



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(MICROBIOLOGIA APLICADA)**

FOTO E BIODEGRADAÇÃO DE PEBD, PHB E SUAS BLENDA

VIVIANE CRISTINA PADILHA LOPES

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, área Microbiologia Aplicada.

**Rio Claro
Junho - 2011**

FOTO E BIODEGRADAÇÃO DE PEBD, PHB E SUAS BLENDS

VIVIANE CRISTINA PADILHA LOPES

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, área Microbiologia Aplicada.

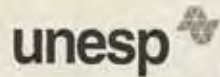
Orientador: Dr. José Carlos Marconato

**Rio Claro
Junho – 2011**

547.87 Lopes, Viviane Cristina Padilha
L864f Foto e biodegradação de PEBD, PHB e suas blends /
Viviane Cristina Padilha Lopes. - Rio Claro : [s.n.], 2011
100 f. : il., figs., gráfs., tabs., fots.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: José Carlos Marconato

1. Polímeros. 2. Fotodegradação. 3. MEV. 5. FTIR. I.
Título.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE RIO CLARO
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE RIO CLARO

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: BIODEGRADAÇÃO DE BLENDS DE PEBD/PHB PELO FUNGO EDÁFICO
Phanerochaete chrysosporium

AUTORA: VIVIANE CRISTINA PADILHA LOPES

ORIENTADOR: Prof. Dr. JOSÉ CARLOS MARCONATO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (MICROBIOLOGIA APLICADA), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. JOSÉ CARLOS MARCONATO

Departamento de Bioquímica e Microbiologia / Instituto de Biociências de Rio Claro

Profa. Dra. REGINA TERESA ROSIM MONTEIRO

Centro de Energia Nuclear Na Agricultura / Universidade de Sao Paulo

Profa. Dra. ADRIANA DE CAMPOS PASTRE

Embrapa Instrumentação Agropecuária

Data da realização: 18 de abril de 2011.

*Dedico inteiramente esse trabalho
aos meus pais, Luis Lopes e Evanildes.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que me guiou e ajudou na realização deste trabalho. Manteve-me forte por todo esse período. Foram muitos pesares vividos, mas muita experiência adquirida. Não mudaria nada. “Deus só nos dá o fardo que aguentamos carregar”.

Sou infinitamente grata aos meus pais, Luis Lopes e Evanildes por toda a ajuda emocional, psicológica e financeira nesses dois anos. Espero um dia poder retribuir metade do que vocês fizeram por mim.... Ao meu irmão Felipe e a Tati pelas palavras de incentivo e força, as minhas queridas tias Analice, Creuza, Vige e Nail, que oraram por mim, que Deus continue fazendo maravilhas na vida de vocês;

Ao meu orientador Prof. Dr. José Carlos Marconato, por toda a ajuda, paciência e suporte;

Obrigada ao Departamento de Bioquímica e Microbiologia pelo apoio concedido em dois anos de trabalhos realizados;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento do trabalho;

Ao Prof. Dr. José Augusto M. Agnelli, pelas irradiações das amostras deste trabalho, no Departamento de Engenharia de Materiais - UFSCar;

Ao Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia eletrônica na Pesquisa Agropecuária (NAP/MEPA-ESALQ/USP), ESALQ – USP, Piracicaba, pelas análises de MEV;

Obrigada a todos os técnicos que ajudaram direta e indiretamente no decorrer desse trabalho, em especial a Maria Luíza (pessoa incomparável), Inês, Zito, Beto e Fátima. Ao corpo de docentes do departamento que mostraram novos caminhos em várias áreas da microbiologia, lecionando com propriedade e competência, além de esclarecerem várias dúvidas por esses anos, em especial a Prof^ª Sandra Martins Franquetti e Prof^ª Dejanira de Franceschi de Angelis.

Agradeço a todos os amigos e companheiros de departamento (Grazy, Bill, Chal, Burns, Bianquita, Roberta, Mary, Rodrigo (latino) Ângela (ôpa!), César, Paulo, Fabrício, Katy) pelas horas de descontração na copa, pelos corredores, no RU, e nas comemorações fora do ambiente de trabalho. Aos colegas do Laboratório de Tratamentos de Polímeros (Lab. 4), Suely, Adriana, Vivizinha, Mateus, Adriano e Vivi vivi. Muito obrigada pela paciência, pela convivência cordial e pelas ajudas com o experimento. Aos amigos de convivência fora do departamento, Bruno, Pernambuco, Dácio, Selene, Bala, Gra, Mauricio, Lud, Bruna, e tantos outros sem ordem de merecimento.

Aqui vão os meus incomensuráveis agradecimentos ao parceiros de laboratório, Adriano e Mateus; sem vocês o meu trabalho teria sido MUITO mais difícil. Mateus... muito obrigada pelas horas de risadas e “momento ciência”, você é o melhor companheiro de análise de MEV e de ajudante de prensa! Adriano... pela paciência, pelos ensinamentos, dúvidas, desabafos e pelas horas do seu fim de semana perdidas comigo, te agradeço demais! Te considero o meu Co-orientador de coração. Vou sentir muita falta de vocês.

Vivi... sua presença e alegria foram fundamentais desde o início até o fim desses dois anos. Mesmo que nossos caminhos um dia se distanciem, saiba que te tenho no coração guardada pra sempre. MUITO OBRIGADA pelos desabafos, pelas alegrias, tristezas, pelos cuidados de mãe, e pelas verdades ditas.

A todos que participaram deste trabalho, direta e indiretamente e a todos que presenciaram minha luta, meu muito obrigada.

*“Comece fazendo o que é necessário, depois o que é possível,
e de repente você estará fazendo o impossível.”*

São Francisco de Assis

*“A vantagem de ter péssima memória é divertir-se muitas vezes com as
mesmas coisas boas como se fosse a primeira vez.”*

F. Nietzsche

RESUMO

Recentemente o mundo começou a se preocupar com o consumo exacerbado de embalagens e a sua rápida descartabilidade. Por conseguinte, alternativas de amenização deste problema têm sido propostas tais como a utilização de plásticos biodegradáveis, o uso de blendas poliméricas e o emprego de aditivos que facilitem a biodegradação. Sendo assim, este trabalho teve por objetivo avaliar os diferentes tratamentos: foto, bio e foto/biotratamento, aplicados na degradação de filmes finos de PEBD, PHB e de suas blendas, empregando o fungo *P. chrysosporium* CCB 478 no processo biodegradativo. As blendas de PEBD/PHB foram preparadas nas composições de 90:10, 80:20 e 70:30 (m/m) juntamente com os filmes de homopolímeros pelo processo de prensagem sob aquecimento. As amostras foram submetidas à radiação UV e em seguida foram aplicados os testes de biodegradação em meio mineral líquido com o fungo *P. chrysosporium* CCB 478 pelo período de 120 dias. Análises de perda de massa, ângulo de contato, FTIR, análises visuais, microscopia óptica, MEV, foram técnicas utilizadas para avaliar a biodegradação. O fototratamento realizado com todas as amostras dos filmes foi relevante para o processo de adesão e colonização da superfície dos filmes. As blendas de composição 70/30 e 80/20 apresentaram alterações morfológicas e estruturais mais significativas, por MEV e FTIR, além de apresentaram melhores resultados de biodegradação, após a fotoirradiação.

Palavras chaves: Blendas, PEBD, PHB, Fotodegradação, Biodegradação, MEV, FTIR.

ABSTRACT

Recently the world began to worry about the high consumption and rapid disposability of packaging. Therefore, alternatives to improve this problem have been proposed such as use of biodegradable plastics, polymer blends and additives which facilitates the biodegradation. Thus, this study aimed to evaluate the results of different treatments: biotreatment, phototreatment, and photo/biotreatment, applied on the degradation of thin films of LDPE, PHB and its blends, using as fungus *Phanerochaete chrysosporium* CCB 478 in biodegradation process. Blends of LDPE/PHB were prepared in the compositions of 90:10, 80:20 and 70:30 (m/m) along with homopolymers films by pressing process under heating. Samples were exposed to UV radiation and then were submitted to the biodegradation tests in liquid mineral medium with the *P. chrysosporium* CCB 478 fungus for 120 days. Analysis of weight loss, contact angle, FTIR, visual analysis, optical microscopy and SEM, were employed to estimate biodegradation. Phototreatment applied to all films was relevant to the adhesion process and colonization the surface films. The blends of composition 70/30 and 80/20 showed significant morphological and structural changes, verified by SEM and FTIR techniques, besides showed better results of biodegradation after photoirradiation.

Key words: Blends, LDPE, PHB, Photodegradation, Biodegradation, MEV, FTIR.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Segmentação do mercado de transformados plásticos por aplicação. Fonte: Abiquim, por Abiplast, 2009.....	17
Figura 2 - Estrutura química do PHB.....	20
Figura 3 - Representação esquemática da polimerização do polietileno, por adição.....	22
Figura 4 - Representação da degradação de plásticos (adaptado de Krzan <i>et. al.</i> , 2006).....	27
Figura 5 - Mecanismo de foto-oxidação de polímeros. Sendo PH, polímero olefínico, P, radical polimérico e $h\nu$, radiação da luz UV. Adaptado de Sadi (2010).....	33
Figura 6 – Foto-oxidação do polietileno. Adaptado de Albertsson et al. (1987).....	34
Figura 7 - Mecanismo de conversão abiótica da carbonila em éster. Adaptado de Albertsson et al. (1987).	36
Figura 8 - Degradação de Norrish tipo I e II.	36
Figura 9 - Método da gota séssil para calcular o ângulo de contato (DESHMUKH & BHAT, 2003).....	40
Figura 10 - Prensa hidráulica utilizada no preparo dos filmes.....	44
Figura 11 - Esquema da montagem dos filmes para os tratamentos (A e B).....	45
Figura 12 - Foto ilustrativa do carrossel do equipamento Atlas Weather-Ometer de fotoenvelhecimento.....	46

- Figura 13 - Ensaio da Biodegradação. Amostras (homopolímeros e blendas) destinadas a cada tratamento (Biotratamento, Fototratamento e Foto/Biotratamento).....48
- Figura 14 - Método da gota séssil para calcular o ângulo de contato (DESHMUKH & BHAT, 2003).50
- Figura 15 - Filmes antes e após o Biotratamento de 120 dias: (A), (C), (E), (G) e (I) amostras originais e (B), (D), (F), (H) e (J) amostras tratadas. Setas indicam colonização, pigmentação, adesão e deformações na superfície, respectivamente.51
- Figura 16 - Filmes antes e após o Fototratamento de 200 horas artificiais: (A), (C), (E), (G) e (I) amostras originais e (B), (D), (F), (H) e (J) amostras tratadas. Setas indicam deformações na superfície.52
- Figura 17 - Filmes antes e após o Fototratamento (200h) / Biotratamento (120 dias): (A), (C), (E), (G) e (I) amostras originais e (B), (D), (F), (H) e (J) amostras tratadas. Setas indicam deformações na superfície.53
- Figura 18 - Espectro de FTIR de filmes de PEBD original, fototratado e foto/biotratado, na faixa de $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$, após a biodegradação.60
- Figura 19 - Espectro de FTIR de filmes de PHB original, biotratado, fototratado e foto/biotratado, na faixa de $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$, após a biodegradação.....62
- Figura 20 - Espectro de FTIR da blenda de PE/PHB 90:10 original, biotratado, fototratado e foto/biotratado, na faixa de $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$, após a biodegradação.....64
- Figura 21 - Espectro de FTIR da blenda de PE/PHB (A) 80:20 e (B) 70:30 original, biotratado, fototratado e foto/biotratado, na faixa de $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$, após a biodegradação.....66

Figura 22 - Micrografia óptica dos filmes de PEBD. (A) PEBD biotratado, original (direita) e tratado (esquerda), (B) PEBD fototratado, original (direita) e tratado (esquerda), (C) PEBD foto/biotratado, original (direita) e tratado (esquerda). Aumento de 400x. Setas indicam adesão e pigmentação do filme, fraturas e deformações na borda, colonização de hifas respectivamente.....68

Figura 23 - Micrografias do PEBD; (A) original, (B) biotratado, (C) fototratado, (D) foto/biotratado, com aumentos de 1000x, 1500x, 1000x e 2000x respectivamente. Setas indicam rugosidade da superfície, e descamação respectivamente.....70

Figura 24 - Micrografia óptica dos filmes de PHB. (A) PHB biotratado, original (direita) e tratado (esquerda), (B) PHB fototratado, (C) PHB foto/biotratado, original (direita) e tratado (esquerda). Aumento de 400x. Seta indica fratura e deformação do filme.....71

Figura 25 - Micrografias do PHB; (A) original, (B) biotratado, (C) fototratado, (D) foto/biotratado, com aumentos de 1000x, 1500x, 1000x e 2500x respectivamente. Setas apontam fendas provocadas pela adesão de hifas e hifas ainda na superfície, respectivamente.....73

Figura 26 - Micrografia óptica da blenda 90:10. (A) biotratada, (B) fototratada, (C) foto/biotratada. Aumento de 400x. Setas indicam hifas com conidióforos presentes no filme, superfície pigmentada e conídios no filme, respectivamente.....74

Figura 27 - Micrografias da blenda 90:10; (A) original, (B) biotratado, (C) fototratado, (D) foto/biotratado, com aumentos de 1000x, 1000x, 500x e 2000x respectivamente. Setas indicam erosão, esporo fúngico, hifas, aglomerado de esporos e fenda, respectivamente.....75

Figura 28 - Micrografia óptica da blenda 80:20. (A) biotratada, filme original (direita) e tratado (esquerda), (B) fototratada, (C) foto/biotratada. Aumento de 400x. Setas indicam hifas com conidióforos presentes no filme, superfície pigmentada e conídios no filme, respectivamente.....77

Figura 29 - Micrografias da blenda 80:20; (A) original, (B) biotratado, (C) fototratado, (D) foto/biotratado, com aumentos de 1000x, 2000x, 1500x e 6000x respectivamente. Setas indicam erosão, hifa totalmente aderida, aglomerado de esporos, estrutura de uma hifa, e rachaduras na superfície, respectivamente.....78

Figura 30 - Micrografia óptica da blenda 70:30. (A) biotratada, (B) fototratada, filme original (direita) e tratado (esquerda), (C) foto/biotratada. Aumento de 400x. Setas indicam presença de microrganismos, falhas na superfície e pigmentação, respectivamente.....79

Figura 31 - Micrografias da blenda 70:30; (A) original, (B) biotratado, (C) fototratado, (D) foto/biotratado, com aumentos de 1000x, 2500x, 5000x e 3500x respectivamente. Setas indicam adesão do esporo na superfície com erosão, degradação em camadas, hifas, aglomerado de esporos e fenda, respectivamente.....81

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Condições para o envelhecimento artificial em câmara Atlas Weather-Ometer, com luz de xenônio.	46
Tabela 2 - Variação percentual de massa dos filmes de PEBD e PHB após os diferentes tratamentos. *Valor representando ganho de massa. Erro = $\pm 0,0001$	55
Tabela 3 - Variações percentual de massa das blendas após os diferentes tratamentos. *Valor representando ganho de massa. Erro = $\pm 0,0001$	56
Tabela 4 - Medida de ângulo de contato. Desvio padrão: 8,63.....	57
Tabela 5 - Bandas características de absorção em FTIR. Informação adaptada de Gaboardi, 2007.....	59
Tabela 6 - Índice de carbonila do PEBD. Erro de $\pm 0,004$	61
Tabela 7 - Índice de carbonila do PHB. Erro de $\pm 0,004$	62
Tabela 8 - Índice de cristalinidade das blendas. Erro de $\pm 0,004$	63

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1. O mundo plástico e o meio ambiente.....	17
2.2. Poli-hidroxicanoatos (PHAs).....	18
2.3. Poli (β -hidroxibutirato).....	19
2.4. Polietileno de baixa densidade (PEBD).....	21
2.5. Blendas.....	24
2.6. A biodegradação polimérica.....	26
2.7. Micro-organismos	28
2.8. Fotodegradação	31
2.9. Métodos para a caracterização dos filmes	37
2.9.1. Observação visual	38
2.9.2. Medidas de perda de massa.....	38
2.9.3. Ângulo de contato	39
2.9.4. Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)....	41
3.0. MATERIAL E MÉTODOS.....	43
3.1. MATERIAIS.....	43
3.1.1. Polímeros.....	43
3.1.2. Equipamentos.....	43
3.1.3 Equipamentos.....	43
3.1.4 Cultura e manutenção do micro-organismo.....	43
3.2. MÉTODOS.....	44
3.2.1. Preparação dos filmes.....	44
3.2.1.1 Preparo para os diferentes tratamentos.....	44
3.2.1.2. Fototratamento ou envelhecimento artificial por radiação ultravioleta (UV).....	45
3.2.2. Tratamento microbiano.....	47
3.2.3. Teste de biodegradação.....	47
3.2.3.1. Preparo do inóculo fúngico.....	47
3.2.3.2. Ensaio em meio líquido.....	47
3.2.4. Avaliação da biodegradação.....	49
Microscopia Óptica (MO).....	49
Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	49
Espectrometria de infravermelho (FTIR).....	49
Ângulo de Contato.....	50

Perda de Massa.....	50
4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
4.1. Análise Visual	51
4.2. Perda de massa.....	54
4.3. Ângulo de contato.....	56
4.4. Análises de FTIR.....	59
4.5. Análises de Microscopia óptica (MO) e Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	68
4.6. Sobre o micro-organismo.....	82
5.0. CONCLUSÕES.....	83
6.0. SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS.....	84
7.0. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	85
8.0. ANEXO.....	94
9.0. APÊNDICE.....	95

1. INTRODUÇÃO

Desde a última década do século 20, houve um rápido crescimento de uma das maiores áreas de utilização de plástico, que é a de embalagens. Atualmente, 40% da produção de plástico (250×10^6 toneladas/ano) é utilizada por indústrias de embalagens usando polímeros que são em sua maioria produzidos a partir de combustíveis fósseis (FUKUSHIMA et al., 2011). Os mais utilizados são polipropileno (PP), polietileno (PE), poliestireno (PS), poli (cloreto de vinila) (PVC) e etc. que após o seu uso, são descartadas no meio ambiente, acabando como resíduos lentamente degradáveis. Isso significa que 40% das embalagens descartadas são praticamente excluídas do ciclo natural de reciclagem tornando-se um problema ambiental global.

Mais recentemente o mundo começou a se preocupar com esse consumo exacerbado de embalagens e a sua rápida descartabilidade. Por conseguinte, alternativas de amenização deste problema têm sido propostas, tais como a utilização de plásticos biodegradáveis, o uso de blendas poliméricas e o emprego de aditivos que facilitem a biodegradação. Muitos estudos estão sendo desenvolvidos com o enfoque na síntese de blendas que sejam capazes de diminuir a quantidade de polímeros sintéticos, sem que estas percam a qualidade de suas propriedades físicas. Muitas pesquisas são realizadas com polímeros naturais combinados com polímeros sintéticos, como no caso do poli(β -hidroxibutirato) (PHB), que é um polímero obtido por uma bactéria chamada *Ralstonia eutropha*, por meio da fermentação de alguns substratos como o açúcar, sendo que as moléculas desse polímero são acumuladas no seu citoplasma. A mistura do PHB com determinados polímeros sintéticos pode facilitar o manuseio desse material tendo em vista que ele não possui uma boa processabilidade devido a sua rigidez e alta cristalinidade sem contar o custo elevado se comparado com os polímeros convencionais. Desta forma, o polietileno de baixa densidade (PEBD) se combinado com o PHB pode ser uma alternativa para a diminuição da cristalinidade, pois este polímero além de barato é parcialmente cristalino, flexível, não tóxico e resistente, além da versatilidade de aplicações. No entanto, este material é resistente ao ataque biológico por sua hidrofobicidade.

A principal estratégia para facilitar a quebra e posterior biodegradação do polietileno (PE) tem sido focada na capacidade de incorporação do grupo carbonila em sua cadeia. Isto pode ser obtido através de pré-tratamentos como a foto ou termo-oxidação, uma vez que esses métodos resultam em fragmentos de baixa massa molar incluindo álcool, ácidos carboxílicos, aldeídos e cetonas. Essas moléculas quando submetidas a testes envolvendo micro-organismos, ficam suscetíveis ao ataque de enzimas liberadas nesse meio e podem ser

convertidas em formas mais simples facilitando a assimilação desses produtos pelos organismos presentes que as utilizam como fonte de energia. Concomitantemente, esses complexos metabólicos podem ser secretados no ambiente em forma de CO₂, CH₄, H₂O e diferentes sais. Esse processo é mais conhecido por biodegradação. Portanto, se levarmos em consideração o baixo custo para a fabricação de blendas, a processabilidade e ainda uma boa expectativa de que esse produto tenha propriedades biodegradáveis, espera-se conseguir através de metodologias de biodegradação e de pesquisas, desenvolver um material que tenha uma grande vantagem ambiental. Sendo assim, este trabalho teve por objetivo avaliar os resultados de 3 diferentes tratamentos aplicados na degradação do PEBD, do PHB e de suas blendas na forma de filmes finos, tendo como objetivos específicos:

- 1) Verificar qual das formulações de blendas de PEBD/PHB (90/10, 80/20 e 70/30) teve maior degradação durante o tempo de exposição aos tratamentos;
- 2) Utilizar as técnicas de espectrofotometria (FTIR), microscópio eletrônico de varredura (MEV) medidas de ângulo de contato e perda de massa para avaliar possíveis alterações sofridas pelos filmes submetidos aos diferentes tratamentos;
- 3) Avaliar entre os testes estudados: Fotodegradação, Biodegradação, e Foto/Biodegradação, qual é o mais apropriado.

2.0. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O mundo plástico e o meio ambiente

O mercado de plástico além de ser grande, é um mercado em crescimento e que tende a aumentar de duas a três vezes durante esse século o que, conseqüentemente, aumentará o seu descarte. Em 2009, a produção de plástico alcançou um faturamento de 35,9 milhões de reais e para o mesmo ano, houve um consumo aparente de 5,19 milhões de toneladas (ABIPLAST, 2009). Em 2008, o consumo **per capita** no Brasil foi estimado em 25,7 kg por habitante/ano, sendo que em 2000 o consumo foi de 22,6 kg por habitante/ano, havendo uma diferença de 3,6 kg ao longo de 8 anos (ABIQUIM, 2008). Se a cada ano a produção de transformados plásticos aumentar, o consumo destes também será maior, devido a facilidade de manuseio e a vasta aplicabilidade. Os polímeros como o polietileno, o polipropileno, o policloreto de vinila, o poliestireno, entre outros, representam cerca de 75% de todos os plásticos consumidos na Europa, com diversas aplicações tais como: embalagens, transporte de alimentos e bebidas, tubulação de água e esgotos, em construções, na medicina (próteses, soro, suturas), em automóveis, e outros (PLASTVAL, 2008).

No Brasil, as aplicações são as mais variadas. A maior porcentagem (17,5%) (Figura 1) de produção destes artigos corresponde ao setor de embalagens alimentícias seguido pelo setor de construção civil (14,8%) (ABIPLAST, 2009).

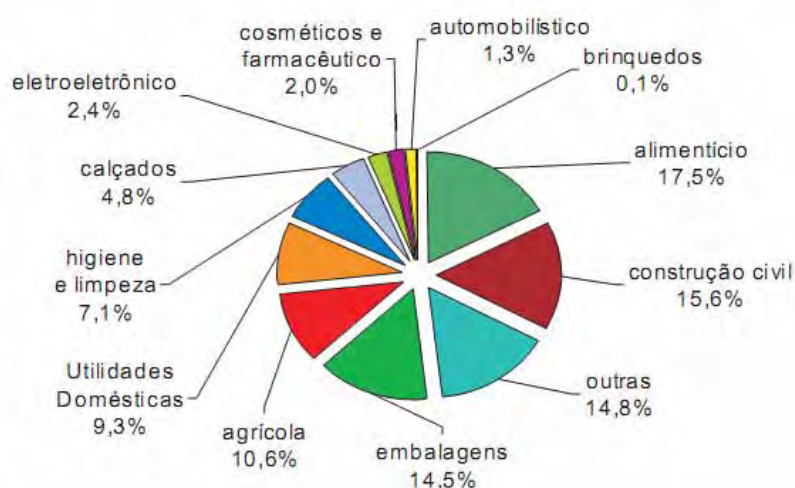


Figura 1 - Segmentação do mercado de transformados plásticos por aplicação.

Fonte: Abiquim, por Abiplast, 2009.

Dentre os plásticos mais explorados, o polietileno continua sendo um dos que possui maior rotatividade, por se tratar da principal matéria-prima utilizada na fabricação de embalagens. Os polietilenos são inertes face à maioria dos produtos químicos comuns, devido a sua alta massa molar e sua estrutura parcialmente cristalina, o que confere ao produto uma boa resistência e ampla vantagem no quesito de conservação e transporte de alimentos (COUTINHO et al., 2003). Mas os plásticos não trazem apenas benefícios à humanidade. Em função de seu uso tão difundido, grande parte do lixo que produzimos diariamente é composta deste material. Segundo a Abrelpe (2010), no Brasil o descarte de resíduos sólidos no ano de 2009 foi de 57 milhões de toneladas, quase 6 milhões de toneladas a mais do que o ano anterior. Parte desse lixo inclui os artefatos plásticos que em 2008 alcançou a expressiva quantidade de 5.298 mil toneladas consumidas, estando entre eles o PET e o PE como os mais populares (ABRELPE, 2010). Há uma grande preocupação quanto ao destino final dos plásticos coletados no país. Os resíduos mal administrados ou que não são amparados por uma boa fiscalização podem ser descartados em locais impróprios.

Alguns métodos são utilizados para diminuir a disposição final destes resíduos no ambiente, tais como: a incineração, que diminui rapidamente o volume de material descartado, porém não é muito recomendada devido à liberação de algumas substâncias tóxicas; a reciclagem, cujo objetivo é o reaproveitamento dos resíduos plásticos, seja pelo aquecimento ou pela transformação do mesmo em outro material utilizável; e a compostagem, que atribui técnicas aplicadas para controlar a decomposição de materiais orgânicos, com a finalidade de obter, no menor tempo possível, um material estável, rico em húmus e nutrientes minerais (CAMPOS, 2008) (FRANCHETTI & MARCONATO, 2008). Recentemente, a biodegradação tem sido uma das alternativas propostas para estudo, assim como a utilização de polímeros biodegradáveis, já que estes materiais são compostos na maioria das vezes por ésteres, o que facilita o ataque de fungos e outros micro-organismos através da hidrólise.

2.2. Poli-hidroxicanoatos (PHAs)

Classificados entre os polímeros naturais biodegradáveis pertencentes à família de poliésteres de ácidos hidroxialcanóicos (BRIASSOULIS, 2004). Foram descobertos e caracterizados por *Lemoigne* entre 1923-1926 (MARCHESSAULT, 2009). São biossintetizados por diversas bactérias e se acumulam na forma de grânulos intracelulares de reserva sob *condições em que o crescimento microbiano é desfavorável. Nesse caso, os* grânulos podem ser utilizados como fonte de carbono ou energia. Quando não utilizados atingem até 80% do peso seco da biomassa

bacteriana (ANDERSON & DAWES, 1990; GOMEZ et al., 1993; SUDESH et al., 2004). Possuem propriedades similares aos plásticos convencionais, mas são completamente mineralizados em CO₂ e H₂O (EUBELER et al., 2009). *Exibem uma boa biocompatibilidade, bem como elevadas massas molares, características termoplásticas e/ou elastoméricas e baixos pontos de fusão.*

Steinbüchel & Valentini (1995) identificaram cerca de 90 monômeros diferentes constituintes de PHAs sintetizados por bactérias, sendo o poli (β -hidroxibutirato) (PHB) o mais estudado. Entretanto, a capacidade de armazenar PHA não garante a habilidade deste ser degradado no meio ambiente (GUILMORE et al., 1990 apud SHAH et al., 2008). Tem-se descrito em estudos que o estresse bacteriano facilita a produção e degradação dos PHAs, tal mecanismo ainda não foi totalmente compreendido. Todavia, a relação de presença do PHB intracelular em bactérias na condição de estresse é de que, em alguns casos a resposta para esse tipo de tratamento é a própria degradação do PHB (KADOURI et al., 2003; RUIZ et al., 2003; AYUB et al., 2004; ZHAO et al., 2007). O PHB pode ser encontrado em diferentes ambientes incluindo o plasma sanguíneo da maioria dos animais (LEE, 1996). Em razão disso é que os PHAs e conseqüentemente o PHB, tem atraído a atenção de indústrias termoplásticas, e tem sido considerado como uma alternativa na área médica (implantes, pinos, suturas e parte de ossos e veias replantadas) (TAKAKU et al., 2006).

2.3. Poli (β -hidroxibutirato)

Entre os polímeros biodegradáveis, o PHB é o maior tipo comercialmente disponível. Produzido em grande escala através da fermentação bacteriana, a partir de um ácido orgânico simples, o ácido β -hidroxibutírico. O PHB (Figura 2) é muito atrativo como poliéster termoplástico biodegradável, podendo, em estágios finais de degradação, ser decomposto em água e dióxido de carbono, sob condições ambientais, por uma variedade de bactérias presentes no solo (SILVA, 2001). Em 1982, a Imperial Chemical industry (ICI/U.K.) desenvolveu um processo para a produção industrial do PHB usando a bactéria *Ralstonia eutrophus* crescida em glicose (SHARMA, 1995).

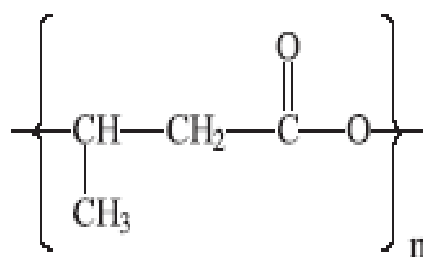


Figura 2: Estrutura química do PHB.

Este polímero é caracterizado pela alta cristalinidade (mais que 60%), com temperatura de fusão (T_m) na faixa de 175-180°C e temperatura de transição vítrea (T_g) na faixa de 4-7°C, assemelhando-se ao polipropileno e ao polietileno quanto às propriedades termo-mecânicas (SILVA, 2001). Por outro lado ele apresenta comportamento frágil e uma pequena escala de processamento, ou seja, a temperatura de degradação do polímero é bem próxima a sua temperatura de fusão (T_m). Outra alternativa para o melhoramento de suas propriedades mecânicas, é a preparação de blendas de PHB com outros polímeros sintéticos, como o polietileno (PE) por exemplo, visando diminuir o grau de cristalinidade, melhorando a T_m e a rigidez, e também alcançando a adequada adesão interfacial entre a matriz e o outro polímero. Estas melhoras diminuem a resistência ao impacto, bem como o custo para fabricação desse produto (SILVA, 2001). Martelli (2008) sugere que a combinação das características do PE com as do PHB em blendas pode resultar em um novo tipo de material para o uso de embalagens alimentícias, as eco-compatíveis. Outras blendas miscíveis de PHB com outros polímeros como poli(acetato de vinila) (PVA); o poli (etileno glicol) e o poli (metil metacrilato) também já foram preparadas; sem contar as blendas imiscíveis de PHB com borrachas como o etileno-propileno (EPR), o etileno vinil acetato (EVA), que também já foram investigadas (VERHOOGT et al., 1994).

A biodegradabilidade do PHB tem sido investigada em diferentes ambientes como em solo, água do mar, água de lago (GABOARDI, 2007). Assim como os outros polímeros este também necessita de várias condições ambientais para a sua quebra. O fato de esse polímero ser formado por várias unidades do ácido β - hidroxibutírico, que contém um grupo alcoólico (-OH) e um ácido carboxílico (-COOH), ao se condensarem ocorre a liberação de água, dando origem a ésteres. Isto faz com que esses compostos possam ser fragmentados em pedaços menores mediante a uma reação com água, conhecida como hidrólise (SILVA, 2001). Este processo é o principal mecanismo na degradação polimérica. Depois da quebra ocorrida nas cadeias instáveis, a perda da resistência mecânica é conseqüente e com isso a baixa na massa

molar (abaixo de 7000 daltons) é inevitável fazendo com que o polímero comece a fragmentar-se (VANIN et al., 2004).

Vale lembrar ainda que, a degradação dos polímeros ocorre mais aceleradamente conforme o grau de cristalinidade dos mesmos, ou seja, para o grupo das poliolefinas, a quebra acontecerá na seguinte ordem: PP <PEAD <PEBDL <PEBD. Já nas blendas de PHB e de outros polímeros, o que conta é a miscibilidade entre eles e a quantidade deste outro na blenda (SHARMA et al., 1995). Verhoogt et al., (1994), observaram que a degradação enzimática da blenda de PHB/Poli(acrilato de butila) (PBA) perdeu massa linearmente com o aumento da fração mássica de poli (1,4 butileno adipato) e que blendas com 50 a 100% de poli (acetato de vinila) não mostrou degradação nenhuma. Para que os polímeros biodegradáveis possam competir com os polímeros convencionais é necessário que o custo de sua produção seja competitivo. O preço do polímero obtido depende de vários fatores como, por exemplo, do processamento utilizado e da eficiência da fermentação.

2.4. Polietileno de baixa densidade (PEBD)

O polietileno é um dos polímeros sintéticos do grupo das poliolefinas, com uma alta massa molar, originado de monômeros de hidrocarboneto alifático insaturado, contendo uma dupla ligação carbono-carbono reativa (CANEVAROLLO, 2004). É encontrado como um polímero semicristalino, ou seja, apresenta uma combinação de zonas amorfas, onde as cadeias macromoleculares são desordenadas e zonas cristalinas onde as cadeias poliméricas são organizadas. Suas propriedades físicas são acentuadamente influenciadas por quatro variáveis: massa molar média, distribuição da massa molar, grau de ramificações e o comprimento das cadeias laterais que faz com que este polímero possa ser classificado em 5 tipos (SILVA, 2001):

- Polietileno de baixa densidade (PEBD);
- Polietileno de alta densidade (PEAD);
- Polietileno linear de baixa densidade (PELBD);
- Polietileno de ultra alta massa molar (PEUAMM);
- Polietileno de ultra baixa densidade (PEUBD).

Sendo os de alta e baixa densidade considerados os de maior utilização comercial (COUTINHO, 2003). A fabricação do PE ocorre a partir do monômero etileno (C_2H_4), no estado gasoso. Nessa reação, a dupla ligação de cada molécula se “abre” e dois dos elétrons são usados para formar uma nova ligação simples C – C com duas outras moléculas de

etileno, de forma a se obterem moléculas de massa molar elevada (polímero) (ROSA, 1991). O processo de polarização mais comum para o PE é o de *adição* como mostra a Figura 3.

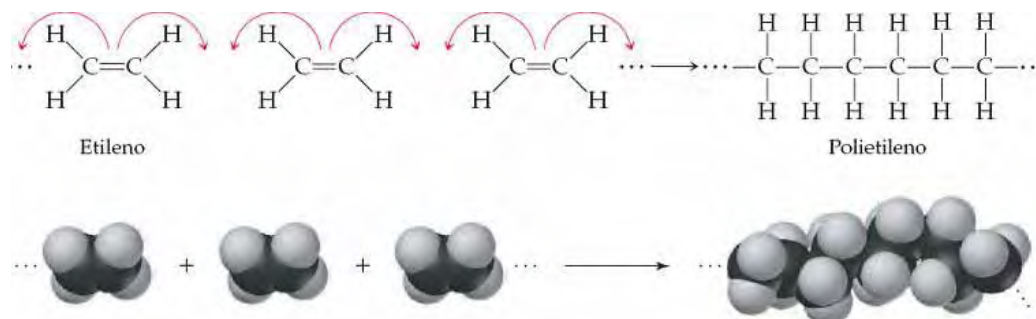


Figura 3. Representação esquemática da polimerização do polietileno, por adição.
Fonte: Canevarolo, (2006).

O PEBD é um polímero que apresenta características de flexibilidade, tenacidade, alta resistência ao impacto, propriedades elétricas notáveis e não é considerado tóxico (GABOARDI, 2007). Em sua forma natural, não é biodegradável. Seu uso na produção de sacolas e embalagens para alimentos líquidos e sólidos, embalagens de produtos farmacêuticos e hospitalares, brinquedos, utilidades domésticas, podem causar sérios problemas ambientais. Grande parte dos produtos utilizados nas indústrias e na agricultura são constituídos pelo PE. Um fator que é responsável pelo grande descarte desse plástico é sua utilização em produtos que apresentam ciclo de vida curto (KOUNTY et al., 2006). Apesar de suas boas propriedades e do baixo custo, o PEBD por ser um xenobiótico, é considerado recalcitrante ao ataque microbiano levando muito tempo para se degradar no meio ambiente. Albertsson et al., (1994), concluiu que para se obter um polietileno biodegradável é necessário modificar o nível de cristalinidade, a massa molar e as propriedades mecânicas que são responsáveis pela resistência deste na degradação. Esta por sua vez, pode ocorrer por diferentes mecanismos moleculares: químicos, térmicos, fotoquímicos e biodegradativos.

Muitos estudos sobre biodegradação de alguns polímeros mostraram que a degradação abiótica precede a assimilação microbiana (KIRSTEN et al., 2000; PROIKAKIS et al., 2006 *apud* LUCAS et al., 2008). Esses materiais quando expostos a condições ambientais (calor, luz, umidade, etc.) podem ou não sofrer transformações importantes. Em muitos casos os parâmetros abióticos contribuem para o enfraquecimento da estrutura polimérica favorecendo alterações indesejadas. (LUCAS et al., 2008). No caso da fotodegradação a energia carregada pelos fótons pode criar estados de instabilidade em várias

moléculas. A energia transferida pode ser acompanhada pela fotoionização, luminescência, fluorescência, radiação térmica. Em outros casos, estruturas moleculares fotossensíveis podem ser intencionalmente adicionadas (por simples adição ou por copolimerização) ao esqueleto do polímero induzindo a degradação pela luz. Na degradação abiótica, a ação da luz irradiadora é um dos mais importantes parâmetros (LUCAS, 2008). Alguns trabalhos afirmam que mais especificamente, a exposição do filme de PEBD a condições ambientais especialmente a irradiação solar em uma escala de 290-400 nm, afeta a estrutura química e conseqüentemente as propriedades mecânicas e físicas (JAKUBOWICZ, et al., 2006 e BRIASSOULIS, 2005). Geralmente nesse tipo de degradação o melhor resultado esperado é a mudança na estrutura primária do polímero por um corte na cadeia seguido de rearranjos e ligações e processos oxidativos (BRIASSOULIS, 2005).

Esses processos de degradação abiótica resultam em macromoléculas funcionais as quais termicamente ou fotoquimicamente clivam-se em fragmentos moleculares de baixa massa, especialmente na presença de íons metálicos de transmissão (CHIELLINI, et al., 2003). Outra forma de potencializar essas reações é através da incorporação de aditivos como os compostos poli-insaturados, íons e complexos metálicos (ditiocarbamatos), os quais deixam o polietileno e as poliolefinas em geral, mais suscetíveis a hidroperoxidação. Sabendo-se disso, Lee et al., (1991) e Gu (2003), têm evidenciado a biodegradabilidade desses filmes medindo as mudanças nas propriedades físicas através da observação do crescimento microbiano na superfície do polímero. Volke-Sepúlveda et al., (2002), demonstraram que o polietileno foi biodegradado após pré-tratamento, utilizando-se a fotodegradação e/ou degradação química.

Diversos trabalhos ressaltam ainda a importância da adição de polímeros naturais biodegradáveis, como o amido, para a eficácia na degradação do polietileno, já que este recurso aumenta a assimilação microbiana na área de superfície do material sintético dando-lhe mais susceptibilidade para a oxidação abiótica (JOHNSON, et al., 1993; GRIFFIN, 1987; LEE et al., 1991). Segundo Raj et al., (2004), as blendas de PEBD/amido são um tipo de plástico degradável, e sabendo-se disso, muitas pesquisas têm sido desenvolvidas na tentativa de se obter um material “eco-amigável”. Outra alternativa para se melhorar a biodegradabilidade do PE é formação de blendas com o poli (β -hidroxibutirato) (PHB) devido as suas propriedades físicas e também por ser um polímero de fácil colonização por parte dos micro-organismos, já que este material pode ser facilmente hidrolisado, seguindo o mesmo princípio do amido (MARTELLI, 2008). A literatura para esse tipo de blenda ainda é muito

modesta, principalmente a respeito de blendas de PE/PHB sem aditivos ou pró-degradantes, o que significa que este é um campo que merece ser explorado.

2.5. Blendas

As blendas poliméricas são materiais obtidos a partir da mistura física de dois ou mais polímeros sem que haja qualquer reação química entre eles (SILVA, 2001). Pode ser definida também como misturas de diferentes polímeros com ligações não covalentes de componentes poliméricos individuais comercialmente utilizáveis (LA MANTIA, 1999). Elas têm se tornado importante biotecnologicamente, devido às melhoras em suas propriedades físicas como resistência a impactos, ao aquecimento e uma melhor maleabilidade. O principal destaque para este tipo de combinação é a possibilidade de desenvolvimento de um produto com melhoras nas qualidades de processamento, nas propriedades físicas e no setor econômico. As blendas podem ser classificadas de acordo com a miscibilidade e compatibilidade dos componentes poliméricos. Podem ser homogêneas ou heterogêneas em escala microscópica, mas não devem exibir heterogeneidade em escala macroscópica (FOX, 1999). A blenda heterogênea em escala macroscópica apresenta indício na segregação polimérica sendo considerada incompatível. Portanto, a morfologia da blenda e as características das interfaces influenciam também na co-reatividade da degradação das mesmas (POSPISIL et al., 1999). Embora isso ainda não seja totalmente perfeito, alguns resultados de tentativas têm sido mostrados por alguns autores (MARTELLI, 2008; SILVA, 2001; GABOARDI, 2007; COELHO et al., 2008).

Quanto ao método de obtenção das mesmas, podem dividir-se em três classes: blendas obtidas por solução (*casting*), por mistura mecânica e por mistura reativa (reticulados poliméricos interdependentes) (SILVA, 2001). Cada processamento tem suas individualidades que podem afetar ou não no artefato final. A grande preocupação no preparo das blendas é que nem sempre é possível de se obter materiais miscíveis entre si, pois os polímeros são constituídos de moléculas com alta massa molar, o que lhes atribui características especiais, que dificultam o processamento, visto que ocorre a separação de fases se a interação entre os polímeros não forem suficientemente fortes (SILVA, 2001). Em um sistema polimérico onde há duas ou mais fases, a compatibilidade entre os componentes é também um fator importante sobre as propriedades mecânicas do produto final (GABOARDI, 2007). Para Hage, (2001) segundo Gaboardi, (2007) as blendas poliméricas compatíveis apresentam propriedades finais melhores do que os polímeros puros, e blendas incompatíveis apresentam propriedades finais inferiores aos polímeros originais.

O processamento de blendas de polímero biodegradáveis com polímeros convencionais (*commodities*) é uma das alternativas para diminuir o custo dos biodegradáveis e melhorar tanto as condições de processamento como de algumas propriedades do polímero biodegradável (ROSA, 2003). Um grande exemplo disso são blendas de PE e PHB.

Apesar de não serem blendas termodinamicamente compatíveis, acredita-se que a mistura desses diferentes polímeros ao serem submetidos à biodegradação, com fontes de energia limitadas, pode ser uma alternativa mais vantajosa do que a biodegradação dos polímeros sintéticos puros. Pois, os polímeros naturais são mais facilmente quebrados e mineralizados do que os sintéticos (SILVA, 2001). Mas, isso não pode ser considerado como via de regra, já que a biodegradação varia de acordo com as condições bióticas e abióticas.

A literatura das blendas de polietileno e poli (3-hidroxibutirato) ainda é muito escassa, por isso esse trabalho tem como um dos objetivos o estudo da mistura desses polímeros e capacidade biodegradativa. Algumas pesquisas mostram como esse tipo de material vem sendo trabalhado. Em 2007, Gaboardi observou que blendas de PHB/PEBD são imiscíveis e a incorporação de uma cera de polietileno oxidado nas blendas promoveu uma maior adesão interfacial entre o PHB e o PEBD. Concluiu-se também que o PHB puro e a blenda com 75% de PHB apresentaram maior taxa de biodegradabilidade que as demais blendas, independente do meio no qual foram envelhecidos. Martelli, (2008) notou que em estudos de biodegradação de blendas de PEBD/PHB a adesão de micro-organismos na superfície do polietileno foi maior em meio aquático.

Algumas alternativas de misturas do PEBD foram mostradas por Lima et al., (2008); Briassoulis, (2004); Albertsson, (1994); Johnson et al., (1993); Raj et al., (2003); Mendonça et al., (2005); utilizando amido ou celulose. A maioria desses trabalhos expõe a mudança nas propriedades físicas e químicas como a diminuição da força tênsil, e fragilização na matriz polimérica das blendas, o que resulta em fraturas. Para blendas de PEBD/amido com menos do que 20%, a matriz do PE é quem domina a formação plástica, uma vez que na zona próxima as partículas de amido, a concentração de instabilidade surge como desajuste nas duas fases (BRIASSOULIS, 2004). Em testes de biodegradação desses compostos mostrados por Raj et. al. (2003), a perda de massa foi reconhecida após 2 meses, devido a descoloração, a solubilidade e a degradação do amido pelo ataque de micro-organismos. Este trabalho apontou a perda de massa de cerca de 20% em blendas com 40% de amido no período de 60 dias. Um dos avanços na melhoria dessas blendas consistiu em adicionar compatibilizantes como o etileno-etilacrilato (EAA), que aumentaram significativamente a força tênsil e a

adesão entre o amido e a matriz do polietileno (BRIASSOULIS, 2004 e JOHNSON et al., 1993).

2.6. A biodegradação polimérica

Quando os plásticos são expostos a forças ambientais, as ligações químicas entre átomos que constituem a cadeia principal dos polímeros podem sofrer um colapso, e esse processo depende da combinação de vários mecanismos e fatores. O início da quebra dos polímeros pode ser induzido por forças físicas e biológicas (SHAH et al., 2008). Para Griffin (1987) as forças físicas podem causar estragos mecânicos como rachaduras nos materiais poliméricos, e o crescimento de alguns fungos nesse tipo de superfície podem causar em pequena escala, uma espécie de inchaço e “explosão”. Para Krzan et al., (2006) o processo de degradação dos plásticos compreende duas fases: a *desintegração* - conhecida também por biodeterioração - e a *mineralização* (Figura 4). Na fase inicial a deterioração ocorre nas propriedades físicas, como a descoloração, enfraquecimento e a fragmentação. A segunda fase se dá pela conversão dos fragmentos plásticos depois de serem quebrados à moléculas de CO₂, água e biomassa celular (em condições aeróbias), e CH₄, CO₂ e biomassa celular no caso de condições anaeróbias. O segundo passo da degradação, a *mineralização* ocorre quando os organismos vivos (micro-organismos) digerem os produtos orgânicos da degradação dos plásticos sob condições aeróbias ou anaeróbias convertendo-os em produtos comuns da inerente digestão.

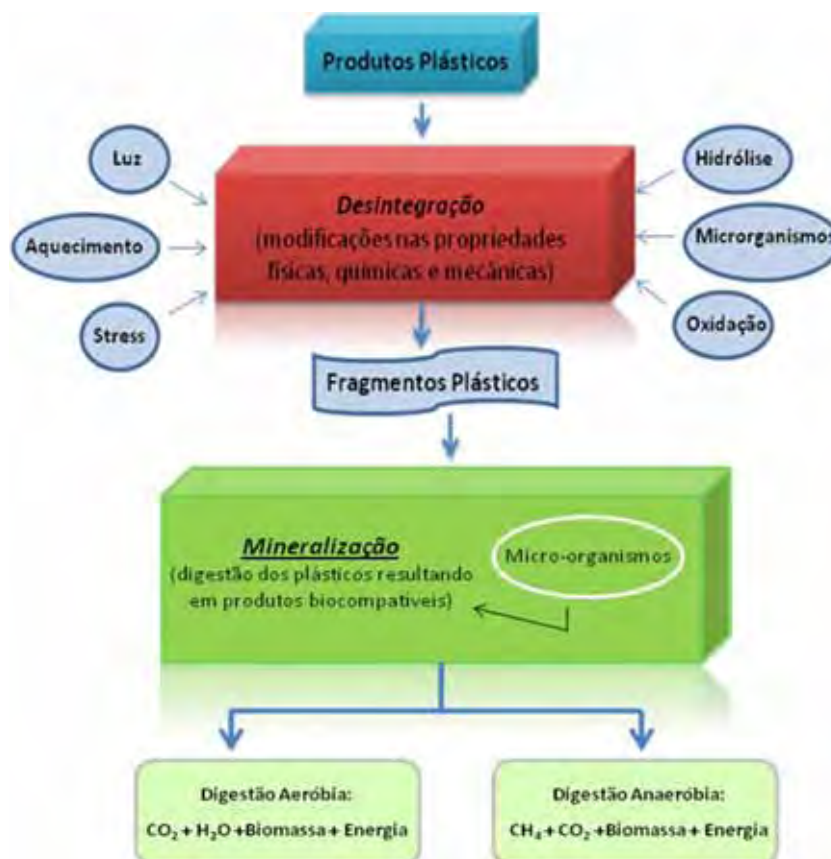


Figura 4. Representação da degradação de plásticos. Adaptado de Krzan et al. (2006).

As enzimas secretadas pelos micro-organismos presentes na biodegradação aumentam as chances do material polimérico de ser atacado, e isso vem sendo destacado por alguns autores (LUCAS, et al., 2008, SHAH et al., 2008, FRANCHETTI & MARCONATO, 2006 e Krzan et al., 2006). Recentemente duas categorias de enzimas estão ativamente envolvidas na degradação biológica dos polímeros: a despolimerase extracelular e a intracelular. Durante a degradação enzimática é necessário a presença de co-fatores (cátions existentes na matriz do material e coenzimas sintetizadas por micro-organismos) para a quebra de ligações específicas. Em síntese, as enzimas extracelulares quebram os complexos poliméricos gerando cortes nas cadeias ou moléculas pequenas – oligômeros, dímeros e monômeros, que são pequenas o suficiente para atravessar a membrana exterior semipermeável de bactérias. Esse processo é conhecido como despolimerização (SHAH et al., 2008). Os produtos da despolimerização serão assimilados pelos organismos envolvidos e depois mineralizados (GU, 2003). Em polímeros sintéticos a hidrólise abiótica pode ser considerada como um artifício que antecede a degradação microbiana, já que esse processo é realizado por enzimas catalisadoras que utilizam a água para quebrar uma molécula em partes menores incorporando

em suas novas cadeias, espécies como OH^- ou H^+ . Em seguida ocorre a despolimerização e a biodegradação se sucede naturalmente. Outro processo muito comum de degradação abiótica é a oxidação do polímero, que consiste na introdução de átomos de oxigênio na cadeia principal do material. Essa reação costuma acontecer em polímeros cuja cadeia principal é formada de átomos de carbono e hidrogênio, como as poliolefinas.

Vale lembrar ainda que na biodegradação e na degradação de polímeros raramente chega-se a alcançar 100% de eficiência no consumo desses materiais, pois parte dele será incorporada a biomassa microbiana, húmus e outros produtos naturais.

2.7. Micro-organismos

Quando se fala em biodegradação, podemos remeter em primeira instância aos micro-organismos como bactérias, fungos, protozoários e algas que estão diretamente ligados a esse processo, contando também com os danos da degradação superficial que modifica mecânica, física e quimicamente as propriedades de um determinado material polimérico (LUCAS et al., 2008). A presença de diferentes espécies microbianas aumentam a biodegradação facilitando a produção de moléculas simples. Todas essas substâncias atuam como fontes de nitrogênio e carbono, bem como fatores de crescimento para micro-organismos (CRISPIM & GAYLARDE, 2005). Esses seres são capazes de formar comunidades biológicas com elevado grau de organização quando estão em contato com qualquer superfície úmida, seja ela biótica ou abiótica. Essa associação é mais conhecida como biofilme. Nos biofilmes, as células estão embebidas em uma matriz polimérica de sua própria origem, consistindo principalmente de polissacarídeos e proteínas. O biofilme é uma forma de proteção, que indiretamente favorece as relações simbióticas permitindo a sobrevivência desses seres em ambientes hostis.

A deterioração de superfícies poliméricas é vista como um processo de interação interfacial onde os micro-organismos envolvidos nesse estágio, atacam e colonizam a superfície na forma de biofilme (FLEMMING, 1998). Muitos micro-organismos filamentosos desenvolvem uma espécie de rede micelial entre o material fazendo com que a ação mecânica de penetração das hifas no material aumentem o tamanho dos poros, provocando subseqüentes rachaduras, diminuindo a resistência e durabilidade do material (LUCAS et al., 2008). Sendo assim, dois principais tipos de micro-organismos são de interesse particular na biodegradação de polímeros naturais ou sintéticos: bactérias e fungos.

As bactérias em relação aos fungos têm sido pouco utilizadas na degradação de polímeros. Esses seres podem aparecer no formato de células individuais arredondadas, como

por exemplo, cocos, ou espirilos; ou ainda aparecerem em cadeias ou em filamento, podem ser tanto aeróbias quanto anaeróbias. Em relação à degradação de polímeros, as bactérias presentes no solo são uma das mais importantes na biodegradação de materiais, pois a quantidade de bactérias no solo é muito maior quando comparado aos fungos. O que era de se esperar, pois os procariotos constituem metade da biodiversidade da Terra, sendo que em 1g de solo pode-se encontrar mais de 10.000 genomas diferentes (CHANDRA, 1998) (TORSVIK et al., *apud* CAMPOS, 2008). Estudos como o de Campos (2008) comprovam a eficiência de bactérias do solo na degradação polimérica, visto que, filmes de Poli(ϵ -caprolactona) (PCL), obtiveram maior evolução de CO₂ em testes de Bartha. Ainda no mesmo experimento, a taxa de degradação dos polímeros utilizados foi maior para o PCL puro seguido da blenda de Poli(cloreto de vinila) (PVC)/PCL, e PVC puro, comprovando eficácia da microbiota do solo.

No caso dos fungos, os Eumicetos, mais conhecidos como fungos verdadeiros são micro-organismos de importância particular na área de degradação de materiais. Fungos são nucleados, formadores de esporos, não clorofilados, com ambas as reproduções, sexuada e assexuada. A maioria deles possui filamentos, ou seja, estruturas somáticas e paredes celulares formadas por quitina e/ou celulose. Sua importância como agente deteriorativo é resultado de produção de enzimas que quebram substratos “não vivos” a fim de obter nutrientes que estão presentes na composição do polímero (CHANDRA, 1998). Condições ambientais (temperatura, umidade, nutrientes, etc.) são essenciais para um ótimo desenvolvimento do micro-organismo e uma boa atividade degradadora.

Muitos trabalhos relatam a eficácia dos fungos envolvidos em biorremediação devido a sua natureza robusta e a capacidade de síntese de diversas enzimas (ARTHAM & DOBLE, 2010; KIM & RHEE, 2003; CHIELLINI et al., 2003; COELHO, et al., 2008; MIKULÁSOVÁ, et al., 2001; KONDURI, et al., 2010; LIMA, et al., 2007; ONODERA, et al., 2001; WESENBERG, et al., 2001). Onodera e colaboradores (2001) verificaram a eficácia de *Penicillium simplicissimum* na biodegradação de PE, utilizando esse polímero como única fonte de carbono. Observaram também que as colônias desse fungo tiveram melhor crescimento na presença do polietileno pré-tratado do que na presença do polietileno intacto, ressaltando que as formas colonizadoras que mais contribuíram para essa degradação foram as hifas ao invés de esporos isolados. Em outro trabalho utilizando blendas de polietileno/amido, Lima, et. al. (2008) pode concluir que o crescimento dos fungos, *P. chrysosporium* e *Talaromyces wortmannii* nas blendas resultou na perda da força tênsil e na ruptura de cadeias do material polimérico, pois o amido contido na blenda foi mais suscetível ao ataque

enzimático. Isso foi comprovado pelo fato desses fungos produzirem amilases que atuam diretamente no amido. Sendo este, a maior parte amorfa do material cuja estrutura é mais acessível ao ataque dos fungos.

Outras pesquisas vêm apontando dentre a maioria dos fungos degradadores de polímeros, o *Phanerochaete chrysosporium*, também denominado fungo da podridão branca, como um bom degradador de materiais plásticos devido a sua capacidade de alastramento e de difícil remoção da superfície, além de quebrar quimicamente alguns poluentes recalcitrantes na natureza (CAMPOS, 2004). Este fungo pertence à divisão Basidiomycota que possuem mais de 25 mil espécies, dentre as mais conhecidas estão os cogumelos de chapéu, orelhas-de-pau, as espécies comestíveis e espécies tóxicas, que são caracterizados por suas hifas septadas e pelos conidiósporos. Devido à capacidade de converter lignina em CO₂ e água, os basidiomicetos são muito utilizados em processos biotecnológicos englobando os resíduos agrícolas e agroindustriais. Os produtos finais da degradação do substrato podem ser utilizados ainda como fertilizantes em plantações, suplementos para ração animal ou ainda serem reciclados e misturados a outros materiais orgânicos, para utilização em terra de cobertura de plantações de champignon, por exemplo (MATHEUS & OKINO, 1998).

Iiyoshi et. al. (1998) submeteu três espécies de fungos degradadores de lignina, incluindo o *P. chrysosporium*, a testes de degradação com o PEAD e concluiu que as enzimas manganês peroxidase causaram significativa degradação deste polímero, sugerindo que esse complexo enzimático possa ser a chave para a degradação do polietileno. Outro trabalho de degradação utilizando membranas de polietileno de alta densidade e de nylon-66 em conjunto com um sistema mediador de lacase (LMS), constatou que houve redução na qualidade das propriedades mecânicas dessas membranas testadas em três dias de tratamento (FUJISAWA et al., 2001). Esse sistema basicamente funciona através da interação da lacase com um mediador químico (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolona-6-sulfonato) (ABTS) ou 1-hidroxi-benzotriazole (HBT) que conseguem oxidar compostos fenólicos pela redução molecular do oxigênio em água. Recentemente, Artham & Doble (2010) também testaram a degradação do policarbonato pré-tratado físico-quimicamente e viram que o polímero perdeu 5,5% de massa quando exposto a biodegradação com o *P. chrysosporium*, sem contar que, ao analisarem a morfologia da superfície através de microscopia eletrônica de varredura, confirmaram a presença desse fungo na matriz polimérica dos filmes incubados pelo período de 12 meses.

Por isso, o grande interesse abordado sobre esse micro-organismo é devido ao seu potencial complexo produtor de enzimas que secreta uma ou mais das três principais enzimas lignolíticas, ou seja, a lignina peroxidase (LiP), a manganês peroxidase (MnP) e a

fenoloxidase (lacase) (MOHAMMADI & NASERNEJAD, 2008). Este complexo confere aos fungos lignolíticos, uma boa capacidade de biorremediação de vários poluentes orgânicos, dentre eles os DDTs, PCBs, óleo mineral, petróleo, entre outros (BARR & AUST, 1994; POINTING, 2001 *apud* SILVA et al., 2004). As enzimas ligninase e manganês peroxidase pertencem à classe das peroxidases, que oxida seus substratos pela redução de um elétron com formação de um radical catiônico. A MnP atua exclusivamente como fenoloxidase em substratos fenólicos utilizando Mn^{2+}/Mn^{3+} como par redox intermediário (SILVA et al., 2004). As lacases são enzimas lignolíticas cooperadoras que catalisam um único elétron da oxidação de um composto fenólico pela redução molecular do oxigênio em água. Essa formação de radicais podem repolimerizar ou levar a despolimerização. Na presença de peróxidos de hidrogênio (H_2O_2) essas enzimas atacam uma ampla extensão de componentes fenólicos e aromáticos gerando radicais livres, os quais, por sua vez podem participar de outras reações promovendo uma série de outros produtos (FUJISAWA et al., 2001).

A identificação de uma nova estirpe fúngica, e o seu uso em culturas mistas, assim como a avaliação dos agentes biodegradativos são de extrema importância na redução do tempo de degradação desses materiais na natureza (LIMA et al., 2008).

2.8. Fotodegradação

A fotodegradação é classificada como um dos eventos abióticos que pertencem à degradação de material polimérico, e nada mais é do que mudanças moleculares na cadeia de polímeros quando este é exposto à radiação ultravioleta, em ambientes com ou sem oxigênio. Essas reações ocorrem quando a luz incidida sobre polímero faz com que as moléculas fiquem em um estado de excitação eletrônica. A radiação UV situa-se na faixa de comprimentos de onda entre 200 a 400 nm, e a sua fonte mais importante é a radiação solar ($\lambda > 290$ nm) (SADI, 2010).

Dentro desse processo, algumas estruturas químicas são responsáveis pela absorção da luz sofrendo mais facilmente a transição eletrônica, podendo então, desestabilizar a cadeia. Esses grupos químicos são conhecidos como cromóforos. Para polímeros, os cromóforos são comumente encontrados em grupos de duplas ligações como $C=C$, em anéis aromáticos e nos grupos carbonila ($C=O$). Por isso, a irradiação com luz UV é capaz de provocar a cisão de cadeias nos polímeros através do processo conhecido como fotólise. Além disso, outro evento conhecido como foto-oxidação pode provocar o mesmo efeito nas cadeias poliméricas, mas com um diferencial; a presença de oxigênio. Os radicais livres formados pelo rompimento das

cadeias, podem sofrer a incorporação do átomo de oxigênio, provocando assim, sucessivas reações auto-catalíticas, fazendo com que esses radicais livres possam ser recombinados, ou então na ausência do hidrogênio de outras moléculas, novos radicais livres possam ser formados (SADI, 2010).

Para a maioria dos polímeros o mecanismo de foto-oxidação ocorre em três etapas: a de iniciação (1), que se refere à formação dos radicais livres; a de propagação (2), onde os radicais livres reagem com o oxigênio e ocorre a produção de novos radicais através da quebra de cadeias; e a etapa de terminação (3), mostra que é possível a interação entre os radicais livres constituídos, resultando em ligações cruzadas, mais conhecidas como reticulações (Figura 5).

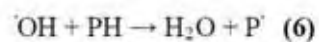
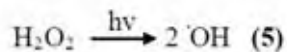
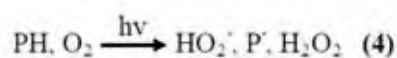
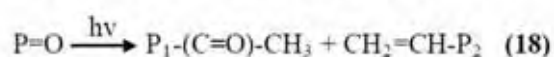
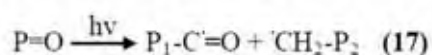
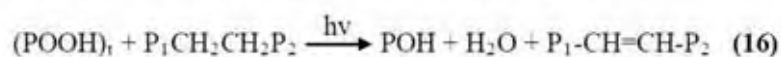
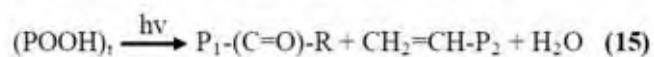
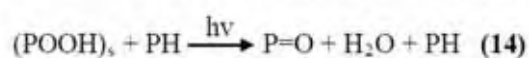
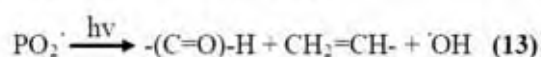
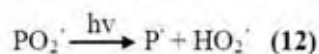
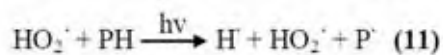
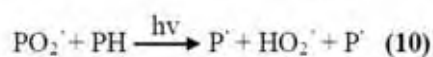
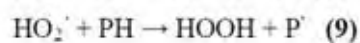
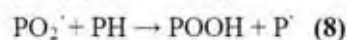
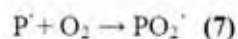
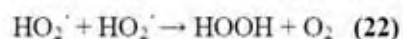
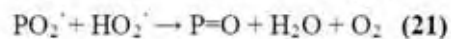
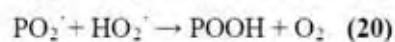
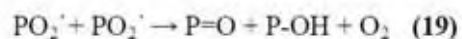
IniciaçãoPropagaçãoTerminação

Figura 5 - Mecanismo de foto-oxidação de polímeros. Sendo PH, polímero olefínico, P, radical polimérico e $h\nu$, radiação da luz UV. Adaptado de Sadi (2010).

A foto-oxidação no PEBD, por exemplo, é vista como um dos passos iniciais para a biodegradação, pois esta aumenta a quantidade de material de baixa massa molar pela quebra de ligações, aumenta a superfície de contato pelo enfraquecimento molecular e aumenta

também a hidrofiliçidade do material através da introdução de grupos carbonila (ALBERTSSON, et al., 1987). Na biodegradação do polietileno, um passo abiótico inicial, a foto-oxidação (Figura 6), está envolvida na oxidação da cadeia polimérica devido ao oxigênio dissolvido ou a presença deste, no ambiente levando a formação dos grupos carbonila. Quando o polietileno tem uma prolongada exposição a micro-organismos, ocorre uma diminuição no índice de carbonila provavelmente provocada pela biodegradação através do mecanismo de Norrish com a formação de ésteres (Figura 7). O mecanismo de Norrish II leva a formação de duplas ligações na cadeia polimérica. Ésteres e carbonilas cetonas também são formadas durante a oxidação abiótica do polímero sobre condições térmicas na presença de enzimas como as oxiredutases (KARLSSON e ALBERTSSON, 1998).

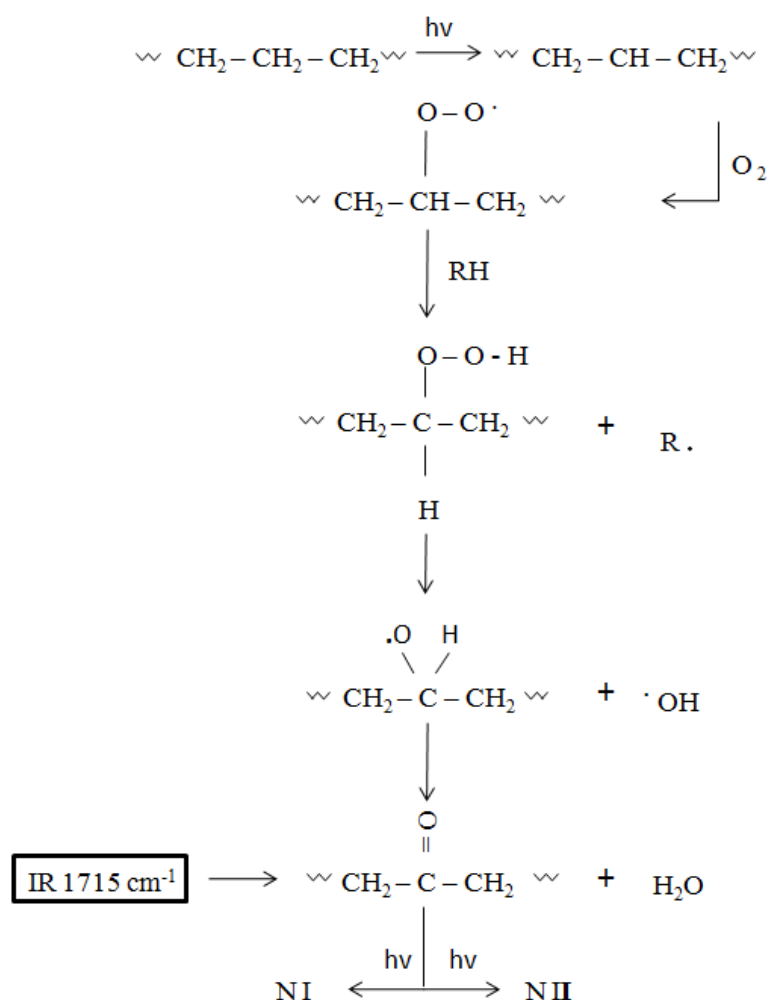


Figura 6 - Foto-oxidação do polietileno. Adaptado de Albertsson et al. (1987).

Todos esses efeitos de foto-oxidação promovem a degradação de polímeros como mostrado anteriormente. O polietileno possui dois tradicionais mecanismos de foto-oxidação. Inicialmente, a radiação UV é absorvida e leva à formação do radical, este por sua vez pode absorver o oxigênio e dar origem aos hidroperóxidos, tendo como produtos finais os grupos carbonila. A exposição à radiação UV, faz com que os grupos carbonila se submetam a degradação Norrish tipo I e/ou II (Figura 8). O Norrish tipo I provoca a clivagem do radical carbonila que reage com o radical alcoxila na cadeia do polietileno como expõe a Figura 8. A degradação de Norrish tipo II pode levar a formação de pares saturados ou insaturados nos fins de cadeias através da transferência de hidrogênios (ALBERTSSON, et al., 1987).

Os radicais poliméricos depois de formados podem adicionar oxigênio molecular aos radicais de peróxidos, os quais abstraem o hidrogênio e formam grupos de hidroperóxidos. Estes, ou absorvem luz UV, ou tornam-se excitados por transferência de energia, deixando as ligações entre O – O mais fracas provocando a quebra e dando origem a pares de radicais alcoxilas e hidroxilas, podendo então, reagir de várias formas como, por exemplo, na captura de hidrogênio, em quebras de cadeias, rearranjos e etc. Esses eventos são capazes de acelerar o processo de fotodegradação (SINGH & SHARMA, 2008).

Entretanto, a eficiência da fotodegradação pode variar de acordo com o tipo de material exposto e principalmente na intensidade de emissão da radiação UV, pois as reações de cisão de cadeia estão diretamente relacionadas com a absorção da radiação ultravioleta. Fechine e colaboradores (2006) estudaram a diferença de fotodegradação em poliolefinas expostas ao ambiente natural e em laboratório, e observaram um melhor desempenho degradativo nas amostras expostas a luz artificial, pois estas possuem uma intensidade de radiação muito maior, além da temperatura no interior das câmaras artificiais que contribuem com os danos causados.

O comportamento do PEBD diante do processo foto-oxidativo apresenta algumas diferenças se comparado a outras poliolefinas, onde os níveis de degradação são vistos principalmente pelas reticulações das cadeias do que pela cisão. Na exposição artificial a intensidade da radiação faz com que as reações sejam mais rápidas com o oxigênio sendo consumido apenas nas camadas superficiais da amostra. O rápido consumo de oxigênio na superfície torna o interior com escassez de oxigênio e assim, a ação da luz ultravioleta no interior da amostra leva a ações de reticulação (FECHINE, et al., 2006).

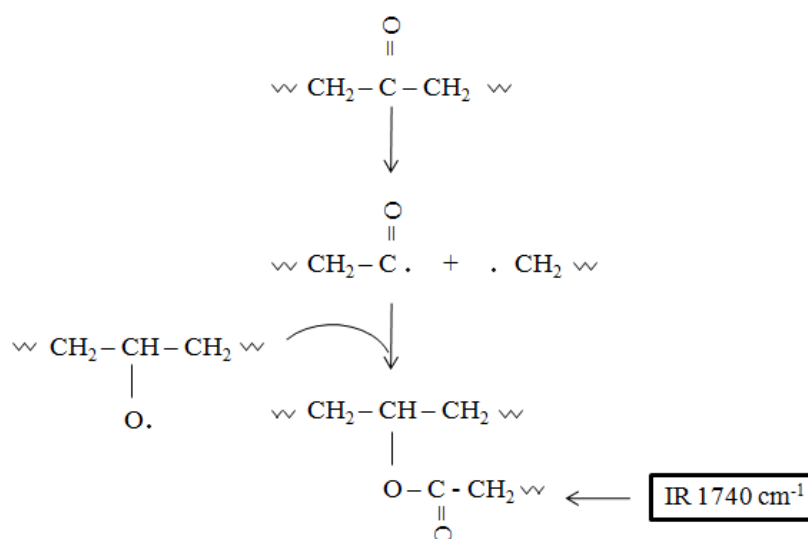


Figura 7 - Mecanismo de conversão abiótica da carbonila em éster. Adaptado de Albertsson et al. (1987).

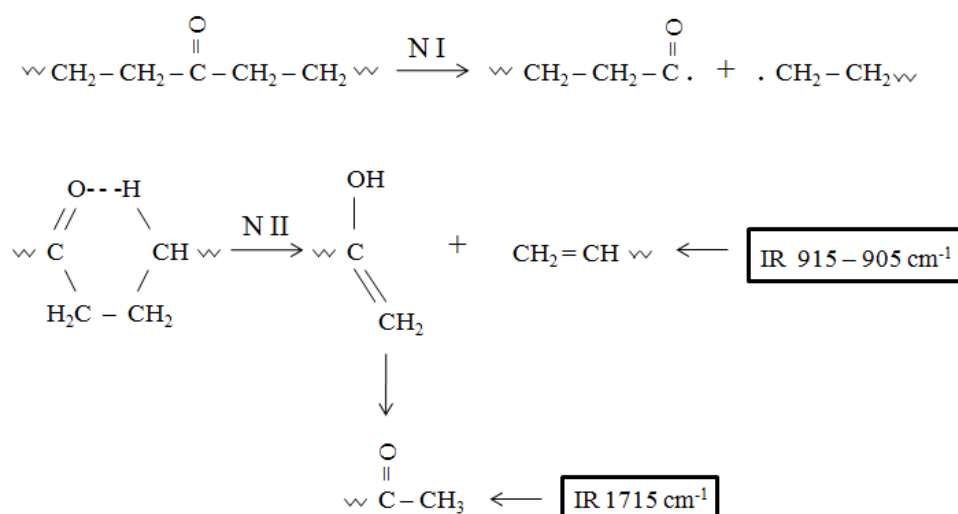


Figura 8 - Degradação de Norrish tipo I e II.

A fotodegradação ainda é um assunto pouco estudado e restrito a alguns materiais poliméricos. O PHB, por exemplo, é um polímero pouco explorado nesse contexto, com isso, a investigação e comparação de resultados foram dificultadas, uma vez que a literatura para esse tipo de mecanismo é precária. Ainda assim, o trabalho de Rosa, et al., (2001) relatou que a fotodegradação do PHB, poderia ser um fator que aumentasse a cristalinidade desse material, pois as reações de reticulações foram muito frequentes durante o experimento. Sadi

(2010) constatou que a radiação UV gera diversas mudanças no PHB, tais como: reações de cisão (que são predominantes) e reações de reticulação, formação de grupos carbonila, redução na temperatura de fusão e nas propriedades mecânicas, aumento superficial de cristalinidade, fissuramento e embranquecimento da superfície do PHB, além de um atraso inicial de sua biodegradação. Este atraso está relacionado com uma fina camada superficial que tem a sua cristalinidade aumentada com a fotodegradação. Uma vez que essa camada é consumida, a aceleração na biodegradação ocorre possivelmente devido as moléculas degradadas abaixo desta camada superficial, as quais não se reorganizaram em cristais. Carashi e colaboradores (2002) puderam observar ao longo do experimento que a mistura de PHB com farinha de madeira expostas a degradação natural em ambientes variados (solo argiloso, aterro sanitário, águas do córrego e sobre o solo ao ar livre) obtiveram mudanças significativas nas perdas de massas e na coloração do filme, sendo que as amostras dispostas ao ar livre apresentaram melhores resultados na alteração de cor e deformações nas estruturas dimensionais devido à fotodegradação.

O trabalho de Sadi (2010) foi bastante esclarecedor no entendimento do processo fotodegradativo do poli(3-hidroxiбутирато), principalmente na interação entre as partes de biodegradação após a irradiação com ultravioleta. A autora estudou também o efeito da radiação sobre blendas de Polipropileno (PP)/PHB antes de serem submetidas a biodegradação, e concluiu que essas amostras tiveram uma maior produção de CO₂ em ensaios de Bartha e que o maior potencial biodegradativo do PP é atribuído as cadeias oxidativas e de massa molar muito reduzida que são formadas durante a sua fotodegradação, as quais apresentam maior possibilidade de serem assimiladas pelos micro-organismos.

2.9. Métodos para a caracterização dos filmes

Os testes de biodegradação de plásticos podem ser avaliados por diversos métodos, desde os realizados em meios artificiais com culturas de micro-organismos altamente capacitados a desenvolver este trabalho até os aplicados em ambiente natural onde a maioria dos plásticos é descartada nos lixões e aterros. No entanto, antes de se realizar qualquer trabalho em degradação é necessário estabelecer e adequar os métodos utilizados, por isso as instituições competentes nesse assunto devem ser consultadas. Em efeito de permitir um método de controle e comparação de acesso a biodegradabilidade, a Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM) e a Organização Internacional de Padronização (ISO) desenvolveram uma série de “Standards” ou padrões que definem os testes de

biodegradabilidade sob condições de monitoramento fiéis as condições de aplicações (KRZAN, et al., 2006). Dentre as análises que permitem a verificação dos danos provocados pela degradação e biodegradação a filmes poliméricos, as caracterizações mais comuns podem ser conferidas e comparadas através de alguns métodos de testes citados a seguir de acordo com Shah et al., (2008) tanto exclusivamente para polímeros quanto para o processo biológico. Inúmeras outras técnicas podem ser também aplicadas para verificar a biodegradabilidade de polímeros incluindo a espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), calorimetria exploratória diferencial (DSC), espectroscopia nuclear de ressonância magnética (NMR), espectroscopia de raio - X (XPS), difração de raio-X (XRD), e medidas de ângulo de contato.

2.9.1 Observação visual

Permite avaliar as mudanças visíveis nos plásticos e pode ser executado em quase todos os testes. Os efeitos podem ser descritos pelo aspecto rugoso da superfície, pela formação de buracos ou rachaduras, fragmentação, mudanças na coloração ou pela formação de biofilmes na superfície. Esses efeitos não são capazes de comprovar a biodegradação, mas as mudanças visuais podem indicar o ataque microbiano. Para uma melhor confirmação é indicada a microscopia eletrônica de varredura (MEV).

2.9.2. Medidas de perda de massa

Esse é um método simples e rápido de aferir a biodegradação de polímeros determinando a perda de massa. Essa determinação geralmente é realizada a partir da pesagem inicial e final do material, ou seja, antes e após a aplicação dos testes. A perda de massa é proporcional a área de superfície desde que a biodegradação seja iniciada na própria superfície do material. Os micro-organismos que crescem sobre e entre as camadas do polímero podem levar a um aumento de massa devido à acumulação nessas áreas, entretanto, se há a perda da integridade do material, o resultado é a diminuição na perda de massa (SUDHAKAR et al., 2007).

Esse método é utilizado em larga escala para procedimentos de compostagem. Podem ser aplicados a espécimes como filmes e corpos de prova, porém sem a confirmação de obtenção da biodegradação. Alguns problemas podem surgir durante o manuseio da amostra como, por exemplo, o procedimento de limpeza, e com isso os exemplares desintegrados

excessivamente podem ser carregados, perdendo então, a precisão na informação sobre a perda de massa do material (SHAH et al., 2008).

A análise se dá pela peneiragem das amostras de plástico que permite uma melhor determinação quantitativa das características de desintegração. Combinando as análises estruturais e residuais do material, podemos obter informações detalhadas do processo de degradação em especial se for utilizado um meio de cultura como teste.

A maioria dos trabalhos realizados no ramo de degradação plástica utiliza desse método para estimar as taxas e os efeitos causados pela biodegradação. Em seu estudo, Coelho, et. al. (2008) avaliou a biodegradação de blendas de poli(β -hidroxibutirato-covalerato)/amido anfótero através da pesagem das amostras em balança analítica, antes e após o teste de Sturm. A estimativa foi calculada pela fórmula da variação de massa em porcentagem ($\Delta M_{\%}$), muito comum no meio polimérico:

$$\Delta M_{\%} = \frac{M_0 - M_f}{M_0} \times 100\%$$

O trabalho de Hadad, et. al. (2005) mostrou que a bactéria *Brevibacillus borstelensis* 707 não conseguiu formar uma camada de biofilme sobre o filme de polietileno, devido à característica hidrofóbica do polímero, mostrando então a baixa taxa de degradação (9,7%) avaliada pelo método de perda de massa. Ou seja, se não há a aderência do micro-organismo ao material submetido aos testes, a biodegradação pode ser parcialmente reduzida.

Faria (2009) observou em seu experimento de biodegradação utilizando água de rio que o PHB sofreu maior perda de massa (aproximadamente 100%) em relação à blenda de PHB/PP, enquanto que o PP não sofreu perda de massa significativa.

Sudhakar et al. (2007) também conseguiu estimar a biodegradação do PEBD através do método de perda de massa, e observou um decréscimo de 25% para as amostras que não foram blendadas com amido. Essas amostras foram expostas a bactéria *Bacillus cereus*.

2.9.3. Ângulo de contato

O ângulo de contato é uma medida que analisa a mudança de polaridade, a rugosidade da superfície, a homogeneidade química e a camada atômica mais externa (JAYASEKARA et al., 2004 *apud* CAMPOS, 2008). O ângulo de medida formado pela gota está relacionado com a energia superficial do sólido, que é definida pela equação (MORRA et al., 1990):

$$S = \gamma_1 - \gamma_2 - \gamma_{1-2}$$

Onde: S = coeficiente de espalhamento;

γ_1 = tensão superficial

γ_2 = tensão superficial do líquido de espalhamento

γ_{1-2} = tensão interfacial

O espalhamento de um líquido sobre uma superfície sólida é um fenômeno complexo, que depende das energias superficiais do líquido, do sólido e da interface sólido-líquido, bem como da rugosidade da superfície e da maneira pela qual o líquido é colocado sobre o sólido.

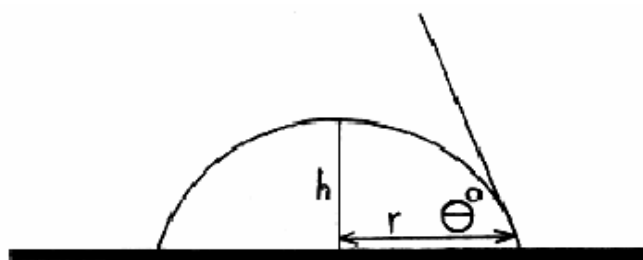


Figura 9 - Método da gota séssil para calcular o ângulo de contato (DESHMUKH & BHAT, 2003).

Portanto, essa é uma relação na qual a molhabilidade da superfície polimérica resulta em duas conclusões: quanto maior for o ângulo formado pela gota de água (Figura 9), maior será a hidrofobicidade do material polimérico, ou seja, mais hidrofílico ou mais hidrofóbico. O aparato usado para aferir o ângulo é composto por uma base fixa, uma fonte de luz, e uma lupa, que projetam a imagem da gota na posição invertida, da qual são retiradas as informações da altura e da largura de cada repetição.

Filmes de poliéster submetidos a tratamentos de descarga corona foram analisados por ângulo de contato. O aparelho mostra ser bastante útil e prático na avaliação da alteração relativa da propriedade de superfície de um material após ser submetido a um processo de alteração superficial (MACCAURO & CAMPOS, 2006). Medidas de ângulo de contato e tensão superficial de filmes de polipropileno mostraram uma diminuição do ângulo e

consequentemente um aumento na tensão de molhamento dos filmes pré-tratados por imersão em solução aquosa de sulfato de cobre/tiosulfato de sódio. Isto se deve a formação de grupamentos carbonílicos e carboxílicos na superfície do material, os quais são mais hidrofílicos que os grupamentos metílicos originais (GASPAR et al., 2006 *apud* CAMPOS, 2008).

Matsunaga e Whitney (2000) verificaram diminuição do ângulo de contato em amostras de PEBD pré-tratadas com luz UV e descarga corona. Estes tratamentos oxidaram a superfície do PEBD e facilitaram a colonização microbiana, refletindo um aumento da molhabilidade da superfície polimérica. Sudhakar et al. (2007) comprovaram a eficiência de micro-organismos marinhos na degradação do PE. Observaram, entre outras alterações, redução do ângulo de contato. No estudo, o ângulo de contato para o PEAD apresentou menos modificações, seguido por PEBD, enquanto a blenda de PEBD-amido sofreu diminuição drástica de seu ângulo de contato.

Kountny et al. (2009) viram em seu trabalho que as medidas de ângulo de contato da superfície do filme de PE diminuíram após o tratamento de oxidação, e que os componentes polares aumentaram a tensão superficial em mais de três vezes.

Com isso, podemos observar o grau de importância dessa medida quanto a avaliações de mudanças superficiais, permeabilidade, adesão de micro-organismos e também biodegradação.

2.9.4. Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de FTIR é bastante empregada na investigação estrutural das matrizes poliméricas sendo capaz de detectar pequenas mudanças entre as regiões amorfas e cristalinas (BELTRÁN e GARCIA, 1997). Para Huang et al. (2005) em estudos de FTIR utilizando o PHB, foram encontradas bandas de cristalinidade em blendas desse material nas regiões de 1000 a 900 cm^{-1} . Para Sato et al., 2004 e 2005 a banda à 1720 cm^{-1} é atribuída ao estiramento do grupo C=O da fase cristalina e em torno de 1740 cm^{-1} é atribuída ao estiramento do grupo C=O da fase amorfa. Faria & Franchetti (2009) verificaram que a banda à 1380 cm^{-1} é atribuída à deformação de grupos CH_3 , e que as regiões de 980, 1230, 1278 e 1724 cm^{-1} aumentam com o aumento da fase cristalina e as regiões de 1186 e 1741 cm^{-1} com a fase amorfa. No PEBD, as principais bandas que caracterizam o polímero estão localizadas na

região de 2930 a 2850 cm^{-1} que correspondem às vibrações de estiramento C-H (MARTELLI, 2008).

Para Gaboardi (2007) a mesma vibração de C-H se encontra na região de 2908 cm^{-1} , o que nos lembra o fato de que cada tipo de polietileno possui suas individualidades quanto à massa molar, origem, tipo de processamento, etc., mas a estrutura principal da molécula será a mesma. É importante destacar que a fase cristalina desse polímero se encontra na região entre 720 a 729 cm^{-1} (MARTELLI, 2008 e GABOARDI, 2007). Kaczmarek e Sourisseau (2005) estudaram o comportamento da foto e biodegradação utilizando espectro de ATR-FTIR (Espectroscopia de Infravermelho com Reflexão Total Atenuada) envolvendo o polietileno e blendas preparadas com celulose, e mostraram que o efeito da radiação sobre o polímero puro, sob longos períodos (50-100h) obtiveram maior mudança do que por períodos curtos, sendo que as mudanças ocorridas se refletiram no aparecimento de picos em 1740 cm^{-1} (grupos de estiramento da carbonila), em 1170 cm^{-1} que representam as vibrações de estiramento assimétrico do grupo C-O-C (a qual pode sofrer sobreposição com a vibração do CH_2), e em 908 cm^{-1} (CH do grupo vinil), a região sofreu aumento nas intensidades devido ao tempo da irradiação. Portanto, ressalta-se a importância dessa técnica como uma ferramenta valiosa no estudo de mudanças conformacionais de macromoléculas durante a fusão e cristalização do material podendo revelar também, produtos que foram gerados pelos processos degradativos abiótico e biótico. A técnica FTIR, é aplicada na investigação estrutural das matrizes poliméricas (BELTRÁN & GARCIA, 1997). É uma técnica bastante sensível a pequenas mudanças na matriz polimérica (XU & GU, 1995; KARAL, et al., 1997; HONDA & OSAWA, 2002). Esta técnica também tem sido utilizada para detectar produtos de oxidação em filmes de poliolefinas e em PVC fototratado por UV, bem como para analisar possíveis interações entre componentes de blendas após o biotratamento (HOLLANDE & LAURENT, 1997) (CAMPOS et al., 2004).

3.0 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Materiais

3.1.2 Polímeros

- Os polímeros utilizados foram o PEBD: Polietileno de baixa densidade com Tg: Tm: 105-115°C.
- O PHB: Poli (3-hidroxi-butirato), M_w : 608000 g/mol, Tm: 175-180°C. Ambos doados pelo DEMA – UFSCar, São Carlos – SP, e suas blendas PE/PHB.

3.1.3 Equipamentos

- Prensa com aquecimento e controle de temperatura, modelo SL-099, marca SOLAB Equipamentos para Laboratórios, Piracicaba, SP.
- Fonte de luz UV (254nm) para a esterilização superficial dos filmes, de 30 minutos.
- Para o fototratamento ou envelhecimento artificial dos filmes, utilizamos o equipamento Atlas Weather-Ometer, operando com lâmpada de xenônio de 6.500 W, com filtros interno e externo de borossilicato e controle de irradiância de 0,35 W/m² a 340 nm.

3.1.4 Cultura e manutenção do micro-organismo

O micro-organismo utilizado nos ensaios de biodegradação é o *Phanerochaete chrysosporium* CCB 478 foi fornecido pela seção de Micologia e Liquenologia do Instituto de Botânica, São Paulo.

- Para os meios de manutenção e cultivo do micro-organismo, foi utilizado o ágar Malte (Difco™) suplementado com celulose, e para o teste de biodegradação foi empregado o meio mineral (200 mL) de Bushnell-Haas suplementado com 20g de glicose, em frascos Erlenmeyer.

3.2. Métodos

3.2.1. Preparação dos filmes

Os filmes de Polietileno foram obtidos a partir da fusão de 0,2000 g desse polímero puro em prensa (Figura 10) com aquecimento de 120°C, com pressão de 1 t, durante 3 minutos. Para os filmes de Poli (3-hidroxi-butirato), utilizou-se a mesma massa (0,2000 g), porém a temperatura de prensagem foi de 170°C, com 0,8 t de pressão, durante 3 minutos. Para as blendas PE/PHB os filmes foram obtidos em três proporções: 70/30, 80/20 e 90/10; a partir da fusão de 0,1400/0,0600 g, 0,1600/0,0400 g e 0,1800/0,0200 g aproximadamente, de cada polímero constituinte, devidamente homogeneizado sob temperatura de 170°C e 0,8 t de pressão, por 3 minutos. Após serem prensados os filmes foram resfriados em temperatura ambiente. A espessura média das amostras foi de 45 micrômetros para as blendas e 50 micrômetros para os homopolímeros.



Figura 10 - Prensa hidráulica utilizada no preparo dos filmes.

3.2.1.1 Preparo para os diferentes tratamentos

Foram preparadas 6 amostras de filmes no total, para cada polímero puro, PEBD e PHB, e para as diferentes blendas. Sendo as amostras destinadas para cada tratamento e conforme cada repetição. Assim, temos 2 filmes para cada réplica (R1, R2 e R3) como mostra a Figura 11.

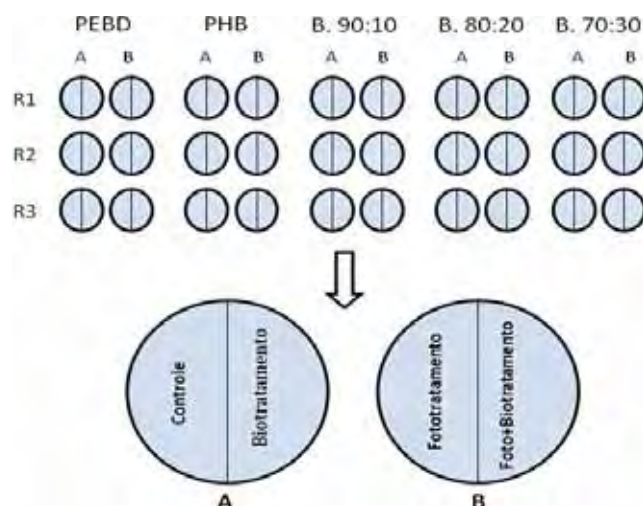


Figura 11 - Esquema da montagem dos filmes para os tratamentos (A e B).

Os filmes foram divididos ao meio de forma que cada parte foi reservada para seu respectivo tratamento. No filme A, metade da amostra foi conservada como controle original, e a outra metade deste foi utilizada no biotratamento. O filme B, foi irradiado com luz UV por inteiro e posteriormente dividido onde parte deste, empregado no teste de fototratamento, e a outra parte foi destinada ao fototratamento seguido de biotratamento.

3.2.1.2. Fototratamento ou envelhecimento artificial por radiação ultravioleta (UV)

Para este experimento somente as amostras B correspondentes a cada filme foram utilizadas no ensaio de envelhecimento acelerado. O equipamento empregado foi Atlas Weather-Ometer, operando com lâmpada de xenônio. Este aparelho possui um carrossel rotativo (Figura 12) onde as amostras dos filmes de PEBD, PHB e blendas foram devidamente colocadas e presas com o auxílio de presilhas protegidas com material plástico espesso para que os exemplares não fossem danificados.

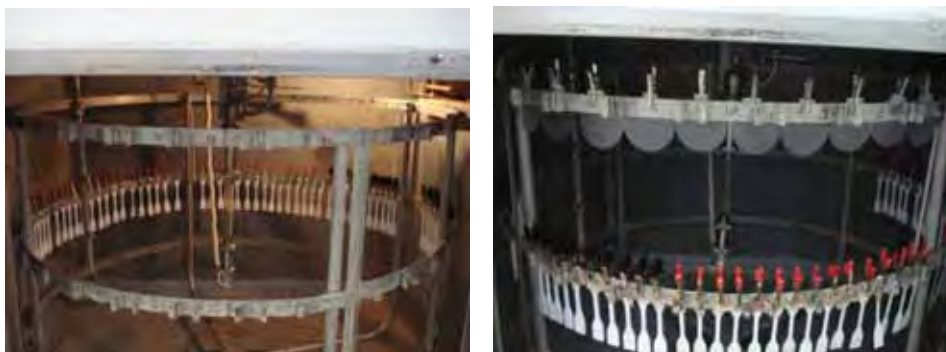


Figura 12 - Foto ilustrativa do carrossel do equipamento Atlas Weather-Ometer de fotoenvelhecimento.

Esta máquina possui controles automáticos de temperatura e de umidade relativa no interior da câmara. Um ciclo completo da máquina ocorre por 120 minutos, sendo que 102 minutos equivalem ao ciclo de insolação contínua (irradiação) e 18 minutos de insolação com simulação de chuva. A correlação estimada dos ciclos correspondentes ao tempo natural é de: 1.200 horas de exposição artificial acelerada equivalendo aproximadamente a 1 ano de envelhecimento natural.

Neste trabalho o tempo de exposição dos filmes ocorreu por 200 horas artificiais, equivalentes a 2 meses e 8 horas naturais aproximadamente. Após este processo, as amostras foram biotratadas.

Tabela 1 - Condições para o envelhecimento artificial em câmara Atlas Weather-Ometer, com luz de xenônio.

Aparelho	Atlas Weather-Ometer, modelo 65 XW-WR1 - Anexo 1
Fonte de radiação	Lâmpada de xenônio de 6.500 W, com filtros interno e externo de borossilicato.
Controle	Irradiância de 0,35 W/m ² a 340 nm.
Ciclo de envelhecimento acelerado a cada 120 minutos	- 102 minutos de insolação com temperatura de painel negro igual a 63 °C e - 18 minutos de insolação e simulação de chuva
Norma do ensaio	ASTM G-155, ciclo 1

3.2.2. Tratamento microbiano

Para a manutenção da cultura, as colônias foram cultivadas em placas de Petri contendo ágar Malte (Difco™) suplementada com celulose e incubadas em estufa bacteriológica (Solab) a 28°C, para crescimento do fungo por 15 dias no mínimo antes dos testes de biodegradação. Após a utilização de *P. chrysosporium* na obtenção da massa para o preparo do inoculo fúngico, as culturas foram repicadas para tubos de rosca contendo ágar Malte + celulose, e incubados em estufa a 28°C. Posteriormente ao seu crescimento, os tubos foram armazenado em geladeira a 8°C

3.2.3. Teste de biodegradação

3.2.3.1. Preparo do inoculo fúngico

A inoculação do fungo nos filmes foi realizada por meio de uma solução de esporos obtidos, seguindo a metodologia de contagem de esporos em câmara de Neubauer (Carrillo-Muñoz et al., 2004; Mukherjee et al., 2003). Pequenas partes do micélio foram retiradas da cultura de *P. chrysosporium* e colocadas em 10 mL de solução dispersora. Após a homogeneização, deixou-se descansar em tween 80 pelo período de 5 a 10 minutos e então levou-se para o misturador vórtex por 15 segundos e retirou-se uma alíquota para aplicar nas canaletas da câmara de contagem. A contagem foi realizada em microscópio óptico com aumento de 400x, na parte central com solução de aproximadamente 200 esporos. De acordo com a necessidade, realizaram-se diluições para se chegar ao valor estipulado de esporos (Protocolo 2001 - Instituto de Salud Carlos III, 2002). Este procedimento foi executado com assepsia em sala esterilizada.

3.2.3.2. Ensaio em meio líquido

As amostras a serem submetidas aos tratamentos foram previamente esterilizadas em solução de hipoclorito de sódio 5% por 1 minuto cada, permanecendo alguns segundos em repouso a fim de escorrer o excesso. Em seguida, os filmes foram incubados em Erlenmeyers contendo 190 mL de meio mineral líquido Bushnell-Haas autoclavado e 10 mL do inóculo fúngico, exceto para os frascos do fototratamento exclusivamente. Os frascos foram separados de acordo com cada tratamento, sendo devidamente etiquetados como demonstrado na Figura

13. Vale ressaltar que para este ensaio foram realizados controles negativo e positivo. O controle negativo constituiu-se do filme incubado em meio mineral apenas. O positivo, pelo meio mineral e 10 mL do inóculo fúngico, sem a amostra.

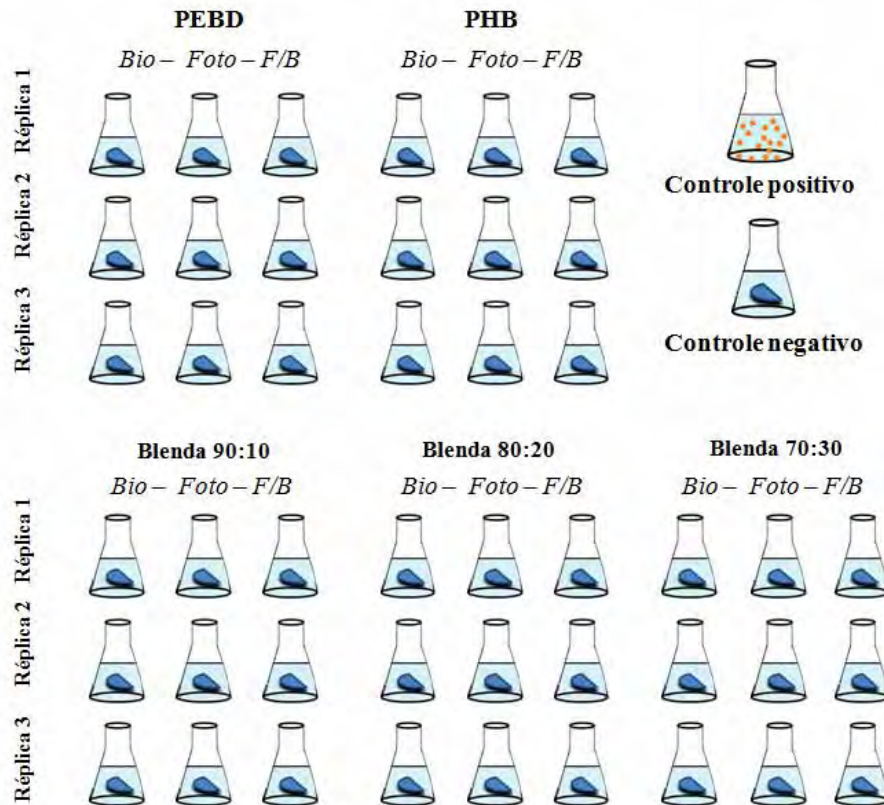


Figura 13 - Ensaio da Biodegradação realizado em tréplicas e incubado por 120 dias em estufa a 28°C. Amostras (homopolímeros e blendas) destinadas a cada tratamento (Biotratamento, Fototratamento e Foto/Biotratamento). Controles positivo e negativo.

Todos os frascos permaneceram em estufa incubadora à 28°C, durante 120 dias. Após este tempo, os filmes foram retirados dos frascos, lavados com água destilada para remoção dos resíduos aderidos, secos em papel de filtro e posteriormente armazenados em dessecador a vácuo por 48 horas (CAMPOS et al., 2003). Todas as amostras foram analisadas e comparadas com a original. O experimento foi montado em triplicata e sob condições estéreis do interior da câmara de fluxo laminar.

3.2.4. Avaliação da biodegradação

Microscopia Óptica (MO):

Os filmes foram analisados em microscópio óptico B4 - BEL photonics, Germany antes e após os tratamentos e fotografados no Laboratório de Tratamento de Polímeros, do Departamento de Bioquímica e Microbiologia, UNESP - Rio Claro.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV):

Foi feita uma caracterização morfológica das amostras originais e tratadas utilizando o Microscópio Eletrônico de Varredura com Pressão Variável - LEO 435 VP, pertencente ao Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia eletrônica na Pesquisa Agropecuária (NAP/MEPA-ESALQ/USP), ESALQ – USP, Piracicaba. Os filmes originais, biotratados, fototratados e foto/biotratados foram recortados e acoplados nos *stubs* com fita dupla face e recobertos com ouro em câmara de vácuo, utilizando o metalizador modelo Baltec SCD 050, com *sputtering*.

Espectrometria de infravermelho (FTIR):

Os filmes originais, fototratados e foto/biotratados de PEBD, PHB e blenda de PEBD/PHB foram analisados por FTIR, em espectrofotômetro da marca Shimadzu, modelo IR Prestige – 21, com resolução 4 cm^{-1} , para verificar possíveis alterações como deslocamento, surgimento/desaparecimento e variações de intensidades de bandas. Portanto, os produtos da degradação, as partes químicas incorporadas nas moléculas dos polímeros (co-monomeros, insaturações), e a presença de aditivos tais como os antioxidantes podem ser determinados (Albertsson, 1987).

Após a aquisição dos espectros, estes foram tratados utilizando-se o software OriginPro 8, passando pelo processo de ajuste da linha base, normalização e deconvolução. A banda de padrão interno utilizada como referência para a normalização do PEBD foi de 1463 cm^{-1} (I_0) correspondente a deformação angular dos grupos CH_2 , para o PHB foi de 1390 cm^{-1} (I_0) correspondente a deformação simétrica dos grupos de CH_3 e para as blendas utilizou-se a mesma banda do polietileno (1463 cm^{-1}), por ser o componente majoritário nestas amostras.

Essas medidas tiveram como referência de análise para o PEBD e blendas o estudo de Hadad et al., 2005, e para o PHB o estudo de Faria & Franchetti, 2009. Utilizou-se também a deconvolução do tipo Lorentziana (FORATO et. al., 1997) para discutir frações amorfas e cristalinas e obter melhor resolução das bandas.

Ângulo de Contato:

Determinou-se a molhabilidade da superfície do polímero pelo método de medida de ângulo de contato da gota séssil (Figura 14). As gotas foram medidas em um sistema construído pertencente ao Laboratório de Tratamento de Polímeros, do departamento de Bioquímica e Microbiologia UNESP- Rio Claro. A gota foi repetida por três vezes em cada amostra.

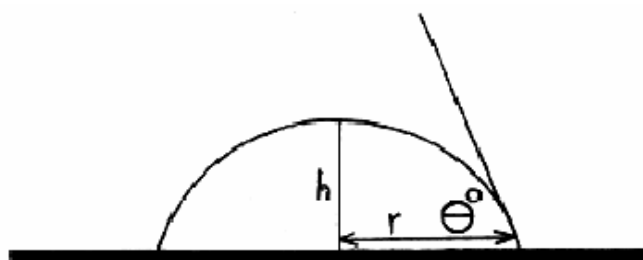


Figura 14 - Método da gota séssil para calcular o ângulo de contato (DESHMUKH & BHAT, 2003).

Perda de Massa:

Uma técnica simples e rápida de avaliar a biodegradação de polímeros é através da variação de massa, antes e após o processo de biodegradação. As amostras foram aferidas por balança (Chyo JK-200 - Marconi) de quatro dígitos e os valores médios posteriormente registrados. A degradação microbiana pode ser expressa como porcentagem de perda de massa.

$$\text{Perda de Massa (\%)} = (W_0 - W_1) / W_0 \times 100\% \text{ (DARWIS et al., 1998)}$$

Onde: W_0 = massa do filme original
 W_1 = massa do filme após tratamento microbiano

4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análise Visual

Essa análise permitiu a avaliação sobre aspectos morfológicos visuais das amostras antes e após os tratamentos, como: coloração, deformações do material, transparência e adesão microbiana. Nas imagens de cada amostra, vê-se metade do filme original (Figuras A, C, E, G, e I) e outra metade do filme tratado (Figuras B, D, F, H e J).

Através da análise das amostras biotratadas pode-se visualizar que o filme de PEBD (Figura 15B) contém marcas esbranquiçadas ao longo das bordas indicando adesão e colonização da superfície do material por micro-organismos. A amostra controle apresenta a superfície lisa, e com a mesma coloração se comparado ao original.

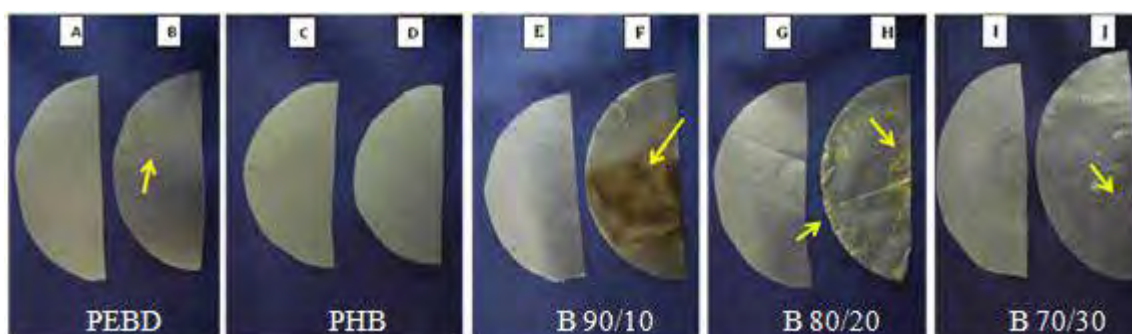


Figura 15 - Filmes antes e após o Biotratamento de 120 dias: (A), (C), (E), (G) e (I) amostras originais e (B), (D), (F), (H) e (J) amostras tratadas. Setas indicam colonização, pigmentação, adesão e deformações na superfície, respectivamente.

Já para o PHB (Figura 15D), observa-se apenas alterações em sua coloração, tornando-se mais opaco e esbranquiçado. Este comportamento tem sido atribuído ao aumento da cristalinidade do polímero (Rosa et. al., 2001).

Na Figura 15F, observa-se que a blenda de 90:10 também teve sua superfície colonizada por alguma espécie de micro-organismo que ao se aderir, liberou pigmentos que impregnaram o material (ver detalhe na imagem). Nessa amostra não houve alterações em sua superfície que fossem visíveis a olho nu. Alguns autores (PELLICANO e AGNELLI, 2009; ROSA et al., 2004 e FRANK, 1984) descreveram em seus trabalhos a importância desse tipo de caracterização, já que em um deles (PELLICANO e AGNELLI, 2009) foi possível observar a diferença nos corpos de provas 120 dias após o ensaio de biodegradação onde mostrava que o composto PHBV/Ecoflex[®]/amido de mandioca (49/21/30) apresentava pontos ou regiões de pigmentação marrom-escuro (regiões circuladas e aspecto rugoso).

Na blenda 80:20 (Figura 15H), percebe-se que também houve aderência de material microbiano em sua superfície, visto que há alguns pequenos pedaços de micélio que permaneceram no filme mesmo após a lavagem da amostra (ver detalhe na imagem). Ao compararmos o exemplar tratado com o original, percebe-se que as bordas do material foram desestruturadas, fato esse conferido a dois motivos: a composição do material e a uma possível biodegradação. Essa peça não obteve mudanças em sua coloração ou opacidade.

Na blenda 70:30 (Figura 15J), não houve modificações visíveis. Mesmo por se tratar de um material com maior porcentagem de PHB, que é classificado como polímero biodegradável, o processo biodegradativo não foi capaz de interferir nas qualidades físicas do filme a ponto de serem observadas. Há apenas um detalhe na Figura 15J onde aponta-se algumas fraturas muito pequenas ocorridas durante o período de incubação.

As avaliações do fototratamento foram bastante decisivas quanto ao comportamento dos filmes. Ficou nítido como a intensidade de radiação da câmara de exposição artificial provocou alterações físicas no material, por isso, analisando-se de forma abrangente, quando comparado ao modelo original, as superfícies dos polímeros apresentaram-se mais rugosas, com algumas nivelações na superfície, rachaduras e com locais de coloração esbranquiçada e opaca.

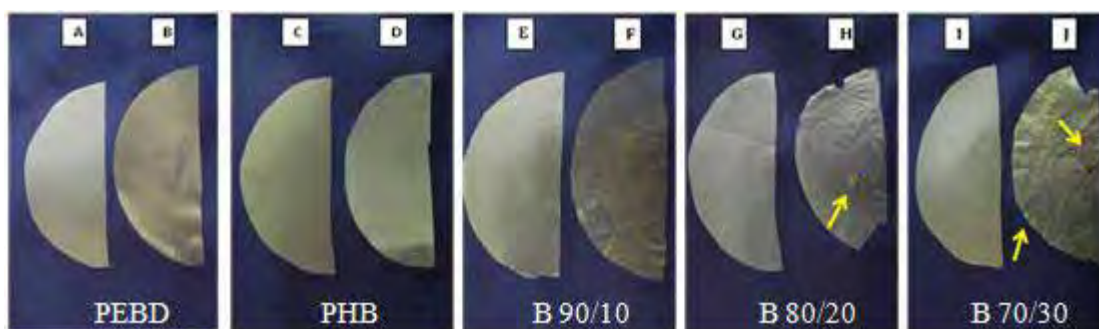


Figura 16 - Filmes antes e após o Fototratamento de 200 horas artificiais: (A), (C), (E), (G) e (I) amostras originais e (B), (D), (F), (H) e (J) amostras tratadas. Setas indicam deformações na superfície.

O PEBD fototratado (Figura 16B) praticamente não sofreu mudanças morfológicas expressivas exceto por um aumento na transparência do filme.

Antes de ser introduzida no frasco contendo meio mineral, a amostra de PHB foi irradiada e seu resultado foi perceptível em nível de descoloração e opacidade (Figura 16D).

Nas blendas (Figura 16F, H e J) o comportamento resultante da intensidade do fototratamento foi visto gradualmente à medida que a porção PEBD diminuiu na composição

final do material. As amostras sofreram danos consistentes e quebras proporcionais mostradas nos detalhes da imagem. A blenda de 90:10 (Fig. 16F) permaneceu quase intacta, enquanto que a de 80:20 (Fig. 16I) reportou várias ondulações na superfície e alguns pontos de ruptura. Na amostra da blenda 70:30 (Fig. 16J), houveram fissuras ao longo da borda, com diferenças de nivelção da superfície e rachaduras no centro e nas extremidades do filme.

Já as amostras que foram irradiadas e posteriormente inoculadas em meio mineral apresentaram resultados significativos.

Na Figura 17B, encontra-se a superfície do PEBD que fora colonizada, porém o filme não apresentou mudanças morfológicas significativas, observando-se apenas uma sutil alteração na coloração final (ver detalhe na imagem). Esse resultado foi expressivo, visto que, trata-se de um polímero hidrofóbico e de difícil biodegradação. Porém, nesse tratamento o efeito da fotodegradação implicou uma diminuição de resistência mecânica do material, permitindo a adesão de micro-organismos. Já o filme de PHB (Figura 17D) se destacou pelo fato de não ter sofrido alterações significativas em sua superfície, sendo somente modificado quanto à transparência, tornando-se bastante opaco. Esse tipo de resposta em relação ao fototratamento é considerado por alguns autores, como indicativo de aumento de cristalinidade, pois durante esse processo, ocorre maior quantidade de reações de reticulação na estrutura molecular contribuindo para o embranquecimento da amostra (SADI, 2010; SADI e FECHINE, 2010; ROSA et. al., 2001).

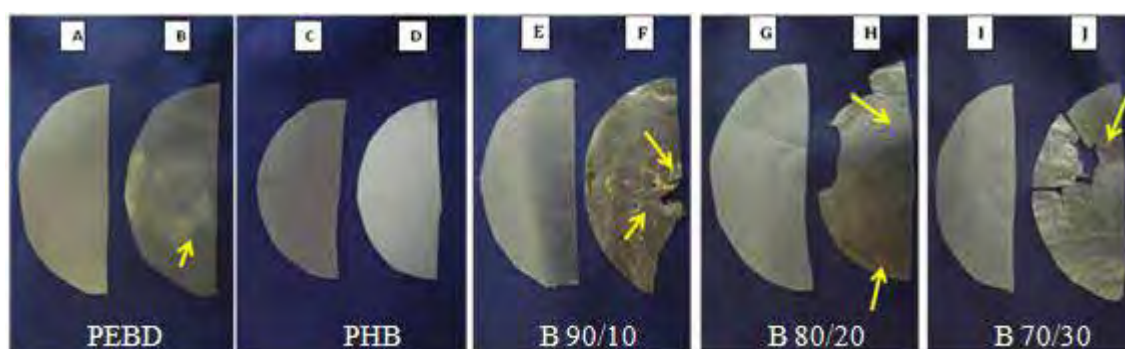


Figura 17 - Filmes antes e após o Fototratamento (200h) / Biotratamento (120 dias): (A), (C), (E), (G) e (I) amostras originais e (B), (D), (F), (H) e (J) amostras tratadas. Setas indicam deformações na superfície.

Na blenda de 90:10 (Figura 17F), observa-se também que houve colonização da superfície do filme tornando-a quebradiça devido a ação dos micro-organismos (ver detalhes na imagem). Entretanto, mesmo contendo mais PEBD na blenda do que PHB foi possível visualizar a adesão microbiana a superfície, uma vez que isso se deve a redução da

hidrofobicidade da amostra, provocada pelo fototratamento prévio. Não houve alterações quanto à coloração.

Na Figura 17H, observa-se que a superfície dos filmes da blenda de 80:20, tornou-se mais ondulada e quebradiça nas bordas do filme. Não foi possível uma boa visualização, mas no canto inferior esquerdo do filme, percebe-se várias manchas coloridas (detalhe na imagem) significando a pigmentação do polímero durante o processo de biodegradação provocada pela adesão de algum tipo de micro-organismo no decorrer de seu desenvolvimento.

Os resultados proferidos na Figura 17J mostram como a estrutura da blenda de 70:30 tornou-se fragilizada após o fototratamento. De todas as composições testadas essa blenda foi a que mais sofreu partições durante a incubação. Sua superfície apresentou alguns sinais de colonização como manchas esbranquiçadas (detalhe da imagem), e ainda muitas fissuras na borda. Esse material foi rotulado como facilmente quebradiço ao toque. Essa análise permitiu uma prévia estimativa de resultados dos diferentes tratamentos executados nesse experimento e facilitou a seleção de amostras a serem avaliadas pela microscopia óptica (MO) e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

4.2. Perda de massa

A perda de massa é o método mais comumente aplicado e relativamente sensível para determinar mudanças causadas pelo ataque microbiano nos polímeros (FLEMMING, 1998).

Na Tabela 2 referente ao PEBD, os valores apresentados correspondem a porcentagens de ganhos de massa após todos os tratamentos. Tal fato pode estar associado à colonização da amostra e aos resquícios de biomassa aderida ao material. Sudhakar et al. (2007) viram que os micro-organismos que cresceram sobre e entre as camadas do polietileno levaram a um aumento de massa devido ao acúmulo nessas áreas. Entretanto, quando houve a perda de integridade física do material observaram a perda de massa. Esse resultado mostra principalmente que a adesão de micro-organismos na superfície do filme é possível mesmo sem terem sido expostos ao fototratamento. Sabendo-se que o polietileno teve sua superfície colonizada após o foto/biotratamento, é de se esperar que essas técnicas tenham implicado na redução da hidrofobicidade desse homopolímero.

Tabela 2 - Variação percentual de massa dos filmes de PEBD e PHB após os diferentes tratamentos.

PEBD		PHB	
Perda de massa (%)		Perda de massa (%)	
Biotratado	34*	Biotratado	15
Fototratado	4*	Fototratado	10
Foto/biotratado	6*	Foto/biotratado	8

*Valor representando ganho de massa.

Erro = $\pm 0,0001$.

Analisando-se o comportamento do PHB perante aos tratamentos, observou-se que quando biotratado, o polímero teve sua massa reduzida em 15% (linha 1 da Tabela 2). Esse resultado pode estar ligado ao consumo de frações amorfas da superfície do polímero pelo fungo envolvido, embora não se tenha observado estruturas do micro-organismo aderido ao filme nas análises de MEV. Nos filmes que foram irradiados também observa-se uma leve perda de massa, entretanto, essa perda foi maior naquela apenas fototratada. Nessa amostra foi constatada mais tarde, evidências de colonização de micro-organismos contaminantes do frasco em que se encontrava. A amostra foto/biotratada teve danos maiores provocados pela radiação do que pelo próprio biotratamento em si, já que quando fototratada, o PHB torna-se mais cristalino, dificultando sua biodegradação (ROSA et al., 2001). Por outro lado, Faria (2009) observou em seu experimento de biodegradação utilizando água de rio que o PHB sofreu maior perda de massa (aproximadamente 100%) em relação à blenda de PHB/PP, enquanto que o PP não sofreu perda de massa significativa. Deve-se lembrar, portanto, que as taxas de biodegradação estão diretamente ligadas aos tipos de micro-organismos e de suas enzimas secretadas no meio durante esse processo.

Nas blendas, de uma forma geral, pode-se concluir que após todos os tratamentos houve perda de massa, exceto para a blenda 90:10, que após ser biotratada apresentou um aumento de massa, exatamente pelo mesmo motivo ocorrido para o polietileno puro, já que este material contém mais PEBD do que PHB. Sem contar que, nas análises visuais (Figura 15F) observou-se a superfície da blenda bastante pigmentada, sendo este um sinal de colonização microbiana. Para os outros tratamentos, a blenda apresentou redução de massa em consequência da radiação, deixando o material fragilizado proporcionando a colonização.

Tabela 3 - Variações percentual de massa das blendas após os diferentes tratamentos.

B. 90:10		B. 80:20		B. 70:30	
Perda de massa (%)		Perda de massa (%)		Perda de massa (%)	
Biotratado	3*	Biotratado	21	Biotratado	19
Fototratado	10	Fototratado	6	Fototratado	30
Foto/biotratado	16	Foto/biotratado	10	Foto/biotratado	36

*Valor representando ganho de massa.

Erro = $\pm 0,0001$.

A composição das blendas foi o fator que mais contribuiu na perda de massa, pois à medida que a proporção de PHB foi aumentando, as taxas biodegradativas foram mais expressivas do que no próprio PHB puro. As blendas de 80:20 e 70:30 tiveram boas perdas após serem biotratadas. Entretanto, na blenda de 80:20 foto e foto/biotratada, suas porcentagens foram suprimidas, em razão de uma série de fatores, dentre eles a cristalinidade adquirida da fase PHB após fototratamento e pela mistura do PHB com o PEBD. Sabe-se que o material é heterogêneo e por isso o PHB tende a ser a fase mais dispersa das misturas, sendo assim, esse fato possivelmente contribuiu para que os micro-organismos não pudessem encontrar uma fase contínua de material biodegradável, mas sim partículas separadas umas das outras, o que colaborou no atraso da biodegradação dessa blenda (SADI, 2010).

Já para blenda 70:30 pode-se observar que dentre todas as outras, essa foi a composição que mais teve perda de massa, principalmente após o foto/biotratamento. Acredita-se que a biodegradabilidade da blenda tende a aumentar lentamente com o aumento da fração de PHB no material

4.3. Ângulo de contato

As medidas de ângulo de contato dos filmes de PEBD e PHB, bem como de suas blendas, submetidos aos diferentes tratamentos estão representadas na (Tabela 4).

Tabela 4 - Medidas de ângulo de contato dos polímeros e das blendas após diferentes tratamentos.

	Original	Biotratado	Fototratado	Foto/Biotratado
PEBD	87,54°	72,12°	71,12°	55,66°
PHB	72,35°	66,62°	48,93°	61,16°
Blendas:				
90:10	88,30°	58,83°	59,96°	48,43°
80:20	80,91°	77,79°	64,58°	60,83°
70:30	77,59°	76,31°	68,36°	63,86°

Desvio padrão: 8,63.

Nesta, pode-se observar que os filmes de PEBD após serem submetidos ao bio, foto e foto/biotratamentos, apresentam uma diminuição no ângulo de contato que pode ser associada à redução da hidrofobicidade deste polímero, permitindo a colonização de micro-organismos na superfície e favorecendo uma possível degradação do polietileno. Matsunaga e Whitney (2000) observaram comportamento semelhante em medidas de ângulo de contato para amostras de PEBD após serem pré-tratadas com luz UV e descarga corona. Pereira (2010) também observou esta redução nas medidas de ângulo de contato após o fototratamento com luz UV e biotratamento em coluna de solo para amostras de PEBD.

Já para os filmes de PHB observa-se uma redução discreta em seu ângulo de contato após o biotratamento, também associada à redução da hidrofobicidade do polímero. Quando pré-tratado com luz UV, o PHB apresenta uma redução ainda maior na medida de ângulo de contato, que pode ser associada à diminuição da cristalinidade do polímero e consequente aumento da fração amorfa. Apesar de poucos estudos publicados sobre a fotodegradação do PHB, (Rosa et al., 2001) demonstraram que a fotodegradação deste polímero retarda a sua biodegradação, devido a ocorrência de reticulação e o aumento da cristalinidade induzida pela luz UV. Porém em outro estudo (SAAD et al., 2010) envolvendo a biodegradação de copolímeros em bloco baseados no PHB e no PCL, os autores observaram que as medidas de viscosidade intrínseca, temperatura de fusão e a cristalinidade das amostras diminuíram após o tratamento com luz UV. Assim pode-se concluir que há necessidades de um estudo mais aprofundado envolvendo o tratamento do PHB com luz UV.

Para as amostras de PHB foto/biotratadas, observa-se um aumento no ângulo de contato em relação às amostras fototratadas, tornando a superfície menos hidrofílica. Esse fato pode ser associado ao consumo da fração amorfa de grupos moleculares formados após a

irradiação, havendo com isso uma reorganização de cadeias e consequente aumento de cristalinidade (Rosa et al., 2001; Sadi e Fechine, 2010 e Fukushima et al, 2001).

Entretanto, estudos realizados por Sudhakar et. al., (2007) evidenciaram o oposto, obtendo resultados em que um polímero mais hidrofóbico foi melhor colonizado do que um menos hidrofóbico, quando biotratados em ambiente marinho. Isto reflete a especificidade do tipo de organismo que coloniza a superfície, ou seja, há micro-organismos que preferem superfícies hidrofílicas e outros que se desenvolvem melhor em superfícies hidrofóbicas.

O resultado observado para a blenda de 90:10 (Tabela 4) após o biotratamento foi a redução do ângulo em uma diferença de $29,47^\circ$ comprovando que a blenda possa ter sido atacada superficialmente por micro-organismos. E após o foto/biotratamento essa diferença foi de $11,53^\circ$. Esta blenda tem a maior percentagem de PEBD, por isso, o resultado dessa amostra pode não ter sido satisfatório mesmo com o pré-tratamento. Durante a foto-oxidação das blendas acredita-se que tenham ocorrido reações químicas que modificaram a fração de polietileno, originando alguns grupos como hidroperóxidos, carbonila, hidroxila, carboxila e outros que tornam a superfície do filme mais polar facilitando a colonização microbiana. O PHB também sofre algumas reações quando exposto a luz UV, mas como visto anteriormente na literatura este polímero tende a tornar-se mais cristalino (ROSA et al., 2001).

Nas análises feitas para as blendas de 80:20 e 70:30 pode-se verificar que a redução nos ângulos de contato não foi tão expressiva pelo fato de que a presença de uma maior quantidade de PHB na composição afetou totalmente o processo biodegradativo. As amostras biotratadas diminuíram discretamente seu ângulo, pois em decorrência de seu processamento (prensagem/aquecimento), a blenda deve ter formado uma camada superficial de PEBD que impediu o micro-organismo ao acesso rápido da fase PHB. Sadi (2010) verificou que a falta de uma camada contínua da fase de PHB gerou uma maior dificuldade para os micro-organismos em consumir partículas dispersas do material biodegradável. Esse ocorrido implicou na superfície da blenda biotratada pouca redução em seu ângulo, tornando-se pouco mais hidrofílica. Arcana et al. (2006), também observaram que a biodegradabilidade de blendas tende a aumentar lentamente com o aumento da fração PHB no material.

Já nas blendas foto/biotratadas, o desempenho foi melhor mesmo sendo irradiados, pois quando presente na blenda, o PHB acaba auxiliando no processo de degradação justamente por esse ser um material biodegradável. Com a redução na fração de PEBD nas blendas, estas tornam-se mais suscetíveis ao ataque microbiano pela redução da hidrofobicidade. Pereira (2010) observou em seu experimento que todas as blendas

(PEBD/PHB) tiveram sua característica hidrofóbica reduzida após os tratamentos, sendo que dentre elas, a que obteve melhor desempenho foi a de 70:30.

4.4. Análises de FTIR

Foram realizadas medidas de FTIR antes e após os diferentes tratamentos. As principais bandas de absorção para o polietileno e o poli(β -hidroxibutirato) são apresentadas na tabela 5.

Tabela 5 - Bandas características de absorção em FTIR.

PEBD		PHB	
<i>Número de ondas (cm^{-1})</i>	<i>Absorção da ligação</i>	<i>Número de ondas (cm^{-1})</i>	<i>Absorção da ligação</i>
1740	-COO- Carbonila de éster	1740	C=O Carbonila
1715	-CO- Carbonila cetônica	1450	C-H Oriundo de Degradação
1640	-C=C- Dupla ligação do meio de cadeia	1390	CH ₃ Padrão interno
1463	C-H (CH ₂) Padrão interno	980	C-C Ligações simples
915-905	H ₂ C=C- Duplas ligações de finais de cadeia		

Fonte: adaptada de Gaboardi (2007).

A Figura 18 mostra os espectros de FTIR dos filmes de PEBD para todos os tratamentos realizados. Comparando-se a amostra após o biotratamento (Figura 18) observa-se que não houve mudança, em relação ao original, apesar de ter apresentado alguns indícios de colonização (ganho de massa, redução de ângulo de contato, análise visual e microscópica).

Acredita-se que houve apenas uma adesão superficial, visto que, muitos trabalhos já relataram a dificuldade de biodegradação do PEBD (KONDURI et. al., 2010; OLDAK & KACZMAREK, 2005; JOHNSON, et. al., 1993). Para que essa alternativa fosse bem sucedida, seria necessário a diminuição do nível de cristalinidade, da massa molar e um melhoramento nas propriedades mecânicas que conferem sua resistência.

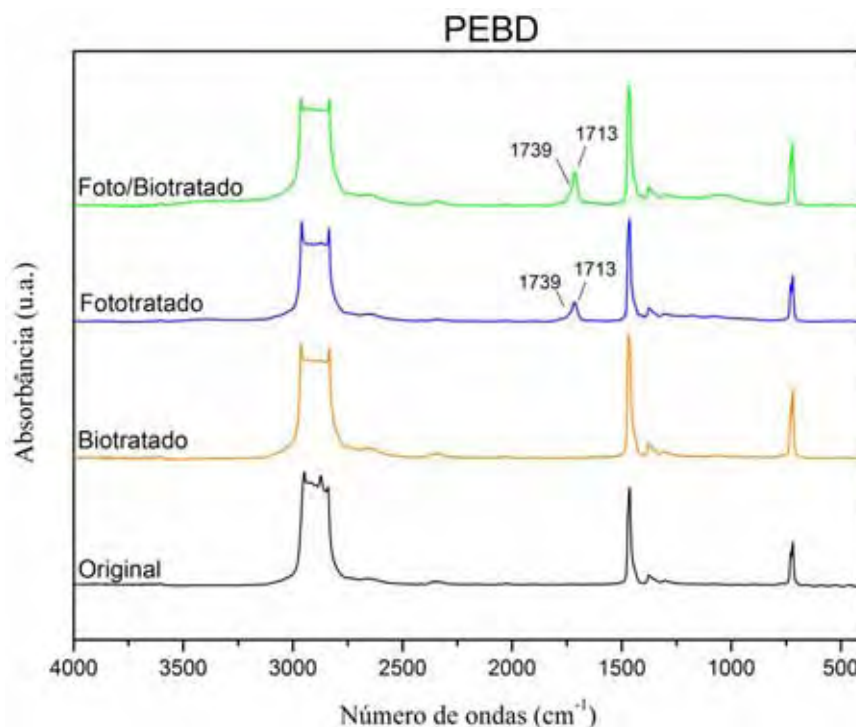


Figura 18 - Espectro de FTIR de filmes de PEBD original, biotratado, fototratado e foto/biotratado, na faixa de 4000 - 400 cm⁻¹.

Para os filmes de PEBD fototratados notou-se o surgimento do grupo funcional carbonila (C=O) nas regiões de vibração entre 1800-1600 cm⁻¹ (carbonila éster e carbonila cetônica, 1739 e 1713 cm⁻¹, respectivamente) (ver detalhe na imagem), indicando que houve reações de oxidação provocadas pela radiação UV (Figura 18). Essas reações podem tornar o material mais suscetível ao ataque microbiano, já que, com a entrada do oxigênio na cadeia principal, o material torna-se favorável à biodegradação. Singh & Sharma (2008) estudaram o processo oxidativo e descreveram que os estados excitados pela luz podem clivar a cadeia polimérica e formar pares de radicais (Norrish I) ou formar pares de fim de cadeia saturada e insaturada através do hidrogênio transferido (Norrish II). Esses radicais adicionam uma molécula de oxigênio e dão origem a peróxidos e hidroperóxidos. O processo fotodegradativo facilitou a colonização do filme, mas provocou também um aumento na intensidade da banda dessa região do fototratamento para o foto/biotratamento. Número de ondas (cm⁻¹)

Como apresentado na Tabela 6, os índices de carbonila, tanto na carbonila éster (1739 cm⁻¹) como na carbonila cetônica, e (1713 cm⁻¹), aumentaram após o foto/biotratamento. Comportamento semelhante foi verificado por Weiland et al. (1995) que apontaram um aumento na cristalinidade após a termo-oxidação, devido a um rearranjo da estrutura cristalina e quebra de cadeias, sendo que, após o biotratamento observaram um aumento de 63% da

cristalinidade do PEBD. Isto pode ser explicado pelo consumo das cadeias menores situadas principalmente, na carbonila éster que foram formadas durante a oxidação térmica.

Tabela 6 - Índices de carbonila para filmes de PEBD original e de diferentes tratamentos.

PEBD	Original	Biotratado	Fototratado	Foto/Biotratado
Carbonila de éster A_{1739}/A_{1463}	-	-	0,05	0,09
Carbonila cetônica A_{1713}/A_{1463}	-	-	0,23	0,41

Erro de $\pm 0,004$.

As medidas de índice de cristalinidade dos filmes de PHB originais e biotratados, conforme apresentados na Tabela 7, não sofreram modificações significativas, sugerindo que não houve consumo do polímero em níveis de cadeia pelo micro-organismo (fungo *P. chrysosporium*) durante o biotratamento. Isto também é verificado no MEV, Figura 29B, e na medida de ângulo de contato, havendo uma redução sutil de 5° em sua superfície (Tabela 4). Após o biotratamento notou-se que as amostras tornaram-se bastante opacas (visto na Figura 15D), que podem indicar um aumento de cristalinidade justificando uma leve mudança na fase cristalina desse polímero nas regiões do grupo carbonila entre 1780-1700 cm^{-1} .

Faria (2009) também observou uma diminuição nos índices de carbonila da fase cristalina do PHB biotratado com água de rio. Carashi e colaboradores (2002) testaram a biodegradabilidade do PHB puro e misturado com farinha de madeira nas porcentagens de 10-40% em água de córrego, que recebia o esgoto municipal por 300 dias. Em 180 dias as amostras de PHB/Madeira 40% foram totalmente consumidas. Portanto, a biodegradação do material, está totalmente ligada ao tipo de enzima, micro-organismo e do tempo de biotratamento.

Tabela 7 - Índices de carbonila da fase amorfa e cristalina para filmes de PHB original e de diferentes tratamentos.

PHB	Original	Biotratado	Fototratado	Foto/Biotratado
Fase Amorfa A_{1757}/A_{1390}	0,59	0,57	0,66	0,63
Fase Cristalina A_{1701}/A_{1390}	0,84	0,88	0,95	0,89

Erro de $\pm 0,004$.

Acredita-se também que durante a biodegradação, houve consumo apenas de fase amorfa do PHB pelo micro-organismo, contribuindo na reorganização de cadeia levando o material a se tornar mais cristalino.

O fototratamento promoveu um aumento da cristalinidade nos filmes de PHB, que pode ser verificado nos espectros de FTIR, Figura 19 e Tabela 7.

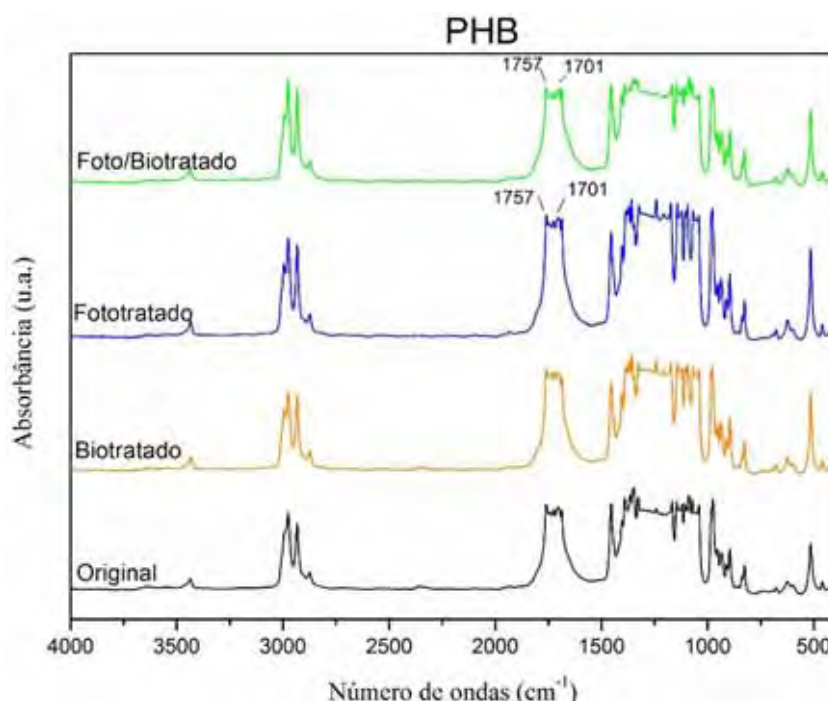


Figura 19 - Espectro de FTIR de filmes de PHB original, biotratado, fototratado e foto/biotratado, na faixa de 4000 - 400 cm^{-1} .

Os filmes fototratados e submetidos ao biotratamento apresentaram uma diminuição dos índices de carbonilas, tanto da fase amorfa quanto da cristalina (Tabela 7). Sugerindo que ambas as fases foram consumidas durante o biotratamento. Trabalhos realizados com PHB em

água de rio poluído demonstraram que a degradação ocorre tanto na fase amorfa como na cristalina (FARIA e FRANCHETTI, 2010). Segundo Spyros et al. (1997) a degradação do PHB por *Pseudomonas lemoignei*, ocorre através da ação enzimática da PHB-despolimerase B em ambas as fases, amorfa e cristalina. Inicialmente há o ataque na fase amorfa, seguido da fase interlamelar (amorfa) e depois, da fase cristalina. Analisando-se as carbonilas de fase amorfa e cristalina do PHB (Tabela 7) nas deconvoluções lorentzianas, percebe-se que a fração amorfa (1757 cm^{-1}) desse polímero teve uma leve diminuição após o foto/biotratamento, acompanhada também da redução da fração cristalina (1701 cm^{-1}), se mantendo constantes. Timmins et al. (1996) verificaram degradação proporcional tanto na fase amorfa quanto na cristalina.

Mesmo que tenha ocorrido a degradação em ambas as partes, sabe-se que a foto-oxidação do PHB atrasa o seu processo de biodegradação, portanto, o período de teste pode não deve ter sido suficiente para que esse polímero pudesse ser biodegradado por completo.

Nas blendas PEBD/PHB, percebeu-se que o processo de produção dos filmes não garantiu a homogeneidade das mesmas, por isso o resultado dos tratamentos foi um pouco diferente apenas nas blendas de composições de 80:20 e 70:30, nas regiões de $1750\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$ onde as bandas de carbonila (C=O) são mais visíveis.

Tabela 8 - Índices de carbonila das blendas originais e para diferentes tratamentos.

	Blendas	Original	Biotratado	Fototratado	Foto/Biotratado
90:10	Carbonila de éster A_{1756}/A_{1463}	0,08	0,09	0,21	0,31
	Carbonila cetônica A_{1720}/A_{1463}	0,10	0,10	0,37	0,71
80:20	Carbonila de éster A_{1739}/A_{1463}	0,15	0,50	0,46	0,31
	Carbonila cetônica A_{1718}/A_{1463}	0,21	0,38	0,55	0,61
70:30	Carbonila de éster A_{1748}/A_{1463}	0,20	0,21	0,80	0,29
	Carbonila cetônica A_{1717}/A_{1463}	0,24	0,26	1,27	0,54

Erro de $\pm 0,004$.

Para a blenda PEBD/PHB 90:10 não foram observadas mudanças após o biotratamento (Tabela 8). Pode-se observar que à medida que a fração de PEBD aumenta na blenda, a biodegradação foi dificultada, já que o polímero possui alta resistência ao ataque microbiano. Apesar de sua superfície ter se tornado um pouco mais hidrofílica (Tabela 4), as medidas de perda de massa indicam que esse filme teve um aumento na massa total da blenda ao final do biotratamento, justificando apenas uma colonização de superfície, sem alterações estruturais.

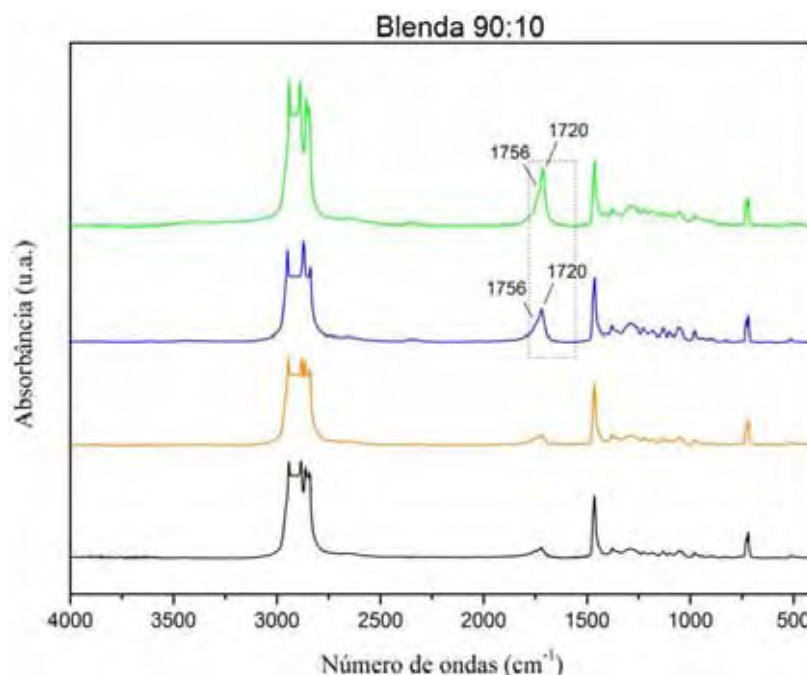


Figura 20 - Espectro de FTIR da blenda de PE/PHB 90:10 original, biotratado, fototratado e foto/biotratado, na faixa de 4000 - 400 cm⁻¹, após a biodegradação.

Ainda na blenda 90:10, após o fototratamento verificou-se o mesmo comportamento observado para o PEBD puro (Figura 20). Nota-se um aumento nas bandas de carbonila (Tabela 8) na éster (1756 cm⁻¹) e na carbonila cetônica, (1720 cm⁻¹) após o fototratamento. Isto ocorre devido à foto-oxidação durante a exposição à radiação UV ocorrendo rearranjo de cadeias aumentando a fração cristalina. Sem contar que o material é heterogêneo e por isso o PHB tende a ser a fase mais dispersa das misturas. Esse fato possivelmente contribuiu para que no foto/biotratamento os micro-organismos não pudessem encontrar uma fase contínua de material biodegradável, mas sim partículas separadas umas das outras, o que colaborou no atraso da biodegradação dessa blenda (SADI, 2010). Após o foto/biotratamento, verificou-se um aumento nos índices de carbonilas (Tabela 8) e a banda, tornou-se mais forte, assim como

ocorreu nos filmes de PEBD puro. Este fato se deve à maior fração de polietileno constituinte da blenda.

A blenda PE/PHB 80:20 apresentou um aumento dos índices do grupo carbonílicos (amorfo e cristalino) após o biotratamento (Tabela 8). Conforme verificado por MEV (Figura 29B), houve uma significativa adesão microbiana na superfície do filme o que pode ocasionar aumento de grupos carbonílicos, uma vez que a total remoção da biomassa microbiana sobre o filme não foi possível de ser realizada. Os micro-organismos que crescem entre as camadas poliméricas, levam a um aumento na massa enquanto o crescimento na superfície leva a perda da integridade do polímero e conseqüente diminuição de massa (SUDAHKAR, et al., 2007). O aumento na intensidade da banda de carbonila está relacionado ao aumento de sua carbonila cetônica, (1720 cm^{-1}) do índice de 0,21 para 0,38 após o biotratamento, indicando uma possível reorganização de cadeia devido ao consumo da fase amorfa pelos micro-organismos.

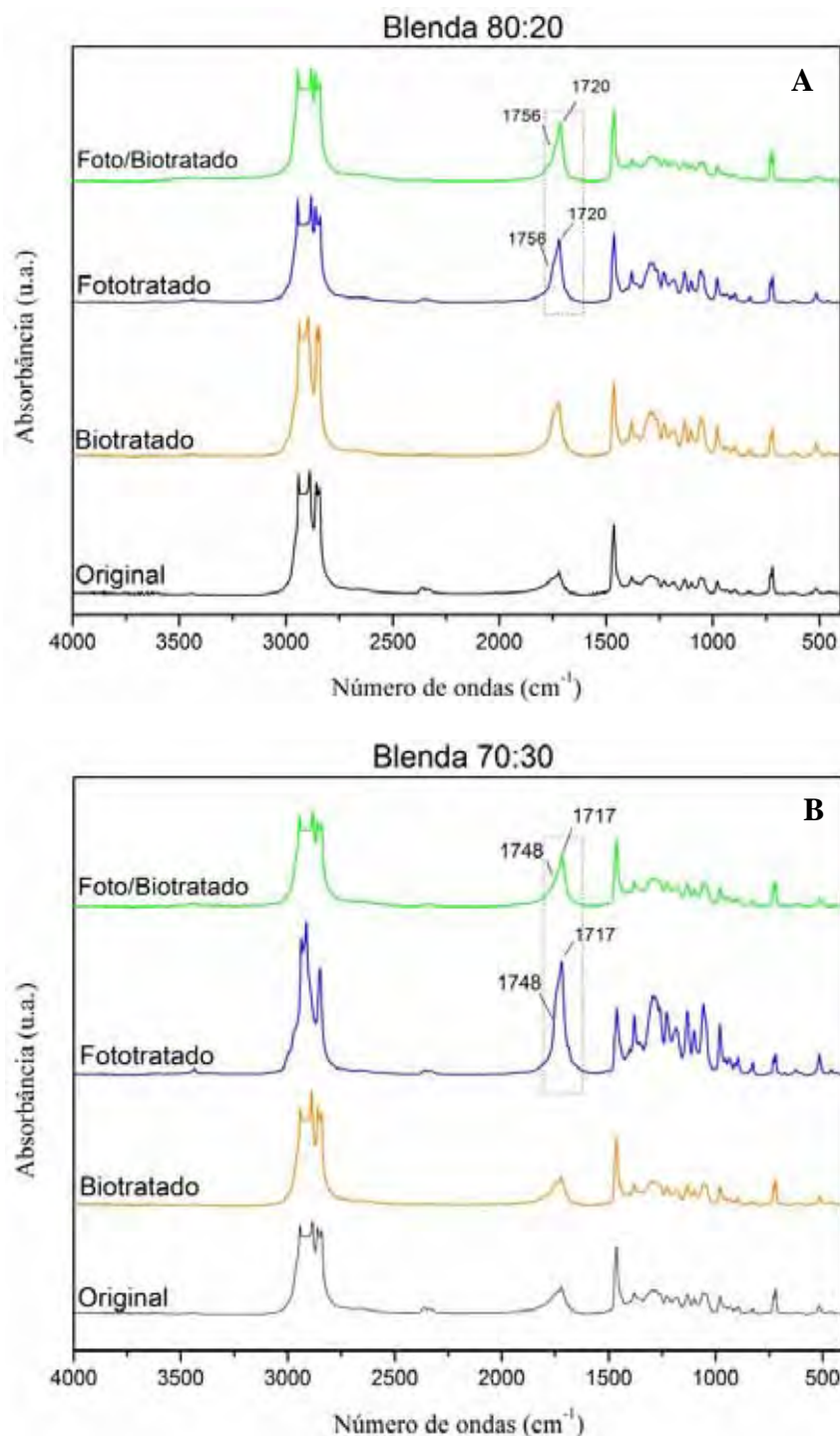


Figura 21 - Espectro de FTIR da blenda de PE/PHB (A) 80:20 e (B) 70:30 original, biotratado, fototratado e foto/biotratado, na faixa de 4000 - 400 cm^{-1} .

Nos espectros de FTIR das blendas PEBD/PHB 80:20 e 70:30 (Figura 21 A e B) pode-se observar um aumento na intensidade das bandas de carbonilas após o fototratamento, decorrentes do processo foto-oxidativo, o que também pode ser verificado na Tabela 8. Isso ficou bastante claro na blenda de 80:20, devido a redução da fase amorfa na região de 1714

cm^{-1} . Após o foto/biotratamento, o índice de carbonilas de éster diminuiu, e o de carbonila cetônica aumentou. No entanto, o aumento do índice dessa carbonila não inibiu completamente a decomposição do PHB, já que houve uma perda de massa após a biodegradação (Tabela 3), porém caracterizou um atraso no processo biodegradativo. Houve maior consumo microbiano das fases amorfas contribuindo no aumento da fração cristalina. Este fato está de acordo com os resultados de MEV (Figura 29C e 29D) em que é possível visualizar adesão seguida de ataque microbiano na superfície do filme, consumindo ambas as fases, amorfa e cristalina, o que caracteriza um processo de biodegradação.

Conforme verificado na tabela 8, a blenda de PE/PHB na proporção 70:30 não apresentou diferença significativa quanto aos índices de carbonilas cetônicas (1717 cm^{-1}) e na carbonila éster (1748 cm^{-1}) antes e após o biotratamento. Isto sugere que o ataque microbiano ocorreu na superfície do filme não causando mudanças estruturais. Segundo Corrêa et al. (2008), o processo de biodegradação do PHB ocorre em camadas. Este fato também foi verificado nos estudos de Faria e Franchetti (2010) com blendas de PP/PHB, que além da descamação também verificaram a heterogeneidade no material. Sadi (2010) observou em seu trabalho que a falta de uma camada contínua da fase de PHB gerou uma maior dificuldade para os micro-organismos consumir partículas dispersas do material biodegradável. Esse ocorrido implicou na superfície da blenda biotratada pouca redução em seu ângulo de contato (Tabela 4), tornando-se pouco mais hidrofílica. Arcana et al. (2006), também observou que a biodegradabilidade das blendas tende a aumentar lentamente com o aumento da fração de PHB no material.

Os resultados relacionados ao fototratamento e foto/biotratamento evidenciaram uma diminuição nas fases amorfa e cristalina da blenda 70:30 (Tabela 8). Entende-se que ambos os efeitos devem ter sido facilitados pela fotodegradação, ou seja, o processo de fotodegradação favorece ao aumento da cristalinidade do PHB e diminui a cristalinidade do PEBD. Ainda que essa blenda seja tão heterogênea quanto às outras, deve se levar em conta que a quantidade de PHB também é maior nesse material, aumentando a possibilidade de formação de camadas superficiais compostas de moléculas de PHB. É importante destacar que esta blenda apresenta uma superfície irregular e mais rugosa (Figura 31B) aumentando as chances dos conídios de fungos se aderirem ao material (SEMENOV et al., 2003). Pereira (2010) observou resultados semelhantes utilizando blenda de PEBD/PHB (70/30) enterradas em solo de jardim, e constatou que a morfologia dessa blenda pode ter sido o fator determinante na sua biodegradabilidade em solo após o fototratamento, devido a imiscibilidade entre os polímeros PHB e PEBD, e que esse fato tenha facilitado os processos de oxidação pela ação da luz UV,

e posterior hidrólise, devido a adesão dos micro-organismos, aumentando a taxa de biodegradação.

4.5. Análises de Microscopia óptica (MO) e Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Após o período de biodegradação, os filmes foram retirados do meio e observados em microscópio óptico e eletrônico de varredura. Essa técnica permitiu visualizar as superfícies de alguns filmes que obtiveram modificações durante o experimento.

Alguns aspectos foram adotados para a avaliação dessas superfícies como, a coloração, transparência, morfologia, e a presença de estruturas microbianas. Os resultados dessa análise são apresentados da seguinte forma: filmes originais a direita da foto e filmes tratados a esquerda.



Figura 22 - Micrografia óptica dos filmes de PEBD. (A) PEBD biotratado, original (direita) e tratado (esquerda), (B) PEBD fototratado, original (direita) e tratado (esquerda), (C) PEBD foto/biotratado, original (direita) e tratado (esquerda). Aumento de 400x. Setas indicam adesão e pigmentação do filme, fraturas e deformações na borda, colonização de hifas respectivamente.

Na Figura 22A, observa-se uma amostra de PEBD biotratada que foi colonizada e teve material microbiano aderido, visto que há pigmentação da superfície com um marrom escuro. Segundo Flemming (1998), biofilmes podem conter micro-organismos que produzam pigmentos. Alguns desses pigmentos, em particular aqueles formados por algumas linhagens de fungos, são lipofílicos e tendem a difundir para dentro da matriz lipofílica do polímero. Ainda que tenha ocorrido a colonização, não se observou vestígios de alteração morfológica. Após o fototratamento, o filme de PE sofreu mudanças nas bordas, observando-se pequenas fraturas e deformações (Figura 22B) possivelmente provocadas pela irradiação. A morfologia desse exemplar manteve-se regular e uniforme para o restante do filme.

Durante o foto/biotratamento (Figura 22C) observa-se que o filme foi bastante alterado quanto a cor, variando entre marrom claro e escuro cobrindo quase toda sua superfície. Foram constatadas também algumas estruturas mais escuras sobre o filme, indicando hifas do micro-organismo colonizador. Vê-se que essas células formaram uma massa densa sobre o material desde a borda até o meio do filme, como indicam as setas detalhadas na imagem. Essas alterações se encaixam nos métodos de avaliação da biodegradação de polímeros, cujo foco é a estimativa de modificações que ocorrem nos materiais, ou seja, rugosidade da superfície, formação de buracos e rachaduras, mudanças na coloração, desenvolvimento de micro-organismos pela superfície, etc. (LUCAS et. al., 2008).

Portanto, para facilitar a visualização dessas alterações morfológicas da superfície do polímero e de algumas estruturas microbianas, a análise de MEV permitiu a complementação do método de microscopia óptica.

Como pode-se observar na Figura 23B, durante o biotratamento a superfície do PEBD foi colonizada, mostrando apenas a presença de alguns focos do material biológico encontrado ao longo da amostra. Essa figura confere com a análise óptica da superfície de PE biotratado realizada anteriormente (Figura 22A). Vê-se também que, mesmo com o micro-organismo presente, a morfologia da superfície não apresentou mudanças expressivas se comparado ao filme original (Figura 22A), apenas sutis ondulações. Acredita-se que a biodegradação nessa amostra pode não ter ocorrido de forma intensa, pois como visto em literatura, a natureza do polímero é de difícil degradação. A adesão de micro-organismos nas superfícies poliméricas está diretamente ligada às taxas de biodegradação, pois sabe-se que essa atividade proporciona alterações por meios mecânicos, químicos e/ou enzimáticos (LUCAS et. al., 2008).

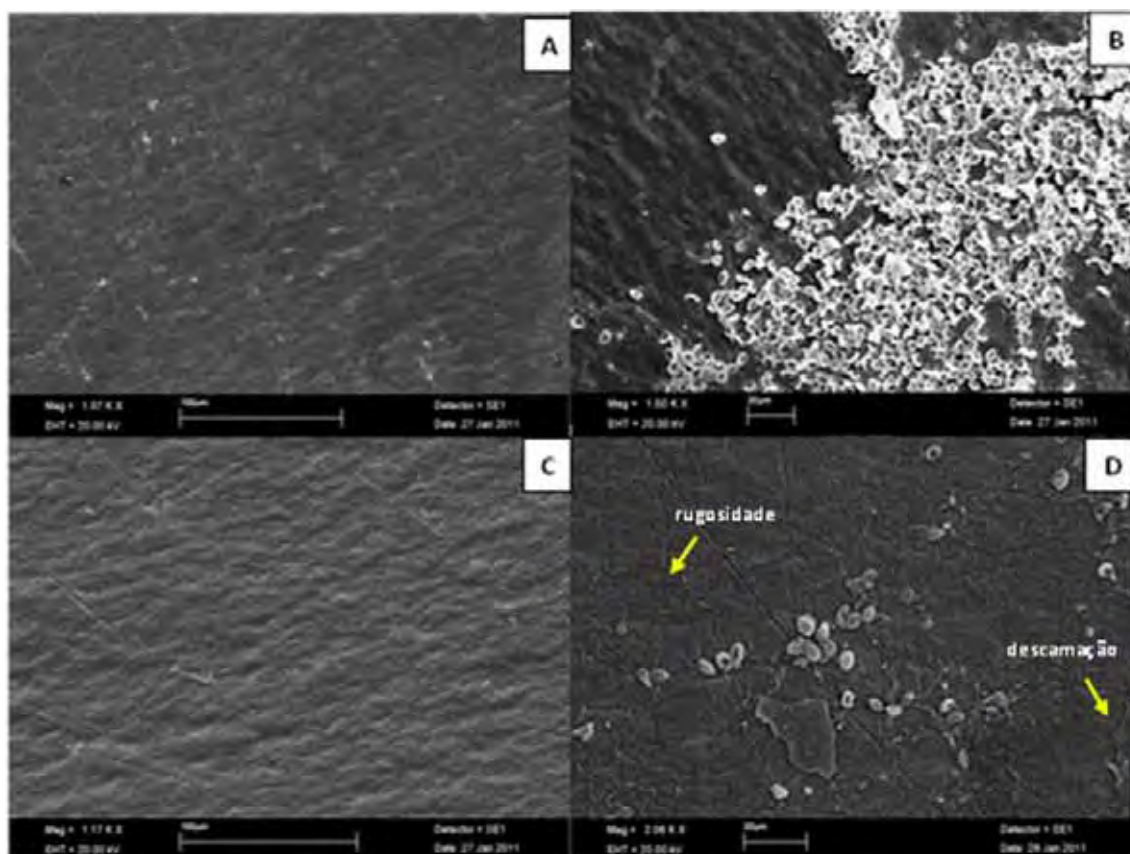


Figura 23 - Micrografias do PEBD; (A) original, (B) biotratado, (C) fototratado, (D) foto/biotratado, com aumentos de 1000x, 1500x, 1000x e 2000x respectivamente. Setas indicam rugosidade da superfície, e descamação respectivamente.

Contudo, analisou-se os resultados do fototratamento (Figura 23C) dos filmes, e concluiu-se que não houve mudanças perceptíveis na superfície. O mais provável é que as alterações de efeito possam ter ocorrido nas estruturas moleculares do polímero, tendo como base, o surgimento de novas bandas (regiões de vibração entre $1743\text{-}1722\text{ cm}^{-1}$) ligadas quimicamente à cadeia principal que se formaram durante a exposição de radiação UV, atribuído a grupos carbonílicos sendo este o principal grupo formado e de fundamental importância no início da biodegradação. Este fato contribui para a sustentação da idéia de que os pré-tratamentos são um tipo de auxílio no processo de biodegradação de polímeros recalcitrantes ao meio ambiente.

Sendo assim, as amostras do PEBD que foram fototratadas e posteriormente incubadas em meio mínimo, apresentaram modificações tanto na superfície quanto na estrutura molecular (vide resultado em FTIR, Tabela 6). Na Figura 23D, é possível observar que a superfície tornou-se mais rugosa (ver detalhe na imagem) e desnivelada devido ao envelhecimento artificial, pois sabe-se que a exposição induzida possui uma intensidade de

radiação muito elevada, proporcionando as amostras uma condição frágil. Com os filmes danificados a colonização da superfície foi propícia devido à redução da hidrofobicidade do material fato este, que foi constatado através da medida de ângulo de contato (Tabela 4). Semenov et. al., (2003) concluiu que a rugosidade da superfície afeta na adesão entre ambas as partes, o material de origem não biológica e dos esporos, sendo capaz de aumentar ou reduzir a força de adesão da camada. Outra referência de estudo utilizando uma espécie de polietileno oxi-biodegradável observou que a superfície do material previamente termoxidado apresentou-se profundamente fissurado, onde essa camada superficial foi descamada devido à atividade promotora de peroxidação (SCOTT, 1997).

Contudo, por ser este um polímero semicristalino e bastante hidrofóbico, o tratamento com luz UV, demonstrou-se eficaz na diminuição da resistência mecânica, implicando então em uma colonização do filme com estruturas bastante aderidas que implicaram em um aumento de massa, confirmado pela análise da perda de massa, comportamento natural devido a natureza do polímero (vide Tabela 3).

Todavia, os aspectos que ocorreram no PEBD não foram os mesmos visualizados, para o filme de PHB foto/biotratado (Figura 24C). Quando comparado ao original, a amostra apresenta a superfície uniforme e lisa, sem sinais de adesão microbiana com poucas alterações. Também aponta-se mudanças na pigmentação provavelmente decorridas da irradiação devido a opacidade da amostra. Esse efeito foi comprovado no resultado da análise visual do exemplar de PHB observado na figura 11B. Acredita-se que a amostra tenha se tornado mais cristalina.



Figura 24 - Micrografia óptica dos filmes de PHB. (A) PHB biotratado, original (direita) e tratado (esquerda), (B) PHB fototratado, (C) PHB foto/biotratado, original (direita) e tratado (esquerda). Aumento de 400x. Seta indica fratura e deformação do filme.

O filme fototratado (Figura 24B) foi oxidado durante esse processo e teve sua superfície fragilizada provocando pequenas fraturas ao longo da amostra. O filme conteve

alterações de cor assim como observado nas outras amostras de PHB, tornando-se apenas um pouco mais pardo. Na figura 24A, correspondente ao biotratamento, não foi possível notar-se a colonização de micro-organismos, entretanto, sua coloração foi modificada. Esse mesmo filme teve sua aparência embranquecida como mostrou os resultados de análise visual (Figura 10D). Essa reação de clareamento de amostras também foi observado por Fukushima et al. (2011) utilizando poli(ϵ -caprolactona) (PCL) e poli(ácido lático) (PLA), exemplares da mesma família de poliésteres a qual pertence o PHB. Depois de enterrados em solo por 7 dias, o autor concluiu que o embranquecimento das amostras pode ter sido uma consequência do processo de biodegradação, induzindo uma mudança no índice de refração das amostras e como consequência da absorção de água e/ou presença de produtos formados pelo processo hidrolítico.

Mesmo com as análises de MEV, a amostra de PHB biotratada (Figura 25B), mostra-se quase intacta, e não observa-se mudanças morfológicas significativas se comparado a amostra original (Figura 25A). Esse evento deve ter ocorrido pelo fato do PHB ser caracterizado um polímero altamente cristalino, apesar de ser biodegradável. Ainda assim, cabe ressaltar que as taxas de biodegradação estão diretamente ligadas aos tipos de micro-organismos submetidos em qualquer teste (LUCAS et al., 2008). Portanto, o fungo utilizado durante o teste (*P. chrysosporium*), pode ter consumido parcialmente o polímero, não causando danos biodegradativos evidentes.

Sabendo-se que os resultados de FTIR mostraram uma pequena redução nos índices de carbonila, especificamente na fração amorfa desse exemplar (Tabela 7), esse trabalho sugere que o PHB tenha reorganizado suas cadeias proporcionando um aumento da fração cristalina, tornando o material mais cristalino e logo, opaco.

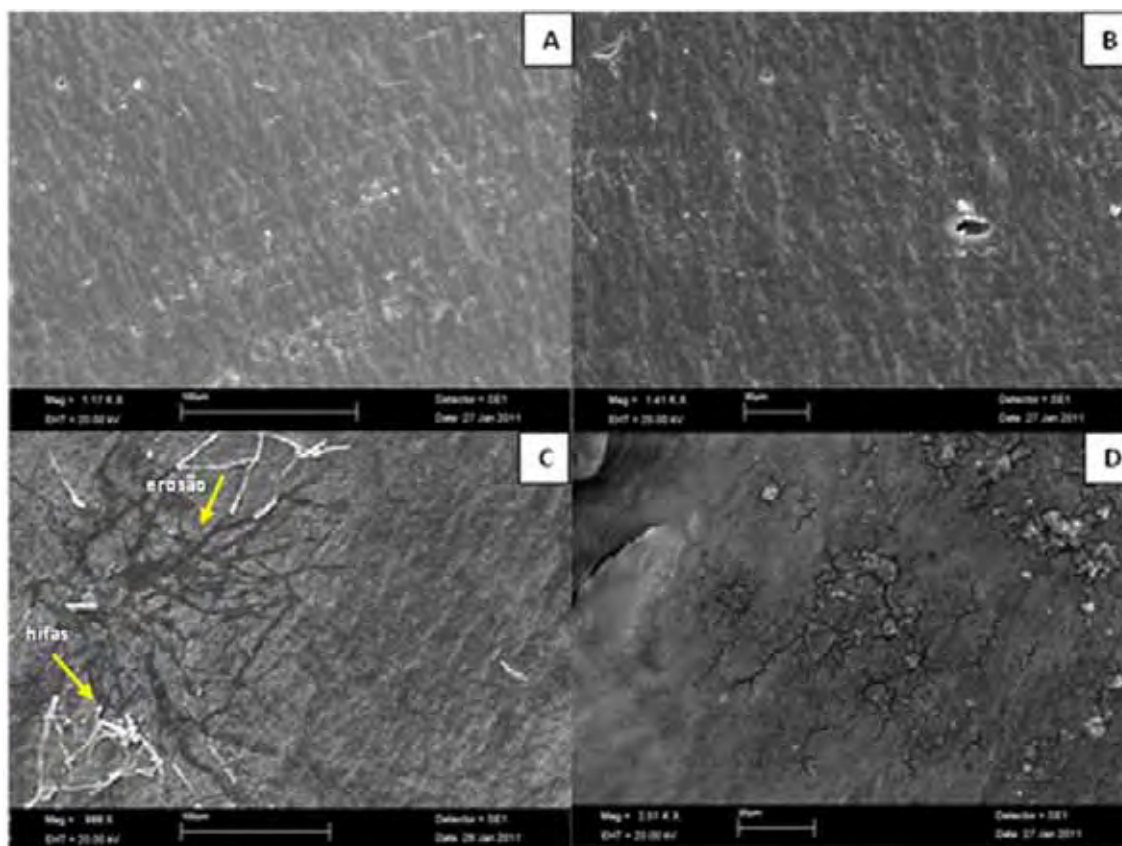


Figura 25 - Micrografias do PHB; (A) original, (B) biotratado, (C) fototratado, (D) foto/biotratado, com aumentos de 1000x, 1500x, 1000x e 2500x respectivamente. Setas apontam fendas provocadas pela adesão de hifas e hifas ainda na superfície, respectivamente.

Na Figura 25C, nota-se que a fragilização do filme de PHB após a radiação com UV, foi o fator chave no desencadeamento do processo de colonização da superfície com evidente adesão de hifas sob o material. É importante observar que as erosões formadas na superfície são resultantes do crescimento microbiano, comportamento esse, típico de uma bioerosão de polímeros, provocado pela despolimerização e consumo de moléculas do PHB. A bioerosão é considerada pela literatura uma das primeiras causas apresentadas antes da perda de massa (BONHOMME et al., 2003).

Como alguns frascos do experimento contaminaram durante o processo de incubação, certas amostras que deveriam apresentar somente resultados de fotodegradação, se mostraram colonizadas por hifas dos fungos contaminantes. Esse resultado pode levantar a hipótese de que ao ser fototratado, o filme teve as propriedades de resistência e flexibilidade atenuadas, favorecendo o desenvolvimento de outros micro-organismos, já que esses filmes tiveram um maior contato com diferentes ambientes.

Portanto, para reforçar a severidade do fototratamento sobre as amostras de PHB, pode-se ver que o exemplar foto/biotratado (Figura 25D) apesar de não ter a presença de micro-organismos, apresenta uma superfície muito mais rugosa e com fissuras do que o próprio exemplar somente fototratado. Alguns trabalhos sugerem que, o aumento na cristalinidade do PHB desencadeado pela radiação pode atrasar a biodegradação, mas não inibir completamente a decomposição desde que a perda de massa aumente de acordo com o tempo de biodegradação (SADI e FECHINE, 2010; ROSA, et. al., 2001). No caso dessa amostra, é necessário lembrar que exatamente após o envelhecimento artificial percebeu-se um clareamento e opacidade dos filmes, dado este, citado anteriormente e em literatura como indicativo de aumento na cristalinidade do polímero (vide análise visual Figura 11D), podendo colaborar para tal atraso na biodegradação.

Analisando os resultados dos homopolímeros podemos ter como base o comportamento dos mesmos durante os tratamentos nas blendas preparadas.

Nas verificações de microscopia óptica, a blenda 90:10 (Figura 30A) apresentou-se com a superfície colonizada e com parte do filme pigmentado de marrom escuro (análise visual Figura 10F). Essa técnica permitiu a visualização de estruturas fúngicas, mais especificamente hifas com conidióforos e seus esporos. A mistura de polímeros na composição da blenda pode ter facilitado a colonização do material durante a incubação.



Figura 26 - Micrografia óptica da blenda 90:10. (A) biotratada, (B) fototratada, (C) foto/biotratada. Aumento de 400x. Setas indicam hifas com conidióforos presentes no filme, superfície pigmentada e conídios no filme, respectivamente.

A amostra fototratada (Figura 26B) se mostrou alterada morfológicamente com leves fissuras na superfície e com mudanças de cor. Apesar de conter mais polietileno do que PHB, a estrutura dessa blenda tornou-se mais fragilizada após a irradiação como já vinham mostrando os resultados de outras amostras indicadas a esse tratamento. Já para o exemplar que foi foto/biotratado (Figura 26C), observaram-se muitos esporos negros (ver detalhe na

imagem) ao longo de toda a varredura da amostra, indicando colonização e possível biodegradação.

Contudo, durante a avaliação com microscópio eletrônico de varredura, da blenda 90:10 o exemplar biotratado (Figura 27B) apresentou vários pedaços de hifas espalhadas sobre a superfície e alguns esporos fúngicos também (ver detalhe na imagem). Pôde-se observar ainda que a superfície desse polímero mostrou-se fissurada apenas onde as células fúngicas permaneceram, condizendo com a idéia de Bonhomme, et. al. (2003) citada anteriormente de que a erosão pode ser sim um precursor na perda de massa. Nessa blenda era de se esperar que houvesse ataque por parte dos micro-organismos apenas na amostra foto/biotratada pelo mesmo motivo ocorrido nos homopolímeros, de que após serem irradiados, os filmes se tornariam mais enfraquecidos estruturalmente, facilitando então a colonização.

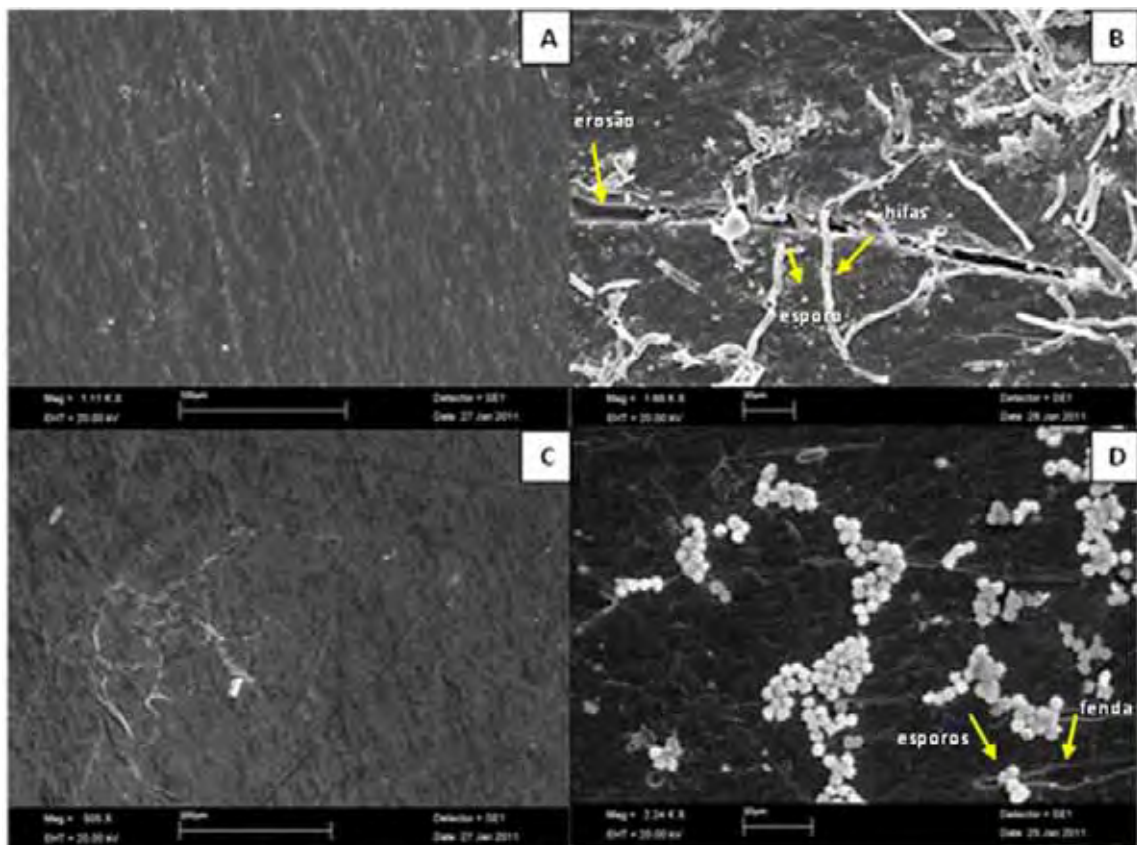


Figura 27 - Micrografias da blenda 90:10; (A) original, (B) biotratado, (C) fototratado, (D) foto/biotratado, com aumentos de 1000x, 1000x, 500x e 2000x respectivamente. Setas indicam erosão, esporo fúngico, hifas, aglomerado de esporos e fenda, respectivamente.

Entretanto, este não foi o ocorrido, pois para a amostra apenas fototratada (Figura 27C) também ocorreu a contaminação do frasco comprometendo as análises morfológicas da superfície, apenas por impacto da radiação. Na Figura 27C, é possível visualizar poucos pedaços de hifas ainda aderidas à superfície, onde se encontram erosões de camadas. Faria (2009) em seu estudo de biodegradação em água de rio observou que a blenda de Polipropileno/PHB, teve a camada superficial degradada e que provavelmente esta era composta de PHB. O autor sugeriu também que a biodegradação pode ter ocorrido em camadas (*layer-by-layer*), já que, notou-se depois o aparecimento de outras frações. Estão presentes ainda nessa mesma amostra, algumas marcas em linhas retas paralelas e na diagonal, defeitos provavelmente provocados pelo papel alumínio durante a preparação do material.

Tomando por base que, o fototratamento foi um mecanismo que implicou resultados satisfatórios antes da inoculação do material ao biotratamento, podemos inferir que a amostra foto/biotratada (Figura 27D) teve uma diminuição na hidrofobicidade de sua superfície favorecendo a adesão dos esporos e danificando a estrutura superficial do polímero que já havia tornado-se mais rugosa. Como bem estabelecidos em literatura, os efeitos da radiação UV tendem a se confinar nas áreas amorfas do polímero devido a uma maior permeabilidade dos raios nessas regiões, assim sendo, as mudanças superficiais ocorridas após a foto-oxidação induzem os micro-organismos a consumir essa fração e se propagar pelo material (SADI, 2010). Essa blenda apesar de ter sido bastante colonizada, seu resultado não garante que a biodegradação tenha ocorrido de forma concreta para todos os exemplares, pois a composição do material foi em sua maior parte formada de polietileno, cuja característica é de não ser biodegradável. Portanto, acredita-se que a degradação biótica deve ter ocorrido nas interfaces de PEBD e PHB e em partes mais enfraquecidas do PHB.

Sabendo-se disso, na blenda 80:20 biotratada (Figura 28A), que por sua vez contém maior fração de PHB em sua composição final, observou-se que ao final dos testes, havia uma maior pigmentação em toda a área visualizada, porém sem muitas evidências de danos provocados pelo biotratamento. Constatou também, uma massa colonizadora na borda do filme, aparentando serem hifas aderidas ao material. A presença de micro-organismos nessa amostra pode ter sido facilitada pela proporção de materiais.



Figura 28 - Micrografia óptica da blenda 80:20. (A) biotratada, filme original (direita) e tratado (esquerda), (B) fototratada, (C) foto/biotratada. Aumento de 400x. Setas indicam hifas com conidióforos presentes no filme, superfície pigmentada e conídios no filme, respectivamente.

Na blenda somente fototratada (Figura 28B), foram encontrados algumas estruturas fúngicas, tais como esporos escuros e algumas hifas em sua superfície. Essas estruturas apareceram em consequência da contaminação dos frascos do fototratamento. Como anteriormente explicado, esse fato pode ser relacionado com a característica fragilizada do filme, com maior probabilidade de ataque microbiano, visto que as amostras entraram em contato com diversos ambientes. Após o foto/biotratamento a blenda de 80:20 (Figura 28C), apresentou em sua superfície inúmeros esporos fúngicos, que permaneceram sobre o material (ver detalhe na imagem). Mesmo com a presença desses micro-organismos não foi possível visualizar mudanças morfológicas ao longo do filme. Aparentemente, não houve alterações na pigmentação.

Opticamente analisando as superfícies dessa blenda, não foi possível dizer se houve alterações morfológicas provocadas pelos tratamentos mais severos, como a fotodegradação e a foto/biodegradação, entretanto, com as visualizações de MEV, verificou-se que esse exemplar teve sua superfície bastante biodegradada. A amostra biotratada (Figura 29B) tornou-se bastante danificada após o período de 120 dias, sendo modificada morfológicamente durante o processo biodegradativo onde os micro-organismos possivelmente provocaram rachaduras e conseqüentes fragmentações na blenda facilitando a biodegradação.

Novamente, a composição da blenda pode ter sido o principal fator no desencadeamento da biodegradação. Pois, à medida que a porção de PHB aumenta, as fissuras superficiais tornam-se mais evidentes correspondendo aos trabalhos de Faria (2009) e Corrêa et al. (2008). Esse comportamento contrasta até mesmo com o resultado do biotratamento submetido ao PHB puro, pois nessa amostra não houve registro de contato com material biológico, apontando que isso pode vir a influenciar no processo de biodegradação tanto do

polietileno, quanto do próprio PHB. Como sabido, essa blenda é formada por materiais imiscíveis, portanto o filme resultante da prensagem torna-se heterogêneo contendo fases distintas de ambos os polímeros. A região de contato entre uma fase e outra, pode ser entendida como uma interfase. Nessas interfases da blenda, a probabilidade de ocorrer o ataque microbiano é maior do que em homopolímeros isolados, como observado no trabalho de Gonçalves et al. (2009) utilizando blendas de PP/PHBV.

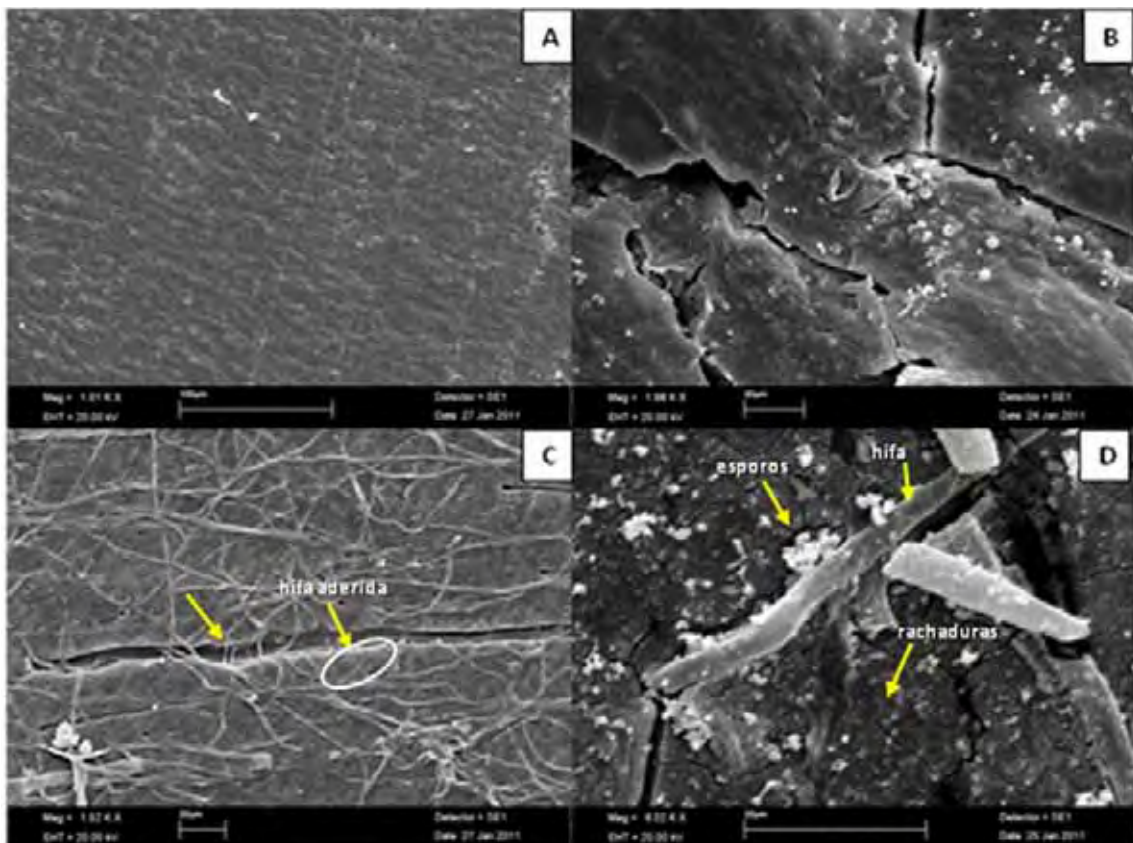


Figura 29 - Micrografias da blenda 80:20; (A) original, (B) biotratado, (C) fototratado, (D) foto/biotratado, com aumentos de 1000x, 2000x, 1500x e 6000x respectivamente. Setas indicam erosão, hifa totalmente aderida, aglomerado de esporos, estrutura de uma hifa, e rachaduras na superfície, respectivamente.

Nos resultados do filme fototratado (Figura 29C) observa-se que a primeira camada apresentava sinais de degradação decorrentes do aparecimento de fendas e alguns poros, ressaltando a eficiência da irradiação, além de observar-se também uma superfície dominada por células fúngicas (hifas) sendo que algumas delas estão quase penetradas na camada mais interna (ver detalhe na imagem). Isto se deve a dois fatores: à diminuição da resistência mecânica do material e à diminuição da hidrofobicidade. Volke-Sepúlveda et al. (2001)

também observou esse comportamento de hifas de *Aspergillus niger* quase totalmente aderidas à superfície do PEBD.

Após a irradiação seguida de biotratamento, observa-se que a superfície desta blenda (Figura 29D) foi altamente colonizada por hifas e inúmeros esporos de micro-organismos (ver no detalhe da imagem), com pontos de erosão e rachaduras. Ficou claro que a irradiação da amostra promove a fragilização da superfície, deixando esta blenda suscetível à adesão microbiana.

Semelhantes resultados de colonização e fraturas da superfície, foram observados por microscopia óptica para as blendas de 70:30. Observa-se na Figura 30A, que a amostra biotratada foi parcialmente colonizada, indicando pontos marrons na borda do filme, que se estendem para o centro. Percebe-se também uma leve alteração de cor na amostra de transparente para bege. Alguns autores descreveram em seus trabalhos a importância desse tipo de caracterização (PELLICANO e AGNELLI, 2009; ROSA et al., 2004 e FRANK, 1984). Em um deles foi possível observar a diferença nos corpos de provas a 120 dias após o ensaio de biodegradação onde mostra que o composto PHBV/Ecoflex[®]/amido de mandioca (49/21/30) apresenta pontos ou regiões de pigmentação marrom-escuro (PELLICANO e AGNELLI, 2009).



Figura 30 - Micrografia óptica da blenda 70:30. (A) biotratada, (B) fototratada, filme original (direita) e tratado (esquerda), (C) foto/biotratada. Aumento de 400x. Setas indicam presença de micro-organismos, falhas na superfície e pigmentação, respectivamente.

Já para a amostra fototratada, o resultado evidencia novamente que a irradiação provocou os mesmos danos superficiais. O detalhe da Figura 30B mostra a área do filme após o fototratamento e observa-se uma discreta falha na superfície como se fossem regiões de descamação e rachaduras, efeito esse muito parecido com a remoção de camadas dos polímeros que ocorre nos processos biodegradativos. Evento parecido foi reportado por Faria (2009) ao perceber que algumas marcas originadas durante o processamento da amostra não

foram mais encontradas ao serem biotratadas. O autor também sugeriu um efeito degradativo em camadas, que mais tarde foi comprovado pela perda de massa. No filme foto/biotratado (Figura 30C), visualiza-se manchas coloridas pela superfície da amostra, sendo este um indicativo de colonização. Se houve colonização, é possível que a blenda tenha se tornado mais hidrofílica, e com a superfície morfologicamente alterada. Esse fato foi verificado nas análises de ângulo de contato.

Entretanto, ainda nas fotomicrografias de MEV dessa blenda, foi possível visualizar com clareza que sua composição influenciou os resultados obtidos. Morfologicamente analisando, o material como um todo apresentou-se menos uniforme do que os materiais vistos anteriormente, com a camada superficial bem mais rugosa. Isso se dá pela maior incorporação de PHB na mistura da blenda, resultando em uma superfície mais frágil. Em análises macroscópicas, esse material já apresentava alguns indícios de fragilidade após a sua preparação em prensa hidráulica, sendo possível apontar algumas deformações no filme (vide análise visual Figura 10J).

Sendo assim, após o biotratamento (Figura 31B), permitiu-se inferir que houve uma tentativa de fixação e desenvolvimento na estrutura do polímero por parte de alguns conídios presentes, visto que cada célula localizava-se bem próximo a buracos escurecidos (ver detalhe na imagem). Nessa mesma foto, foi possível visualizar que esses buracos apresentavam uma certa profundidade de formatos arredondados, bem semelhantes ao tamanho dos conídios, apontando então uma tentativa de permanência. Porém, esse processo pode ter sido interrompido devido ao prazo do teste de biodegradação, onde as amostras dos filmes foram retiradas assim que o tempo foi liquidado, não sendo o suficiente para que essas estruturas se aderissem e colonizassem a blenda.

Mas é importante destacar que, em uma superfície mais disforme, as chances dos conídios de fungos se aderirem ao material, é muito maior. Isso foi reportado no trabalho de Semenov et al. (2003), onde o autor diz que a adesão é na maioria das vezes consolidada pela ativa secreção de uma espécie de cola adesiva onde essa substância pode ocorrer em vários estágios depois e/ou antes da germinação do esporo.

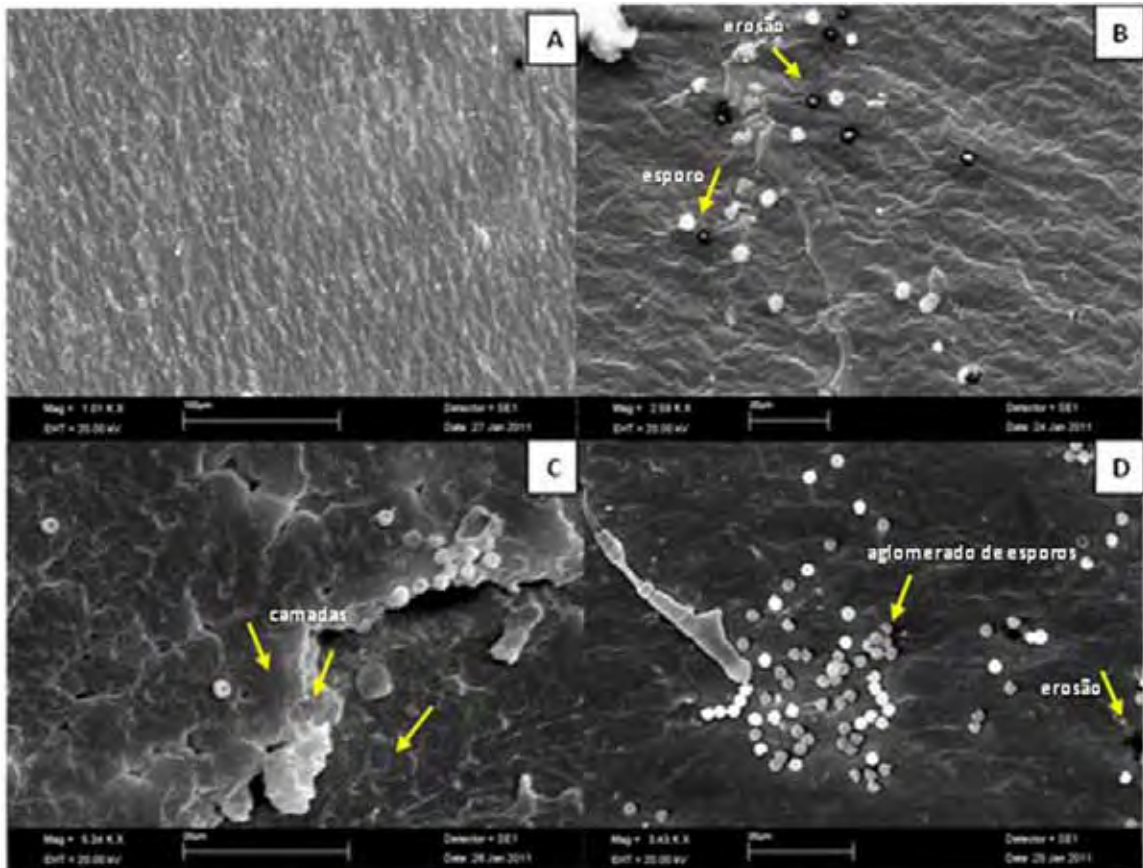


Figura 31 - Micrografias da blenda 70:30; (A) original, (B) biotratado, (C) fototratado, (D) foto/biotratado, com aumentos de 1000x, 2500x, 5000x e 3500x respectivamente. Setas indicam adesão do esporo na superfície com erosão, degradação em camadas, aglomerado de esporos e fenda, respectivamente.

Para o processo fotodegradativo (Figura 31C), o filme sofreu alterações significativas tornando-se um material muito oxidado e fragilizado capaz de se desintegrar facilmente. Na Figura 31C, observa-se a amostra bastante erodida e disposta em camadas (ver detalhe na imagem), resultado esse provocado por uma série de fatores, tais como, a alta energia de irradiação da máquina, a temperatura interna da câmara, o tempo de exposição, e a espessura do exemplar. Segundo Fachine e Demarquetti (2008), esse comportamento está relacionado a um processo de quimicristalização que causa um efeito de densificação das camadas superficiais e que em último caso pode levar a rachaduras espontâneas.

Essas mudanças nas propriedades físicas e químicas provocadas pela luz ultravioleta acabam induzindo um tipo de reação em cascata, onde a exposição do material oxidado, gera novos grupos químicos como hidroperóxidos, carbonilas, ésteres, etc., acarretando na redução da hidrofobicidade, facilitando a adesão e crescimento de micro-organismos potencialmente hábeis na formação de biofilmes. Deste modo, pode-se observar que a Figura 31D, ilustra o

foto/biotratamento, processo este que foi conduzido de forma gradual, sendo observados conídios na superfície rugosa e deformada do filme, representado uma das fases degradativas de materiais poliméricos. Foi possível observar também alguns buracos formados nessa amostra.

4.6. Sobre o micro-organismo

Nos 120 dias de incubação o fungo permaneceu com aspecto limoso e pardo para a maioria das amostras em que foi destinado, diferentemente da morfologia do controle que apresentam colônias brancas rasas, com aparência de flocos. Após o término do experimento, foram retiradas alíquotas desses inoculo e em seguida plaqueadas em ágar malte, sabouraud e PDA. Em todos os meios o crescimento do *P. chrysosporium* se desenvolveu normalmente. Dessa forma, supôs-se que o micro-organismo em questão não deve ter se adequado ao meio em que foi inoculado - Bushnell-Haas - visto que seu aspecto morfológico apresentou-se diferente dos meios de cultura com fontes de carbono e nitrogênio, sendo essa uma forma de talvez permanecer-se latente em meio desfavorável ao crescimento. Segundo Kirk & Farrel (1987) o crescimento desse fungo pode ser diminuído em condições limitadas de nitrogênio e carbono.

5.0. CONCLUSÕES

- Foi possível a preparação dos filmes das blendas de PEBD/PHB através de mistura física, nas proporções de 70/30, 80/20 e 90/10.
- O fototratamento realizado com todas as amostras dos filmes foi de fundamental importância para o processo de adesão e colonização da superfície dos filmes.
- As blendas de composição 70/30 e 80/20 foram as que mais apresentaram alterações morfológicas e estruturais comprovadas pelas técnicas de MEV e FTIR.
- O PEBD é um polímero de difícil biodegradação, porém o fototratamento induz a formação de grupos polares na superfície com a consequente redução de sua hidrofobicidade e favorecimento da adesão de micro-organismos.
- A biodegradação do PHB é retardada pelo fototratamento da amostra.
- As blendas 70/30 e 80/20 após serem foto e biotratadas apresentaram melhores resultados de biodegradação.

6.0. SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

Em relação a outras pesquisas futuras com o intuito de aperfeiçoar os resultados obtidos nesse trabalho, sugere-se:

- Realizar ensaios em meios minerais modificados que garantam condições apropriadas para o desenvolvimento e produção enzimática pelo basidiomiceto e consequente degradação.
- Testar outros fungos com histórico em biodegradação em polímeros e até a possibilidade de se utilizar um pool de fungos.

7.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTSSON, A. C.; ANDERSSON, S. V.; KARLSSON, S. The mechanism of biodegradation of polyethylene. *Pol. Degrad. Stab.*, v. 18, p. 73-87. 1987.

ALBERTSSON, A. C.; BARENSTEDT, C.; KARLSSON, S. Abiotic degradation products from enhanced environmentally degradable polyethylene. *Acta Polymers*, v. 45, p. 97-103. 1994.

AMASS, W.; AMASS, A.; TIGHE, B. A review of a biodegradable polymers: uses, current, developments in the synthesis and characterization of biodegradable polymers and recent advances in the biodegradation studies. *Pol. International*, v. 47, p. 89-144, 1998.

ANDERSON, A. J.; DAWES, E. A.; Occurrence, metabolism, metabolic role, and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates. *Microbiology Reviews*, v. 54, p. 450 – 472, 1990.

ARCANA, I. M.; SULAEMAN, A.; PADIANGAN, K. D.; HANDOKO, A.; LEDYASTUTI, M. Synthesis of polyblends from polypropylene na poly(R,S)- β -hydroxybutyrate, and their characterization. *Polym. Interact.*, v. 55, p. 435-440, 2006.

ARTHAM, T.; DOBLE, M. Biodegradation of Physicochemically Treated Polycarbonate by Fungi. *Biomacromolecules*, v. 11, p. 20–28, 2010.

AYUB N.D., PETTINARI M.J., RUIZ J.A., LOPEZ N.I. A polyhydroxybutyrate-producing *Pseudomonas* sp. isolated from Antarctic environments with high stress resistance. *Curr.Microbiol.*, v. 49, p. 170–174, 2004.

BARR, D.; AUST, S. D. Mechanisms white rot fungi use to degrade pollutants. *Environ. Sci. Technol.* 28, 79A-87A. 1994.

BELTRÁN, M.; GARCIA, J.C.; MARCILLA, A. Infrared spectral changes in PVC and plasticized PVC during gelation and fusion, *Eur. Polym. J.*, v. 33, p. 453-462, 1997.

BRIASSOULIS, D. An overview on the mechanical behavior of biodegradable agricultural films. *J. of Pol. and Env.*, v. 12, n. 2, p. 65-81, 2004.

BRIASSOULIS, D. The effect of tensile stress and the agrochemical Vapam on the ageing of low density polyethylene (LDPE) agricultural films. Part I. Mechanical behavior. *Pol. Degrad. Stab.*, v. 88, p. 489-503, 2005.

BONHOMME, S.; CUER, A.; DELORT, A-M.; LEMAIRE, J.; SANCELME, M.; SCOTT, G. Environmental biodegradation of polyethylene. *POLYMER Degradation and Stability*, v. 81, p. 441-452, 2003.

CAMPOS, A. Blendas de PVC/PCL foto/termo e biotratadas com fungos de solo (*Phanerochaete chrysosporium* e *Aspergillus fumigatus*). Dissertação de mestrado. Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Campus Rio Claro – SP, abril de 2004.

CAMPOS, A. Degradação de blendas poliméricas por microrganismos de solo e de chorume. Tese de Doutorado. Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Campus de Rio Claro – SP, agosto de 2008.

CAMPOS, A.; MARTINS-FRANCHETTI, S.M.; AGNELLI, J.A.M. Biotransformation of poly (ϵ -caprolactone) and poly(vinyl chloride) blend. *Braz. J. Microbiol.* v.34, p.111-113, 2003.

CANEVAROLLO, S. V. J. Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros. São Paulo: Artliber. 183 p., 2004.

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, Maringá, 2002.

CARRILLO-MUÑOZ, A.J.; GUGLIETTA, A.; PALACÍN, C.; CASALS, J.; DEL VALLE, O.; GUARDIÀ, C.; RODRÍGUEZ, V.; QUINDÓS, G. In vitro antifungal activity of sertaconazole compared with nine other drugs against 250 clinical isolates of dermatophytes and *Scopulariopsis brevicaulis*. *Chemotherapy*, v.50, n.6, p. 308-313, 2004.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable Polymers. *Progress polym. sci.*, Elmsford, v. 23, n.7, 1998.

CHIELLINI, E.; CORTI, A.; SWIFT, G. Biodegradation of thermally-oxidized, fragmented low-density polyethylenes. *Pol. Degrad. Stab.*, v. 81, p. 341-351, 2003.

COELHO, N. S.; ALMEIDA, Y. M. B.; VINHAS, G. M. A biodegradabilidade da blenda de Poli(β -Hidroxibutirato-co-Valerato)/Amido Anfótero na presença de microrganismos. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 18, n. 3, p. 270-276, 2008.

CORRÊA, M. C. S.; REZENDE, M. L.; ROSA, D. S.; AGNELLI, J. A. M.; NASCENTE, P. A. P. Surface composition and morphology of poli(3-hydroxybutyrate) exposed to a biodegradation. *Polymer Testing*, v. 27, p. 447-452, 2008.

COUTINHO, F. M. B.; MELLO, I. L.; DE SANTA MARIA, L. C. Polietileno: Principais Tipos, Propriedades e Aplicações. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 13, n. 1, p. 1-13, 2003.

CRISPIM, C.A.; GAYLARDE, P.M.; GAYLARDE, C.C. Algal and cyanobacterial biofilms on calcareous historic buildings. *Current Microbiology*, v. 46, p. 79-82, 2005.

DESHMUKH, R.R., BHAT, N.V., “The mechanism of adhesion and printability of plasma processed PET films”, *Materials Research Innovat*, v. 7, p. 283–290, 2003.

EUBELER, J.P.; BERNHARD, M.; KNEPPER, T. P. Environmental biodegradation of synthetic polymers: II. Biodegradation of different polymer groups. *Trends in Analytical Chemistry*, v. XX, n. X, p. 10-11, 2009.

FARIA, A. U. Biodegradação da blenda de PP/PHB e homopolímeros por micro-organismos de rio poluído e efluente bruto de refinaria de petróleo. Dissertação apresentada ao instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos

requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas (Área de Concentração: Microbiologia Aplicada). Rio Claro, 2009.

FARIA, A. U. MARTINS-FRANCHETTI, S. M. Biodegradação de filmes de polipropileno (PP), poli(3-hidroxi-butirato) (PHB) e blenda de PP/PHB por microrganismos das águas do rio Atibaia. *Polímeros*, São Carlos, v. 20, n. 2, p. 141-147, 2010.

FECHINE, G. J. M.; DEMARQUETTE, N. R. Cracking Formation on the Surface of Extruded Photodegraded Polypropylene Plates. *Polymer Engineering and Science*, DOI 10.1002/pen.20958, 2008.

FECHINE, G. J. M.; SANTOS, J. A. B.; RABELLO, M, S. Avaliação da fotodegradação de poliolefinas através da exposição natural e artificial. *Química Nova*, v. 29, n. 4, p. 674-680, 2006.

FLEMMING, H. C. Relevance os biofilms for the biodeterioration of surfaces of polymeric materials. *polymer Degradation and Stability*, v. 59, p. 309-315, 1998.

FRANCHETTI, S. M. M.; MARCONATO, J. C.; CAMPOS, A. DE. Biodegradação de Polímeros Sintéticos. *Microbiologia Ambiental*, cap. 16, p. 352-371, 2008.

FRANK, H. K. - "Microbial Pigmentation", in: *Anais do 8º Forum de Microbiologia*, p.339, Leipzig – DE, (1984).

FORATO, L. A.; BERNARDES FILHO, R.; COLNAGO, L. A.. Estudo de métodos de aumento de resolução de espectros de FTIR para análise de estruturas secundárias de proteínas. *Quím. Nova*, v. 21, n. 2, p. 146-150, 1997.

FOX, D. W.; ALLEN, R. B. High performance polymers and composites. 1999. In: POSPISIL, J. Degradation and aging of polymers blends. *Thermomechanical and thermal degradation. Pol. Degrad. Stab.*, v. 65, p. 405-14, 1999.

FUJISAWA, M.; HIRAI, H.; NISHIDA, T. Degradation of polyethylene and nylon-66 by the laccase-mediator system. *J. of Pol. and the Env.*, v. 9, n. 3, p. 103-18, 2001.

FUKUSHIMA, K.; TABUANI, D.; ABBATE, C.; ARENA, M.; RIZZARELLI, P. Preparation, characterization and biodegradation of biopolymer nanocomposites based on fumed silica. *European Polymer Journal*, v. 47, p. 139-152, 2011.

GABOARDI, F. Avaliação das propriedades mecânicas, térmicas e de biodegradação de blendas de PHB e PEBD com e sem aditivos pró-oxidantes. *Dissertação Mestrado – Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Engenharia e Ciência dos Materiais da Universidade São Francisco. Itatiba – SP, 117p., 2007.*

GOMEZ, J. G. C.; RODRIGUES, M. F. A.; ALLI, R. C. P.; SILVA, L. F.; OLIVEIRA, M. S.; BUENO NETTO, C. L.; *Anais do 2º Congresso Brasileiro de Polímeros*, São Paulo, Brasil, 1993.

GRIFFIN, G. J. L. Degradable plastics films. In: *Proceedings of Symposium on Degradable Plastics*. Washington DC: Society of Plastics Industry; p. 44-49, 1987.

GU, J. D. Microbiological deterioration and degradation of synthetic polymeric materials: recent research advances. Institute of Biodeterioration and Biodegradation, v. 52, p. 69-91, 2003.

HADAD, D.; GERESH, S.; SIVAN, A. Biodegradation of polyethylene by the thermophilic bacterium *Brevibacillus borstelensis*. J. App. Microbiol., n. 98, p. 1093-1100, 2005.

HOLLANDE, S.; LAURENT, J.-L. Study of discolouring change in PVC, plasticizer and plasticized PVC films. Pol. Degrad. Stab., Essex, v. 55, p.141-145, 1997.

HONDA, Y.; OSAWA, Z. Microbial denitrification of wastewater using biodegradable polycaprolactone. Pol. Degrad. Stab., v. 76, p. 321-327, 2002.

HUANG S. J.; EDELMAN P. G. Degradable Polymers: Principles and Applications, Scott G, Gilead D (Editores) Chapman & Hall: London, 2005.

IYOSHI, Y.; TSUTSUMI, Y.; NISHIDA, T. Polyethylene degradation by lignin-degrading fungi and manganese peroxidase. Journal of Wood Science, v. 44, n. 3, p. 222-229, 1998.

INSTITUTO DE SALUD CARLOS III - Protocolo 2001. Disponível em: <http://www.isciii.es/htdocs/index.jsp>. Acessado em: 08/04/2009.

JAKUBOWICZ, I.; YARAHMADI, N.; PETERSEN H. Evaluation of the rate of abiotic degradation of biodegradable polyethylene in various environments. Pol. Degrad. Stab., v. 91, p. 1556-1562, 2006.

JOHNSON, E.; POMETTO, A. L.; NIKOLOV, Z. L. Degradation of degradable starch – polyethylene plastics in a compost environment. Apl. Env. Microb., v. 59, p. 1155-1161, 1993.

KACZMAREK, H. Changes of polymer morphology caused by U.V. irradiation: Surface damage polymer, Pol. Degrad. Stab., v. 37, p. 189-194, 1996.

KADOURI D., JURKEVITCH E., OKON Y. Involvement of the reserve material poly- β -hydroxybutyrate in *Azospirillum brasilense* stress endurance and root colonization. Appl. Environ. Microbiol., v. 69, p. 3244–3250, 2003.

KARAL, O. et al. Blends of 1997 polycaprolactone – poly(dimetylsiloxane) – polycaprolactone triblock copolymer with poly(vinyl chloride): preparation and characterization, Pol. Degrad. Stab., v. 38, p. 6071-6078, 1997.

KARLSSON, S.; ALBERTSSON, A.C. Biodegradable polymers and environmental interaction. Polym Eng Sci, v. 38, p. 1251–1253, 1998.

KIM, D. Y.; RHEE, Y. H. Biodegradation of microbial and synthetic polyesters by fungi. Applied Microbiology and Biotechnology, v. 61, p. 300–308, 2003.

KIRK, T.K., FARREL, R. 1987. Enzymatic “combustion”: the microbial degradation of lignin. Ann. Rev. Microbiol., 41, 465-505.

KISTER, G.; CASSANAS, G.; BERGOUNHON, M.; HOARAU, D.; VERT, M. Structural characterization and hydrolytic degradation of solid copolymers of D, L-lactide-co-ε-caprolactone by Raman spectroscopy. *Polymer*, v. 41, p. 925–932, 2000.

KONDOURI, M. K. R.; ANUPAM, K. S.; VIVEK, J. S.; ROHINI KUMAR, D. B.; NARASU, M. L. Synergistic effect of chemical and photo treatment on the rate of biodegradation of high density polyethylene by indigenous fungal isolates. *International Journal of Biotechnology and Biochemistry*, v. 6, n. 2, p. 157–174, 2010.

KOUNTY, M.; LEMAIRE, J.; DELORT, A. M. Biodegradation of polyethylene films with prooxidant additives. *Chemosphere*, available on line, 2006.

KOUTNY, M.; AMATO, P.; MUCHOVA, M.; RUZICKA, J.; DELORT, A. M. Soil bacterial strains able to grow on the surface of oxidized polyethylene film containing prooxidant additives. *International Biodeterioration & Biodegradation*, n. 63, p. 354-357, 2009.

KRZAN, A.; HEMJINDA, S.; MIERTUS, S.; CORTI, A.; CHIPELLINI, E. Standardization and certification in the area of environmentally degradable plastics. *Pol. Degrad. Stab.*, v.91, p. 2819-2833, 2006.

LA MANTIA, F. P. Handbook of polymer degradation. In: POSPISIL, J. Degradation and aging of polymers blends. Thermomechanical and thermal degradation. *Pol. Degrad. Stab.*, v.65, p. 405-14, 1999.

LEE, B.; POMETTO III, A.L.; FRATZKE, A.; BAILEY JR., T.B. Biodegradation of degradable plastic polyethylene by *Phanerochaete* and *Streptomyces* species. *Applied and Env. Microb.*, v. 57, p. 678-685, 1991.

LIMA, S. M. DE; LIMA, M. A. G. A.; ALMEIDA, Y. M. B. DE; VINHAS, G. M. Polyethylene / amphiprotic blends as alternative for decreasing plastics residues in the environment. *Pol. Bulletin*, v. 60, p. 301–311, 2008.

LUCAS, N.; BIENAIME, C.; BELLOY, C.; QUENEUDEC, M.; SILVESTRE, F. and NAVA-SAUCEDO, J. E. Polymer biodegradation: Mechanisms and estimation techniques – A review. *Chemosphere*, v.73, cap. 4, p. 429-442, 2008.

MACCAURO, B. B.; CAMPOS, J. S. C. Medidor de ângulo de contato para determinação de propriedades de superfície de materiais. Unicamp. Disponível em: <[HTTP://www.feq.unicamp.br/~cobeciq/resaceito/PO27.pdf](http://www.feq.unicamp.br/~cobeciq/resaceito/PO27.pdf)>. Acesso em 18 de fevereiro de 2011.

MARCHESSAULT, R. H. Polyhydroxyalkanoate (PHA) History at Syracuse University and Beyond. *Cellulose*, vol.16, p. 357–359, 2009.

MARTELLI, S. M. Environmentally Compatible Polymeric Blends and Composites Based on Oxo-Biodegradable Polyethylene. Tese de Ph.D. em Biomateriais. BIOS - Research Doctorate School in BIOMolecular Sciences, University of Pisa, Department of Chemistry and Industrial Chemistry. Italy, 259f., 2008.

MATHEUS, D. R. & OKINO, L. K. Utilização de basidiomicetos em processos biotecnológicos. In: Bononi, V. L. R. e Grandi, R. A. P. (eds.). Zigomicetos, basidiomicetos e deuteromicetos – noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas. São Paulo: Instituto de Botânica, Secretaria de Estado de Meio Ambiente. 184p., 1998.

MATSUNAGA, M.; WHITNEY, P. J. Surface changes brought about by corona discharge treatment of polyethylene film and the effect on subsequent microbial colonization. *Polymer Degradation and Stability*, n. 70, p. 325-332, 2000.

MENDONÇA, R.H.; PEREIRA, T. F.; VASCONCELLOS, G. C.; COSTA, D. A. Biodegradabilidade da mistura de PEBD/Amido na presença de Polietileno-g-Anidrido Maleico. Apresentação de trabalho. VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica, p. 1-6, 2005.

MIKULÁSOVÁ, M.; KOSÍKOVÁ, B.; ALEXY, P.; KACÍK, F.; URGELOVÁ, E. Effect of blending lignin biopolymer on the biodegradability of polyolefin plastics. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 17, p. 601-607, 2001.

MOHAMMADI, A.; NASERNEJAD, B. Enzymatic degradation of anthracene by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* immobilized on sugarcane bagasse. *Journal of Hazardous Materials*, DOI:10.1016/j.jhazmat.2008.03.132, 2008.

MORRA, M.; OCCHIELLO, E.; GARBASSE, F. Knowledge about polymer surfaces from contact angles measurements. *Advances Colloid Interface Science*, Amsterdam, v. 32, p. 79-116, 1990.

MUKHERJEE, P. K.; LEIDICH, S. D.; ISHAM, N.; LEITNER, I.; RYDER, N. S.; GHANNOUM, M. A. Clinical *Trichophyton rubrum* Strain Exhibiting Primary Resistance to Terbinafine. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v.47, n. 1, p. 82-86, 2003.

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

OLDAK, D. H.; KACZMAREK, B. T.; SOURISSEAU, C. Photo- and Bio-Degradation Processes in Polyethylene, Cellulose and their Blends Studied by ATR-FTIR and Raman Spectroscopies. *Journal of Materials Science*, v. 40, n. 16, p. 4189-4198, 2005.

PELLICANO, M.; PACHEKOSKI, W.; AGNELLI, J. A. M. Influência da Adição de Amido de Mandioca na Biodegradação da Blenda Polimérica PHBV/Ecolex®. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, vol. 19, nº 3, p. 212-217, 2009.

PEREIRA, V. C. Estudos de foto termo e biodegradação de blendas de PEBD/PHB em colunas de solo. Trabalho de Conclusão de Curso - Campus de Rio Claro - SP, 2010.

POSPISIL, J. Degradation and aging of polymers blends. Thermomechanical and thermal degradation. *Pol. Degrad. Stab.*, v.65, p. 405-14, 1999.

RAJ, B.; SANKAR, U. K.; SIDDARAMAIAH. Low Density Polyethylene/Starch Blend Films for Food Packaging Applications. *Advances in Pol. Tech.*, v. 23, n. 1, p. 32-45, 2004.

ROSA, D. S. Modificação do Polietileno de Baixa Densidade, Polipropileno Isotático e suas Blendas, por Radiação Gama. *Biblioteca do Instituto de Química – UNICAMP*, p. 1 a 3, 1991.

ROSA, D. S.; CALIL, M. R.; GUEDES, C. G. F.; SANTOS, C. E. O. The effect of UV-B irradiation on the biodegradability of poly- β -hydroxybutyrate (PHB) and poly- ϵ -caprolactone (PCL). *Journal of Polymers and the Environment*, v. 9, cap. 3, p.109-113, 2001.

ROSA, D. S.; CHUI, Q. S. H.; FILHO, R. P.; AGNELLI, J. A. M. Avaliação da Biodegradação de Poli- β -(Hidroxibutirato), Poli- β -(Hidroxibutirato-co-valerato) e Poli- ϵ -(caprolactona) em Solo Compostado. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 12, n 4, p. 311-317, 2004.

ROSA, D. S.; PANTANO, R. F. Biodegradação: Um Ensaio com Polímeros. Editora Moara. Itatiba, 112 p., 2003.

RUIZ J.A., LOPEZ N.I., FERNANDEZ R.O., MENDEZ B.S. Polyhydroxyalkanoate degradation is associated with nucleotide accumulation and enhances stress resistance and survival of *Pseudomonas oleovorans* in natural water microcosms. *Appl. Environ. Micro.*, v. 67, p. 225–230, 2001.

SAAD, G. R.; KHALIL, T. M.; SABAA, M. W. Photo- and bio-degradation of poly(ester-urethanes) films based on poly[(R)-3-Hydroxybutyrate] and poly(ϵ -Caprolactone) blocks. *Journal of Polymer Research*, v. 17, cap. 1, p. 33-42, 2010.

SADI, R. K. Estudo da compatibilização e da degradação de blendas Polipropileno/Poli(3-hidroxibutirato) (PP/PHB). Tese de doutorado direto. USP – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, 2010.

SADI, R. K.; FECHINE, G. J..M.; DEMARQUETTE, N. R. Photodegradation of poly(3-hydroxybutyrate). *Polymer Degradation and Stability*, v. 95, cap. 12, p. 2318-2327, 2010.

SATO, H. et al. *Journal of Molecular Structure*, p. 35-46, 2005. In: REIS, K. C.; PEREIRA, J.; SMITH, A. C.; CARVALHO, C. W. P.; WELLNER, N.; YAKIMETS, I. Characterization of polyhydroxybutyrate-hydroxyvalerate (PHB-HV) / maize starch blends films, *Journal of Food Engineering*, v. 89, p. 361-369, 2008.

SATO, H. et al. *Macromolecules*, v. 37, p. 7203, 2004. In: REIS, K. C.; PEREIRA, J.; SMITH, A. C.; CARVALHO, C. W. P.; WELLNER, N.; YAKIMETS, I. Characterization of polyhydroxybutyrate-hydroxyvalerate (PHB-HV) / maize starch blends films, *Journal of Food Engineering*, v. 89, p. 361-369, 2008.

PEREIRA, J.; SMITH, A. C.; CARVALHO, C. W. P.; WELLNER, N.; YAKIMETS, I. Characterization of polyhydroxybutyrate-hydroxyvalerate (PHB-HV) / maize starch blends films, *Journal of Food Engineering*, v. 89, p. 361-369, 2008.

SCOTT, G. Green Polymers. *Pol. Degrad. Stab.*, v. 18, p.1-7, 2000.

SCOTT G. Polymers and the environment, RSC Paperbacks, The Royal society of Chemistry, TRENDS POLYM. SCI., v. 7, c. 5, p. 361-168, 1997.

SEMENOV, S.A.; GUMARGALIEVA, K.Z.; ZAIKOV, G.E. Biodegradation and durability of materials under the effect of microorganisms. VSP BV, Utrecht, [Boston](#). 2003. 232p. (New Concepts in Polymer Science, 14).

SILVA, C. E. R. Estudo de blendas potencialmente biodegradáveis de Poli(3-hidroxibutirato) (PHB) e Polietileno de baixa densidade (PEBD). Dissertação de mestrado. Unicamp - Faculdade de Engenharia Química, maio de 2001.

SILVA, C. M. M. S.; MELO, I.S.; OLIVEIRA, P.R. Produção de enzimas lignolíticas por fungos isolados de solos sob cultivo de arroz irrigado. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 18. Embapa – Jaguariúna/SP. Março, 2004.

SINGH, B.; SHARMA, N. Mechanistic implications of plastic degradation. Pol. Degrad. and Stab., v. 93, cap. 3, p. 561-584, 2008.

SHARMA, R., RAY, A. R. Polyhydroxybutyrate, Its Copolymers and Blends. Macromol. Chemical Physical, v. 35, cap. 2, p. 327-359, 1995.

SHAH, A. A.; HASAN, F.; HAMEED, A.; AHMED, S. Biological degradation of plastics: A comprehensive review. Biotechnology Advances, v. 26, p. 246-265, 2008.

SHIMAO, M. Biodegradation of plastics. Current Opinion in Biotechnology, v. 12, p. 242-247, 2001.

SHAH, A. A.; HASAN, F.; HAMEED, A.; AHMED, S. Biological degradation of plastics: A comprehensive review. Biotechnology Advances, v. 26, cap. 3, p. 246-265, 2008.

SPYROS, A. et al., HNMR imaging study of enzymatic degradation in poly(3-hydroxybutyrate) and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate). Evidence for preferential degradation of the amorphous phase by PHB depolymerase B from *pseudomonas lemoignei*, Macromol., 30, p. 8218-82225, 1997.

STEINBÜCHEL, A.; VALENTINI, H. E. Diversity of bacterial polyhydroxyalkanoic acids. FEMS: Microbiology Lett., v. 128, p. 219-228, 1995.

SUDHAKAR, M.; DOBLE, M.; MURTHY, P. S.; VENKATESAN, R. Marine microte-mediated biodegradation of low- and high-density polyethylenes. International Biodeterioration & Biodegradation, 2007.

SUDESH, K.; ABE.; H. E.; DOI, Y.; Prog. Polym. Sci. 2000. In: Squio, C. R.; Aragão, G.M. F. Estratégias de Cultivo para Produção dos Plásticos Biodegradáveis Poli(3-hidroxibutirato) e Poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) por Bactérias. Quim. Nova, v. 27. n. 4. p. 615-622, 2004.

TAKAKU H.; KIMOTO A.; KODAIRA S.; NASHIMOTO M.; TAKAGI M. Isolation of a Gram-positive poly(3-hydroxybutyrate) (PHB)-degrading bacterium from compost, and cloning and characterization of a gene encoding PHB depolymerase of *Bacillus megaterium* N-18-25-9. *FEMS Microbiology Lett*, v. 264, cap. 2, p. 152-159, 2006.

THOMAS, D. R.; CARSWELL, K. S.; GEORGIU, G. Mineralization of biphenyl and PCBs by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 40, p. 1395-1402, 1992.

TIMMINS, R. et al., *MACROMOL Chem. Phys.* 1996. In: LUO, S.; NETRAVALLI, A. N. A study of physical and mechanical properties of poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) during composting, *Polym. Degrad. Stabil.*, v. 80, p.56-66, 2003.

VANIN, M.; SANTANA, C.C.; TORRIANI, I. L.; PRIVELIC, T.; DUEK, E. A. R. Estudos da degradação “*in vitro*” de blendas de poli (β -hidroxibutirato) (PHB) / poli (L-ácido láctico) (PLLA) na forma de filmes. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 14, n. 3, p. 187-193, 2004.

VERHOOGT, H., RAMSAY, B. A., FAVIS, B. D. Polymers blends containing poli(3-hydroxybutyrate). *Polymer*, v. 35, n. 24, 1994.

VOLKE-SUEPULVEDA, T.; SAUCEDO-CASTANEDA, G. GUTIÉRREZ-ROJAS, M.; MANZUR, A.; FAVELA-TORRES, E. Thermally treated low density polyethylene biodegradation by *Penicillium pinophilum* and *Aspergillus niger*. *J. of App. Pol. Sci.*, v. 83, p. 305-314, 2002.

XU, X.; GUO, S. A study on morphological structure of low molecular weight PVC prepared by vibromilling degradation, *Polymer*, v. 34, p. 621-632, 1995.

WEILAND, M.; DARO, A.; DAVID, C. Biodegradation of thermally oxidized polyethylene. *Polymer Degradation and Stability*, n. 48, p. 275-289, 1995.

WESENBERG, D.; KYRIAKIDES, I.; AGATHOS, S. N. White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents. *Biotechnology Advances*, v. 22, p. 161-187, 2003.

ZHAO Y.H., LI H.M., QIN L.F., WANG H.H., CHEN G.Q. Disruption of the polyhydroxyalkanoate synthase gene in *Aeromonas hydrophila* reduces its survival ability under stress conditions. *FEMS Microbiology Letters*, v. 276, p. 34-41, 2007.

Sites visitados:

<http://www.ibge.gov.br>

<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica>

<http://www.abre.org.br>

<http://www.plastval.pt>

<http://www.abiquim.org.br>

<http://www.abrelpe.org.br>

<http://www.abiplast.com.br>

8.0. ANEXO

Meio Mineral Bushnell-Haas – BH

KH ₂ PO ₄	1g
K ₂ HPO ₄	1g
NH ₄ NO ₃	1g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,2g
FeCl ₃	0,05g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,02g
Glicose	20g
Água destilada	1L

9.0 APÊNDICE

Apêndice A: Deconvolução Lorentziana

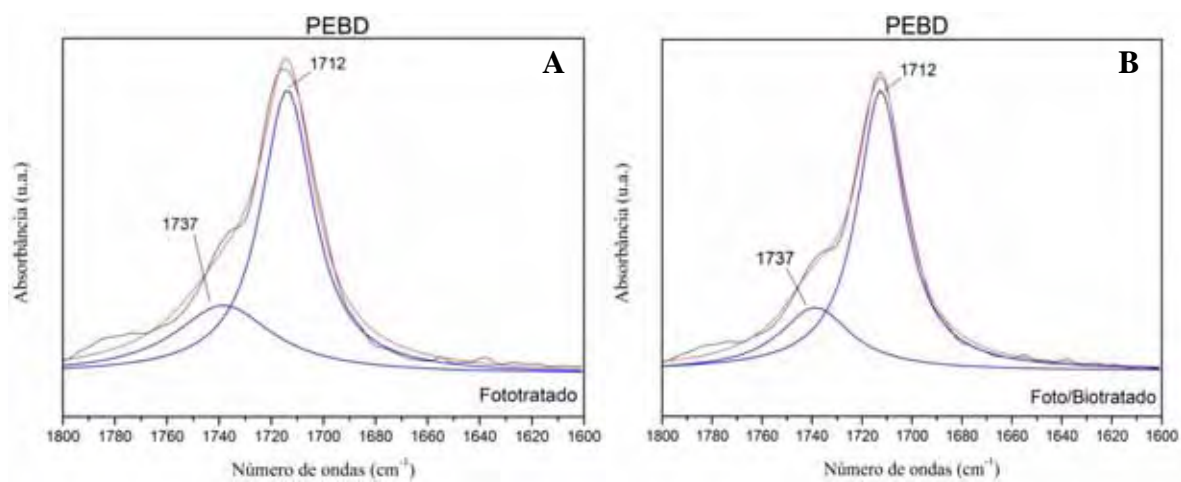


Figura 1A – Espectros de FTIR, na faixa de 1500 – 1200 cm^{-1} , com ajuste Lorentziano de filmes de PEBD (A) fototratado e (B) foto/biotratado.

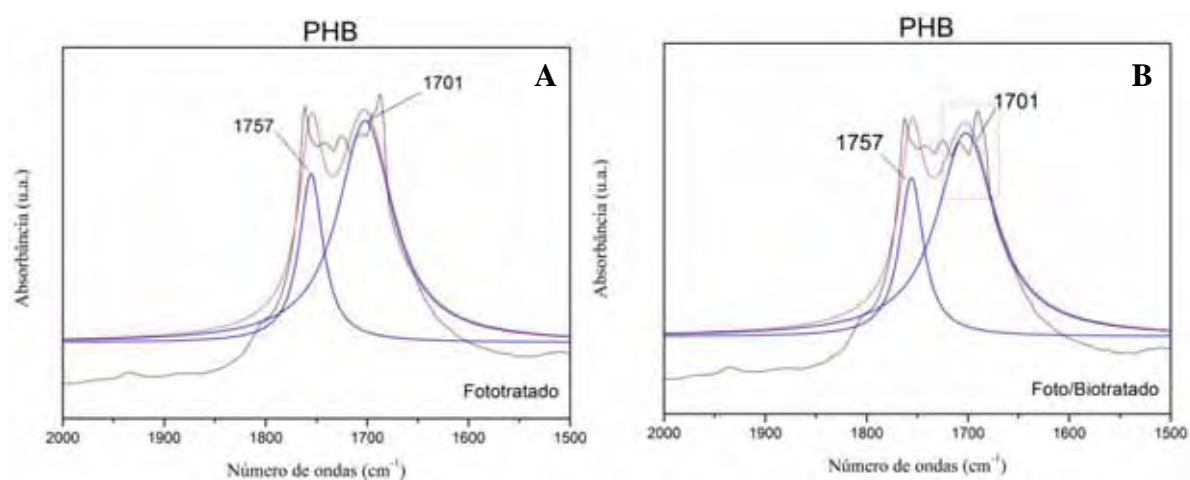


Figura 2A - Espectros de FTIR, na faixa de 1500 – 2000 cm^{-1} , com ajuste Lorentziano de filmes de PHB (A) fototratado e (B) foto/biotratado.

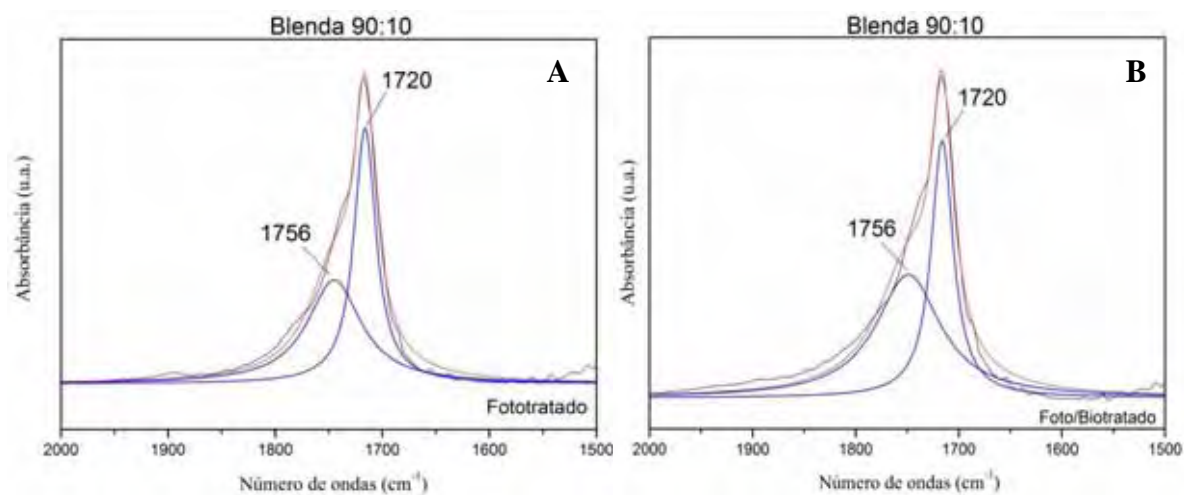


Figura 3A - Espectros de FTIR, na faixa de 1500 – 2000 cm^{-1} , com ajuste Lorentziano na blenda PE/PHB 90:10 (A) fototratado e (B) foto/biotratado.

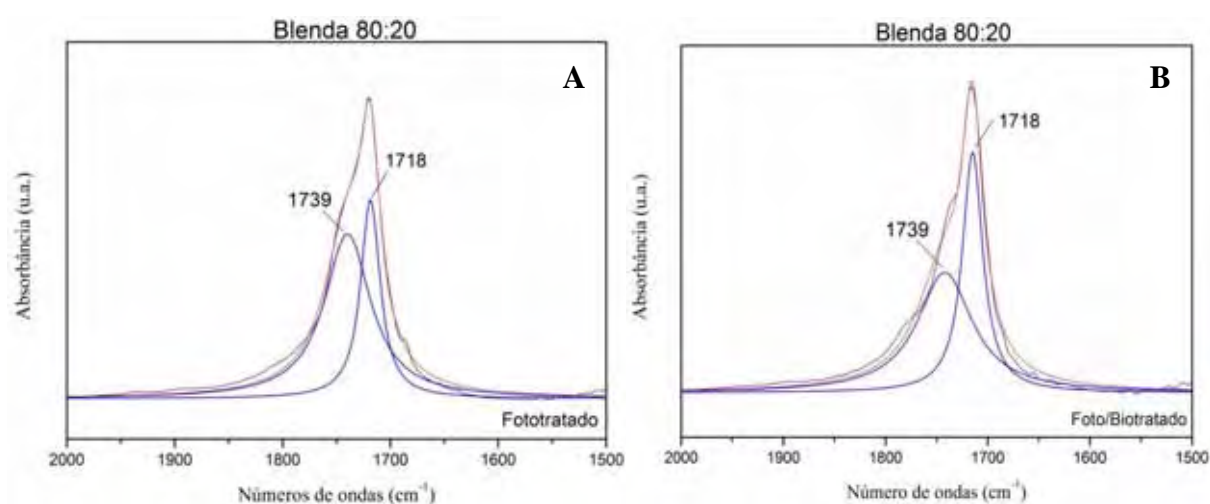


Figura 4A - Espectros de FTIR, na faixa de 1500 – 2000 cm^{-1} , com ajuste Lorentziano na blenda PE/PHB 80:20 (A) fototratada e (B) foto/biotratada.

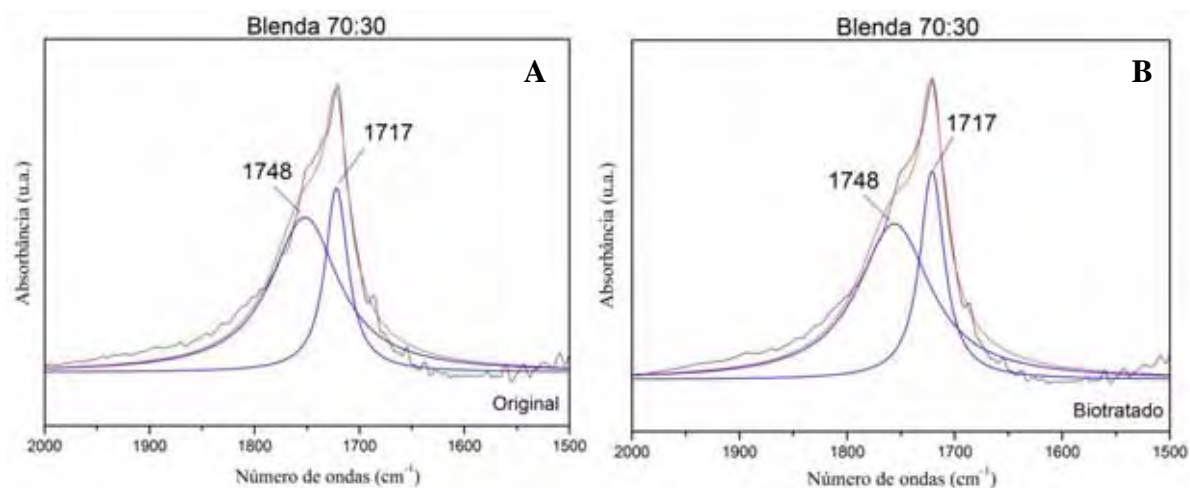


Figura 5A - Espectros de FTIR, na faixa de 1500 – 2000 cm⁻¹, com ajuste Lorentziano na blenda PE/PHB 70:30 (A) original e (B) biotratada.

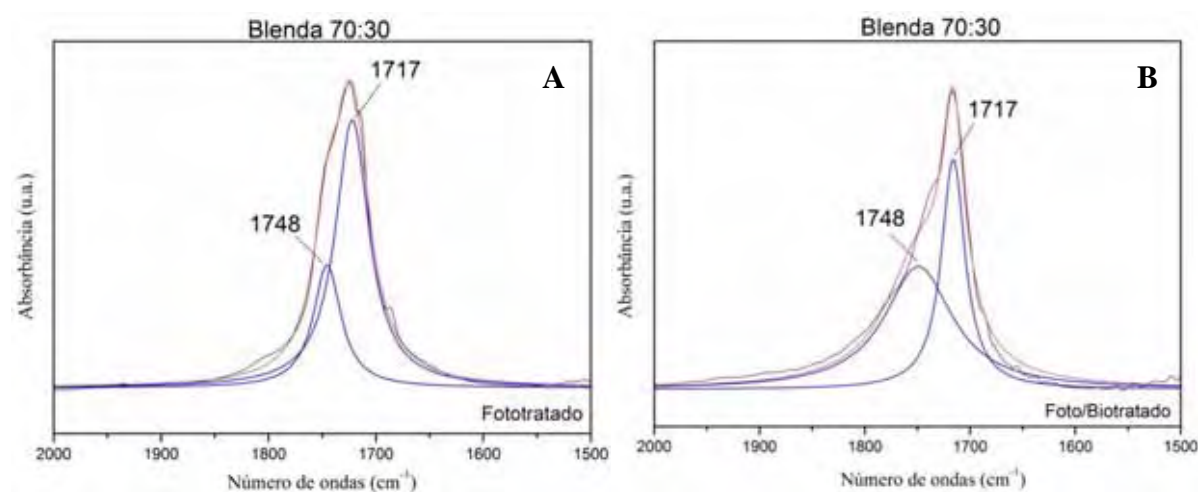


Figura 6A - Espectros de FTIR, na faixa de 1500 – 2000 cm⁻¹, com ajuste Lorentziano na blenda PE/PHB 70:30 (A) fototratada e (B) foto/biotratada.