO E OTIMIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS

Quando se deseja estudar a influência de uma ou mais variáveis em um ensaio de interesse, realizar vários experimentos pode se tornar trabalhoso, com gasto de energia e reagentes. O planejamento fatorial⁶³ reduz o número de experimentos e permite avaliar muitas variáveis simultaneamente com confiabilidade estatística dos resultados. Para o planejamento dos experimentos, precisa-se determinar quais são os fatores e as respostas de interesse para o sistema que se deseja estudar. Necessita-se definir os objetivos a serem alcançados com os experimentos, pois isso determinará o tipo de planejamento experimental que deve ser utilizado.

Em um planejamento fatorial são investigadas as influências de todas as variáveis experimentais de interesse e os efeitos de interação na resposta ou respostas. Se a combinação de k fatores for investigada em dois níveis, um planejamento fatorial consistirá de 2^k experimentos. Normalmente, os níveis dos fatores quantitativos (concentração de uma substância, valores de pH, etc.) são nomeados pelos sinais – (menos) para o nível mais baixo e + (mais) para o nível mais alto, porém o importante está na relação inicial entre o sinal dado e o efeito obtido, não sendo um critério definido a nomeação dos sinais. Para fatores qualitativos (tipos de ácidos, tipos de

catalisadores, etc.), como não existem valores altos ou baixos, fica a critério do pesquisador nomear os seus níveis.

Dentro deste planejamento de experimentos o planejamento fatorial de dois níveis tem grande utilidade em investigações preliminares, quando se deseja saber se determinados fatores têm ou não influência sobre a resposta de interesse⁶⁴. Para executar um planejamento fatorial especifica-se os fatores ou variáveis a serem analisadas e os níveis em que cada fator será estudado, geralmente estes níveis são classificados em alto e baixo.

Quando se trabalha com três variáveis em dois níveis diferentes, há oito possibilidades de combinações. Estes oito experimentos terão o número total de oito combinações de três variáveis em dois níveis diferentes. Quando 8 igual a 2^3 , denomina-se experimento fatorial 2^3 ⁶⁵. A Tabela 1 apresenta as possíveis combinações para o experimento fatorial 2^3 .

Os ensaios estão dispostos na Tabela 1 na chamada ordem padrão. Todas as colunas começam com o nível (-) e depois os sinais vão-se alternando. Um a um na primeira coluna, - + - + ..., depois dois a dois, - - + + ..., e finalmente quatro sinais negativos e quatro sinais positivos, na terceira coluna⁶⁶.

Tabela 1: Possíveis combinações para três variáveis em dois níveis

EXPERIMENTO	VARIÁVEL A	VARIÁVEL B	VARIÁVEL C
1	Baixo	Baixo	Baixo
2	Alto	Baixo	Baixo
3	Baixo	Alto	Baixo
4	Alto	Alto	Baixo
5	Baixo	Baixo	Alto
6	Alto	Baixo	Alto
7	Baixo	Alto	Alto
8	Alto	Alto	Alto

Para avaliar a significância de cada variável são escolhidas respostas que podem ser rendimentos de reação, porcentagem de degradação de um material de interesse, por exemplo, a degradação do corante Laranja Reativo 16 por processo de oxidação ou de resíduo industrial por processo oxidativo avançado⁶⁷.

Com as respostas determina-se se cada variável estudada tem ou não influência no estudo realizado. Com os efeitos constrói-se o modelo matemático que possibilita simular valores de respostas no intervalo estudado. O modelo matemático pode ser representado de forma generalizada em termos de polinômios mais simples, com apenas termos lineares. Para um exemplo com três variáveis, x_1 , x_2 e x_3 , teríamos o seguinte modelo representado pela Equação 2:

$$\text{Equação 2} \quad Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + e$$

O coeficiente b_0 corresponde ao valor populacional da média de todas as respostas obtidas, b_1 , b_2 e b_3 são os coeficientes (efeitos) relacionados com as variáveis x_1 , x_2 e x_3 , respectivamente, e indica o erro aleatório do modelo e Y o valor da resposta simulada.

Recomenda-se que os experimentos sejam realizados de modo aleatório. Quando são realizados experimentos de todas as possíveis combinações dos níveis dos fatores, realiza-se um planejamento fatorial completo.

Na literatura^{65 66 68} há diferentes métodos para se avaliar efeitos e coeficientes significativos; entre os mais usados destaca-se a análise de variância (ANOVA), o gráfico de probabilidade normal (distribuição normal) e a comparação de efeitos com uma medida independente da variabilidade e as avaliações de significância para a decisão estatística com o emprego do teste t (distribuição de Student).

Neste trabalho utilizou-se o planejamento fatorial 2^3 , onde as variáveis concentração de catalisador, tempo e temperatura de reação foram estudadas em dois níveis diferentes. O teste t foi empregado para avaliar a significância das variáveis.

A significância de cada variável representa a influência de propriedades térmicas medidas por TG-DTA e DSC (utilizadas como respostas no planejamento) nos filmes de PHB modificados por anidrido maleico.

3. OBJETIVOS

Estudar as possíveis alterações ocorridas na estrutura do poli(3-hidroxi-butilato) (PHB) quando em presença de anidrido maleico (AM) e catalisador (amina terciária). Analisar as condições de reação através de planejamento fatorial.

Obter um produto (PHB modificado) com melhores propriedades físico-químicas e mecânicas, visando o processamento do material para as diversas áreas de aplicações potenciais.

Determinar o índice de acidez do PHB por titulação ácido-base para obtenção de informações de grupamentos ácidos livres, considerados como sítios potenciais de reação com anidrido maleico.

Determinar a pureza de monômeros 3-hidroxi-butilato presentes no PHB empregando método de cromatografia gasosa.

Preparar amostras com proporção constante de PHB e anidrido maleico, porém com diferentes concentrações de catalisador e promover a reação de esterificação/transesterificação em condições variadas de tempo e temperatura. Submeter os produtos da reação à formação de filmes por evaporação do solvente.

Realizar estudo por DSC e TG-DTA do comportamento térmico dos filmes previamente preparados. Empregando Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) determinar a temperatura: a) de fusão cristalina; b) de transição vítrea; c) de cristalização; d) a fração cristalizada dos filmes poliméricos.

Usando Análise Térmica Diferencial (DTA) simultânea à Análise Termogravimétrica (TG) estudar as etapas do processo: a) o teor de solvente residual; b) temperatura de estabilidade térmica dos filmes; c) formação do composto PHB/AM.

Avaliar as condições da reação de modificação de cadeia do PHB com anidrido maleico considerando os resultados obtidos por DSC e TG-DTA fazendo tratamento estatístico de acordo com Análise Fatorial de Experimentos.

Definir a condição reacional mais adequada para promover a modificação da estrutura da cadeia do PHB na presença de proporções de anidrido maleico compreendidas entre 0 e 20 %.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. MATERIAIS

O PHB na forma de grânulos fornecido pela PHB Industrial (Serrana, SP) foi produzido industrialmente por rota biossintética a partir de sacarose invertida.

O PHB proveniente da Sigma-Aldrich foi utilizado como padrão.

Anidrido maleico (pa) com massa molecular de $98,06 \text{ g mol}^{-1}$ e 99 % pureza provêm da Merck e o catalisador trietilamina possui massa molecular de $101,19 \text{ g mol}^{-1}$ (Vetec) e pureza de 99 %.

Álcool isoamílico (pa) com massa molecular de $88,15 \text{ g mol}^{-1}$ e 98,5 % de pureza (Vetec). Ácido benzóico com massa molecular de $122,12 \text{ g mol}^{-1}$ pureza 99,5 % (Quimex). Ácido clorídrico grau analítico 37 % (Mallinckrodt). Hidróxido de potássio de massa molecular $56,11 \text{ g mol}^{-1}$, pureza 87,8 % (Mallinckrodt).

Acetona com massa molecular de $58,08 \text{ g mol}^{-1}$ e 99,5 % de pureza (Merck).

Álcool etílico com massa molecular de $46,02 \text{ g mol}^{-1}$, 98 % pureza, (Vetec).

Ftalato ácido de potássio $204,22 \text{ g mol}^{-1}$, 99 % de pureza (Synth).

4.2. INSTRUMENTOS

4.2.1. BALANÇA

Balança Metler Toledo Modelo AG245 com sensibilidade de 0,01 mg.

4.2.2. ESTUFA

Estufa Tecnal Modelo TE-394/2 com circulação e renovação de ar.

4.2.3. BANHO DE AQUECIMENTO

Banho de aquecimento Tecnal Modelo Te-800.

4.2.4. MESA AGITADORA

Mesa agitadora Marconi modelo MA-141.

4.2.5. SDT 2960 - SIMULTANEOUS DTA – TGA

Módulo de análise térmica simultâneo, SDT 2960, da TA Instruments, capaz de operar da temperatura ambiente até 1500 °C. Os termopares para amostra e referência são de Pt-Pt/Rh 13 %, com sensibilidade da balança de 0,1 µg e precisão de ± 1 %, capacidade de peso de 200 mg (350 mg incluindo os cadinhos), sensibilidade ΔT (DTA) de 0,001 °C. Calibrou-se o sistema com relação ao peso TGA, linha base DTA e temperatura (usando aproximadamente 7 mg de índio de alta pureza). Utilizam-se cadinhos de alumina e como material de referência α -alumina.

4.2.6. DSC 2910 - CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL

Módulo DSC 2910 da TA Instruments, capaz de operar de -150 a 725 °C. Os termopares diferenciais são de cromel-constantan e o termopar da amostra de cromel-alumel com precisão calorimétrica de 1 %, precisão de temperatura ± 0,1 °C, reprodutibilidade de temperatura de ± 0,05 °C, razão de aquecimento programável de 0,01 a 200 °C min⁻¹, sensibilidade máxima de 0,2 µW, tamanho de amostra variando de 0,5 a 100 mg, volume de amostra de 10 µL. Calibrou-se o sistema com relação à linha base e a temperatura (padrão índio de alta pureza).

4.2.7. CROMATÓGRAFO A GÁS

Cromatógrafo a gás modelo CP-3380 da VARIAN equipado com injetor 1177 (“*split-splitless*”) coluna zbwax (30 m x 0,53 mm x 1 μ m) e detector de ionização em chama (FID).

4.3. CONDIÇÕES E PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

4.3.1. PURIFICAÇÃO DO PHB

Aproximadamente 120 g de PHB foi lavado com 300 mL de acetona, em um sistema de filtração sob vácuo. O polímero foi seco em estufa com circulação e renovação de ar à 40 °C durante 18 horas.

4.3.2. PLANEJAMENTO DOS EXPERIMENTOS

Os experimentos foram planejados utilizando-se três fatores (variáveis): temperatura, tempo e concentração de catalisador em dois níveis classificados como alto e baixo. A Tabela 2 apresenta os valores para cada fator e cada nível.

Tabela 2: Níveis das variáveis utilizadas para o planejamento fatorial

VARIÁVEIS DE PROCESSO	NÍVEL ALTO (+)	NÍVEL BAIXO (-)
Temperatura da reação	110 °C	60 °C
Tempo de reação	4 horas	1 hora
Concentração de catalisador	10 % (v/v)	5 % (v/v)

Os experimentos foram realizados de maneira aleatória de acordo com os níveis para cada variável, seguindo a descrição apresentada na Tabela 3.

Tabela 3: Combinações para as variáveis utilizadas na realização dos experimentos

EXPERIMENTO	TEMPERATURA (°C)	TEMPO (horas)	CATALISADOR (% v/v)
1	60	1	5
2	110	1	5
3	60	4	5
4	110	4	5
5	60	1	10
6	110	1	10
7	60	4	10
8	110	4	10

Estas condições foram utilizadas para promover a reação de modificação de cadeia do PHB com anidrido maleico e para análise por TG-DTA e DSC foram preparados filmes das amostras.

4.3.3. PREPARAÇÃO DE FILMES DE PHB/AM 90/10 NA PRESENÇA DE CATALISADOR

Para otimização das condições da reação de modificação de cadeia do PHB com anidrido maleico foram preparados filmes contendo proporções fixas de PHB/anidrido maleico (90/10 % m/m) de modo a avaliar as condições adequadas de concentração de catalisador (5 e 10 % v/v), temperatura no intervalo de 60 a 110 °C e tempo de reação entre 1 e 4 horas.

Grânulos de PHB (180 mg) foram solubilizados em 3 mL de clorofórmio em frascos de borosilicato com vedação de *Teflon*[®] (totalmente vedados). Os frascos foram aquecidos durante 10 minutos em banho de areia (100 °C) e posteriormente foram mantidos a 90 rotações por minuto (RPM) durante 20 horas à temperatura ambiente.

Anidrido maleico (20 mg) foi dissolvido em 1 mL de clorofórmio e aquecido a temperatura de 100 °C durante 10 minutos. Após o resfriamento, a solução de anidrido maleico foi transferida para o frasco contendo a solução de PHB, de modo a preparar vários filmes com 10 % de anidrido.

Determinadas concentrações do catalisador foram adicionadas e os frascos foram aquecidos em diferentes temperaturas e tempos de reação, como descrito no item 4.3.2, (Tabela 2).

Posteriormente, as soluções foram transferidas para placas de petri que foram mantidas abertas em capela sem exaustão durante 24 horas para evaporação dos componentes voláteis e conseqüente formação dos filmes.

A Figura 3 apresenta um esquema simplificado para o procedimento de preparação dos filmes de proporção fixa PHB/AM 90/10.

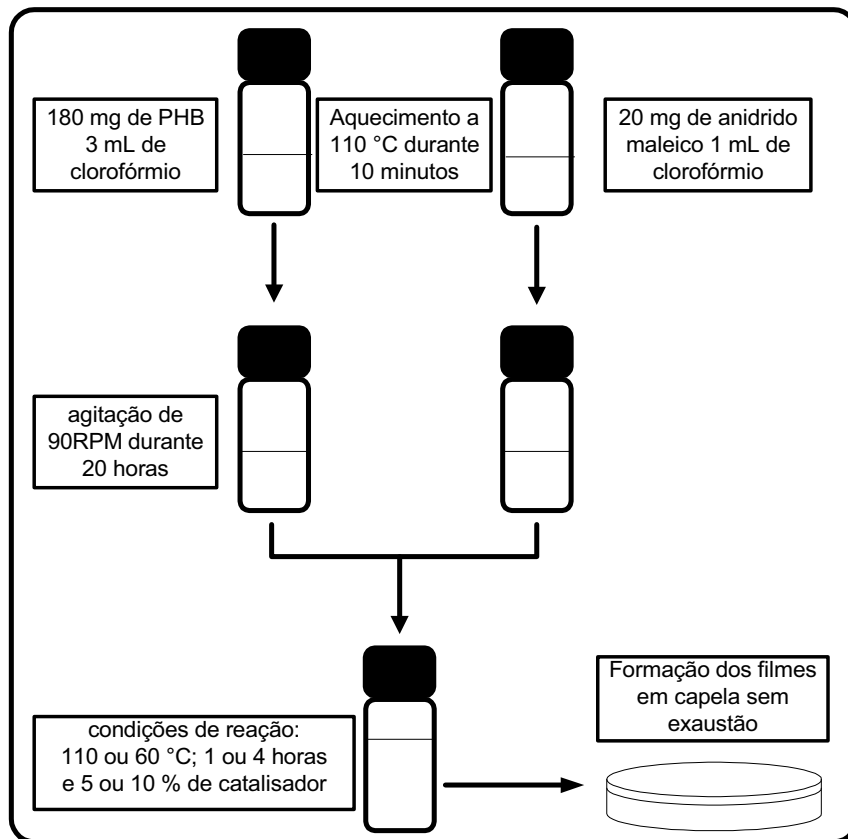


Figura 3: Esquema simplificado do procedimento de preparação dos filmes

4.3.4. PREPARAÇÃO DE FILMES DE PHB/AM NA AUSENCIA DE CATALISADOR

Preparou-se filmes de PHB homopolímero e PHB/AM (90/10), de acordo com as condições citadas no item 4.3.3, no entanto sem a adição de catalisador e aqueceu-se durante 4 horas a uma temperatura de 110 °C.

4.3.5. PREPARAÇÃO DE FILMES DE PHB/AM EM DIFERENTES PROPORÇÕES NA PRESENÇA DE CATALISADOR

Para a preparação dos filmes de PHB/AM em diversas proporções utilizou-se o mesmo procedimento de preparação dos filmes de PHB/AM descrito no item 4.3.3. As proporções de PHB/AM foram variadas como apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4: Diferentes proporções de PHB e AM nos filmes preparados

FILME	PROPORÇÃO DE PHB (%)	PROPORÇÃO DE AM (%)
1	80	20
2	93	07
3	95	05
4	97	03
5	99	01

Um volume de 200 µL de trietilamina (concentração de 5 % v/v) foram adicionados aos frascos mantendo-os à temperatura de 110 °C durante 1 hora.

Filmes de PHB puro, PHB/catalisador, anidrido puro e anidrido/catalisador foram preparados conforme o procedimento descrito para a preparação dos filmes de PHB/AM (item 4.3.3).

4.3.6. PREPARAÇÃO DE FILMES COM ADIÇÃO INVERSA DE REAGENTES

Preparou-se filmes PHB/AM seguindo o mesmo procedimento descrito no item 4.3.3, mas alterando-se a ordem de adição dos reagentes. Adicionou-se trietilamina à solução de anidrido maleico e depois à de PHB. Utilizou-se volumes de catalisador (trietilamina) de 5 % (v/v) e volumes equimolar em relação ao anidrido maleico.

As proporções dos filmes PHB/AM e os volumes de catalisador utilizados estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Filmes de PHB/AM preparados com a adição inversa dos reagentes

AMOSTRAS	Volume de catalisador (μL)
80/20	200 (5 % v/v)
80/20	50
93/07	200 (5 % v/v)
93/07	20

4.3.7. DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE ACIDEZ DO PHB

Solubilizou-se 3 g de granulos de PHB puro em 50 mL de clorofórmio mantendo-se durante 10 minutos em banho de aquecimento com areia (120 °C), seguida de agitação de 90 RPM durante 20 horas a temperatura ambiente.

Adicionou-se algumas gotas de fenolftaleína à solução polimérica.

Preparou-se uma solução 0,1 mol L⁻¹ de KOH em etanol, padronizou-se com ftalato ácido de potássio e titulou-se em triplicata a solução polimérica.

4.3.8. ESTUDO DE COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS FILMES DE PHB/AM

4.3.8.1. Análises simultâneas empregando Análise Termogravimétrica (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA)

Aqueceram-se cadinhos de alumina abertos para amostras de filmes de PHB/anidrido maleico (aproximadamente 10 mg) e referência (α -alumina) com razão de aquecimento de $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ desde 40 até $450\text{ }^{\circ}\text{C}$ sob atmosfera inerte (N_2) com vazão de 50 mL min^{-1} .

4.3.8.2. Análise empregando Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Empregou-se DSC para a determinação da temperatura de transição vítrea (T_g), temperatura de cristalização (T_c), temperatura de fusão cristalina (T_m) e a partir do valor da entalpia obtida para a T_m calculou-se a fração cristalizada do PHB, utilizando-se como valor de referencia para o PHB 100 % cristalino 146 J g^{-1} ^{37 60}.

Amostras dos filmes foram analisadas por DSC em duas programações de aquecimento e resfriamento. O primeiro aquecimento das amostras foi realizado desde 40 até $195\text{ }^{\circ}\text{C}$ com razão de aquecimento de $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e em $195\text{ }^{\circ}\text{C}$ mantém-se durante 5 minutos. Em seguida, resfria-se bruscamente com nitrogênio líquido desde 195 até $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$. O segundo aquecimento das amostras de filmes de PHB/anidrido maleico foi realizado com razão de aquecimento de $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ desde -50 até $200\text{ }^{\circ}\text{C}$.

As amostras foram analisadas em cadinho de alumínio aberto e selado para os filmes de PHB/AM na proporção 90/10 e com cadinho selado para os filmes de PHB com várias proporções de anidrido maleico, com massa de filme em torno de 6 mg, como referência um cadinho de alumínio vazio. Empregou-se atmosfera inerte de N_2 com vazão de 50 mL min^{-1} .

4.3.9. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE PHB E ANIDRIDO MALEICO POR GC-FID

Uma solução reagente foi preparada adicionando 80 mL de álcool isoamílico, contendo 8 % de ácido clorídrico concentrado e 0,12 % (m/v) de ácido benzóico. Após homogeneização, a solução foi transferida para frasco âmbar que foi mantido sob refrigeração (entre 0 e 4 °C).

Em frascos (8 mL) foram pesados grânulos do padrão de PHB (Sigma-Aldrich) e adicionados 3 mL de solução reagente. Após aquecimento de 100 °C em banho de areia durante 4 horas as amostras foram resfriadas rapidamente em banho de água durante 10 minutos. Após adição de 3 mL de água deionizada e agitação manual vigorosa, os frascos foram mantidos em repouso (1 hora) para separação das fases.

Alíquotas de 1,0 µL foram diretamente injetadas no GC-FID para separação na coluna ZBWAX e detecção por FID. Utilizou-se o sistema de injeção (Injetor 1177) no modo *splitless*, portanto sem divisão de amostra.

As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 230 °C e 260 °C, respectivamente. A coluna foi aquecida de 90 a 220 °C com razão de 8 °C min⁻¹ e isoterma em 220 °C durante 3 minutos. A sensibilidade do detector foi mantida no valor máximo (range 11).

As amostras de filmes de PHB/anidrido maleico foram submetidas ao mesmo tratamento de preparação dos padrões, utilizando-se massa em torno de 0,018 g. Alíquotas (1 µL) da fase orgânica foram analisadas por GC-FID e a quantificação dos ésteres isoamílicos dos monômeros de PHB e maleato de isoamíla (derivado de anidrido maleico) foi realizada a partir da curva de resposta por comparação com os padrões.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. ESTUDO DE COMPORTAMENTO TÉRMICO EMPREGANDO TG-DTA E DSC

5.1.1. ESTUDO DE COMPORTAMENTO TÉRMICO DE PHB PURO, FILME DE PHB/AM (90/10) E ANDRIDO MALEICO NA AUSENCIA DO CATALISADOR EMPREGANDO ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TG) E ANÁLISE TÉRMICA DIFERENCIAL (DTA)

Para avaliação da modificação de cadeia do PHB com anidrido maleico estudou-se o comportamento térmico de filmes de PHB na presença de anidrido maleico (PHB/AM) sem a adição de catalisador e PHB homopolímero, os quais foram preparados de acordo com o procedimento experimental descrito no item 4.3.3.

As curvas TG-DTA do comportamento térmico de amostras de filmes de PHB/AM e de PHB puro (homopolímero) estão apresentadas na Figura 4. A curva TG (Figura 4) mostra o comportamento térmico do PHB puro com uma única e completa etapa de degradação térmica entre 270 e 330 °C, que corresponde ao pico endotérmico em 310 °C da curva DTA (Figura 4), além desta apresentar o pico indicativo da fusão do PHB homopolímero em 178 °C.

As curvas TG-DTA para o comportamento térmico do anidrido maleico estão apresentadas na Figura 5. Os picos endotérmicos da curva DTA apresentados na Figura 5, em 57,1 °C e 150,6 °C são respectivamente atribuídos à fusão e volatilização do anidrido maleico. A curva TG (Figura 5) obtida indica a volatilização do anidrido maleico em apenas uma etapa.

A curva TG (Figura 4) para o filme de PHB/AM apresenta três etapas de perda de massa, sendo que a primeira no intervalo de temperatura de 125 a 180 °C correspondente a 6,4 % indicando a volatilização residual de anidrido maleico e de solvente utilizado na preparação do filme.

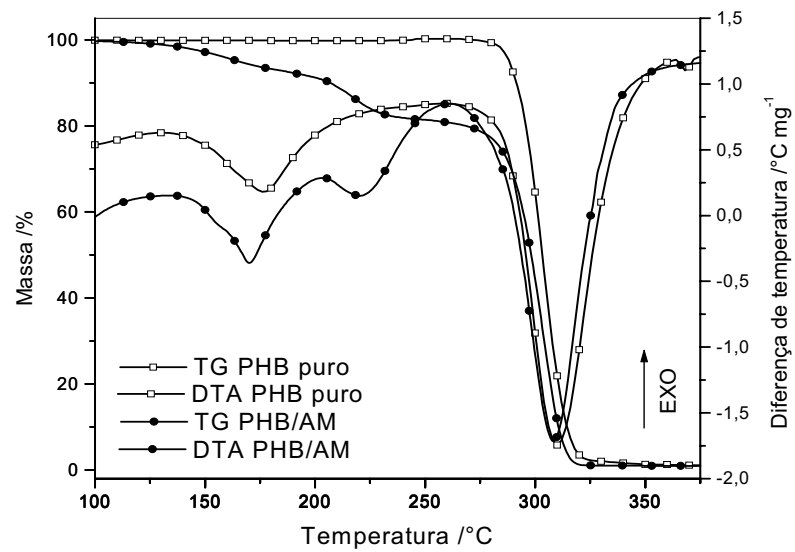


Figura 4: Curvas TG-DTA do comportamento térmico do PHB puro e de PHB/AM (90/10 %) com razão de aquecimento de $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$, atmosfera de N_2 (50 mL min^{-1}) e massa de aproximadamente 10 mg.

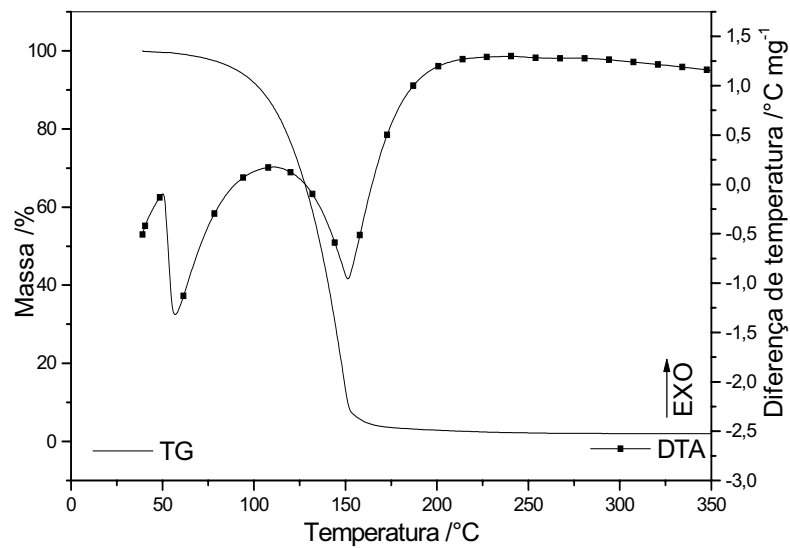


Figura 5: Curvas TG-DTA do comportamento térmico do anidrido maleico com razão de aquecimento de $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$, massa de aproximadamente 6 mg em cadinho de alumina aberto e atmosfera de N_2 (50 mL min^{-1}).

A terceira etapa de perda de massa (79,5 %) no intervalo de 260 a 325 °C para o filme de PHB/AM (Figura 4) equivale a decomposição térmica de PHB.

A etapa intermediária de perda de massa (11,3 %) no intervalo de 180 a 240 °C para o filme de PHB/AM na ausência do catalisador, (Figura 4) pode ser atribuída a parte do polímero modificado com anidrido maleico. O anidrido apresenta estabilidade térmica menor que o PHB e sua presença na cadeia do polímero resulta em uma estrutura com estabilidade térmica intermediária.

5.1.2. ESTUDO DE COMPORTAMENTO TÉRMICO DE FILMES DE PHB/AM (90/10) NA PRESENÇA DO CATALISADOR EMPREGANDO ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TG) E ANÁLISE TÉRMICA DIFERENCIAL (DTA)

A determinação das propriedades térmicas dos filmes de PHB/AM preparados de acordo com o procedimento apresentado na Tabela 3 foi realizada por TG-DTA. Os valores de perda de massa serão parâmetros a serem avaliados no planejamento e otimização dos experimentos.

As curvas TG que ilustram o comportamento térmico dos filmes de PHB/AM estão apresentadas na Figura 6. Os valores em porcentagem das três etapas de perda de massa estão dispostos na Tabela 6.

Os valores de proporção de perda de massa em cada etapa (Tabela 6) indicam que todas as curvas mostradas na Figura 6 para o comportamento térmico dos filmes de PHB/AM são similares.

A utilização de trietilamina como catalisador não modificou o comportamento térmico dos filmes de PHB/AM (Figura 6) comparado com a amostra sem adição de base apresentada na Figura 4 para PHB/AM.

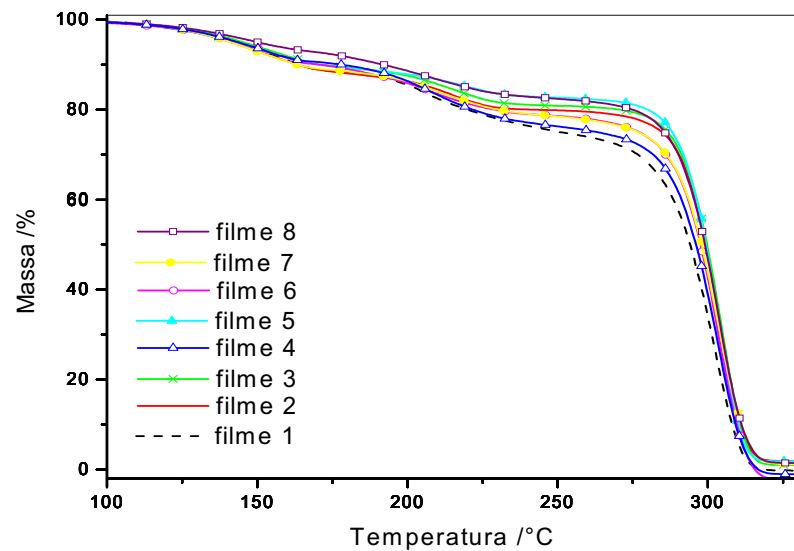


Figura 6: Curvas TG do comportamento térmico dos filmes de PHB/AM 90/10 com razão de aquecimento de $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$, massa em torno de 10 mg e atmosfera de N_2 (50 mL min^{-1}).

Tabela 6: Porcentagem de perda de massa para as respectivas amostras dos filmes de PHB/AM

AMOSTRAS	ETAPAS DE PERDA DE MASSA /%		
	1ª (50 – 185 °C)	2ª (185 – 255 °C)	3ª (255 – 325 °C)
1	10,8	12,1	75,0
2	11,5	7,8	77,5
3	10,0	8,5	80,0
4	8,6	13,9	75,6
5	10,3	6,3	79,8
6	9,4	11,2	80,6
7	10,9	9,7	76,5
8	6,5	10,2	79,8

As curvas DTA que ilustram o comportamento térmico dos filmes de PHB/AM estão apresentadas na Figura 7. Os valores dos eventos térmicos estão dispostos na Tabela 7.

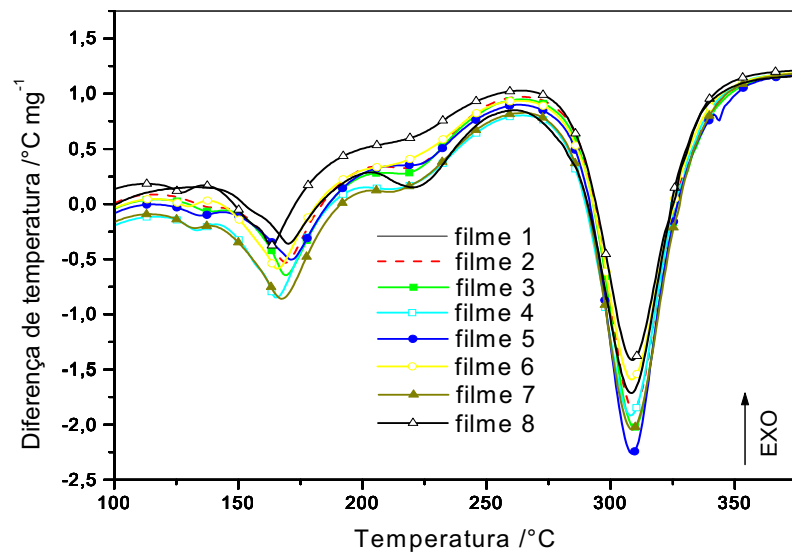


Figura 7: Curvas DTA do comportamento térmico dos filmes de PHB/AM com razão de aquecimento de $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, massa em torno de 10 mg e atmosfera de N_2 (50 mL min^{-1}).

Tabela 7: Temperatura dos respectivos eventos térmicos para as amostras dos filmes de PHB/AM obtidos a partir das curvas DTA

AMOSTRA	TEMPERATURA DO PICO ($^{\circ}\text{C}$)		
	FUSÃO	DECOMPOSIÇÃO DA 2ª ETAPA	DECOMPOSIÇÃO DA 3ª ETAPA
1	169,2	216,5	307,6
2	169,3	223,2	309,0
3	169,5	222,2	319,2
4	165,5	221,0	308,3
5	171,8	224,2	309,0
6	166,3	221,1	308,5
7	168,0	219,4	308,6
8	163,5	221,7	308,5

A Tabela 7 apresenta os resultados das curvas DTA com dois picos endotérmicos principais, um referente a fusão do PHB entre 163 a $172\text{ }^{\circ}\text{C}$ e no intervalo de 307 a $320\text{ }^{\circ}\text{C}$ pico referente à decomposição da terceira etapa de perda de massa.

Nas curvas DTA, observa-se picos endotérmicos anteriores à fusão (no intervalo de 115 a $140\text{ }^{\circ}\text{C}$), sendo pouco pronunciados e indicativos de perda de massa de

anidrido residual e solvente empregado na preparação dos filmes. Os picos compreendidos no intervalo de temperatura de 200 a 240 °C sugerem a perda de massa do composto de PHB modificado estruturalmente com anidrido maleico.

5.1.3. ESTUDO DE COMPORTAMENTO TÉRMICO DE PHB PURO E DE FILMES DE PHB/AM (90/10) NA AUSENCIA DE CATALISADOR EMPREGANDO CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

Os filmes de PHB/AM e PHB homopolímero preparados de acordo com o procedimento experimental apresentado no item 4.3.4 foram analisados por DSC para estudar o comportamento térmico para o primeiro e para o segundo aquecimento. As curvas estão apresentadas na Figura 8.

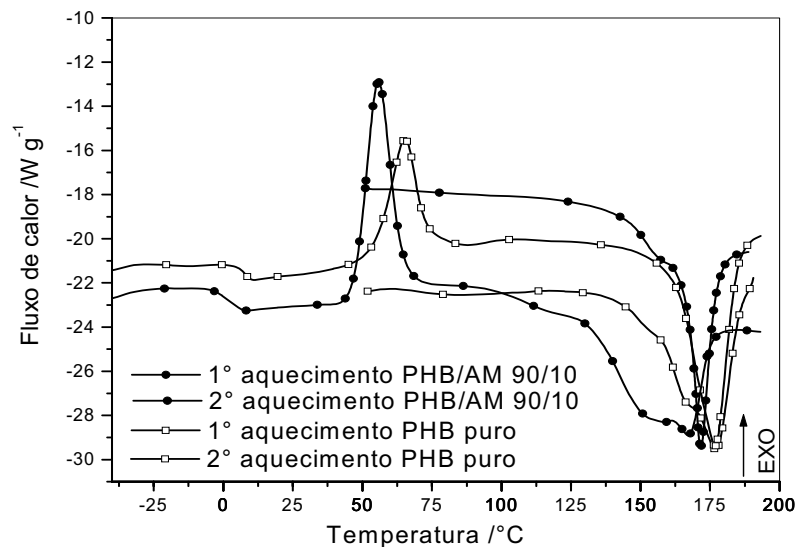


Figura 8: Curvas DSC do primeiro e segundo aquecimento de amostras de filmes de PHB/AM em cadinho aberto, atmosfera de N_2 (50 mL min^{-1}), razão de aquecimento de $20 \text{ }^{\circ}C \text{ min}^{-1}$ e massa de 6 mg. O primeiro aquecimento foi realizado de 40 até $195 \text{ }^{\circ}C$, após resfriamento brusco com N_2 líquido realizou-se o segundo aquecimento de -50 até $200 \text{ }^{\circ}C$.

A curva DSC para o primeiro aquecimento indica que tanto o PHB homopolímero quanto o filme de PHB na presença de anidrido maleico apresentam-se cristalizados, pois não se observa pico exotérmico de cristalização. O pico endotérmico em $176 \text{ }^{\circ}C$ e

172 °C para o PHB homopolímero e PHB/AM respectivamente pode ser atribuído à fusão. Baseando-se no valor de referência 146,0 J g⁻¹ para o polímero de PHB teoricamente 100 % cristalino, calcula-se a porcentagem cristalizada a partir do pico de fusão utilizando-se o valor da entalpia obtido na curva^{37, 60}.

A curva DSC (Figura 8) para o segundo aquecimento foi obtida após resfriamento brusco das amostras com nitrogênio líquido. Observa-se uma variação de linha de base caracterizando a transição vítrea, pico exotérmico que indica cristalização e pico endotérmico de fusão para o PHB homopolímero e PHB/AM.

Com base nas curvas DSC (Figura 8) foram calculados os valores de entalpia de fusão (ΔH_f), porcentagem cristalizada (%crist1) determinada durante o primeiro aquecimento e temperatura de fusão (T_{m1}) a partir da curva do primeiro aquecimento. Para o segundo aquecimento obteve-se os valores de temperatura de transição vítrea (T_g), temperatura de cristalização (T_c), entalpia de cristalização (ΔH_c), porcentagem cristalizada (%crist2) determinada durante o segundo aquecimento e temperatura de fusão (T_{m2}). Estes valores estão apresentados na Tabela 8 e são referentes à análise realizada com cadinho aberto.

Tabela 8: Parâmetros termo analíticos obtidos a partir das curvas de DSC apresentadas na Figura 8 empregando-se cadinho aberto

AMOSTRA	1º AQUECIMENTO			2º AQUECIMENTO				
	$\Delta H_f/\text{Jg}^{-1}$	%crist1	$T_{m1}/^\circ\text{C}$	$T_g/^\circ\text{C}$	$T_c/^\circ\text{C}$	$\Delta H_c/\text{Jg}^{-1}$	%crist2	$T_{m2}/^\circ\text{C}$
PHB/AM	47,1	32,2	171,7	0,7	55,7	42,1	40,3	166,9
PHB	64,7	44,3	176,9	8,1	65,2	36,7	54,1	176,7

Os valores de T_m para o PHB/AM indicam uma possível ramificação de cadeia do PHB com anidrido maleico, pois observou-se menores valores de T_m em relação ao PHB homopolímero. A curva DSC (Figura 8) para o PHB/AM mostra pico de fusão mais alargado devido à provável presença de cadeias de PHB as quais foram incorporadas moléculas de anidrido maleico.

5.1.4. ESTUDO DE COMPORTAMENTO TÉRMICO DE FILMES DE PHB/AM (90/10) NA PRESENÇA DE CATALISADOR EMPREGANDO CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

As amostras dos filmes foram analisadas por DSC. A Figura 9 e Figura 10 apresentam as curvas DSC de comportamento térmico dos filmes para o primeiro e segundo aquecimento respectivamente, em cadinho selado.

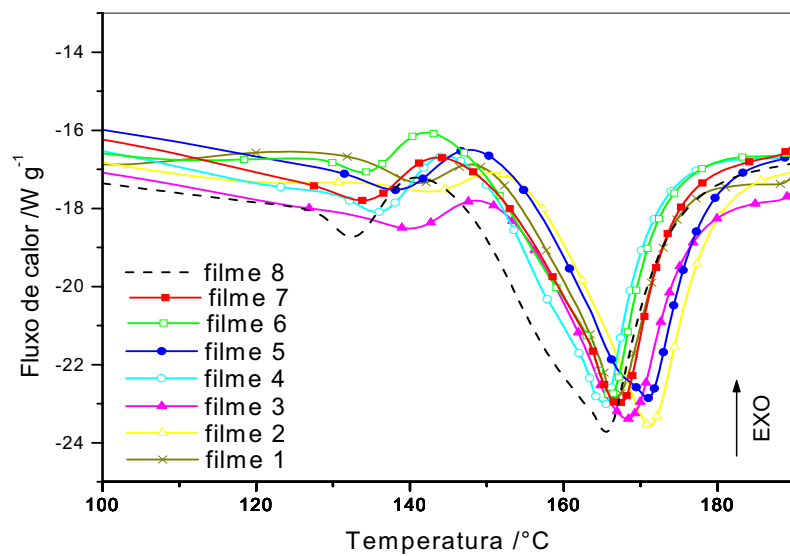


Figura 9: Curvas DSC do primeiro aquecimento de amostras dos filmes de PHB/AM 90/10 em cadinho selado, atmosfera de N_2 (50 mL min^{-1}), razão de aquecimento de $20 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ e massa de 6 mg. O primeiro aquecimento foi realizado de 40 até $195 \text{ }^\circ\text{C}$.

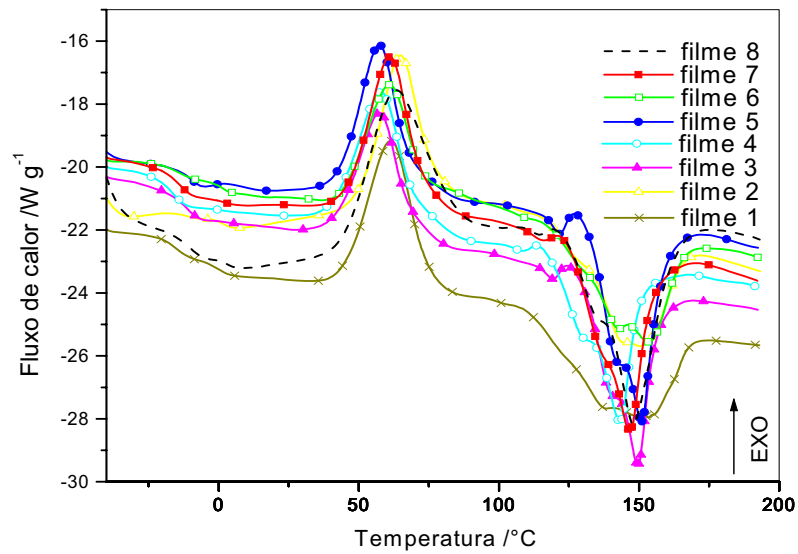


Figura 10: Curvas DSC do segundo aquecimento das amostras dos filmes de PHB/AM 90/10 em cadinho selado, atmosfera de N_2 (50 mL min^{-1}), razão de aquecimento de $20 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ e massa de 6 mg. O segundo aquecimento foi realizado após resfriamento brusco com N_2 líquido, de -50 até $200 \text{ }^\circ\text{C}$.

Os valores de ΔH_f , %crist1, T_{m1} , T_g , T_c , ΔH_c , %crist2 e T_{m2} que estão apresentados na Tabela 9 foram calculados com base nas curvas DSC e se referem à análise empregando cadinho selado.

Tabela 9: Valores referentes à análise realizada com cadinho selado calculadas a partir das curvas de DSC apresentadas na Figura 9 e Figura 10

AMOSTRA	1º AQUECIMENTO			2º AQUECIMENTO				
	$\Delta H_f/\text{Jg}^{-1}$	%crist1	$T_{m1}/^\circ\text{C}$	$T_g/^\circ\text{C}$	$T_c/^\circ\text{C}$	$\Delta H_c/\text{Jg}^{-1}$	%crist2	$T_{m2}/^\circ\text{C}$
1	70,4	48,2	166,2	0,2	61,4	47,3	37,9	148,8
2	44,5	30,5	171,2	1,5	64,9	28,1	22,6	144,2
3	77,5	53,0	168,3	-12,7	57,5	50,1	45,3	149,5
4	83,2	57,0	165,4	-15,7	57,9	54,2	40,5	143,1
5	74,0	50,7	171,0	-9,6	57,3	50,0	45,4	150,8
6	92,7	63,5	166,0	1,2	60,9	42,3	40,0	153,6
7	91,2	52,5	167,0	-13,9	61,1	54,5	44,4	146,6
8	60,7	41,6	165,5	-10,3	63,2	37,2	27,8	147,9

A Figura 11 e Figura 12 apresentam as curvas DSC de comportamento térmico dos filmes para o primeiro e segundo aquecimento respectivamente, porém com cadinho aberto.

Com base nas curvas DSC foram calculados os valores de ΔH_f , %crist1, T_{m1} , T_g , T_c , ΔH_c , %crist2 e T_{m2} que estão apresentados na Tabela 10 e se referem à análise empregando cadinho aberto.

As curvas de DSC do primeiro aquecimento para cadinho selado ou aberto são equivalentes às curvas DTA, quando são comparados os valores de temperatura de fusão (ver Tabela 7, Tabela 8, Tabela 9 e Tabela 10).

Comparando os parâmetros (Tabela 9 e Tabela 10) das curvas DSC do segundo aquecimento verifica-se que a utilização de cadinho aberto ou cadinho fechado modifica o comportamento térmico dos filmes, pois a pressão gerada no cadinho selado pode favorecer reações entre os componentes dos filmes.

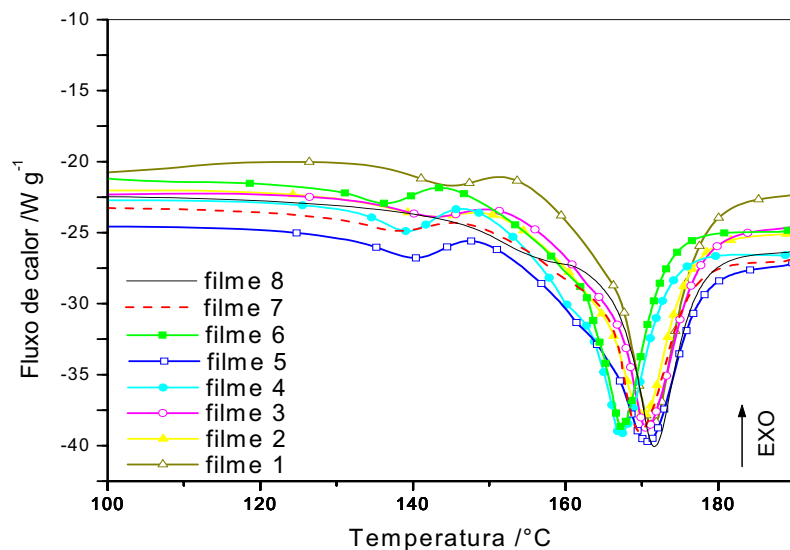


Figura 11: Curvas DSC do primeiro aquecimento de amostras dos filmes de PHB/AM 90/10 em cadinho aberto, atmosfera de N_2 (50 mL min^{-1}), razão de aquecimento de $20 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ e massa de 6 mg. O primeiro aquecimento foi realizado de 40 até $195 \text{ }^\circ\text{C}$.

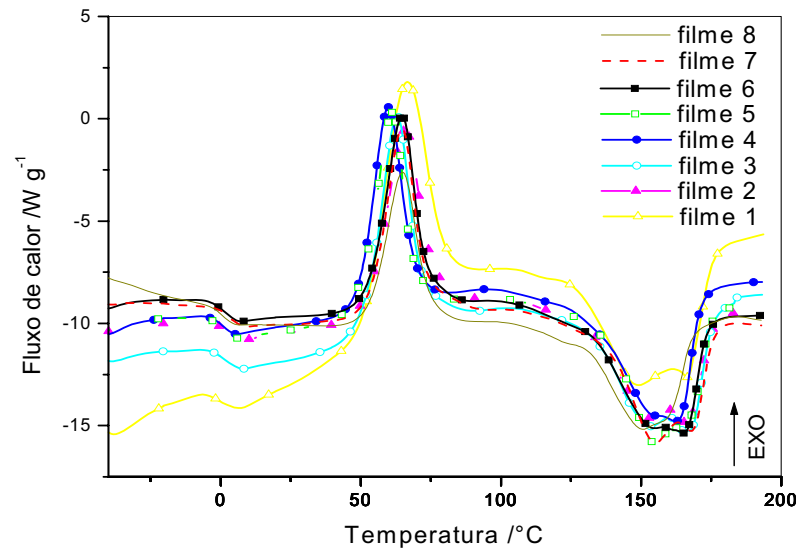


Figura 12: Curvas DSC do primeiro aquecimento de amostras dos filmes de PHB/AM 90/10 em cadinho aberto, atmosfera de N_2 (50 mL min^{-1}), razão de aquecimento de $20 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ e massa de 6 mg. O segundo aquecimento foi realizado após resfriamento brusco com N_2 líquido, de -50 até $200 \text{ }^\circ\text{C}$.

Tabela 10: Valores referentes à análise realizada com cadinho aberto calculadas a partir das curvas de DSC apresentadas na Figura 11 e Figura 12

AMOSTRA	1º AQUECIMENTO			2º AQUECIMENTO				
	$\Delta H_f/\text{Jg}^{-1}$	%crist1	$T_{m1}/^\circ\text{C}$	$T_g/^\circ\text{C}$	$T_c/^\circ\text{C}$	$\Delta H_c/\text{Jg}^{-1}$	%crist2	$T_{m2}/^\circ\text{C}$
1	43,3	29,6	171,4	0,1	66,2	33,7	23,7	166,5
2	68,0	46,6	170,1	1,7	65,7	45,5	37,1	165,6
3	65,2	44,6	170,6	0,5	62,9	42,2	39,6	167,1
4	65,3	44,7	167,2	0,8	59,8	42,7	42,0	162,1
5	79,9	54,7	170,7	0,6	62,1	47,3	44,3	155,1
6	76,4	52,3	167,3	0,8	64,7	49,7	40,8	165,2
7	78,9	54,1	169,7	2,4	64,6	45,4	42,8	155,2
8	69,2	47,4	162,6	0,5	64,9	53,4	42,5	150,8

5.2. PLANEJAMENTO DOS EXPERIMENTOS

O planejamento dos experimentos permite minimizar os custos com reagente, diminuir o tempo operacional e poder avaliar simultaneamente e com segurança

estatística vários parâmetros que podem influenciar na modificação de PHB com anidrido maleico.

Os experimentos foram realizados de modo aleatório para minimizar erros sistemáticos como descrito no item 4.3.2 e os fatores que podem influenciar na reação de modificação de cadeia do PHB com anidrido maleico a serem analisados são: concentração de catalisador, temperatura e tempo reacional.

Os valores da primeira etapa de perda de massa calculados a partir da curva TG (item 5.1.2) permitem quantificar a proporção de anidrido maleico possivelmente presente na estrutura modificada do PHB. Por outro lado a temperatura de transição vítrea, temperatura de cristalização, porcentagem cristalizada e temperatura de fusão determinadas a partir das curvas DSC (item 5.1.3) são respostas importantes para avaliar a extensão da modificação estrutural da cadeia do PHB por anidrido maleico.

Os efeitos da concentração de catalisador (C), temperatura (A) e tempo reacional (B) podem ser calculados de acordo com a expressão matemática generalizada dada pela Equação 3.

$$\text{Equação 3: } E_n = \left[\left(\overline{R_+} \right) \right] - \left[\left(\overline{R_-} \right) \right]$$

Em que o índice n em E_n denota o efeito de uma variável (E_A , E_B ou E_C) calculado a partir da média das respostas dos parâmetros quando o experimento foi realizado no nível alto ($\overline{R_+}$) e baixo ($\overline{R_-}$).

Os valores dos E_A , E_B e E_C nas respostas para T_g , T_c , %crist2 e T_{m2} foram calculados a partir das curvas DSC obtidas com cadinho selado (Tabela 9) considerando ser a condições mais aproximada de um sistema fechado de processamento de polímeros e a influência das variáveis na Δ_{m1} estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11: Valores dos efeitos das variáveis em cada parâmetro

EFEITOS	PARÂMETROS				
	$T_g/^\circ\text{C}$	$T_c/^\circ\text{C}$	$T_{m2}/^\circ\text{C}$	%crist2	$\Delta_{m1}/\%$
E_A	2,9	2,4	-1,7	-10,4	-1,5
E_B	-11,7	-1,2	-2,6	3,2	-1,5
E_C	-1,7	0,2	3,3	3,0	-0,9

Terá maior influência o efeito que apresentar o maior valor em módulo. Se os efeitos nos níveis alto e baixo forem iguais ou com pequena diferença o fator poder ser considerado de pouco ou nenhuma influência na resposta.

De forma a quantificar os efeitos aplica-se o teste t de Student para 95 % de significância, considerando o grau de liberdade dado por $(n - 1) = 7$ em que n representa o número de experimentos. Para $n = 7$ e $p = 0,05$ o valor de t(tabelado) é 1,895^{65 66}.

Para estimar a significância das variáveis estudadas para cada resposta analisada, calcula-se o valor de t. Os valores de t calculados são obtidos a partir da média das respostas, por meio da Equação:

$$\bar{y} = \frac{\sum_{i=1}^r y_i}{r}$$

Em que r indica o número de ensaios realizados e y representa a resposta avaliada. A partir das medias se obtém a variância (s^2) e o desvio padrão (s):

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^r (y_i - \bar{y})^2}{(r-1)}$$

$$s = \pm \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^r (y_i - \bar{y})^2}{(r-1)}}$$

O desvio padrão pode ser considerado como erro experimental, o quociente do valor do módulo do efeito pelo erro experimental representa o t calculado:

$$t_{(\text{calculado})} = \frac{|\text{efeito}|}{s}$$

Os valores de t_A , t_B e t_C para as respostas T_g , T_c , %crist2, T_{m2} e Δ_{m1} estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12: Valores de t calculados para as variáveis em cada parâmetro

$t_{\text{calculado}}$	PARÂMETROS				
	$T_g/^\circ\text{C}$	$T_c/^\circ\text{C}$	$T_{m2}/^\circ\text{C}$	%crist2	$\Delta_{m1}/\%$
t_A	2,04	2,21	1,61	3,05	3,33
t_B	8,24	8,24	2,41	0,92	3,33
t_C	1,21	0,18	3,11	0,96	2,11

Considera-se a variável significativa no preparo das amostras quando os valores de $t_{\text{calculado}}$ forem maiores que o valor de $t_{\text{(tabelado)}}$.

Desta forma os resultados da Tabela 11 e Tabela 12 indicam que as condições de maior influência para a preparação dos filmes são principalmente temperatura e tempo de reação. A concentração de catalisador possui uma influencia moderada nas respostas analisadas.

Para se obter quais são os níveis que mais influenciam na reação de modificação estrutural do PHB com anidrido maleico, utilizou-se como critério os valores das respostas analisadas. As respostas obtidas a partir das curvas DSC e TG permitem relacionar a extensão da modificação de cadeia do PHB com anidrido maleico sendo que menores valores de Δ_{m1} , %crist2 e T_{m2} e maiores valores de T_g e T_c indicam as propriedades termoplásticas importantes para potenciais aplicações como filmes, embalagens flexíveis, entre outras.

Assim, para os fatores concentração de catalisador e tempo reacional os níveis com melhores respostas são os classificados como baixo sendo 5 % v/v de catalisador e o tempo de reação de 1 hora e para a variável temperatura a melhor condição está no nível alto sendo 110 °C.

Uma grande contribuição do planejamento de experimentos, além das anteriormente citadas está na possibilidade de formular um modelo matemático que seja capaz de reproduzir as respostas obtidas e principalmente prever valores em condições experimentais não realizadas. No entanto limita-se a aplicabilidade do modelo no intervalo das variáveis respostas, ou seja, somente pode ser predita respostas para valores de temperatura entre 60 °C e 110 °C, de concentração de catalisador entre 5 e 10 % v/v e o tempo deve ser limitado ao intervalo de 1 a 4 horas.

A Equação 4 apresenta uma expressão matemática generalizada para a modelagem.

$$\text{Equação 4: } R = \overline{M} + \frac{E_A}{2}(A) + \frac{E_B}{2}(B) + \frac{E_C}{2}(C)$$

Em que R fornece o valor predito da resposta calculada a partir da média geral das repostas experimentais (\overline{M}), dos respectivos efeitos e dos valores normalizados de temperatura, tempo reacional e concentração de catalisador empregados na preparação das amostras.

Neste trabalho optou-se por não utilizar-se replicatas dos valores das respostas⁶⁸, as mesmas foram obtidas a partir do modelo matemático.

A Tabela 13 apresenta os valores de respostas (R) preditos considerando o modelo dado pela Equação 4 e análise percentual de resíduos em relação aos valores experimentais apresentados na Tabela 6 e Tabela 9.

Os resultados da análise percentual de resíduo (Tabela 13) indicam que o modelo proposto permite reproduzir os valores das repostas medidas experimentalmente e, portanto tem-se a possibilidade de aplicar este modelo para prever condições de experimentos não realizados. A pequena diferença entre valores experimentais e calculados pode ser atribuída às possíveis influências das interações entre as variáveis e não sendo representativas podem ser desconsideradas.

Tabela 13: Valores preditos e análise percentual de resíduos para as respectivas repostas calculadas a partir do modelo proposto

AMOSTRA	RESPOSTAS PREDITAS					RESÍDUOS /%				
	T _g /°C	T _d /°C	Δ _{m1} /%	%crist2	T _{m2} /°C	T _g /°C	T _d /°C	Δ _{m1} /%	%crist2	T _{m2} /°C
1	-2,3	59,8	11,7	40,1	148,6	-0,9	-0,6	0,5	1,2	0,0
2	0,6	62,2	10,2	29,7	146,8	-0,1	-0,8	-0,4	-1,0	0,8
3	-14,0	58,6	10,2	43,2	146,0	-0,5	0,3	0,1	-0,3	-1,1
4	-11,1	61,0	8,7	32,8	144,3	1,7	1,1	0,0	-0,9	0,3
5	-4,0	60,0	10,8	43,0	151,9	1,8	0,9	0,2	-0,4	0,4
6	-1,1	62,4	9,3	32,6	150,2	-0,6	0,6	-0,1	-2,8	-1,2
7	-15,7	58,8	9,3	46,2	149,3	-0,7	-0,5	-0,6	0,9	1,0
8	-12,8	61,2	7,8	35,8	147,6	-0,4	-0,5	0,3	2,3	-0,2

Assim, o estudo realizado por DSC e TG-DTA, para avaliar o comportamento térmico dos filmes previamente preparados, de acordo com os procedimentos do planejamento experimental, permitiu definir quais são as condições mais adequadas para promoção da reação de modificação estrutural do PHB, com diversas proporções de anidrido maleico no intervalo de 0 a 20 % m/m.

As condições otimizadas para promover a reação de extensão de cadeia do PHB com diferentes proporções de anidrido maleico são: concentração de catalisador de 5 % v/v, temperatura de 110 °C e tempo reacional de 1 hora.

5.3. DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE ACIDEZ DO PHB

Utilizando-se procedimento de titulação ácido base em meio etanólico seguindo a orientação do ensaio (método teste) padrão, designação D1639 da *American Society for Testing and Materials* (ASTM), determinou-se o índice de acidez do PHB puro obtendo-se como resultado um valor de 78,90 mg de hidróxido de potássio para neutralizar um grama de PHB.

Deste modo, a determinação do índice de acidez indica a presença de grupamentos carboxílicos livres aptos a reagirem com o modificador de cadeia.

5.4. ESTUDO DE COMPORTAMENTO TÉRMICO EMPREGANDO TG-DTA E DSC

5.4.1. ESTUDO DO COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS FILMES DE PHB PURO, PHB/CATALISADOR AM PURO E AM/CATALISADOR COM DIFERENTES PROPORÇÕES EMPREGANDO ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TG) E ANÁLISE TÉRMICA DIFERENCIAL (DTA)

Para avaliação da modificação de cadeia do PHB com anidrido maleico em diferentes proporções estudou-se o comportamento térmico dos filmes de PHB preparados de acordo com as condições descritas no item 4.3.5, a partir das condições mais adequadas que foram apresentadas no item 5.2 (5 % de concentração de catalisador, tempo de reação de 1 hora e temperatura de 110 °C).

A Figura 13 apresenta as curvas TG-DTA do comportamento térmico de amostras de filme de PHB e PHB/catalisador com uma etapa principal de perda de massa de aproximadamente 98% da massa inicial no intervalo de 270 a 325 °C com os correspondentes picos endotérmicos apresentados nas curvas DTA em aproximadamente 315 °C. As curvas DTA ilustradas na Figura 13 apresentam picos indicativos de fusão cristalina dos filmes em aproximadamente 180 °C.

Com base nas curvas TG-DTA dos filmes de PHB puro e PHB/catalisador verifica-se que provavelmente não ocorre reações entre catalisador e PHB que possam provocar mudanças significativas de comportamento térmico das amostras.

Para avaliação das possíveis reações entre o anidrido maleico e o catalisador, amostras de anidrido maleico puro e AM/catalisador foram preparadas de acordo com o item 4.3.5.

Amostra de anidrido maleico puro, mesmo que tenha sido cristalizada à partir de clorofórmio com tais características, poderia ser hidrolisada, o que levaria à abertura do anel formando ácido maleico, pois as amostras foram mantidas em contato com a umidade atmosférica.

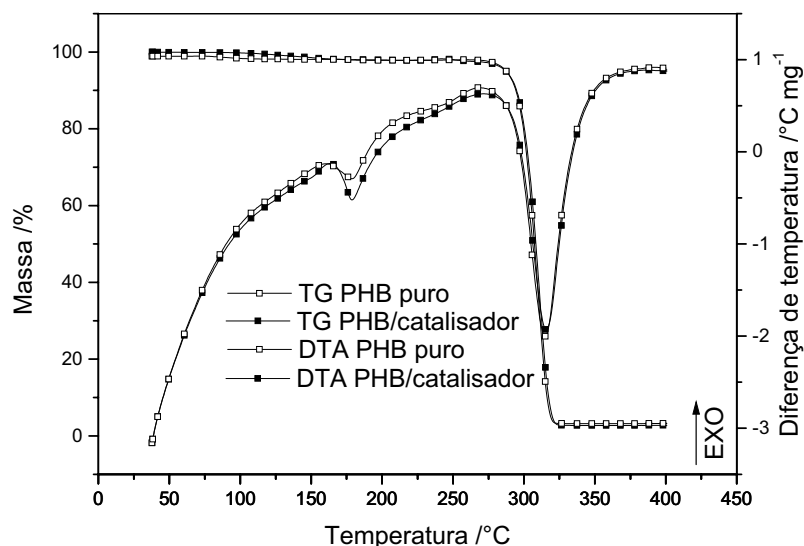


Figura 13: Curvas TG-DTA do comportamento térmico de amostras de filmes do PHB puro e PHB/catalisador com razão de aquecimento de 20 °C min⁻¹, massa de aproximadamente 6 mg e atmosfera de N₂ (50 mL min⁻¹).

As curvas DTA (Figura 14) para as amostras de ácido maleico e ácido maleico/catalisador apresentam picos endotérmicos distintos. Para a curva DTA da amostra de ácido maleico/catalisador observa-se um pico endotérmico em 201,06 °C que pode ser atribuído à decomposição do produto de reação entre o anidrido maleico e catalisador na presença de umidade com perda de massa indicada na curva TG.

A curva DTA para o ácido maleico apresenta pico endotérmico acentuado e alargado, correspondente ao intervalo de 140 a 200 °C e com máximo em 177,8 °C. Em relação à curva DTA apresentada na Figura 5 nota-se que a amostra de anidrido maleico submetida ao procedimento de preparação de filmes sofreu alterações de comportamento térmico, apresentando características indicativas da presença de ácido maleico, ou seja, o pico endotérmico alargado, curva DTA da Figura 14 pode ser referente à fusão seguida de volatilização material. Tal afirmação pode ser constatada a partir das curvas TG para o comportamento térmico de amostras provenientes de ácido maleico e de ácido maleico/catalisador, apresentadas na Figura 15.

A degradação do ácido maleico ocorre em uma única etapa de perda correspondente a 98,5 % da massa inicial no intervalo de 140 a 200 °C.

Por outro lado a curva TG (Figura 15) da amostra de ácido maleico/catalisador, derivada da amostra preparada no item 4.3.5, a qual possui característica pastosa, apresentou perda de massa inicial de aproximadamente 10 %, referente a perda de solventes residuais durante o tempo necessário para equilibrar a temperatura em 40 °C. A degradação térmica de 66 % da massa inicial da amostra de anidrido/catalisador ocorreu no intervalo compreendido entre 75 a 300 °C foi atribuída à decomposição incompleta da amostra formando resíduo carbonizado, devido à influência da atmosfera de N₂.

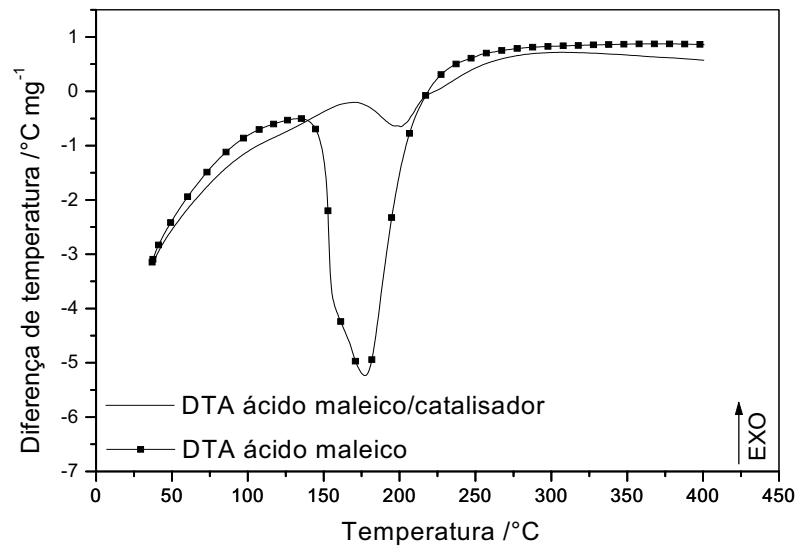


Figura 14: Curvas DTA do comportamento térmico do ácido maleico e ácido maleico/catalisador com razão de aquecimento de $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, massa de aproximadamente 6 mg e atmosfera de N_2 (50 mL min^{-1}).

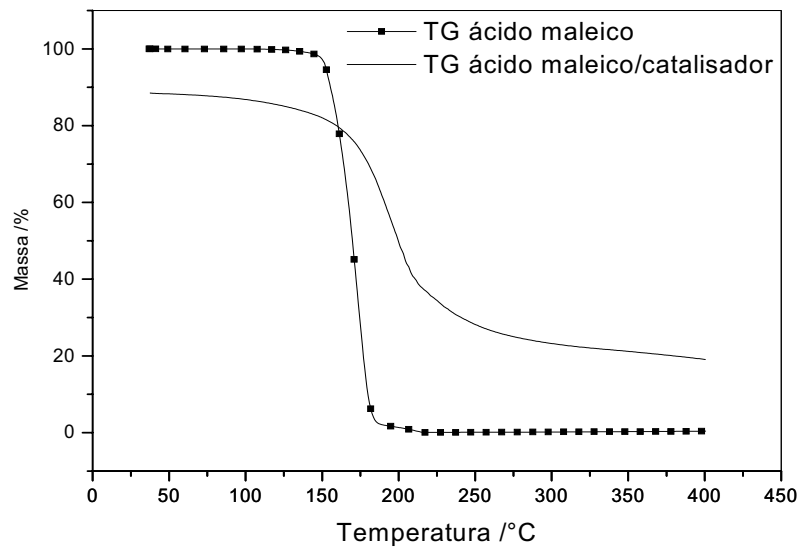


Figura 15: Curvas TG do comportamento térmico do ácido maleico e ácido maleico/catalisador com razão de aquecimento de $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, massa de aproximadamente 6 mg e atmosfera de N_2 (50 mL min^{-1}).

5.4.2. ESTUDO DO COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS FILMES DE PHB/AM COM DIFERENTES PROPORÇÕES EMPREGANDO ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TG) E ANÁLISE TÉRMICA DIFERENCIAL (DTA)

A determinação das propriedades térmicas dos filmes de PHB/AM em diferentes proporções descritas na Tabela 14, preparados de acordo com o procedimento apresentado no item 4.3.5 foi realizada por TG-DTA.

As curvas TG que ilustram o comportamento térmico dos filmes de PHB/AM em diferentes proporções estão apresentadas na Figura 16. Os valores de perda de massa em porcentagem estão dispostos na Tabela 14.

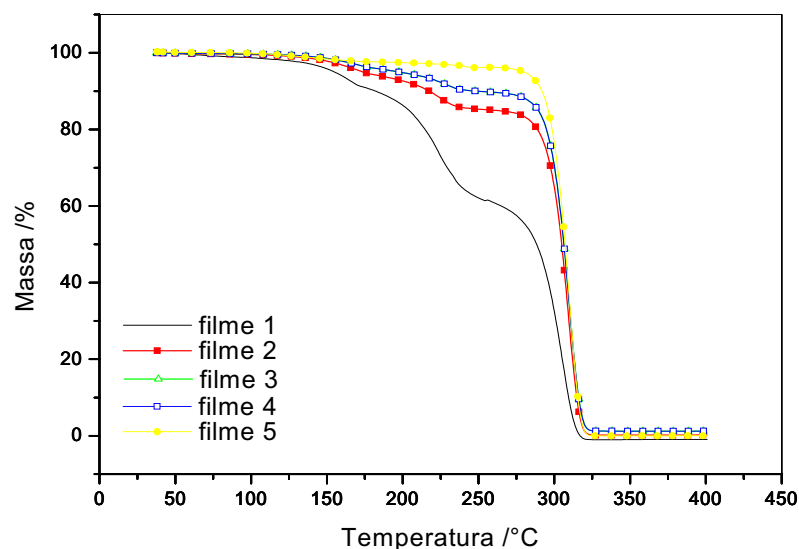


Figura 16: Curvas TG do comportamento térmico de amostras dos filmes de PHB/AM com razão de aquecimento de $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, massa de aproximadamente 6 mg e atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL min^{-1}).

Os valores de proporção de perda de massa em cada etapa (Tabela 14) indicam que as curvas mostradas na Figura 16 para o comportamento térmico de amostras dos filmes de PHB/AM diferem entre si de acordo com a porcentagem de anidrido maleico.

A amostra do filme 1 de proporção PHB/AM 80/20 apresentou maior porcentagem modificada que corresponde a segunda etapa de perda de massa no valor de 29,1 %. Amostras dos filmes intermediários com proporções de PHB/AM,

respectivamente 93/07, 95/05 e 97/03 apresentaram comportamento térmico similares, com uma pequena porcentagem de perda de massa na segunda etapa. Amostra do filme contendo 1 % de anidrido maleico teve comportamento térmico semelhante àquele observado para amostra do filme de PHB puro, apresentado na Figura 13.

Tabela 14: Porcentagem de perda de massa para as respectivas amostras dos filmes de PHB/AM

AMOSTRAS (PHB/AM %)	ETAPAS DE PERDA DE MASSA %		
	1ª (50 – 185 °C)	2ª (185 – 255 °C)	3ª (255 – 325 °C)
1 (80/20)	7,5	29,1	61,8
2 (93/07)	5,5	8,1	84,8
3 (95/05)	3,9	5,6	88,0
4 (93/07)	4,2	5,5	88,0
5 (99/01)	2,4	1,5	95,1

As curvas DTA do comportamento térmico das amostras dos filmes de PHB/AM estão apresentadas na Figura 17. Os valores dos eventos térmicos estão dispostos na Tabela 15.

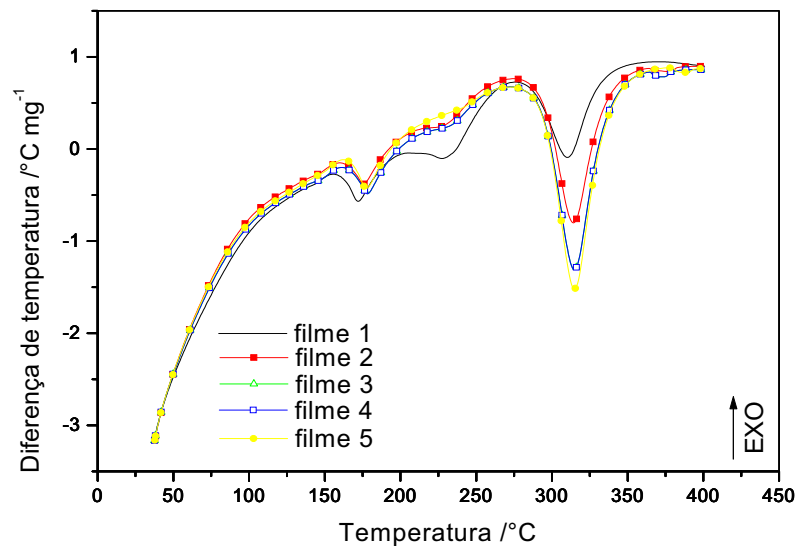


Figura 17: Curva DTA do comportamento térmico de amostras dos filmes de PHB/AM com razão de aquecimento de 20 °C min⁻¹, massa de aproximadamente 6 mg e atmosfera dinâmica de N₂ (50 mL min⁻¹).

Tabela 15: Temperatura dos respectivos eventos térmicos para as amostras dos filmes de PHB/AM obtidos a partir das curvas DTA

AMOSTRAS (PHB/AM %)	TEMPERATURA DO PICO /°C		
	FUSÃO	DECOMPOSIÇÃO DA 2ª ETAPA	DECOMPOSIÇÃO DA 3ª ETAPA
1 (80/20)	172,4	231,5	310,3
2 (93/07)	176,0	230,4	314,2
3 (95/05)	178,4	-	314,8
4 (97/03)	178,4	-	314,8
5 (99/01)	178,0	-	314,8

A Tabela 15 apresenta os resultados das curvas DTA com picos endotérmicos referentes à fusão no intervalo de 172 a 178 °C e picos no intervalo de 310 a 314 °C correspondentes à decomposição da terceira etapa de perda de massa.

As curvas DTA (Figura 17) apresentam picos entre 180 e 260 °C com intensidades dependentes da extensão da modificação de cadeia do PHB com anidrido maleico, como já discutido no item 5.1.1. Assim, observa-se que os picos mais acentuados são referentes aos filmes 1 e 2.

Os resultados das curvas TG e DTA das amostras dos filmes preparados sugerem que a relação PHB/AM igual a 80/20 apresenta maior proporção de estrutura de PHB modificado, pois as curvas TG e DTA para a mencionada relação, apresentam a maior perda de massa ocorrida na segunda etapa.

5.4.3. ESTUDO DO COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS FILMES PHB PURO, PHB/CATALISADOR, AM PURO E AM/CATALISADOR EMPREGANDO CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

Amostras dos filmes de PHB puro e PHB/catalisador preparados de acordo com o procedimento experimental do item 4.3.5 foram analisados por DSC para estudar o comportamento térmico em dois programas de aquecimento, sendo que as curvas DSC

do primeiro estão apresentadas na Figura 18 e na Figura 19 as respectivas curvas DSC do segundo aquecimento.

O primeiro aquecimento para a curva DSC (Figura 18) indica que o PHB puro e PHB/catalisador apresentam-se cristalizados, pois não apresentam pico de cristalização. Os picos endotérmicos atribuídos à fusão do PHB/catalisador (filme de PHB com 5 % de catalisador) e do PHB puro são, respectivamente observados em 177,8 e 175,3 °C.

A partir das curvas DSC ilustradas na Figura 18 e Figura 19 foram determinados os valores referentes aos eventos térmicos de T_g , T_c , T_m , ΔH_f , %crist1 e %crist2 para o PHB puro e PHB/catalisador. Tabela 16 apresenta os valores.

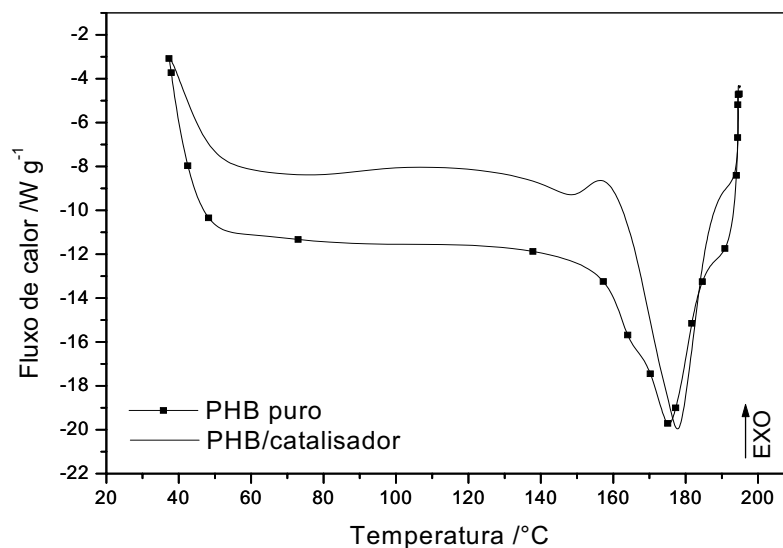


Figura 18: Curvas DSC do comportamento térmico dos filmes de PHB e PHB/catalisador para o primeiro aquecimento de amostras, atmosfera de N_2 (50 mL min^{-1}), massa de 6 mg e razão de aquecimento de 20 °C min^{-1} . O primeiro aquecimento foi realizado de 40 até 195 °C.

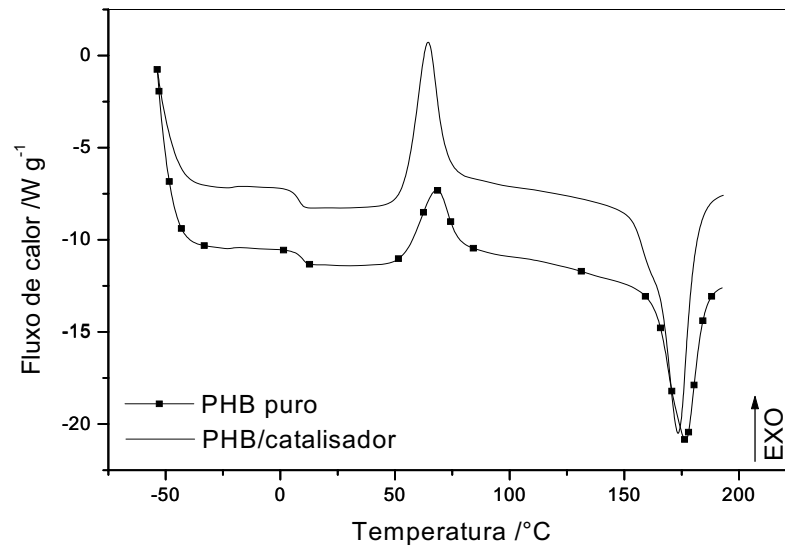


Figura 19: Curvas DSC do comportamento térmico dos filmes de PHB e PHB/catalisador para o segundo aquecimento de amostras, atmosfera de N_2 (50 mL min^{-1}), razão de aquecimento de $20 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$, massa de 6 mg. O segundo aquecimento foi realizado após resfriamento brusco com N_2 líquido, de -50 até $200 \text{ }^\circ\text{C}$.

Tabela 16: Parâmetros térmicos determinados a partir das curvas DSC para as amostras de PHB puro e PHB/catalisador (5 % de catalisador) apresentadas na Figura 18 e Figura 19

AMOSTRA	1º AQUECIMENTO			2º AQUECIMENTO				
	$\Delta H_f/\text{Jg}^{-1}$	%crist1	$T_{m1}/^\circ\text{C}$	$T_g/^\circ\text{C}$	$T_c/^\circ\text{C}$	$\Delta H_c/\text{Jg}^{-1}$	%crist2	$T_{m2}/^\circ\text{C}$
PHB/catalisador	83,6	57,3	177,8	8,2	64,4	46,7	60,4	173,5
PHB puro	102,6	70,3	175,3	9,9	68,1	49,0	68,3	176,8

Avaliando-se os valores da Tabela 16, nota-se que a presença do catalisador na preparação dos filmes de PHB, de modo geral apresenta influencia moderada sobre as propriedades térmicas. Observa-se uma tênue diminuição da fração cristalina dos filmes de PHB preparados na presença do catalisador, provavelmente por interações catalisador-PHB durante o tratamento térmico a $110 \text{ }^\circ\text{C}$, as quais podem provocar cisão de cadeia e com isso tendendo a aumentar a fração não cristalizável no polímero.

As curvas DSC de comportamento térmico para as amostras de ácido maleico e anidrido/catalisador estão apresentadas na Figura 20. Para a amostra de anidrido contendo catalisador, a curva DSC apresenta um pico endotérmico alargado no intervalo de 80 e $110 \text{ }^\circ\text{C}$ indicando a volatilização residual de trietilamina, que possui

ponto de ebulição em 89 °C⁶⁹. O segundo pico endotérmico em 187,7 °C pode ser atribuído à decomposição do produto de reação entre anidrido maleico e trietilamina.

A curva DSC de comportamento térmico para a amostra de anidrido maleico apresenta pico de fusão em 151,1 °C e pico de volatilização em 179,5 °C.

Provavelmente, no momento da adição de trietilamina à solução de anidrido maleico ocorre à formação de uma estrutura distinta às dos precursores, portanto o comportamento característico do ácido maleico foi modificado, principalmente pela ausência de ponto de fusão.

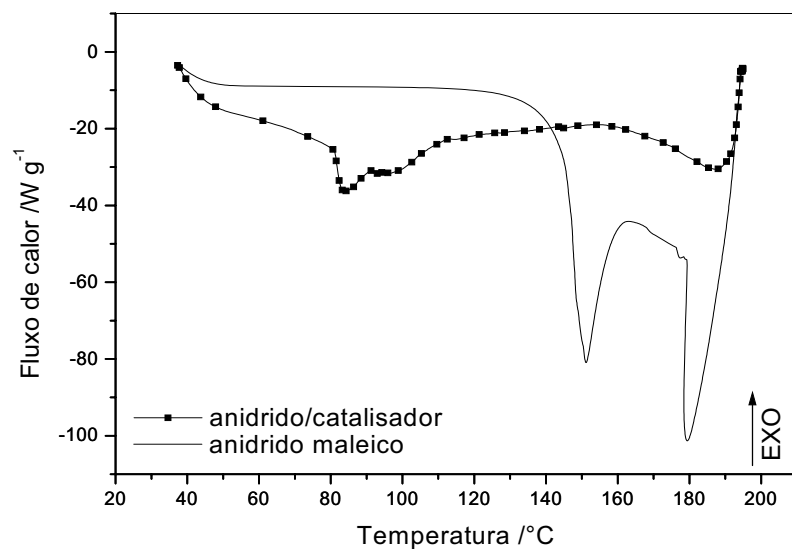


Figura 20: Curvas DSC do comportamento térmico para o primeiro aquecimento das amostras de anidrido maleico e anidrido/catalisador, atmosfera de N₂ (50 mL min⁻¹), razão de aquecimento de 20 °C min⁻¹ e massa de 6 mg. O primeiro aquecimento foi realizado de 40 até 195 °C.

5.4.4. ESTUDO DO COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS FILMES DE PHB/AM NA PRESENÇA DE CATALISADOR EM VÁRIAS PROPORÇÕES EMPREGANDO CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

A Figura 21 e a Figura 22 apresentam as curvas DSC de comportamento térmico de amostras dos filmes com diferentes proporções PHB/AM, respectivamente para o primeiro e o segundo aquecimento.

Os valores de ΔH_f , %crist1, T_{m1} , T_g , T_c , ΔH_c , %crist2 e T_{m2} apresentados na Tabela 17 foram obtidos ou calculados baseando-se nas curvas DSC da Figura 21 e Figura 22.

Tabela 17: Parâmetros térmicos determinados a partir das curvas DSC apresentadas na Figura 21 e Figura 22

AMOSTRA	1º AQUECIMENTO			2º AQUECIMENTO				
	$\Delta H_f/\text{Jg}^{-1}$	%crist1	$T_{m1}/^\circ\text{C}$	$T_g/^\circ\text{C}$	$T_c/^\circ\text{C}$	$\Delta H_c/\text{Jg}^{-1}$	%crist2	$T_{m2}/^\circ\text{C}$
1 (80/20)	69,9	47,9	166,3	1,0	63,3	44,3	25,9	148,8
2 (93/07)	69,0	47,3	171,9	-2,8	66,1	53,4	43,2	149,0
3 (95/05)	66,2	45,4	176,0	0,4	64,2	45,9	39,4	157,8
4 (97/03)	77,4	53,0	174,5	7,7	66,9	57,8	49,0	168,4
5 (99/01)	88,0	60,3	175,5	6,0	60,6	47,1	57,4	167,9

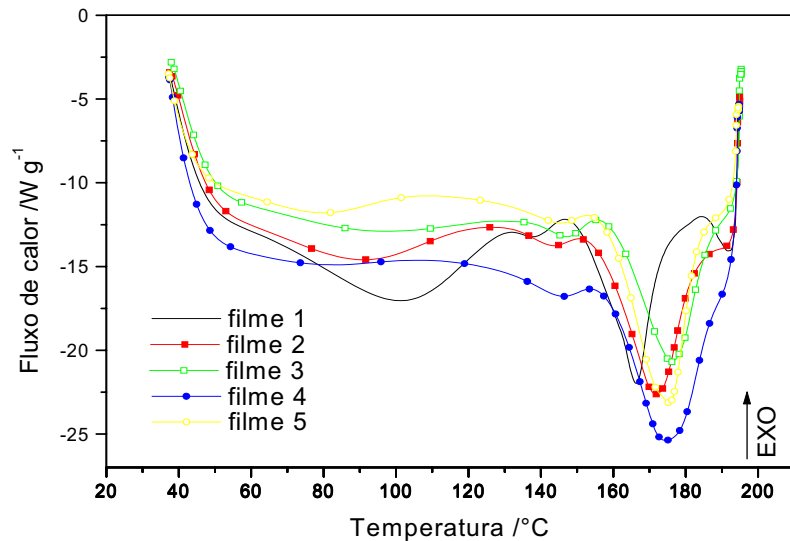


Figura 21: Curvas DSC do comportamento térmico para o primeiro aquecimento de amostras dos filmes de PHB/AM em várias proporções em atmosfera de N_2 (50 mL min^{-1}), razão de aquecimento de $20 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ e massa de 6 mg . O primeiro aquecimento foi realizado de 40 até $195 \text{ }^\circ\text{C}$.

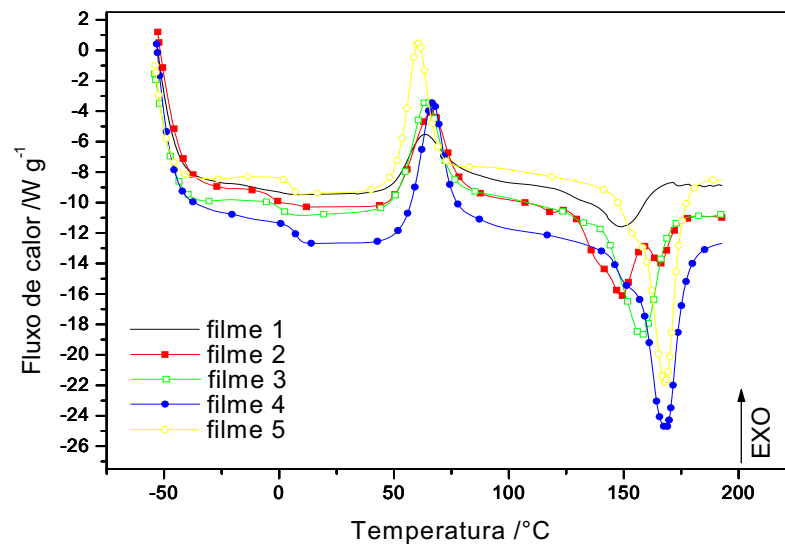


Figura 22: Curvas DSC do comportamento térmico para o segundo aquecimento de amostras dos filmes de PHB/AM em várias proporções em atmosfera de N_2 (50 mL min^{-1}), razão de aquecimento de $20 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ e massa de 6 mg . O segundo aquecimento foi realizado após resfriamento brusco com N_2 líquido, de -50 até $200 \text{ }^\circ\text{C}$.

A partir dos valores de fração cristalina, tanto para o primeiro aquecimento, quanto para o segundo, pode-se fazer uma avaliação da influência de anidrido na estrutura do PHB. Os valores de cristalinidade determinados indicam que a medida que aumenta a proporção de anidrido para preparação dos filmes tem-se uma tendência à diminuição da fração de cadeias que poderão se organizar.

Este comportamento observado pode ser avaliado em função da extensão de modificação estrutural do PHB, pois a incorporação de unidades de maleato pode dificultar o rearranjo das cadeias, conseqüentemente quanto maior a presença do modificador de cadeia tem-se maiores frações não cristalinas.

A tendência à diminuição da fração cristalina, dependente da organização das cadeias na estrutura do material polimérico obtido, pode ser associada com os valores de T_g e T_m que indicam o mesmo perfil, pois cristalitos com formação deficiente necessitam menores valores de energia para adquirirem o comportamento térmico característico do estado viscoelástico (T_g) e do estado fundido (T_m).

Os resultados apresentados indicam a ocorrência de interações PHB/anidrido, possivelmente acontecendo pela incorporação de moléculas de maleato à estrutura do

polímero, implicando em uma diminuição de fusão, característica desejável, pensando no processamento do material.

5.5. ESTUDO DE COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS FILMES COM ADIÇÃO INVERSA DE REAGENTES

5.5.1. ESTUDO DO COMPORTAMENTO TÉRMICO DE FILMES PREPARADOS COM ADIÇÃO INVERSA DE REAGENTES EMPREGANDO ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TG) E ANÁLISE TÉRMICA DIFERENCIAL (DTA)

Os filmes foram preparados por adição inversa de reagentes, com o intuito de se obter maiores informações sobre a reação de modificação de cadeia do PHB com anidrido maleico utilizando-se a trietilamina como catalisador, por isso foram escolhidas apenas duas proporções PHB/AM: 80/20 por ser a proporção onde se obteve a maior modificação de cadeia e a proporção 93/07 por apresentar modificações significativas em termos de propriedades térmicas (ver Tabela 17).

Em um dos filmes preparados a concentração de catalisador foi uma quantidade equimolar em relação ao anidrido maleico (representada nas legendas pela letra E), em outro de mesma proporção utilizou-se a concentração otimizada de 5 % v/v.

Na Figura 23 estão apresentadas as curvas TG para os filmes preparados com adição inversa dos reagentes e na Tabela 18 estão apresentadas as porcentagens de perda de massa em cada etapa.

Tabela 18: Porcentagem de perda de massa para as respectivas amostras de filmes de PHB/AM preparados com adição inversa dos reagentes

AMOSTRAS	ETAPAS DE PERDA DE MASSA /%		
	1ª (50 – 185 °C)	2ª (185 – 255 °C)	3ª (255 – 325 °C)
80/20 (5%)	6,0	7,6	82,2
80/20 E	7,7	8,3	77,2
93/07 (5%)	3,7	6,2	85,5
93/07 E	6,0	6,0	86,8

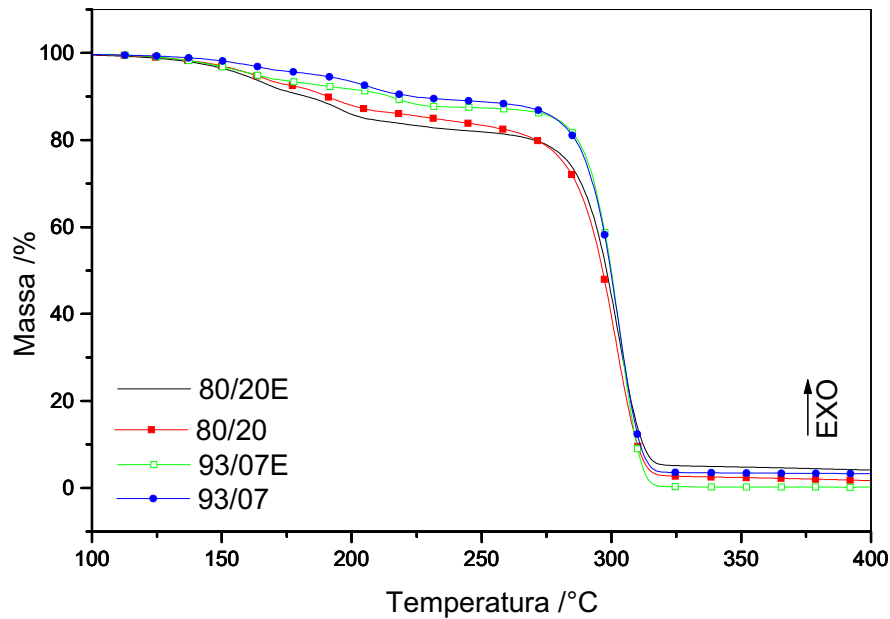


Figura 23: Curvas TG do comportamento térmico dos filmes de PHB/AM preparados com adição inversa de reagentes em atmosfera de N_2 (50 mL min^{-1}), com razão de aquecimento de $20 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$, massa de aproximadamente 6 mg.

Os valores de perda de massa obtidos para as amostras preparadas com adição inversa dos reagentes indicam que há diferenças significativas no comportamento de degradação térmica dos filmes. A segunda etapa de perda de massa, atribuída a decomposição das cadeias de PHB modificadas com anidrido maleico apresentaram valores menores quando comparados aos filmes preparados no item 4.3.5.

A principal diferença está na proporção PHB/AM 80/20, onde observa-se uma diminuição significativa para ambos os filmes preparados por adição inversa dos reagentes comparados com o filme PHB/AM 80/20 preparado no item 4.3.5. O valor de perda de massa para o filme PHB/AM 80/20 preparados no item 4.3.5, foi de 29,1 % na segunda etapa, enquanto que para os filmes preparados por adição inversa este valor ficou em 7,59 e 8,3 % para o filme com concentração de base 5 % e para o filme preparado com quantidade de base estequiométrica respectivamente.

Os valores de perda de massa para a segunda etapa, indicam que há menores proporções de cadeias de PHB modificadas com anidrido maleico quando os filmes são preparados adicionando-se o catalisador ao anidrido maleico. Isso pode ser devido ao

tipo de reação ou interação que ocorre entre os reagentes, podendo formar um sal, pois a trietilamina pode se comportar como uma base e o anidrido como ácido. Assim, tem-se um favorecimento para que se mantenham na forma de sal do que reagir com as cadeias do PHB.

Quando o anidrido maleico e o PHB estão em solução ocorre uma situação diferente, pois a reação com o anidrido maleico não estará tão favorecida e poderá ocorrer a formação de um estado de transição, que catalisa a reação com as pontas de cadeias do PHB. Com os valores de perda de massa obtidos a partir das curvas TG, observa-se que são condições diferentes da condição utilizada inicialmente e que estão sujeitas a outros tipos de reações.

Na Figura 24 estão apresentadas as curvas DTA para os filmes preparados com adição inversa dos reagentes e na Tabela 19 estão apresentadas os principais eventos térmicos para as amostras de filmes de PHB/AM preparados com adição inversa dos reagentes.

Tabela 19: Temperatura dos respectivos eventos térmicos para as amostras dos filmes de PHB/AM dos filmes preparados com adição inversa dos reagentes

AMOSTRA	TEMPERATURA DO PICO (°C)		
	FUSÃO	DECOMPOSIÇÃO DA 2ª ETAPA	DECOMPOSIÇÃO DA 3ª ETAPA
80/20 (5%)	172,9	-	307,5
80/20 E	173,7	-	308,2
93/07 (5%)	173,3	214,2	308,7
93/07 E	170,7	223,6	308,7

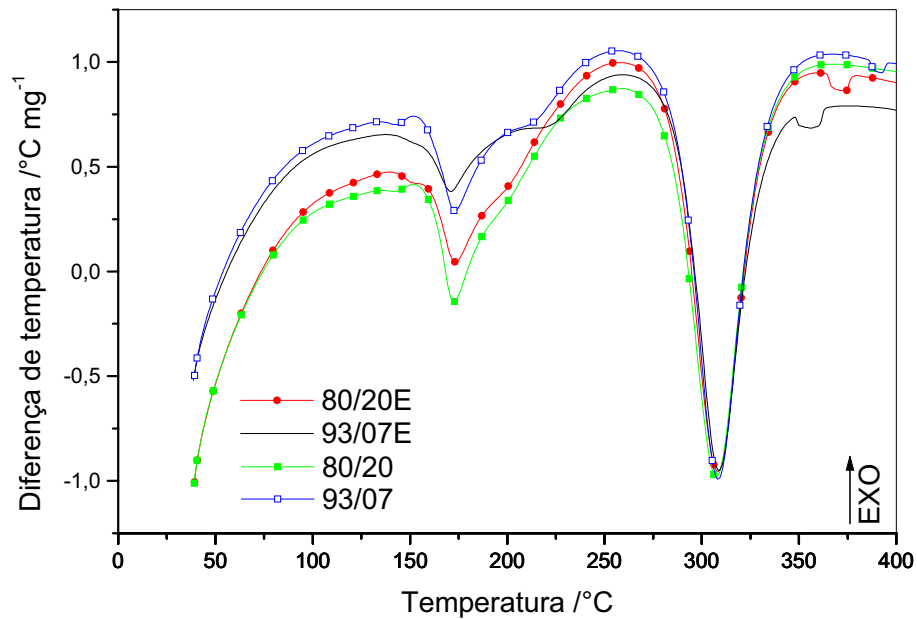


Figura 24: Curvas DTA do comportamento térmico de amostras de filmes de PHB/AM preparados com adição inversa de reagentes, com razão de aquecimento de $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, mas de aproximadamente 6 mg e atmosfera de N_2 (50 mL min^{-1}).

Apenas para as amostras de filme na proporção 93/07 observa-se picos endotérmicos referente a segunda etapa de perda de massa em torno de $220\text{ }^{\circ}\text{C}$, e estão abaixo do valor obtido para o filme 93/07 preparado no item 4.3.5. Os filmes na proporção 80/20 apresentaram pico referente a segunda etapa de perda de massa pouco pronunciados o que pode indicar que a proporção modificada apresenta características diferentes dos filmes de mesma proporção preparados no item 4.3.5.

Os valores de temperatura dos picos referentes a fusão e decomposição da terceira etapa de perda de massa foram menores do que aqueles obtidos para os filmes preparados no item 4.3.5, o que pode indicar a formação de um composto de estabilidade menor.

5.5.2. ESTUDO DO COMPORTAMENTO TÉRMICO DE FILMES PREPARADOS COM ADIÇÃO INVERSA DE REAGENTES EMPREGANDO CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

Os filmes de PHB/AM preparados com adição inversa de reagentes como descrito no item 4.3.6, foram analisados por DSC para estudar o comportamento térmico no primeiro e no segundo aquecimento em cadinho selado. As curvas DSC referente ao primeiro e segundo aquecimento estão apresentadas nas Figura 25 e Figura 26 e os valores das propriedades térmicas obtidas a partir das curvas DSC estão apresentadas na Tabela 20.

Comparando os resultados obtidos a partir dos filmes preparados com adição inversa dos reagentes com os filmes preparados no item 4.3.5, observa-se mudanças de valores pouco significativos, sendo observado aumento pouco pronunciados dos valores de cristalização e de temperatura de fusão para o primeiro aquecimento dos filmes na proporção PHB/AM 80/20.

Tabela 20: Valores referentes a análise realizada com cadinho selado calculadas a partir das curvas DSC apresentadas na Figura 25 e Figura 26

Amostra	1ºAquecimento			2ºAquecimento				
	$\Delta H_f/Jg^{-1}$	%cristal.	$T_m/^\circ C$	$T_g/^\circ C$	$T_c/^\circ C$	$\Delta H_c/Jg^{-1}$	%cristal.	T_m
80/20	70,5	48,3	172,5	-0,6	68,5	48,7	34,8	152,6
80/020E	45,6	31,2	172,9	-5,8	59,8	45,4	37,3	149,6
93/07	81,1	55,6	171,9	-2,8	61,3	51,2	46,5	152,6
93/07E	47,1	32,3	153,6	3,5	59,9	40,1	43,9	166,7

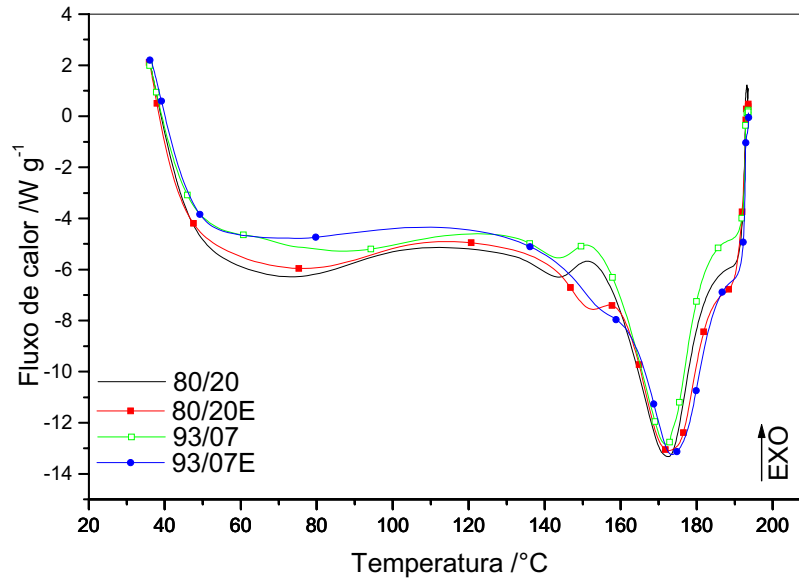


Figura 25: Curvas DSC obtidas com cadinho de alumínio selado para o estudo de comportamento térmico dos filmes de PHB/AM preparados com adição inversa dos reagentes para o primeiro aquecimento com atmosfera de N_2 (50 mL min^{-1}), razão de aquecimento de $20 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ e massa de amostra de 6 mg. O primeiro aquecimento foi realizado de 40 até $195 \text{ }^\circ\text{C}$.

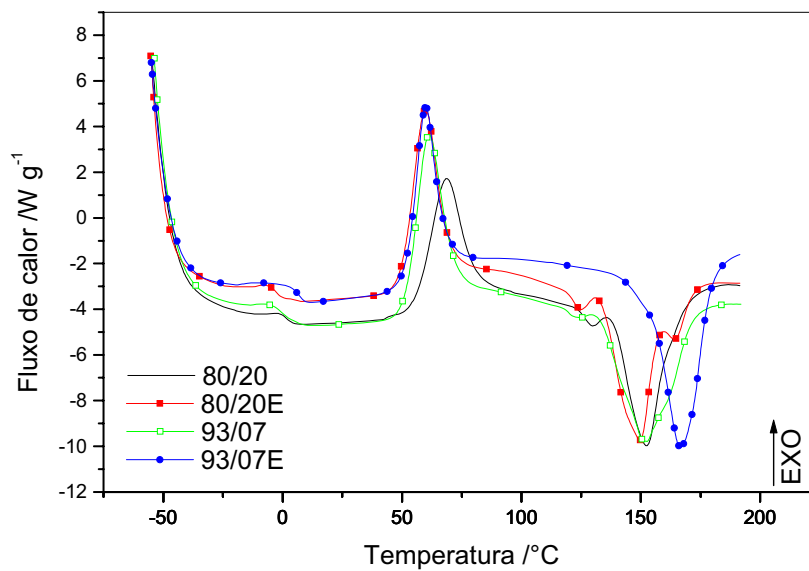


Figura 26: Curvas DSC obtidas com cadinho de alumínio selado para o estudo de comportamento térmico dos filmes de PHB/AM preparados com adição inversa dos reagentes para o segundo aquecimento em atmosfera de N_2 (50 mL min^{-1}), razão de aquecimento de $20 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ e massa de amostra de 6 mg. O segundo aquecimento foi realizado após resfriamento brusco com N_2 líquido, de -50 até $200 \text{ }^\circ\text{C}$.

Os filmes de PHB/AM preparados com adição inversa de reagentes também foram analisados por DSC em cadinho aberto para estudar o comportamento térmico no primeiro e no segundo aquecimento, para complementar dados sobre o tipo de reação que poderia ocorrer. As curvas DSC referente ao primeiro e segundo aquecimento estão apresentadas nas Figura 27 e Figura 28 e os valores das propriedades térmicas obtidas a partir das curvas DSC para cadinho aberto estão apresentadas na Tabela 21.

Tabela 21: Valores referentes à análise realizada com cadinho aberto calculadas a partir das curvas DSC apresentadas na Figura 27 e Figura 28

Amostra	1ºAquecimento			2ºAquecimento				
	$\Delta H_f/Jg^{-1}$	%cristal.	$T_m/^\circ C$	$T_g/^\circ C$	$T_c/^\circ C$	$\Delta H_c/Jg^{-1}$	%cristal.	T_m
80/20	82,4	65,4	174,5	8,2	69,9	45,6	46,3	167,8
80/020E	53,5	36,7	177,6	9,8	63,1	37,6	38,1	168,8
93/07	76,5	53,4	175,0	7,9	61,1	52,6	51,8	162,1
93/07E	52,3	35,8	174,1	9,4	58,2	45,5	57,5	168,9

Os valores da análise realizada com cadinho aberto mostram algumas diferenças entre os valores das propriedades térmicas quando comparadas com a análise em cadinho selado. A principal diferença está nos valores de transição vítrea. Os valores de T_g obtidos em cadinho selado são menores do que os obtidos em cadinho aberto, pois a análise em cadinho selado gera uma atmosfera autogerada no cadinho que pode propiciar quebras de cadeias, as quais com tamanho menor precisam de menor energia para adquirir a mobilidade referente ao estado viscoelástico característico da transição vítrea. A atmosfera autogeda também pode favorecer outros tipos de reações dentro do cadinho.

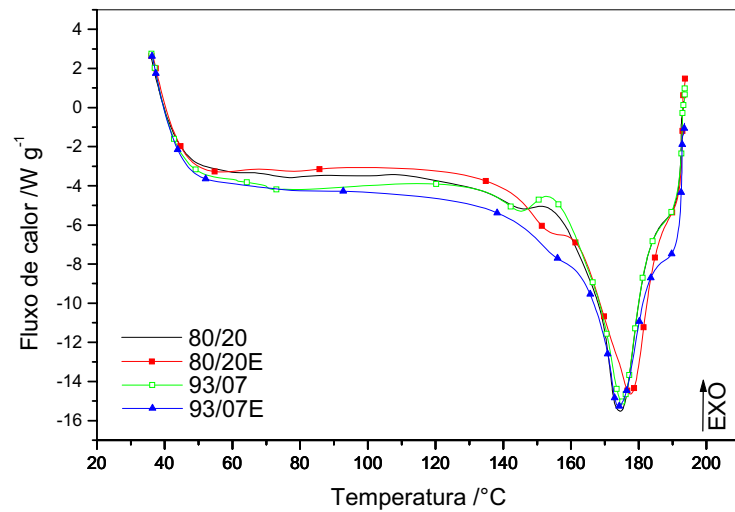


Figura 27: Curvas DSC obtidas com cadinho de alumínio aberto para o estudo de comportamento térmico dos filmes PHB/AM preparados com adição inversa dos reagentes para o primeiro aquecimento em atmosfera de N_2 (50 mL min^{-1}), massa de amostra de 6 mg e razão de aquecimento de $20 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$. O primeiro aquecimento foi realizado de 40 até $195 \text{ }^\circ\text{C}$.

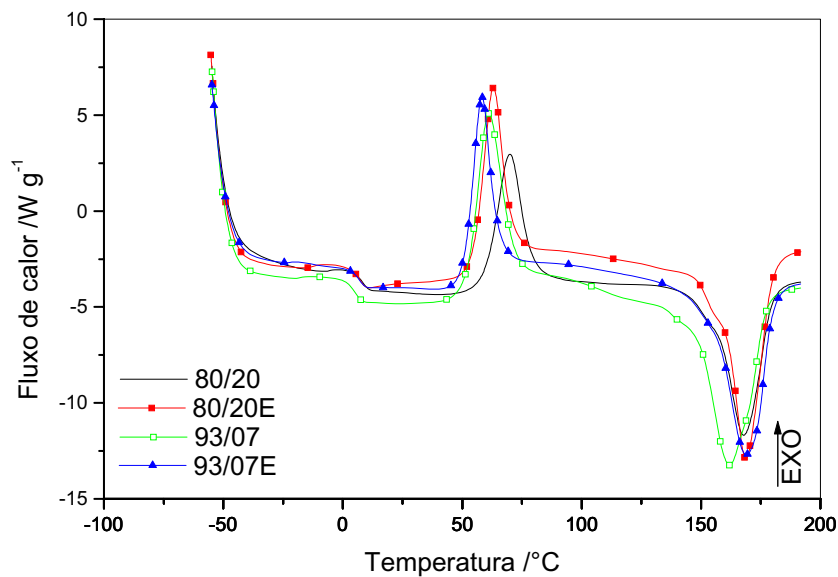


Figura 28: Curvas DSC obtidas com cadinho de alumínio aberto para o estudo de comportamento térmico dos filmes de PHB/AM preparados com adição inversa dos reagentes para o segundo aquecimento em atmosfera de N_2 (50 mL min^{-1}), massa de amostra de 6 mg e razão de aquecimento de $20 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$. O segundo aquecimento foi realizado após resfriamento brusco com N_2 líquido, de -50 até $200 \text{ }^\circ\text{C}$.

5.6. ESTUDO DE CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DE PHB E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

5.6.1. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) E ANIDRIDO MALEICO POR CROMATOGRAFIA GASOSA (GC-FID)

5.6.1.1. Determinação em filmes de PHB com anidrido maleico na proporção 90/10

O teor de PHB e anidrido maleico podem ser determinados simultaneamente utilizando a metodologia cromatográfica descrita no item 4.3.9.

Soluções com diferentes concentrações de padrão de PHB, anidrido maleico e com a mesma concentração de ácido benzóico esterificadas com álcool isoamílico foram preparados e analisados por GC-FID. Após esterificação, alíquotas de 1 μ L da fase orgânica foram injetadas no GC-FID em triplicata no mesmo dia. Os volumes injetados correspondem à massa entre 1 e 18 mg para o PHB, entre 0,5 e 5 mg para o anidrido maleico e a concentração de PI foi a mesma para todos os padrões.

Com a hidrólise em meio ácido e esterificação determina-se por GC-FID os ésteres correspondentes, que são maleato de isoamila (MI), 3-hidroxibutirato de isoamila (HB) e benzoato de isoamila (padrão interno - PI).

O cromatograma da análise em branco e da solução padrão de MI, HB e PI estão apresentados na Figura 29 e Figura 30, respectivamente.

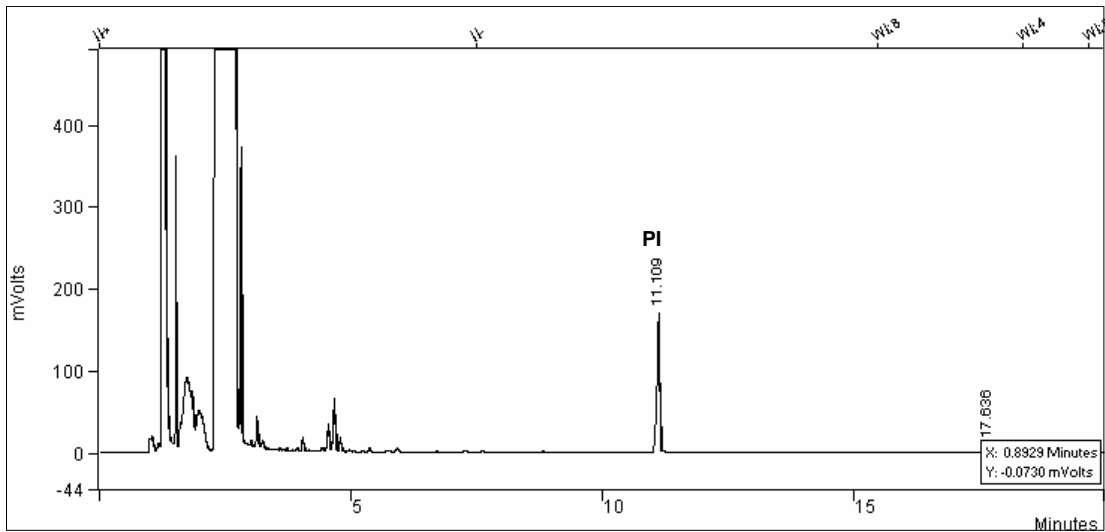


Figura 29: Cromatograma da análise em branco (solução reagente).

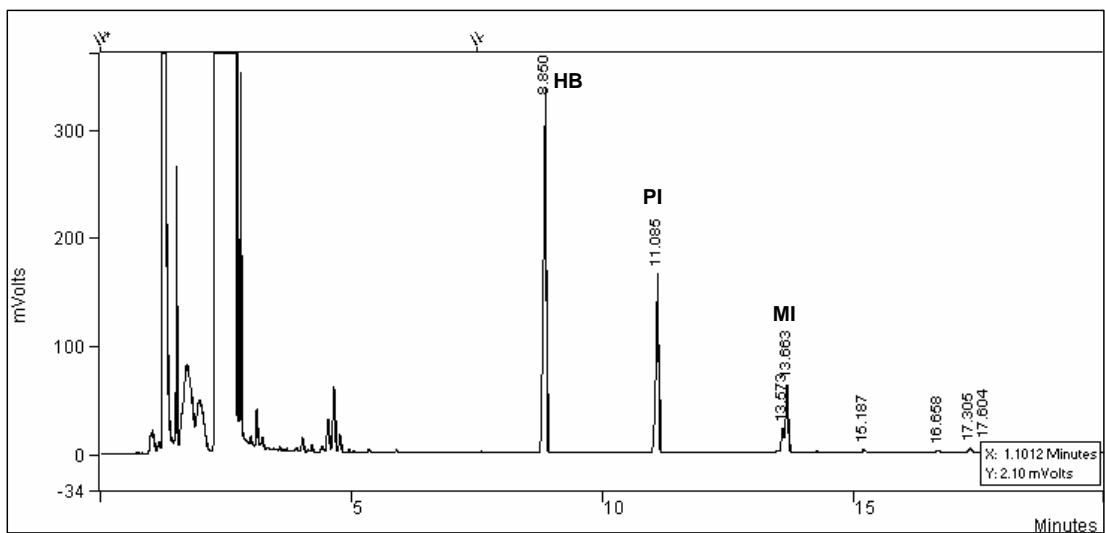


Figura 30: Cromatograma da solução padrão de HB, PI e MI.

O cromatograma da Figura 29, corresponde a análise em branco da solução reagente com apenas o pico do solvente logo no início da corrida cromatográfica e em 11,109 minutos o pico referente ao PI.

Os picos em 8,850, 11,095 e 13,663 minutos no cromatograma da Figura 30 são referentes ao ésteres derivados do PHB, anidrido maleico e ácido benzóico, respectivamente. O tempo total de análise foi de 19 minutos.

Para determinação do teor de HB e MI nos filmes são construídas curvas de resposta do sinal analítico (relação de área de HB/PI ou MI/PI) contra massa do padrão de HB e MI.

Na Figura 31 estão apresentadas as curvas de resposta analítica (área média HB/PI) em função da massa de HB, além do fator de resposta, (FR) dado pela relação de área média HB/PI sobre a massa de HB em função da massa de HB ilustrando o intervalo de linearidade dentro dos limites aceitos para validação do método⁷⁰. Na Figura 32 estão apresentadas as curvas de respostas para o MI.

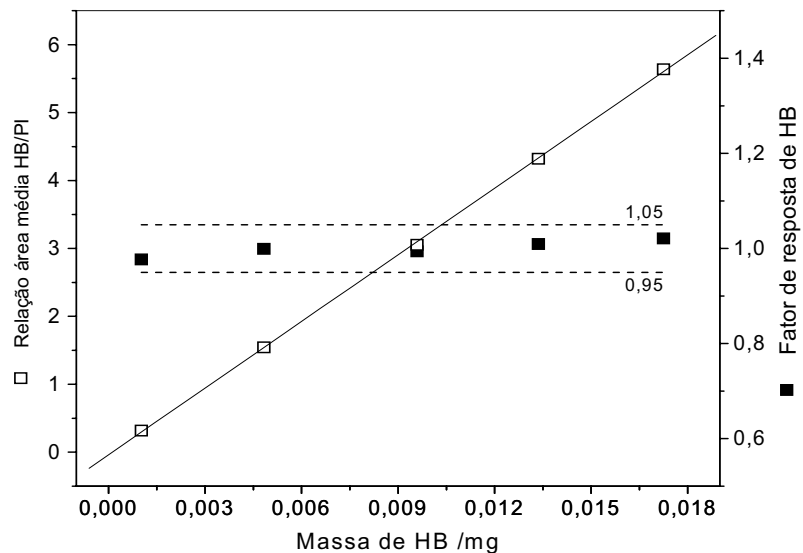


Figura 31: Reposta analítica (relação área HB/PI) e relação área HB/PI sobre massa de HB em função da massa dos padrões de HB submetidos à derivatização.

Os parâmetros do processo de validação do método para determinação do teor de HB e MI foram calculados de maneira semelhante àquela descrita no método para quantificação do teor de 3-hidroxi-butirato de metila e 3-hidroxi-valerato de metila.

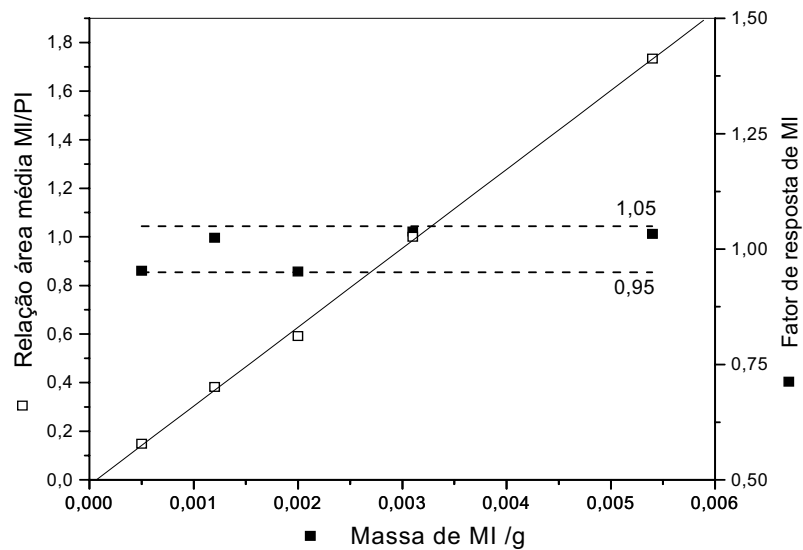


Figura 32: Reposta analítica (relação área MI/PI) e relação área MI/PI sobre massa de MI em função da massa dos padrões de MI submetidos à derivatização.

Os principais parâmetros de validação: sensibilidade do método, precisão dada pela repetibilidade das injeções, recuperação em três diferentes níveis de concentração e desvio padrão (DP) (n=3), limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), no intervalo de massa dos padrões analisados para o HB e MI, estão descritos na Tabela 22.

Tabela 22: Parâmetros do processo de validação do método para determinação de HB e MI

PARÂMETROS	PARÂMETROS		UNIDADES
	HB	MI	
Sensibilidade	327	325	Relação de área/g
Intervalo de trabalho	0,0009 – 0,0188	0,0005 – 0,0054	g
Precisão (repetitividade)	2,06	5,06	%
Recuperação	0,0049 g => 105 ± 5	0,0007 g => 86 ± 2	
Média ± DP	0,0142 g => 101 ± 1	0,0013 g => 92 ± 1	%
	0,0182 g => 105 ± 1	0,0030 g => 97 ± 1	
LD do método	0,0016	0,0002	g
LQ do método	0,0048	0,0007	g

Os resultados obtidos no método proposto para determinação simultânea de HB e MI estão coerentes com os estudos de validação empregando hidrólise ácida e esterificação com metanol.

Os resultados de porcentagem de HB e de MI determinados por GC-FID nos filmes preparados estão descritos na Tabela 23.

A aplicação da metodologia apresentada possibilita quantificar os monômeros de PHB e de anidrido maleico e obter informações adicionais sobre a atuação do catalisador (triethylamina) utilizado na reação de esterificação, quanto a possíveis reações anidrido/catalisador ou resíduos de catalisador presente nos filmes.

A soma dos valores de porcentagem de HB e MI indica que durante a reação de modificação de cadeia do PHB com anidrido maleico podem ter formado estruturas distintas dos padrões, que não foram identificadas nem quantificadas na análise por GC-FID.

Tabela 23: Porcentagem de HB e de MI determinadas por GC-FID

AMOSTRA	% HB	% MI
PHB	99,7	-
1	66,2	9,4
2	80,0	10,6
3	50,7	8,5
4	82,5	11,1
5	77,0	8,2
6	84,7	8,7
7	76,5	10,7
8	69,7	7,3

5.6.1.2. Determinação de PHB e anidrido maleico em filmes com diferentes proporções PHB/AM

A determinação do teor de poli(3-hidroxi-butilato) e anidrido maleico em filmes com diferentes proporções foi realizada utilizando-se o mesmo procedimento experimental, método de esterificação, padrão interno e a determinação dos produtos de reação como discutido no item 5.6.1.1.

A avaliação do perfil cromatográfico dos filmes de PHB puro em comparação com PHB/catalisador e dos cromatogramas das amostras de anidrido puro e anidrido/catalisador não indica a presença de pico que pode ser referente à trietilamina.

Os resultados de porcentagens de HB e MI determinados por cromatografia gasosa estão apresentados na Tabela 24.

Tabela 24: Porcentagem de HB e MI determinadas por GC-FID

AMOSTRA	% HB	% MI
1 (80/20)	70,1	14,7
2 (90/10)	80,0	10,6
3 (93/07)	96,5	7,7
4 (95/05)	99,0	5,8
5 (97/03)	103,5	ND
6 (99/01)	106,7	ND
PHB/catalisador	106,0	-
PHB puro	106,2	-
Anidrido/catalisador	-	27,8
Anidrido	-	91,0

Os valores de porcentagem encontrados para HB e MI, estão de acordo com os parâmetros do método validado descrito no item 5.6.1.1.

Para o filme com a proporção PHB/AM 80/20 (amostra 1), a soma das porcentagens indica que aproximadamente 10 % de PHB e 5 % de anidrido maleico não são identificados com suas respectivas estruturas esterificadas. Esta diferença sugere uma interação PHB:AM com relação 2:1.

Para os filmes 2 e 3 de PHB/AM a soma dos valores de PHB e AM apresentam uma esterificação completa da massa de filme e os respectivos valores de porcentagem de PHB e MI estão de acordo com os limites determinados no processo de validação do método.

Nas amostras dos filmes 4 e 5, não foram detectados picos de MI, pois os valores de massa de AM utilizados na preparação dos filmes estão abaixo do intervalo de concentração de trabalho do método, considerando os valores de recuperação no nível 1 para o MI (Tabela 22).

Os resultados apresentados na Tabela 24 para as amostras de filme de PHB puro e PHB/catalisador indicam que, provavelmente não ocorre interação PHB-trietilamina.

A porcentagem de anidrido (27,8 %) determinada na amostra de anidrido/catalisador indica que o anidrido maleico pode interagir com o catalisador, cujo produto pode possuir maior afinidade com a fase aquosa e injetando a fase orgânica espera-se menor valor de porcentagem de anidrido maleico.

5.7. PROPOSTA DE MECANISMO DE MODIFICAÇÃO DE CADEIA DE PHB COM AM

O estudo do comportamento térmico dos filmes de PHB/AM discutido no item 5.4.2 e 5.4.3 e as análises realizadas por GC-FID (item 5.6.1) indicam que as cadeias do PHB podem ser parcialmente modificadas por unidades de anidrido maleico.

As curvas TG da Figura 16 (item 5.4.2) revelaram que em intervalos distintos de temperatura ocorrem degradações características de anidrido maleico, PHB/anidrido e PHB, em que a fração de PHB modificada apresentou uma diminuição da estabilidade térmica devido à presença de unidades de anidrido.

Os resultados obtidos por DSC (item 5.4.3) indicaram que a incorporação de unidades de anidrido maleico provoca diminuição de T_m , T_g e %crist.

O valor de índice de acidez determinado no item 5.3 indica a presença de hidrogênio disponível nas extremidades das cadeias de PHB, assim as proporções de anidrido maleico de 20, 07 e 05 % tiveram influência significativa nos valores de T_m , T_g e %crist apresentados na Tabela 17, pois a incorporação de moléculas de anidrido, possivelmente em pequeno excesso pode ocorrer também cisão de cadeia de PHB e conseqüentemente, a estrutura formada apresenta menores valores nas propriedades térmicas avaliadas.

Para o mesmo grupo de amostra de PHB/AM com proporção de 80/20, 93/07 e 95/05 observou-se que a presença de MI determinado por GC-FID (item 5.6.1) pode representar a proporção total de derivados do anidrido maleico. Considerando que, a

primeira etapa de perda de massa das curvas TG representa anidrido residual tem-se, portanto de 35 a 50 % de incorporação de anidrido à estrutura do PHB.

A Figura 33 ilustra uma proposta de mecanismo de interação: AM-trietilamina e PHB, que pode ser sugerido a partir da avaliação dos resultados apresentados.

Propõe-se que há formação de um complexo ativado entre as moléculas de anidrido maleico e trietilamina e na segunda etapa, denominada como reação de modificação de cadeia tem-se a incorporação de unidades de AM na estrutura do PHB, liberando as moléculas da amina.

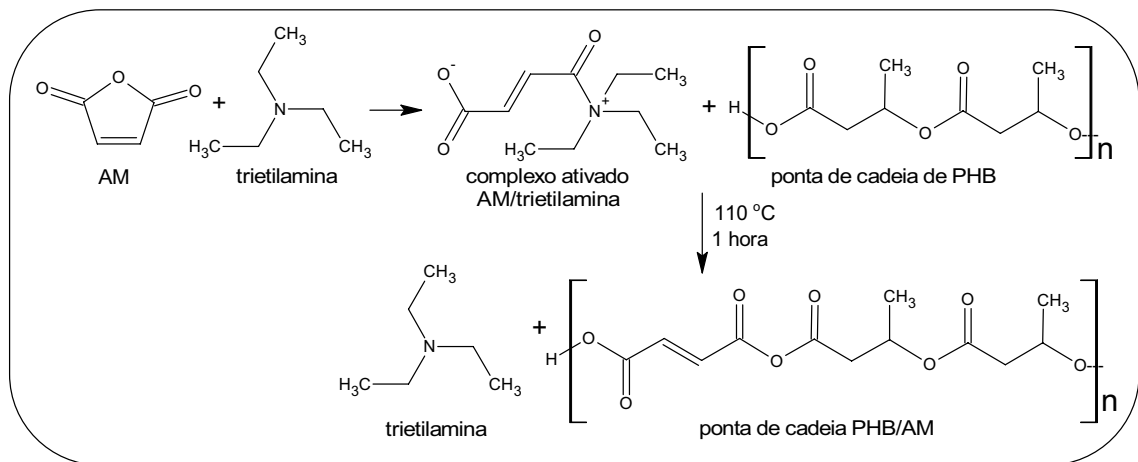


Figura 33: Proposta de mecanismo de modificação de cadeia

Os filmes preparados com a adição inversa dos reagentes foram preparados com o objetivo de estudar a formação do complexo ativado entre a trietilamina e o anidrido maleico com todo o anidrido presente na solução (quantidade de catalisador estequiométrica) e com excesso de base obtido da condição otimizada do planejamento dos experimentos, e em seguida reagir com o PHB, em uma segunda etapa, quando esta solução fosse adicionada a solução de PHB.

A reação entre o anidrido maleico e trietilamina forma um sal de amônio e quando esta reação acontece isolada, preferencialmente o anidrido continua ligado à trietilamina e impedido de interagir com as pontas de cadeia do PHB, isso ocorre porque a formação do estado de transição do complexo ativado pode ser imediatamente estabilizada formando o sal.

Quando os filmes de PHB/AM são preparados com adição de PHB e de anidrido maleico à mesma solução e, posteriormente a adição da base, tem-se caminhos possíveis para a reação de modificação de cadeia do PHB com o anidrido maleico por meio da formação do complexo ativado intermediário, porém a reação pode ocorrer sem a presença do catalisador, como pode ser observado no filme PHB/AM 90/10 discutido no item 5.1.1.

6. CONCLUSÕES

A determinação do índice de acidez permite concluir que grupamentos carboxílicos presentes nos finais das cadeias de PHB estão disponíveis. Portanto, a adição de anidrido maleico na intenção de promover a modificação estrutural do PHB tem interesse diretamente relacionado com o desenvolvimento de um material polimérico que tenha propriedades mecânicas superiores.

O método para determinação simultânea de 3-hidroxi-butirato de isoamila e maleato de isoamila por cromatografia gasosa foi validado e os parâmetros avaliados mostram a segurança analítica para avaliar amostras de filme de PHB modificado com anidrido maleico.

O estudo de comportamento térmico realizado por DSC e TG-DTA forneceu parâmetros das propriedades físico-químicas dos filmes preparados de acordo com o planejamento e otimização de experimentos.

Algumas propriedades térmicas dos filmes determinadas por DSC e TG foram consideradas no estudo estatístico da avaliação da influência das variáveis de promoção da reação, ou seja, a concentração de catalisador, temperatura e tempo reacional. Desta forma, por meio do planejamento e otimização dos experimentos se obteve as melhores condições que influenciam na reação de modificação de cadeia do PHB com anidrido maleico sendo temperatura de 110 °C, tempo de reação de 1 hora e concentração de catalisador de 5 %.

A avaliação realizada para os filmes em diferentes proporções, indica que das proporções estudadas a que apresentou maior porcentagem modificada foi a proporção PHB/AM 80/20.

A partir dos resultados obtidos foi proposto um mecanismo de modificação da cadeia de PHB com anidrido maleico, onde há formação de um complexo ativado intermediário da reação da trietilamina com anidrido maleico, que em seguida reage com o PHB.

O mecanismo proposto pode ocorrer apenas quando a metodologia utilizada foi a apresentada, por metodologias diferentes o caminho da reação pode levar a formação de outros produtos favorecendo outros tipos de reação.

7. TRATAMENTO DE RESÍDUOS

Os possíveis resíduos gerados na preparação dos filmes foram corretamente identificados, segundo norma deste Instituto e encaminhado para tratamento, que consiste de incineração ou recuperação por destilação.

8. PROPOSTAS PARA TRABALHOS FUTUROS

O desenvolvimento do trabalho apresentado gerou resultados e discussões que possibilitou estabelecer propostas que merecem ser cuidadosamente avaliadas em trabalhos futuros:

- Estudar a influencia de amins secundárias ou até mesmo a amônia como catalisador da reação de modificação de cadeia do PHB com anidrido maleico;
- Utilizar como catalisador da reação de esterificação um ácido fraco;
- Estudar a biodegradação dos filmes de PHB/AM;
- Estudar o mecanismo de reação de modificação de cadeia do PHB;
- Avaliar a cinética não isotérmica de decomposição térmica e reação de cristalização dos filmes de PHB/AM, respectivamente por TG e DSC e associar os resultados cinéticos com as condições de processamento do PHB.
- Determinar as propriedades mecânicas dos filmes de PHB/AM por Análise Análise Térmica Mecânico Dinâmica (DMTA);
- Avaliar e estudar a reação de modificação de cadeia com a adição inversa dos reagentes.

9. REFERÊNCIAS

- 1 SQUIO, C. R.; ARAGAO, G. M. F. Estratégias de cultivo para produção dos plásticos biodegradáveis poli(3-hidroxi-butirato) e poli(3-hidroxi-butirato-co- hidroxi-valerato) por bactérias. **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 615-622, 2004.
- 2 CANEVAROLO JÚNIOR, S. V. **Ciência dos polímeros**: um texto básico para tecnólogos e engenheiros. São Paulo: Artliber, 2002.
- 3 GOMEZ, J. G. C.; BUENO NETTO, C. L. Produção de plásticos biodegradáveis por bactérias. **Revista Brasileira de Engenharia Química**, v. 17, n. 2, p. 24-29, 1997.
- 4 FRANCHETTI, S. M. M.; MARCONATO, J. C. Polímeros biodegradáveis- uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 811-816, 2006.
- 5 CORDEBELLO, F. S. Polímeros do futuro-tendências e oportunidades. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 12, n. 4, p. 4-25, 2002.
- 6 DAWES, E. A.; SENIOR, P. J. The role and regulation of energy reserve polymers in micro-organisms. In: ROSE, A. H.; TEMPEST, D. W. (Org.). **Advances in microbial physiology**. California: Academic Press, 1973. v. 10, p. 136-267.
- 7 LENZ, R. W.; MARCHESSAUT, R. H. Bacterial polyesters: biosynthesis, biodegradable plastics and biotechnology. **Biomacromolecules**, v. 6, n. 1, p. 1-8, 2005.
- 8 PANDA, B.; JAIN, P.; SHARMA, L.; MALLICK, N. Optimization of cultural and nutritional conditions for accumulation of poly- β -hydroxybutyrate in *Synechocystis* sp. PCC 6803. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 11, p. 1296-1301, 2006.
- 9 POIRIER, Y. Polyhydroxyalcanoate synthesis in plants as a tool for biotechnology and basic studies of lipid metabolism. **Progress in Lipid Research**, v. 41, n. 2, p. 131-155, 2002.
- 10 MOIRE, L.; REZZONICO, E.; POIRIER, Y. Synthesis of novel biomaterials in plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 160, n. 7, p. 831-839, 2003.

11 COOPERATIVA DE PRODUTORES DE CANA, AÇÚCAR E ÁLCOOL DO ESTADO DE SÃO PAULO LTDA; INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS DO ESTADO DE SÃO PAULO S/A. (São Paulo, SP). Silas Derenzo; Rosa Mitiko Matsubara; Paulo Eduardo Mantelatto; Alice Maria de Melo Ribeiro; Celso Lellis Bueno Neto; Carlos Eduardo Vaz Rossell; Gracinda Martins Correia Garófalo. **Processo de extração de biopolímeros**. BR n. PI9302312-0, 30 jun. 1993.

12 COOPERATIVA DE PRODUTORES DE CANA, AÇÚCAR E ÁLCOOL DO ESTADO DE SÃO PAULO LTDA; INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS DO ESTADO DE SÃO PAULO S/A. (São Paulo, SP). Margaretti Simões Oliveira; Rosa Mitiko Matsubara; Celso Lellis Bueno Neto; Américo Martins Craveiro; Alfredo Eduardo Maiorano; Arménio Gomes Pinto; José Geraldo da Cruz Pradella. **Processo para produzir polihidroxibutirato a partir de açúcares extraídas da cana de açúcar**. BR n. PI9302312-0, 30 jun. 1993.

13 SHAHHOSSEINI, S. Simulation and optimization of PHB production in fed-batch culture of *Ralstonia eutropha*. **Process Biochemistry**, v. 39, n. 8, p. 963-969, 2004.

14 CHIELLINI, E.; CORTI, A.; D'ANTONE, S.; SOLARO, R. Biodegradation of poly(vinyl alcohol) based materials. **Progress in Polymer Science**, v. 28, n. 6, p. 963-1014, 2003.

15 BYROM, D. Polymers synthesis by microorganisms: technology and economics. **Trends in Biotechnolgy**, v. 5, n. 9, p. 246-250, 1987.

16 NONATO, R. V.; MANTELATTO, P. E.; ROSSELL, C. E. V. Integrated production of biodegradable plastic, sugar and ethanol. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 57, n. 1/2, p. 1-5, 2001.

17 SHARMA, L.; HAY, J. N. Crystallization of poly(3-hydroxybutyrate)/polyvinyl acetate blends. **Polymer**, v. 41, p. 5749-5757, 2000.

18 CHEN, L. J.; WANG, M. Production and evaluation of biodegradable composites based on PHB-PHV copolymer. **Biomaterials**, v. 23, n. 13, p. 2631-2639, 2002.

19 CHANDRA, R.; RUTSGI, R. Biodegradable polymers. **Progress in Polymer Science**, v. 23, p. 1273-1335, 1998.

-
- 20 SADER, M. S.; FERREIRA, M.; DIAS, M. L. Preparação e caracterização de estruturas porosas de poli(3-hidroxiбутирато). **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 16, n. 1, p. 12-18, 2006.
- 21 SANTANA, M. V. C. C.; TORRIANI, I. L.; PRIVELIC, T.; DUEK, E. A. R. Estudo da degradação "In Vitro" de blendas de Poli(β -Hidroxiбутирато) (PHB) / Poli(L-Ácido Lático) (PLLA) na forma de filmes. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 14, n. 3, p. 187-193, 2004.
- 22 LI, J.; LI, X.; NI, X.; WANG, X.; LI, H.; LEONG, K. W. Self-assembled supramolecular hydrogels formed by biodegradable PEO-PHB-PEO triblock copolymers and α -cyclodextrin for controlled drug delivery. **Biomaterials**, v. 27, n. 22, p. 4132-4140, 2006.
- 23 LUENGO, J. M.; GARCÍA, B.; SANDOVAL, A.; NAHARO, G.; OLIVERA, E. R. Bioplastics from microorganisms. **Current Opinion in Microbiology**, v. 6, n. 3, p. 251-260, 2003.
- 24 POUTON, C. W.; AKHTAR, S. Biosynthetic polyhydroxyalkanoates and their potential in drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 18, n. 2, p. 133-162, 1996.
- 25 KNOWLES, J. C.; HASTINGS, G. W.; OHTA, H.; NIWA, S.; BOEREE, N. Development of a degradable composite for orthopedic use: in vivo biomechanical and histological evaluation of two bioactive degradable composites based on the polyhydroxybutyrate polymer. **Biomaterials**, v. 13, n. 8, p. 491-496, 1992.
- 26 EL-SHAFEE, E.; SAAD, G. R.; FAHMY, S. M. Miscibility, crystallization and phase structure of poly(3-hydroxybutyrate)/cellulose acetate butyrate blends. **European Polymer Journal**, v. 37, p. 2091-2104, 2001.
- 27 CHEN, C.; FEI, B.; PENG, S.; ZHUANG, Y.; DONG, L.; FENG, Z. Nonisothermal crystallization and melting behavior of poly(3-hydroxybutyrate) and maleated poly(3-hydroxybutyrate). **European Polymer Journal**, v. 38, n. 8, p. 1663-1670, 2002.
- 28 SOLOMONS, G.; FRYHLE, C. Ácidos carboxílicos e seus derivados. Substituições nucleofílicas no carbono acílico. In: _____. **Química orgânica**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC Livros Técnicos e Científicos, 1996. cap. 18, v. 2, p. 91-148.

29 JANIGOVÁ, I.; LACÍK, I.; CHODÁK, I. Thermal degradation of plasticized poly(3-hydroxybutyrate) investigated by DSC. **Polymer Degradation and Stability**, v. 77, n. 1, p. 35-41, 2002.

30 KOPINKE, F. D.; REMMLER, M.; MACKENZIE, K. Thermal decomposition of biodegradable polyesters-I: poly(β -hydroxybutyric acid). **Polymer Degradation and Stability**, v. 52, n. 1, p. 25-38, 1996.

31 QIU, Z.; IKEHARA, T.; NISHI, T. Poly(3-hydroxybutyrate)/poly(butylene succinate) blends: miscibility and nonisothermal crystallization. **Polymer**, v. 44, n. 8, p. 2503-2508, 2003.

32 SCHICK, C.; WURM, A.; MOHAMMED, A. Formation and disappearance of the rigid amorphous fraction in semicrystalline polymers revealed from frequency dependent heat capacity. **Thermochimica Acta**, v. 396, n. 1/2, p. 119-132, 2003.

33 YOU, J. W.; CHIU, H. J.; DON, T. M. Spherulitic morphology and crystallization kinetics of melt-miscibility blends of poly(3-hydroxybutyrate) with low molecular weight poly(ethylene oxide). **Polymer**, v. 44, n. 15, p. 4355-4362, 2003.

34 AN, Y.; DONG, L.; LI, L.; MO, Z.; FENG, Z. Isothermal crystallization and melting behavior of poly(3-hydroxybutyrate)/poly(vinyl acetate) blends. **European Polymer Journal**, v. 35, p. 365-369, 1999.

35 AN, Y.; DONG, L.; XING, P.; ZHUANG, Y.; MO, Z.; FENG, Z. Crystallization kinetics and morphology of poly(β -hydroxybutyrate) and poly(vinyl acetate) blends. **European Polymer Journal**, v. 33, n. 9, p. 1449-1452, 1997.

36 GUNARATNE, L. M. W. K.; SHANKS, R. A.; AMARASINGHE, G. Thermal history effect on crystallization and melting of poly(3-hydroxybutyrate). **Thermochimica Acta**, v. 423, n. 1/2, p. 127-135, 2004.

37 ROSA, D. S.; FRANCO, B. L. M.; CALIL, M. R. Biodegradabilidade e propriedades mecânicas de novas blendas poliméricas. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 11, n. 2, p. 82-89, 2001.

38 ROSA, D. S.; FILHO, R. P.; CHUI, Q. S. H.; CALIL, M. R.; GUEDES, C. G. F. The biodegradation of poly(β -hydroxybutyrate), poly(β -hydroxybutyrate-co- β -valerate) and

poly(ϵ -caprolactone) in compost derived from municipal waste. **European Polymer Journal**, v. 39, n. 2, p. 233-237, 2003.

39 AOYAGI, Y.; YAMSHITA, K.; DOI, Y. Thermal degradation of poly[(R)-3-hydroxybutyrate], poly(ϵ -caprolactone) and poly[(S)-lactide]. **Polymer Degradation and Stability**, v. 76, p. 53-59, 2002.

40 OLIVEIRA, L. M.; ARAÚJO, E. S.; GUEDES, S. M. L. Gamma irradiation effects on poly(hydroxybutyrate). **Polymer Degradation and Stability**, v. 91, n. 9, p. 2157-2162, 2006.

41 AVRAMI, M. Kinetics of phase change I. general theory. **Journal of Chemical Physics**, v. 7, p. 1103-1112, 1939.

42 AVRAMI, M. Kinetics of phase change II. transformation–time relation for random distribution of nuclei. **Journal of Chemical Physics**, v. 8, p. 212-224, 1940.

43 AVRAMI, M. Granulation, phase change and microstructure: kinetics of phase change III. **Journal of Chemical Physics**, v. 9, p. 177-184, 1941.

44 ANTUNES, M. C.; FELISBERTI, M. I. Characterization of poly(hydroxybutyrate) and poly(ϵ -caprolactone) blends obtained from melting process. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NATURAL POLYMERS AND COMPOSITES, 5th; BRAZILIAN SYMPOSIUM ON THE CHEMISTRY OF LIGNINS AND OTHER WOOD COMPONENTS, 8th, 2004, São Pedro. [Trabalhos apresentados]. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária; ABPol, 2004. p. 100-102. 1 CD-ROM.

45 QUENTAL, A. C.; FELISBERTI, M. I. Reactive blends of PHB/PETG: formation of an aliphatic/aromatic copolyester. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NATURAL POLYMERS AND COMPOSITES, 5th; BRAZILIAN SYMPOSIUM ON THE CHEMISTRY OF LIGNINS AND OTHER WOOD COMPONENTS, 8th, 2004, São Pedro. [Trabalhos apresentados]. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária; ABPol, 2004. p. 100-102. 1 CD-ROM.

46 CARTER, J. M.; RODRIGUES, M. F. A.; PARRAS, C. N.; WANG, S. H. Trans esterification of poly(3-hydroxybutyric acid) with poly(ϵ -caprolactone). In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NATURAL POLYMERS AND COMPOSITES, 5th; BRAZILIAN SYMPOSIUM ON THE CHEMISTRY OF LIGNINS AND OTHER WOOD

COMPONENTS, 8th, 2004, São Pedro. [Trabalhos apresentados]. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária; ABPol, 2004. p. 100-102. 1 CD-ROM.

47 CABRAL, J. G.; CINTHO, O. M.; CAPOCCHI, J. D. T.; WANG, S. H. Thermal analyses of materials from poly(3-hydroxybutyrate). In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NATURAL POLYMERS AND COMPOSITES, 5th; BRAZILIAN SYMPOSIUM ON THE CHEMISTRY OF LIGNINS AND OTHER WOOD COMPONENTS, 8th, 2004, São Pedro. [Trabalhos apresentados]. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária; ABPol, 2004. p. 100-102. 1 CD-ROM.

48 ROSA, D. S.; CHUI, Q. S. H.; PANTANO FILHO, R. P.; AGNELLI, J. A. M. Avaliação da biodegradação de poli(3-hidroxibutirato), poli(3-hidroxibutirato-co-valerato) e poli(ϵ -caprolactona) em solo compostado. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 12, p. 311-317, 2002.

49 VOGELSAGER JR., N.; FURLAN, S. A.; SCNEIDER, A. L. S.; PIRES, A. T. N.; PEZZIN, S. H.; PEZZIN, A. P. T. Filmes de P(3HB) e PCL: Acompanhamento da biodegradação em solo por propriedades térmicas e morfológicas. **Revista Matéria**, v. 9, n. 4, p. 370-377, 2004.

50 ERCEG, M.; KOVACIC, T.; KLARIC, I. Dynamic thermogravimetric degradation of poly(3-hydroxybutyrate)/aliphatic-aromatic copolyester blends. **Polymer Degradation and Stability**, v. 90, p. 86-94, 2005.

51 SPITALSKY, Z.; LACIK, I.; LATHOVA, E.; JANIGOVA, I.; CHODAK, I. Controlled degradation of polyhydroxybutyrate via alcoholysis with ethylene glycol or glycerol. **Polymer Degradation and Stability**, v. 91, n. 4, p. 856-861, 2006.

52 PARRA, D. F.; FUSARO, J.; GABOARDI, F.; ROSA, D. S. Influence of poly (ethylene glycol) on the thermal, mechanical, morphological, physical-chemical and biodegradation properties of poly (3-hydroxybutyrate). **Polymer Degradation and Stability**, v. 91, n. 9, p. 1954-1959, 2006.

53 ZHAO, Q.; CHENG, G.; SONG, C.; ZENG, Y.; TAO, J.; ZHANG, L. Crystallization behavior and biodegradation of poly(3hydroxybutyrate) and poly(ethylene glycol) multiblock copolymers. **Polymer Degradation and Stability**, v. 91, n. 6, p. 1240-1246, 2006.

54 ZHAO, Q.; CHENG, G.; LI, H.; MA, X.; ZHANG, L. Synthesis and characterization of biodegradable poly(3-hydroxybutyrate) and poly(ethylene glycol) multiblock copolymers. **Polymer**, v. 46, n. 23, p.10561-10567, 2005.

55 BUCCI, D. Z.; TAVARES, L. B. B.; SELL, I. PHB packaging for the storage of food products. **Polymer Testing**, v. 24, n. 5, p. 564-571, 2005.

56 BUCCI, D. Z. **Avaliação de embalagens de PHB (poli(ácido 3-hidroxibutírico)) para alimentos**. 2003. 146 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

57 CARASCHI, J. C.; RAMOS, U. M.; LEÃO, A. L. Compósitos biodegradáveis de polihidroxibutirato (PHB) reforçado com farinha de madeira: propriedades e degradação. **Acta Scientiarum**, v. 24, n. 6, p. 1609-1614, 2002.

58 CAMARGO, F. A. **Obtenção, caracterização e estudo de biodegradação de blendas de poli(3-hidroxibutirato co-valerato)/(PHBV) com lignina de bagaço de cana de açúcar**. 2003. 89 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

59 ERCEG, M.; KOVACIC, T.; KLARIC, I. Thermal degradation of poly(3-hydroxybutyrate) plasticized with acetyl tributyl citrate. **Polymer Degradation and Stability**, v. 90, n. 2, p. 313-318, 2005.

60 SANTOS, A. F. **Caracterização, modificação e estudo cinético não isotérmico de poli(3-hidroxibutirato)**. 2005. 148 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2005.

61 AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **D1639-90**: standard test method for acid value of organic materials. West Conshohocken, 2000. 2 p.

62 MISEV, T. A. **Powder coatings: chemistry and technology**. Chichester: Wiley and Sons, 1991. 379 p.

63 BOX, G. E. P.; HUNTER, W. G.; HUNTER, J. S. **Statistics for experimenters: an introduction to design, data analysis and model building**. New York: Wiley, 1978.

64 BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e otimização de experimentos**. Campinas. UNICAMP, 1995. 299 p.

65 DAVIES, L. **Efficiency in research, development and production: the statistical design and analysis of chemical experiments**. Dorchester: Henry Ling, 1993. 180 p.

66 BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S. ;BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos pesquisa e desenvolvimento na ciência e na industria**. Campinas: UNICAMP, 2002. 401 p.

67 ZAMORA, P. P.; MORAIS, J. L.; NAGATA, N. Por que otimização multivariada?. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v. 10, n. 2, p. 106-110, 2005.

68 TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamento experimentais, um tutorial. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 338-350, 2006.

69 BUDAVARI, S. (Ed.). **The Merck Index: an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals**. 13th ed. New Jersey: Merck, 2001. p. 1723.

70 RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.