

JOSIANE DE LIMA SOUZA

**ESTUDO DE COMPORTAMENTO TÉRMICO E DE
BIODEGRADAÇÃO DE PHBV4% MODIFICADO COM
HIDROXIÁCIDO**

Tese de doutorado apresentada ao Instituto de Química da UNESP, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Araraquara, para obtenção do título de Doutor em Química.

Prof. Dr. Clóvis Augusto Ribeiro
Orientador

Profa. Dra. Mary Rosa Rodrigues de Marchi
Co-orientadora

Araraquara
2011

DADOS CURRICULARES

Dados Pessoais

Nome JOSIANE DE LIMA SOUZA
Nascimento 02/03/1983 - Assis Chateaubriand/PR - Brasil
CPF 03847303961

Formação Acadêmica/Titulação

- 2007 - 2011** Doutorado em Química.
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, São Paulo, Brasil
Título: Estudo de comportamento térmico e biodegradação de PHBV4% modificado com hidroxiácido
Orientador: Clóvis Augusto Ribeiro
Bolsista do: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
- 2005 - 2007** Mestrado em Química Analítica (Arar.).
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, São Paulo, Brasil
Título: Otimização da modificação de cadeia do PHB com anidrido maleico e estudo de comportamento térmico, Ano de obtenção: 2007
Orientador: Clóvis Augusto Ribeiro
Bolsista do: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
- 2001 - 2004** Graduação em Química.
Universidade Estadual do Oeste do Paraná, UNIOESTE, Toledo, Brasil
Título: Contextualizando com o tema aditivos químicos no ensino de química
Orientador: Cléber Antonio Lindino

Produção em C, T& A

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

1. SOUZA, J. L.; KOBELNIK, M.; RIBEIRO, C. A.; CAPELA, J. M. V.; CRESPI, M. S.
Kinetic study of crystallization of PHB in presence of hydroxy acids. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. v. 97, p. 525 - 528, 2009.

2. SOUZA, J. L.; MARTIN, N.; OLIVEIRA, S. R.; LINDINO, C. A.
Preparação de eletrodos de hidroxiapatita por diferentes metodologias de síntese e sua aplicação na determinação de fosfite em fertilizantes líquidos. *Acta Scientiarum. Technology (Online)*. v. 30, p. 231 - 236, 2008.

3. SOUZA, J. L.; SANTOS, A. F.; POLESE, L.; CRESPI, M. S.; RIBEIRO, C. A.
Thermal behavior of the maleic anhydride modified poly(3-hydroxybutyrate). *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. v. 87, p. 673 - 677, 2007.

4. SOUZA, J. L.; SANTOS, A. F.; POLESE, L.; CRESPI, M. S.; RIBEIRO, C. A.
Otimização e validação de metodologia cromatográfica para determinação simultânea de composição monomérica em polímero biodegradável. *Eclética Química (UNESP. Araraquara. Impresso)*. v. 31, p. 49 - 54, 2006.

Artigos aceitos para publicação

1. BARUD, H. S.; SOUZA, J. L.; SANTOS, D. B.; CRESPI, M. S.; RIBEIRO, C. A.; MESSADDEQ, Y.; RIBEIRO, S. J.L.
Bacterial cellulose/poly(3-hydroxybutyrate) composite membranes. *Carbohydrate Polymers*. 2010.

Apresentação de Trabalho

1. SOUZA, J. L.; CRESPI, M. S.; RIBEIRO, C. A.
Study of thermal behavior of polymeric blends of PHB and hydroxyacids, 2010. (Simpósio, Apresentação de Trabalho)
Cidade: Rotterdam, The Netherlands; Evento: 10th European Symposium on Thermal Analysis and Calorimetry.

2. SOUZA, J. L.; CRESPI, M. S.; RIBEIRO, C. A.
Determination of the viscometric average molecular weight of PHB and blends of PHB/hydroxyacids by viscometry, 2010. (Simpósio, Apresentação de Trabalho)
Local: Hotel Serra Azul; Cidade: Gramado; Evento: XII International Macromolecular Colloquium/7th International Symposium on Natural Polymers and Composites; Inst.promotora/financiadora: Associação Brasileira de Polímeros

3. SOUZA, J. L.; CRESPI, M. S.; RIBEIRO, C. A.
Estudo de biodegradação de filmes de PHB modificados com hidroxiácidos, 2010. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
Local: Hotel Fonte Colina Verde; Cidade: São Pedro; Evento: VII Congresso Brasileiro de Análise Térmica e Calorimetria; Inst.promotora/financiadora: Abratec- Associação Brasileira de Análise Térmica e Calorimetria

4. SOUZA, J. L.; CRESPI, M. S.; MARCHI, M. R. R.; RIBEIRO, C. A.

Evaluation of the monomeric composition of PHB films submitted to biodegradation test, by gas chromatography, 2010. (Simpósio, Apresentação de Trabalho)

Local: Palazzo dei Congressi; Cidade: Riva del Garda, Italy; Evento: 34th International Symposium Capillary Chromatography; Inst.promotora/financiadora: International Organization for the Promotion of Microcolumn Separations

5. SOUZA, J. L.; CRESPI, M. S.; MARCHI, M. R. R.; RIBEIRO, C. A.

Quantificação de hidroxiácidos pelo método direto e com padronização interna, 2010. (Simpósio, Apresentação de Trabalho)

Local: Arts e Convention Center; Cidade: Campos do Jordão; Evento: IV Simpósio Brasileiro de Cromatografia e Técnicas Afins; Inst.promotora/financiadora: Instituto Internacional de Cromatografia

6. SOUZA, J. L.; SANTOS, A. F.; CRESPI, M. S.; RIBEIRO, C. A.

Thermal behavior evaluation of the poly(3-hydroxybutyrate) interaction with maleic anhydride, 2010. (Congresso, Apresentação de Trabalho)

Local: Hotel Fonte Colina Verde; Cidade: São Pedro; Evento: VII Congresso Brasileiro de Análise Térmica e Calorimetria; Inst.promotora/financiadora: Abratec- Associação Brasileira de Análise Térmica e Calorimetria

7. SOUZA, J. L.; BARUD, H. S.; RIBEIRO, S. J. L.; MESSADDEQ, Y.; CRESPI, M. S.; RIBEIRO, C. A.

Bacterial cellulose/poly(3-hydroxybutyrate) biocomposites, 2009. (Congresso, Apresentação de Trabalho)

Vários; Local: Hotel Rafain Palace; Cidade: Foz do Iguaçu; Evento: 10º Congresso Brasileiro de Polímeros; Inst.promotora/financiadora: Associação Brasileira de Polímeros

8. SOUZA, J. L.; CRESPI, M. S.; RIBEIRO, C. A.

Estudo de comportamento térmico de misturas de PHB com hidroxiácidos, 2009. (Congresso, Apresentação de Trabalho)

Local: Hotel Rafain Palace; Cidade: Foz do Iguaçu; Evento: 10º Congresso Brasileiro de Polímeros; Inst.promotora/financiadora: Associação Brasileira de Polímeros

9. SOUZA, J. L.; KOBELNIK, M.; CAPELA, J. M. V.; CRESPI, M. S.; RIBEIRO, C. A.

Kinetic study of crystallization of PHB in presence of hydroxy acids, 2008. (Congresso, Apresentação de Trabalho)

Local: Hotel Fonte Colina Verde; Cidade: São Pedro; Evento: 14th International Congress on Thermal Analysis and Calorimetry; Inst.promotora/financiadora: Abratec- Associação Brasileira de Análise Térmica e Calorimetria

10. SOUZA, J. L.; MARCHI, M. R. R.; RIBEIRO, C. A.

Método cromatográfico para determinação de monômeros de biopolímero modificado com hidroxiácido, 2008. (Congresso, Apresentação de Trabalho)

Local: Centro de Convenções de Florianópolis; Cidade: Florianópolis; Evento: 12 Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas (COLACRO XII); Inst.promotora/financiadora: Instituto Internacional de Cromatografia

11. SANTOS, A. F.; SOUZA, J. L.; RIBEIRO, C. A.; CRESPI, M. S.

Non-isothermal DSC kinetic study of the cross-linking reaction of hybrid system (polyester/epoxy), 2008. (Congresso, Apresentação de Trabalho)

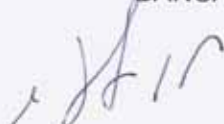
Local: Hotel Fonte Colina Verde; Cidade: São Pedro; Evento: 14th International Congress on Thermal Analysis and Calorimetry; Inst.promotora/financiadora: Abratec-Associação Brasileira de Análise Térmica e Calorimetria

JOSIANE DE LIMA SOUZA

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

Araraquara, 11 de fevereiro de 2011.

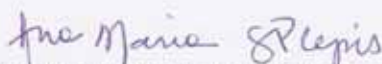
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Clóvis Augusto Ribeiro (Orientador)
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



Drª Mirabel Cerqueira Rezende
Instituto de Aeronáutica e Espaço – IAE, São José dos Campos



Profª Drª Ana Maria de Guzzi Plepis
Instituto de Química – USP, São Carlos



Profª Drª Roselena Faez
Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, Diadema



Profª Drª Sandra Mara Martins Franchetti
Instituto de Biociências - UNESP, Rio Claro

Dedico este trabalho ao meu esposo Ademir,
Aos meus pais Marcílio e Geny
E as minhas irmãs Michele e Susane.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar meus agradecimentos:

A Deus por me permitir mais esta etapa.

Aos meus pais, Marcílio e Geny, por toda dedicação, exemplo e amor e às minhas irmãs, Michele e Susane pela cumplicidade e amizade.

Ao meu esposo Ademir, pelo amor, amizade e por me ajudar sempre.

Ao Prof. Dr. Clóvis pela orientação e contribuição neste trabalho.

À Professora Mary pela coorientação e atenção com este trabalho.

À Professora Marisa, pelo apoio e atenção durante todo este período.

Aos Colegas de laboratório de análise térmica, Sonia, Gisele, Giseli, Douglas, Marcelo, Diógenes, Danilo, Lilian, Dona Marilei e colegas do grupo Gresco pela agradável convivência no ambiente de trabalho.

Aos funcionários e professores do Instituto de Química.

Às amigas, Néia e Silvana, Adriana, Juliana pela amizade e companheirismo durante o doutorado.

“Todos nós sabemos alguma coisa.

Todos nós ignoramos alguma coisa.

Por isso, aprendemos sempre.”

(Paulo Freire)

RESUMO

O PHB (poli 3-hidroxibutirato), um homopolímero importante pelas suas propriedades de biodegradabilidade e biocompatibilidade, que quando submetido aos processamentos reológicos tradicionais de extrusão e injeção o PHB sofre degradação térmica e com isso os materiais produzidos possuem propriedades mecânicas que limitam seu uso. Considerando o monômero do PHB, ácido 3-hidroxibutírico, foi proposto o estudo da interação dos ácidos málico, glicólico, tartárico e mandélico que possuem os grupos funcionais hidroxila e carboxila em suas estruturas. Estes hidroxiácidos podem ser obtidos a partir de fontes naturais e assim pode-se obter um novo material polimérico com as mesmas propriedades de biodegradabilidade e biocompatibilidade do PHBV4% (poli 3-hidroxibutirato contendo 4% do monômero 3-hidroxivalerato), porém com maior potencial de aplicação. Por meio de estudo de comportamento térmico empregando as técnicas de TG-DTA e DSC foi possível definir qual das amostras de filmes apresentaram menor temperatura de fusão cristalina, transição vítrea e por outro lado maior temperatura de cristalização e maior estabilidade térmica. A partir de estudo cinético foi determinado o fator pre exponencial de Arrhenius (A) e energia de ativação (E) da reação de cristalização analisada por DSC, no qual foi observado que o ácido tartárico interagiu com as cadeias do PHBV4%, enquanto que o ácido málico apresentou-se como um aditivo no filme. Amostras dos filmes de PHBV4% com hidroxiácidos derivatizados com álcool isoamílico foram analisadas por GC-FID para identificação e quantificação monomérica. Aplicando a metodologia validada foi possível analisar amostras dos filmes com segurança analítica simultaneamente os derivados dos ácidos 3-hidroxibutírico, málico, glicólico, mandélico e tartárico, nos quais determinou-se menores proporções em relação à composição preparada, especialmente na presença do ácido glicólico. A razão pela determinação de menores proporções do ácido glicólico indica interação química com as cadeias do PHBV4%. Da mesma forma foram obtidos menores valores de massa molar viscosimétrica e maiores índices de acidez quando preparado os filmes do PHBV4% com os ácidos glicólico e málico. Com a perspectiva de maior interação do ácido glicólico e málico com o PHBV4% definiu-se realizar o estudo de biodegradação dos filmes expostos em solo de jardim durante dezoito meses. Empregando TG-DTA, DSC e GC-FID analisou-se as amostras de filmes retirados do solo após um, três, seis, nove, doze e dezoito meses. Os resultados das amostras analisadas após um mês indicaram que os ácidos glicólico e málico presentes nos filmes foram os agentes iniciais do processo de biodegradação. Conseqüentemente os filmes contendo os hidroxiácidos se tornaram mais frágeis e com mais sítios disponíveis para ocorrência da biodegradação, como foi observado tais filmes já se apresentavam praticamente 100% decompostos após 12 meses de exposição em solo. Desta forma fica claro que a presença do ácido glicólico e ácido málico conferem melhores propriedades para as potenciais aplicações e, além disso, reduzem o tempo de permanência no meio ambiente do PHBV4% quando exposto em condições favoráveis de biodegradação.

Palavras chave: Biopolímeros, Poli(3-hidroxibutirato), hidroxiácidos.

ABSTRACT

PHB (poly 3-hydroxybutyrate) homopolymer is an important biocompatible and biodegradable material, however when it is processed using the typical extrusion and injection rheological techniques the PHB is thermally unstable and thus the obtained materials have limited mechanical properties. Considering the monomer in the PHB chain, the 3-hydroxybutyric acid it has been proposed to study the interaction with malic, glycolic, tartaric and mandelic acid with PHB. Those hydroxyacids have hydroxyl and carboxyl functional groups in their structures, so it was expected some physical and chemical interactions. The hydroxyacids production is based on natural process and then a new polymeric material will maintain the same properties of biodegradability and biocompatibility presented by PHBV4% (poly 3-hydroxybutyrate containing 4% of 3-hydroxyvalerate monomer), nevertheless with better potential for its applications. The thermal behavior study, using the TG-DTA and DSC techniques were important to define which of the sample films showed lower melting point, glass transition and on the other hand higher crystallization temperature with higher thermal stability. From the kinetic study we determined the Arrhenius's pre-exponential factor (A) for the crystallization reaction from DSC curves, in which was observed that tartaric acid interacted with the chains of PHBV4%, while the malic acid acts similar to an additive in the film. Samples of the PHBV4% films with hydroxyacids were derivatized with isoamyl alcohol and after the transesterification reaction the samples were analyzed by GC-FID in order to identify and quantify the PHB monomer and unreacted hydroxyacids contents. Applying the GC-FID validated method it was possible to determine the derivatives of 3-hydroxybutyric, malic, glycolic, mandelic and tartaric acids in the sample films and interestingly it was determined less hydroxyacid proportion than added, especially when glycolic acid was added. These lowest proportions of glycolic acid indicate chemical interaction with the chains of PHBV4%. Consequently, lower viscosity molar mass and acid number were determined for the PHBV4% films prepared with glycolic and malic acid. Based on the evaluated characteristic in the PHBV4% films containing glycolic and malic acid it was decided to study the biodegradation of the films exposed during eighteen months inside in a flask with garden soil. The samples were taken from the garden soil and analyzed by TG-DTA, DSC and GC-FID after the first, third, sixth, ninth, twelfth and eighteenth month. The PHBV4% samples containing hydroxyacids analyzed after the first month presented the first signals of biodegradation process due to the glycolic and malic acid hydrolysis. Hence the films containing hydroxyacids became more fragile and with more available sites for the biodegradation, as noted these films were almost 100% decomposed after the twelfth month of exposure inside the soil. Therefore the presence of the glycolic and malic acid in the PHBV4% structure enhance the properties for the potential applications of this biopolymer and also it reduces the time in the environment when exposed to favorable conditions for biodegradation.

Keywords: Biopolymer, poly(3-hydroxybutyrate), hydroxyacids.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estruturas dos monômeros do PHBV4% e dos hidroxiácidos.	27
Figura 2: Sistema de reator para biodegradação aeróbica. (ASTM-D5338-98)	34
Figura 3: Esquema simplificado do procedimento de preparação dos filmes .	48
Figura 4: Foto com as amostras submetidas ao ensaio de biodegradação	51
Figura 5: Gráfico para a determinação da viscosidade intrínseca para soluções diluídas de PHBV4%	55
Figura 6: Gráfico para a determinação da viscosidade intrínseca para soluções diluídas de PHBV4%/AT 80/20.....	57
Figura 7: Gráfico para a determinação da viscosidade intrínseca para soluções diluídas de PHBV4%/AT 90/10.....	57
Figura 8: Gráfico para a determinação da viscosidade intrínseca para soluções diluídas de PHBV4%/AM 80/20.....	57
Figura 9: Gráfico para a determinação da viscosidade intrínseca para soluções diluídas de PHBV4%/AM 90/10.....	57
Figura 10: Gráfico para a determinação da viscosidade intrínseca para soluções diluídas de PHBV4%/AMn 80/20.....	57
Figura 11: Gráfico para a determinação da viscosidade intrínseca para soluções diluídas de PHBV4%/AMn 90/10.....	57
Figura 12: Curvas TG-DTA obtidas em N ₂ (50 mL min ⁻¹) para estudo do comportamento térmico do PHBV4% com razão de aquecimento de 20 °C min ⁻¹ e massa de amostra de 6 mg.	59
Figura 13: Curvas TG-DTA obtidas em N ₂ (50 mL min ⁻¹) para estudo do comportamento térmico do ácido tartárico com razão de aquecimento de 20 °C min ⁻¹ e massa de amostra de 6 mg.	60
Figura 14: Curvas TG-DTA obtidas em N ₂ (50 mL min ⁻¹) para estudo do comportamento térmico do ácido glicólico com razão de aquecimento de 20 °C min ⁻¹ e massa de amostra de 6 mg.	61
Figura 15: Curvas TG-DTA obtidas em N ₂ (50 mL min ⁻¹) para estudo do comportamento térmico do ácido málico com razão de aquecimento de 20 °C min ⁻¹ e massa de amostra de 6 mg.	61

Figura 16: Curvas TG-DTA obtidas em N_2 (50 mL min^{-1}) para estudo do comportamento térmico do ácido mandélico com razão de aquecimento de $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e massa de amostra de 6 mg.	62
Figura 17: Curvas DSC obtidas com cadinho de alumínio selado para o estudo do comportamento térmico dos filmes de PHBV4% para o primeiro e segundo aquecimentos em atmosfera de N_2 (50 mL min^{-1}), razão de aquecimento de $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e massa de amostra de 6 mg.	63
Figura 18: Curvas DSC do comportamento térmico dos hidroxiácidos, obtidas em cadinho de alumínio selado em atmosfera inerte de N_2 (50 mL min^{-1}), razão de aquecimento de $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e massa de amostra de 6 mg.	65
Figura 19: Curvas TG-DTA do comportamento térmico das amostras de PHBV4%/AG nas proporções 90/10 e 80/20.	67
Figura 20: Curvas TG-DTA do comportamento térmico das amostras de PHBV4%/AT nas proporções 90/10 e 80/20.	67
Figura 21: Curvas TG-DTA do comportamento térmico das amostras de PHBV4%/AM nas proporções 90/10 e 80/20.	68
Figura 22: Curvas TG-DTA do comportamento térmico das amostras de PHB/AMn nas proporções 90/10 e 80/20.	69
Figura 23: Curvas DSC obtidas com cadinho de alumínio selado para o estudo de comportamento térmico dos filmes de PHBV4%/AT para o primeiro aquecimento em atmosfera inerte de N_2 (50 mL min^{-1}), razão de aquecimento de $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e massa de amostra de 6 mg.	70
Figura 24: Curvas DSC obtidas com cadinho de alumínio selado para o estudo de comportamento térmico dos filmes de PHBV4%/AT para o segundo aquecimento em atmosfera inerte de N_2 (50 mL min^{-1}), razão de aquecimento de $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e massa de amostra de 6 mg.	70
Figura 25: Curvas DSC obtidas com cadinho de alumínio selado para o estudo de comportamento térmico dos filmes de PHBV4%/AM para o primeiro aquecimento em atmosfera inerte de N_2 (50 mL min^{-1}), razão de aquecimento de $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e massa de amostra de 6 mg.	73
Figura 26: Curvas DSC obtidas com cadinho de alumínio selado para o estudo de comportamento térmico dos filmes de PHBV4%/AM para o segundo aquecimento em atmosfera inerte de N_2 (50 mL min^{-1}), razão de aquecimento de $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e massa de amostra de 6 mg.	73

Figura 27: Curvas DSC obtidas com cadinho de alumínio selado para o estudo de comportamento térmico dos filmes de PHBV4%/AM para o primeiro aquecimento em atmosfera inerte de N ₂ (50 mL min ⁻¹), razão de aquecimento de 20 °C min ⁻¹ e massa de amostra de 6 mg.	75
Figura 28: Curvas DSC obtidas com cadinho de alumínio selado para o estudo de comportamento térmico dos filmes de PHBV4%/AM para o segundo aquecimento em atmosfera inerte de N ₂ (50 mL min ⁻¹), razão de aquecimento de 20 °C min ⁻¹ e massa de amostra de 6 mg.	76
Figura 29: Curvas DSC obtidas com cadinho de alumínio selado para o estudo de comportamento térmico dos filmes de PHBV4%/AMn para o primeiro aquecimento em atmosfera inerte de N ₂ (50 mL min ⁻¹), razão de aquecimento de 20 °C min ⁻¹ e massa de amostra de 6 mg.	78
Figura 30: Curvas DSC obtidas com cadinho de alumínio selado para o estudo de comportamento térmico dos filmes de PHBV4%/AMn para o segundo aquecimento em atmosfera inerte de N ₂ (50 mL min ⁻¹), razão de aquecimento de 20 °C min ⁻¹ e massa de amostra de 6 mg.	78
Figura 31: Valores de E _a versus fração conversional.	81
Figura 32: Diagrama de dispersão de β versus grau de conversão (α-85%) para PHBV4%/AM com os ajustes da função.	81
Figura 33: Gráfico de lnA versus E _a de todos os filmes estudados na avaliação cinética.	82
Figura 34: Cromatograma (GC/FID) do branco de análise.	85
Figura 35: Cromatograma (GC/FID) de uma solução padrão contendo os hidroxiácidos esterificados com álcool isoamílico. AG = hidroxi-acetato de isoamila ; AM= hidroxi-butenodioato de isoamila (AM); HB = 3-hidroxibutirato de isoamila e PI =benzoato de isoamila (padrão interno).	85
Figura 36: Relação de área em função da massa injetada para os padrões de HB. AG e AM submetidos à derivatização.	86
Figura 37: Área dos picos em função da massa injetada para os padrões de HB. AG e AM submetidos à derivatização (método sem padrão interno).	88
Figura 38: Fotos das amostras de filmes submetidos ao teste de biodegradação.	91
Figura 39: Porcentagem monomérica dos filmes submetidos ao ensaio de biodegradação.	92

Figura 40: Curvas TG das amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG no tempo zero, sem serem submetidas a biodegradação.	95
Figura 41: Curva DTA das amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG no tempo zero, sem serem submetidas à biodegradação.	95
Figura 42: Curvas TG das amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após um mês expostas à biodegradação.	97
Figura 43: Curvas DTA das amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após um mês expostas à biodegradação.	98
Figura 44: Curvas TG das amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após três meses expostas à biodegradação.	98
Figura 45: Curvas DTA das amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após três meses expostas à biodegradação.	99
Figura 46: Curvas TG das amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após seis meses expostas à biodegradação.	99
Figura 47: Curvas DTA das amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após seis meses expostas à biodegradação.	100
Figura 48: Curvas TG das amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após nove meses expostas à biodegradação.	100
Figura 49: Curvas DTA das amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após nove meses expostas à biodegradação.	101
Figura 50: Curvas DSC no primeiro aquecimento para as amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG no tempo zero, sem serem expostas à biodegradação.	102
Figura 51: Curvas DSC no segundo aquecimento para as amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG no tempo zero, sem serem expostas à biodegradação.	102
Figura 52: Curvas DSC no primeiro aquecimento para as amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após um mês expostas à biodegradação.	103
Figura 53: Curvas DSC no segundo aquecimento para as amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após um mês expostas à biodegradação.	103

Figura 54: Curvas DSC no primeiro aquecimento para as amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após três meses expostas à biodegradação..... 105

Figura 55: Curvas DSC no segundo aquecimento para as amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após três meses expostas à biodegradação..... 105

Figura 56: Curvas DSC no primeiro aquecimento para as amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após seis meses expostas à biodegradação..... 106

Figura 57: Curvas DSC no segundo aquecimento para as amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após seis meses expostas à biodegradação..... 106

Figura 58: Curvas DSC no primeiro aquecimento para as amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após nove meses expostas à biodegradação..... 107

Figura 59: Curvas DSC no segundo aquecimento para as amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após nove meses expostas à biodegradação..... 107

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores de índice de acidez teórico e experimental do PHBV4% e PHB4%/hidróxiácidos na proporção 80/20	55
Tabela 2: Valores das viscosidades para as soluções diluídas de PHBV4%	56
Tabela 3: Massa molar viscosimétrica média (M) para os filmes de PHBV4%/hidroxiácidos.....	56
Tabela 4: Parâmetros obtidos a partir das curvas de DSC apresentadas na Figura 17	64
Tabela 5: Temperaturas de fusão dos hidroxiácidos	64
Tabela 6: Valores das etapas de perda de massa para os filmes de PHBV4%/hidroxiácidos.....	66
Tabela 7: Valores dos eventos térmicos referentes às curvas DTA dos filmes de PHBV4%/hidroxiácidos.....	66
Tabela 8: Valores referentes à análise realizada com cadinho selado calculados a partir das curvas de DSC apresentadas na Figura 23 e Figura 24.....	71
Tabela 9: Valores referentes à análise realizada com cadinho selado calculados a partir das curvas de DSC apresentadas na Figura 25 e Figura 26.....	74
Tabela 10: Valores referentes à análise realizada com cadinho selado calculadas a partir das curvas de DSC apresentadas na Figura 27 e Figura 28.....	75
Tabela 11: Valores referentes à análise realizada com cadinho selado calculadas a partir das curvas de DSC apresentadas na Figura 29 e Figura 30.....	77
Tabela 12: Temperaturas de cristalização das amostras PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AT.....	80
Tabela 13: Valores de coeficiente de correlação (R^2) e energia de ativação (E_a) de todos os filmes estudados na avaliação cinética.....	83
Tabela 14: Parâmetros do processo de validação do método para determinação de HB, AG e AM	86
Tabela 15: Proporção dos filmes quantificados pelo método apresentado.....	86
Tabela 16: Proporção dos filmes quantificados pelo método apresentado sem padrão interno	87
Tabela 17: Valores de t calculados para os métodos com e sem padrão interno	88
Tabela 18: Valores de teste F para os métodos com e sem padrão interno...	89

Tabela 19: Valores médios obtidos a partir das curvas TG para as amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após diferentes tempos de biodegradação.....97

Tabela 20: Picos obtidos a partir das curvas DTA para as amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após diferentes tempos de biodegradação.....97

Tabela 21: Valores médios referentes à análise realizada com cadinho selado calculadas a partir das curvas de DSC apresentadas da Figura 50 até a Figura 59.104

LISTA DE ABREVIATURAS

AG – ácido glicólico

AM – ácido málico

AMn – ácido mandélico

AT – ácido tartárico

C – concentração da solução de KOH (mg mL^{-1})

CG-FID – cromatografia gasosa com detetor por ionização em chama

DSC – calorimetria exploratória diferencial

DTA – análise térmica diferencial

IA – índice de acidez

IA_t - índice de acidez teórico

IA_e - índice de acidez experimental

LD- Limite de detecção

LQ- Limite de quantificação

M – massa molar

M – massa de PHB (g)

PHAs - polihidroxiálcanoatos

PHB – poli (3-hidroxibutirato)

PHBV4% - poli (3-hidroxibutirato) com 4% de poli (3-hidroxivalerato)

PHV - poli (3-hidroxivalerato)

TG – termogravimetria

W – quantidade em gramas da mistura polimérica

LISTA DE SÍMBOLOS

- α – grau de conversão
 β – razão de aquecimento
 E_a – energia de ativação
 e_a – equivalente grama
 f – funcionalidade
 K e a – constantes de Markin-Houwink
 n – número de mols
 η – viscosidade da solução polimérica
 η_{esp} – viscosidade específica
 η_{rel} – viscosidade relativa
 t – tempo de escoamento
 t_0 – tempo de escoamento do solvente puro
 T - temperatura
 T_g - temperatura de transição vítrea
 T_c - temperatura de cristalização
 T_m - temperatura de fusão cristalina
 ΔH_f - entalpia de fusão
%crist1 - porcentagem cristalizada
 ΔH_c - entalpia de cristalização

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	24
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	28
2.1. PHB E MISTURAS POLIMÉRICAS.....	28
2.2. ANÁLISES CLASSÍCAS.....	29
2.2.1. ÍNDICE DE ACIDEZ.....	29
2.2.2. DETERMINAÇÃO DE MASSA MOLAR POR VISCOSIMETRIA.....	31
2.3. BIODEGRADAÇÃO.....	32
2.4. ANÁLISE TÉRMICA	39
2.4.1. ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA TG.....	39
2.4.1. CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC) E ANÁLISE TÉRMICA DIFERENCIAL (DTA).....	40
2.4.2. TEORIA CINÉTICA	41
2.5. CROMATOGRAFIA GASOSA.....	42
3. OBJETIVOS.....	46
4. EQUIPAMENTOS, PROCEDIMENTOS E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS	47
4.1. MATERIAIS.....	47
4.2. CONDIÇÕES E PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....	47
4.2.1. MODIFICAÇÃO DO PHBV4% COM HIDROXIÁCIDOS.....	47
4.2.1.1. Modificação do PHBV4% com hidroxiácidos	47
4.2.1.2. Preparação e avaliação dos filmes de PHBV4%/hidroxiácidos	48
4.2.2. DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE ACIDEZ.....	49
4.2.2.1. Determinação do índice de acidez do PHBV4%.....	49
4.2.2.2. Determinação do índice de acidez das misturas de PHBV4%/hidroxiácidos.....	49
4.2.3. ESTUDO DE COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS FILMES DE PHBV4%/HIDROXIÁCIDOS.....	50
4.2.3.1. Análise empregando DSC.....	50
4.2.3.2. Avaliação cinética	50
4.2.3.3. Análises empregando Análise Termogravimétrica (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA) simultâneas.....	50

4.2.4. BIODEGRADAÇÃO DAS AMOSTRAS DE PHBV4%/HIDROXIÁCIDOS.....	51
4.2.5. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE PHBV4% E HIDROXIÁCIDOS POR GC-FID	51
4.2.6. DETERMINAÇÃO DE MASSA MOLAR VISCOSIMÉTRICA...	52
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	54
5.1. DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE ACIDEZ	54
5.2. DETERMINAÇÃO DA MASSA MOLAR VISCOSIMÉTRICA DE FILME DE PHBV4% E DOS FILMES DE PHBV4%/HIDROXIÁCIDOS.....	55
5.3. ESTUDO DE COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS FILMES DE PHBV4% E DOS HIDROXIÁCIDOS.....	58
5.3.1. ESTUDO DO COMPORTAMENTO TÉRMICO POR TG-DTA	58
5.3.1.1. Filmes de PHBV4%	58
5.3.1.2. Hidroxiácidos	59
5.3.2. ESTUDO DO COMPORTAMENTO TÉRMICO POR DSC.....	62
5.3.2.1. Filmes de PHBV4%	62
5.3.2.2. Hidroxiácidos	64
5.4. ESTUDO DO COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS FILMES DE PHBV4%/HIDROXIÁCIDOS.....	65
5.4.1. ESTUDO DO COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS FILMES DE PHBV4%/HIDROXIÁCIDOS POR ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TG) E ANÁLISE TÉRMICA DIFERENCIAL (DTA).....	65
5.4.2. ESTUDO DE COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS FILMES DE PHBV4%/HIDROXIÁCIDOS POR CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC).....	69
5.4.2.1. PHBV4%/ácido tartárico (PHBV4%/AT).....	69
5.4.2.2. PHBV4%/ácido málico PHBV4%/AM.....	72
5.4.2.3. PHBV4%/ácido glicólico PHBV4%/AG.....	74
5.4.2.4. PHBV4%/ácido mandélico PHBV4%/AMn	76
5.5. DEFINIÇÃO DO HIDROXIÁCIDO PARA A MODIFICAÇÃO DO PHBV4%	79
5.6. ESTUDO CINÉTICO DA CRISTALIZAÇÃO DO PHBV4% NA PRESENÇA DE HIDROXIÁCIDOS.....	79

5.7. ESTUDO DE CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DE PHBV4% E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS	84
5.7.1. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) E HIDROXIÁCIDOS POR CROMATOGRAFIA GASOSA (GC-FID).....	84
5.7.2. COMPARAÇÃO DO USO DE PADRÃO INTERNO EM ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS PARA DETERMINAÇÃO MONOMÉRICA DE PHB..	87
5.8. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES SUBMETIDOS À BIODEGRADAÇÃO	90
5.8.1. ASPECTO VISUAL DOS FILMES SUBMETIDOS A BIODEGRADAÇÃO.....	90
5.8.2. ANÁLISE CROMATOGRÁFICA NA AVALIAÇÃO DAS AMOSTRAS DE FILMES EXPOSTOS À BIODEGRADAÇÃO.....	91
5.8.3. ESTUDO DO COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS FILMES DEGRADADOS POR ANÁLISE TÉRMICA.....	94
5.8.3.1. Estudo de comportamento térmico dos filmes degradados por TG-DTA	94
5.8.3.2. Estudo de comportamento térmico dos filmes por DSC	101
6. CONCLUSÕES	109
7. TRATAMENTO DE RESÍDUOS.....	110
8. Sugestão de trabalhos futuros.....	111
REFERÊNCIAS.....	112

1. INTRODUÇÃO

Os polímeros sintéticos têm papel fundamental na sociedade moderna, onde marcaram profundamente o desenvolvimento à partir da metade do século XX, porém, como algumas de suas aplicações tem um tempo de vida útil curto os resíduos são descartados no meio ambiente gerando um volume de rejeitos de difícil solução ambientalmente adequada. Desta forma, tem despertado grande preocupação atualmente para que o uso racional destes materiais poliméricos seja sustentável, ou seja, os recursos extraídos possam retornar ao ambiente preferencialmente por processos de biodegradação.

Os polialcanoatos (PHAs) constituem uma classe de polímeros biodegradáveis e biocompatíveis, são produzidos a partir de recursos renováveis como açúcares e ácidos graxos e apresentam propriedades termoplásticas (SQUIO; ARAGÃO, 2004). Os PHAs degradam-se completamente por ataque microbiano em um ano, desde que em condições adequadas do meio ambiente (ROSA; FILHO, 2003).

Os PHAs são produzidos por uma grande variedade de bactérias e são acumulados na forma de grânulos intracelulares como reserva de carbono, energia e equivalentes redutores. Em geral, a síntese de PHA por bactéria ocorre em um meio nutritivo quando há excesso de fonte de carbono e a limitação de pelo menos um nutriente necessário à multiplicação das células (nitrogênio, fósforo, magnésio e ferro) (GOMEZ, 1997).

Os PHAs podem ser utilizados como matéria prima em um amplo campo de aplicações, tais como embalagens para produtos de limpeza, higiene, cosméticos e alimentos. Também podem ser utilizados para produzir sacos descartáveis, vasos para mudas, brinquedos e material escolar. Por serem biocompatíveis podem ser empregados na área médico-farmacêutica em fabricação de fios de sutura, próteses ósseas, suportes de cultura de tecidos para implantes e encapsulação de fármacos para liberação controlada, no entanto possuem custo elevado em relação aos termoplásticos convencionais (SQUIO; ARAGÃO, 2004).

Entre os PHAs mais estudados encontra-se o poli(3-hidroxiбутирато) (PHB), homopolímero (polímero com apenas um tipo de monômero constituinte da cadeia

principal) poliéster que apresenta propriedades termoplásticas semelhantes às do polipropileno isotático, devido à sua cristalinidade e temperatura de fusão similar. O PHB é biocompatível e biodegradável, possui ponto de fusão em torno de 170 °C sendo quebradiço e termicamente instável. Para superar estas desvantagens, geralmente o PHB tem sido melhorado pela introdução, durante a biossíntese, de diferentes monômeros de alcenoatos para produzir copolímeros ou por meio de misturas poliméricas de PHB com outros polímeros (HAY; SHARMA, 2000; CHEN; WANG, 2002).

O polihidroxiclaurato (PHV) também pode ser produzido durante o processo de produção do PHB. A introdução de PHV às cadeias poliméricas de PHB, melhora o processamento e a ductibilidade do mesmo. Polihidroxiclaurato-co-hidroxiclaurato (PHBV) com variações da massa molar de PHV, está sendo amplamente utilizado em investigações biomédicas (CHEN; WANG, 2002).

Para tornar as propriedades e características do PHB mais interessantes, em termos de processamento, estudos que envolvem a preparação de filmes com a presença de modificadores de cadeia e/ou condições de preparo que influenciam nas propriedades do produto final, constituem bases importantes para aplicabilidades futuras e para o desenvolvimento desta área.

O poli(3-hidroxiclaurato) homopolímero apresenta algumas limitações em suas propriedades de processamento, tais como, elevada temperatura de fusão cristalina em torno de 170 °C e degradação térmica durante o processamento entre 170 e 200 °C, e alta fração cristalizável, aproximadamente 80 % (SQUIO; ARAGÃO, 2004).

Portanto, apesar do PHB possuir propriedades nobres de biodegradabilidade e biocompatibilidade tem-se a necessidade de alcançar avanços tecnológicos que permitam aplicações nas mais variadas áreas e nessa busca a modificação estrutural do PHB com substâncias de mesma natureza química pode conferir estabilidade durante o processamento de tal forma que o material produzido com o biopolímero atenda as especificações de uso.

Para alcançar melhores condições na indústria de processamento do PHB, neste trabalho propõe-se trabalhar com os hidróxiácidos, ácido málico, tartárico, glicólico e mandélico para obter produtos com melhores propriedades. Para isso, torna-se necessário avaliar o comportamento térmico do PHB e estudar a influência da presença de hidróxiácido como agente reticulante na cadeia polimérica considerando os campos em potencial de aplicação, para um produto com menores

temperaturas de fusão, menores frações cristalinas, maior estabilidade térmica e que demande um menor tempo de biodegradação quando descartado no ambiente.

Os hidroxiácidos são compostos polifuncionais com grupamentos hidroxílicos e carboxílicos. O ácido glicólico pode ser encontrado na cana-de-açúcar, ácido tartárico livre ou combinado com potássio, cálcio ou magnésio. Por outro lado, pode ser encontrado em frutas, como a maçã, na forma de o ácido málico (BUDAVARI, 2001). Respectivamente, ácido glicólico, ácido málico e ácido tartárico apresentam grupos funcionais igual a dois, três e quatro. Assim, ácidos málico e tartárico podem agir como reticulantes podendo entrecruzar parcialmente as cadeias do PHB ou mesmo agir como plastificante sem alterar as características de biodegradabilidade dos filmes.

A Figura 1 apresenta as estruturas químicas dos hidroxiácidos estudados, incluindo os monômeros do PHBV4% (ácido 3-hidroxibutírico e o ácido 3-hidroxivalérico) que também são hidroxiácidos. A escolha dos hidroxiácidos foi feita, considerando-se a estrutura dos mesmos, pois como observado na Figura 1, são compostos com estrutura química similar à do PHBV4%.

Com a perspectiva da reação destes compostos com as cadeias do PHBV4%, espera-se que a presença de estruturas distintas, como a destes ácidos, diminua a fração cristalizável, pois, os hidróxiácidos dificultariam a organização das cadeias e também provocariam quebras de cadeias diminuindo a temperatura de fusão. As técnicas de análise térmica por DSC e TG-DTA possibilitam a avaliação da modificação de cadeia do PHBV4%.

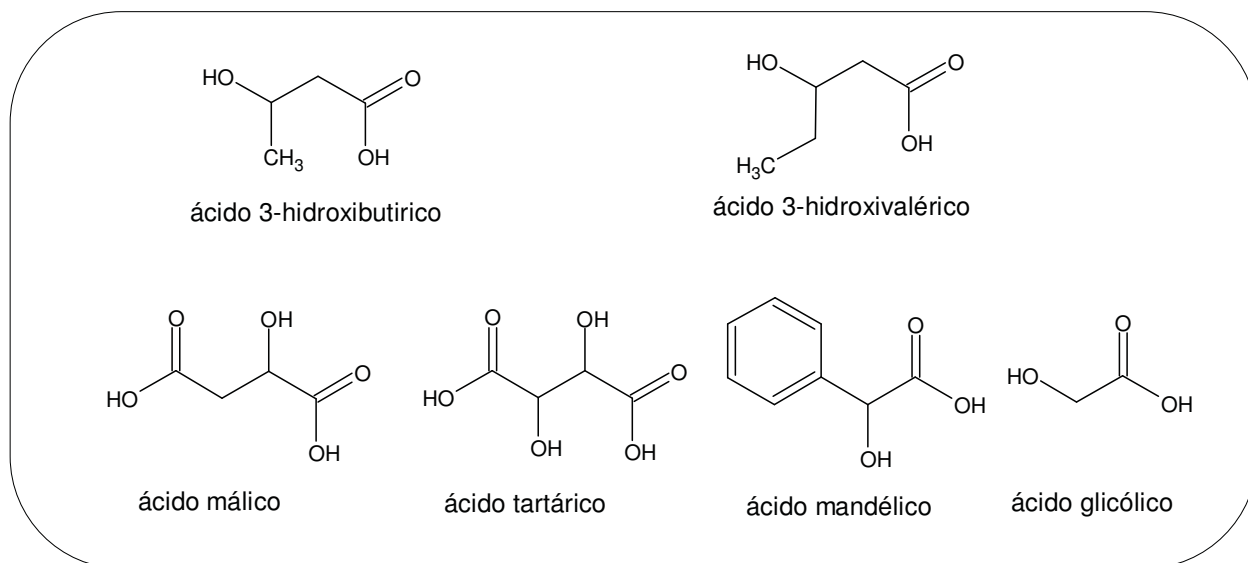


Figura 1: Estruturas dos monômeros do PHBV4% e dos hidroxiácidos.

A presença dos hidróxiácidos pode se apresentar como sítios ativos para o ataque microbiano, depois dos filmes serem descartados no meio ambiente, acelerando assim a biodegradação. Com a degradação biológica, a porcentagem de monômeros tende a variar durante o processo de degradação. Assim, o acompanhamento da diminuição das proporções monoméricas do polímero pode ser realizado por método de cromatografia gasosa (CG-FID) com esterificação em meio ácido e a análise térmica permite verificar a estabilidade e mudanças nas propriedades térmicas durante o processo.

A biodegradação de polímeros naturais pode ser feita pela metodologia de monitoramento de CO_2 descrita no método ASTM (ASTM, 1997a) para biodegradação aeróbia sob condições de compostagem controlada. Por outro lado, pode-se realizar o estudo em condições anaeróbias, porém medindo-se CO_2 e CH_4 (ASTM, 1997b).

Estudos recentes de biodegradação do PHB indicam dois mecanismos complexos de ação microbiológica que podem ocorrer no interior e exterior da célula microbiana. Tanto no mecanismo intracelular, quanto no extracelular, as enzimas depolimerases microbianas (estruturalmente associadas às enzimas hidrolases) são responsáveis pela quebra dos monômeros das cadeias poliméricas permitindo a assimilação do PHB como substrato (LUENGO *et al.*, 2003).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. PHB E MISTURAS POLIMÉRICAS

Sintetizado naturalmente por bactérias o poli(3-hidroxibutirato) apresenta propriedades de biocompatibilidade e biodegradabilidade com transição vítrea em torno de 5 °C, ponto de fusão cristalina entre 165 e 180 °C e se degrada termicamente logo em seguida à fusão, liberando como um dos produtos principais o ácido crotônico independente da atmosfera. A cristalinidade global do PHB compreende um intervalo entre 50 e 80 %.

O elevado grau de cristalinidade do poli(3-hidroxibutirato) se deve à regularidade do processo fermentativo na produção do PHB. A cristalinidade de polímeros semicristalinos apresenta-se como um importante fator a ser considerado na caracterização polimérica.

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

Entre outros aditivos utilizados como modificador de cadeia do PHB, estão os polióis. Em estudo comparativo com glicerol e polietileno glicol na presença de catalisador, observou-se que a degradação com etileno glicol foi mais rápida que com glicerol, formando-se oligômeros de PHB com vários grupos hidroxilas reativas livres nos finais de cadeia, as quais poderiam ser usadas em uma próxima etapa para reações de extensão de cadeia (SPITALSKÝ *et al.*, 2006).

Em trabalho avaliando misturas de PHB com várias proporções de polietileno glicol os autores observaram que não há alteração da estabilidade térmica das misturas, todavia o aumento de polietileno glicol reduz a resistência à tração e aumenta o alongamento na quebra em relação ao PHB puro (PARRA *et al.*, 2006).

O estudo do comportamento térmico e de biodegradação de misturas poliméricas de PHB/amido e PHB-HV/amido mostrou que a presença de amido diminui as propriedades mecânicas dos poliésteres, que foram avaliadas antes e após a biodegradação. Apesar da diminuição das propriedades mecânicas pela adição de amido, sua incorporação aos polímeros permite um significativo aumento da biodegradabilidade, possivelmente pela facilidade desse carboidrato ser

consumido como fonte alternativa de carbono pelos fungos. A alteração da estrutura química do polímero pela presença de grupos característicos da degradação dos poliésteres foi confirmada por ressonância magnética nuclear (RMN) e infravermelho após o ensaio de degradação (VINHAS *et al.*, 2007).

A modificação de PHAs tem como objetivo melhorar determinadas propriedades finais. O custo dos copolímeros ainda é muito alto, assim muitas pesquisas visam modificar o PHB homopolímero para preparar materiais biodegradáveis baseados em PHAs com melhores propriedades mecânicas e preços aceitáveis. Uma rota alternativa visa sintetizar vários copolímeros, com o objetivo de produzi-los a um baixo custo. No entanto, a modificação para mudar as propriedades é interessante mesmo no caso de copolímeros. Geralmente, os métodos de modificação são baseados na parte química, podendo ser reações de entrecruzamento, transesterificação com mudanças na estrutura química, ou procedimentos na parte física, misturando aditivos de baixo ou alto massa molar e otimizando a cristalização (BELGACEM; GANDINI, 2008).

2.2. ANÁLISES CLASSÍCAS

2.2.1. ÍNDICE DE ACIDEZ

O índice de acidez é um dos parâmetros importantes nas reações de polimerização de polióis, pois permite acompanhar o desenvolvimento da reação através da determinação da quantidade de grupos carboxila que já reagiram e, portanto, a quantidade dos que ainda vão reagir. Esta análise possibilita ainda, determinar, no polímero resultante, a quantidade de carboxilas existentes no final da polimerização.

O índice de acidez é definido como:

IA - Quantidade de KOH (hidróxido de sódio), expressa em miligramas, necessária para neutralizar 1 grama de material.

Entende-se como material a amostra representativa da composição em qualquer estágio da reação; assim, o IA pode estar relacionado com a composição monomérica inicial, com o polímero final ou com a composição de qualquer estágio da polimerização. A quantidade de KOH é usualmente expressa em miligramas e o

equivalente grama dessa base é 56,1 g ou 56100 mg. É importante notar que o índice de acidez refere-se sempre ao polímero ou à composição monomérica e não a sua solução; em outras palavras, o índice de acidez refere-se ao teor de sólidos sempre que o polímero esteja em solução (FAZENDA, 2005).

O índice de acidez pode ser definido pela Equação 1:

$$IA = \frac{56100 \times e_a}{W} \quad (\text{Equação 1})$$

Em que:

W - quantidade em gramas da mistura monomérica inicial que contém e_a equivalentes gramas de grupos ácidos

IA - índice de acidez no instante da reação.

O número de equivalentes gramas de grupos ácidos pode ser definido em função da funcionalidade da molécula, expressa pela Equação 2:

$$e_a = f \times n \quad (\text{Equação 2})$$

Onde e_a é definido como sendo o produto da funcionalidade em função do número de mols. A funcionalidade é o número de grupos funcionais que a molécula apresenta.

Os grupamentos ácidos terminais da cadeia polimérica do PHB são indicações de sítios ativos de possíveis interações com hidroxíácidos que podem levar à incorporação de unidades do agente reticulante ou mesmo transesterificação. Determinações do índice de acidez, indicativo de grupos ácidos livres, são realizadas empregando-se método teste padrão de acordo com a designação D1639 da *American Society for Testing and Materials* (ASTM) para poliésteres, em que uma massa conhecida de polímero pode ser titulada com hidróxido de potássio usando fenolftaleína como indicador (ASTM, 2000).

O índice de acidez permite relacionar os grupos ácidos terminais encontrados com o número de cadeias presentes e a qualidade de resinas poliésteres que podem ser submetidas a reações (MISEV, 1991). O cálculo do índice de acidez (IA) pode ser realizado aplicando a Equação 3:

$$IA = \frac{56,1 V C}{m} \quad (\text{Equação 3})$$

onde V, C e m são respectivamente volume (mL) de KOH necessário para neutralizar os grupamentos carboxílicos livres do PHB, concentração (mg mL⁻¹) da

solução de KOH e a massa (g) de PHB. Se expressa o valor de IA em miligrama de KOH por grama de PHB.

2.2.2. DETERMINAÇÃO DE MASSA MOLAR POR VISCOSIMETRIA

As soluções poliméricas apresentam propriedades intrínsecas, como por exemplo, a viscosidade. A viscosidade varia em função da concentração. A partir destas variáveis torna-se possível calcular a massa molar viscosimétrica de polímeros cujas constantes de Markin-Houwink são conhecidas, extrapolando-se a viscosidade reduzida para soluções muito diluídas.

Medidas de viscosidade de soluções são normalmente feitas pela comparação entre o tempo de escoamento t requerido para que um dado volume de solução polimérica passe através de um tubo capilar, e o tempo requerido para o escoamento do solvente puro t_0 . A viscosidade da solução polimérica $[\eta]$, é naturalmente maior que a do solvente puro $[\eta_0]$, e portanto o valor do seu tempo de eluição é maior (CANEVAROLOJR., 2002).

Por meio de várias medidas de t das soluções poliméricas a diferentes concentrações e t_0 do solvente puro, obtém-se a viscosidade relativa $[\eta_{rel}]$ definida pela Equação 4:

$$[\eta_{rel}] = t/t_0 \quad (\text{Equação 4})$$

A viscosidade relativa fornece a viscosidade específica definida pela Equação 5, onde desconsidera-se a influência do solvente

$$[\eta_{esp}] = [\eta_{rel}] - 1 \quad (\text{Equação 5})$$

A partir da qual obtém a viscosidade reduzida, onde considera-se a concentração c :

$$[\eta_{red}] = [\eta_{rel}]/c \quad (\text{Equação 6})$$

A viscosidade intrínseca é obtida pela extrapolação da viscosidade reduzida a concentração zero conforme a Equação 7:

$$\lim_{c \rightarrow 0} \left(\frac{\eta_{esp}}{c} \right) = [\eta] \quad (\text{Equação 7})$$

A viscosidade intrínseca de soluções poliméricas bem diluídas fornece o valor da massa molar viscosimétrica média, M , por meio da equação de Markin-Houwink, apresentada na Equação 8 (SANTOS, 2007):

$$\eta = KM^a \quad (\text{Equação 8})$$

2.3. BIODEGRADAÇÃO

A biodegradação dos polímeros resulta ação de micro-organismos, por mecanismos de hidrólise e oxidação, tais como fungos, bactérias e algas de ocorrência natural, gerando CO_2 , CH_4 , H_2O e biomassa (FRANCHETTI; MARCONATO, 2006).

Segundo a norma ASTM considera-se a biodegradação “um processo conduzido por bactérias, fungos ou enzimas, com uma completa assimilação e desaparecimento do material, resultando resíduos não tóxicos e seguros ao meio ambiente” (CORDEBELLO, 2002).

As citações que seguem definem os tipos de biodegradação: direta por ação de enzimas; indireta por oxidação e metabolização; microbiologia por degradação mecânica; bioerosão; conversão de material insolúvel em água para material solúvel e perda física da matriz polimérica por uma variedade de processos.

A seguir estão apresentados alguns métodos para se estudar a biodegradação de polímeros (FRANCHETTI; MARCONATO, 2006):

- **Plaqueamento em ágar:** Consiste na inoculação de espécies de microorganismos, na presença do polímero, sob condições favoráveis de crescimento. Remoção das espécies e testes para verificação de mudanças nas propriedades físicas ou químicas do material polimérico, ou seja, após remover os micro-organismos efetuam-se medidas de ensaios mecânicos, absorção na região do infravermelho e do UV-Visível e análise de Massa Molar para verificar as possíveis alterações ocorridas no polímero.
- **Marcação com ^{14}C :** Distingue o CO_2 produzido no metabolismo do polímero do CO_2 gerado por outras fontes de carbono, como as do solo (se o polímero estiver em coluna de solo) ou as do meio de cultura (se o polímero estiver incubado em meio de cultura e microrganismos).

- Enriquecimento do solo: Para isolar espécies que crescem sobre o polímero, ou seja, incubar o filme polimérico em solo, durante certo tempo, depois separar os microrganismos que se desenvolveram na presença do filme. Incubá-los em meio apropriado e com o filme, durante um tempo, retirar o filme e analisar suas propriedades mecânicas e físico-químicas.
- Teste *in vitro*: Envolve dois métodos biológicos quantitativos: a respirometria, em que a atividade do microrganismo medida por meio da absorção de O_2 ou liberação de CO_2 , captado sobre KOH ou sobre $Ba(OH)_2$ (método de Sturm). E a perda de massa da amostra, em que se mede a massa do polímero antes e após o tratamento microbiano.

A Figura 2 mostra um esquema do método de Sturm, por monitoramento de CO_2 de acordo com a norma ASTM (D5338-98), este método determina o grau e a razão de biodegradação aeróbica de materiais plásticos expostos a condições laboratoriais de compostagem ambiental controlada. A compostagem aeróbica ocorre em um ambiente fechado onde temperatura, aeração e umidade são monitoradas e controladas. Esta metodologia determina a porcentagem de conversão de carbono na amostra para dióxido de carbono.

O sistema de biodegradação (Figura 2) pode ser mantido sob aeração controlada e todo CO_2 formado no frasco B pode ser coletado no frasco C que contém hidróxido de bário ($BaOH$), pois CO_2 em contato a solução de $BaOH$ forma carbonato de bário (insolúvel) e água, desta forma pode ser titulado com ácido clorídrico e quantificado diariamente.

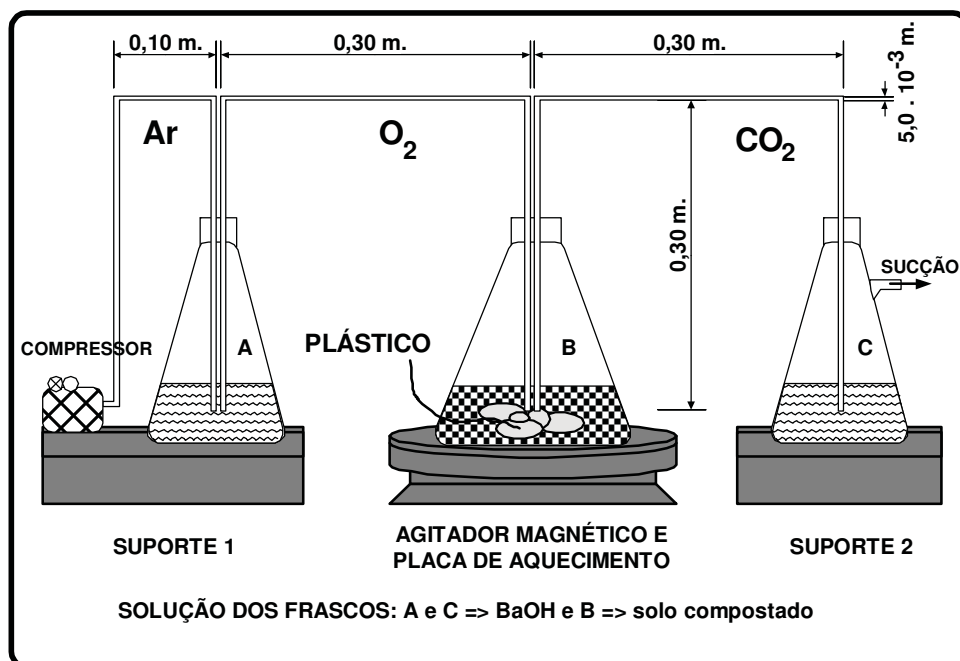


Figura 2: Sistema de reator para biodegradação aeróbica. (ASTM-D5338-98)

A porcentagem de biodegradação pode ser calculada utilizando-se a seguinte equação:

$$\%biod = \frac{C(teste) - C(branco)}{C_i} \times 100$$

Em que a quantidade de carbono medida no teste ($C_{(teste)}$) menos a quantidade obtida de uma análise em branco ($C_{(branco)}$) dividida pela quantidade inicial total de carbono (C_i), multiplicada por 100 corresponde à porcentagem de biodegradação (%biod) (ROSA; FILHO, 2003).

A utilização da técnica de biodegradação conhecida como Teste de Sturm pode ser empregada para se avaliar a biodegradação de alguns polímeros biodegradáveis e de misturas poliméricas.

Os fatores que afetam a degradação de biopolímeros são (CHANDRA; RUSTGI, 1998):

- efeito da estrutura polimérica: a maioria dos polímeros biodegradáveis apresenta ligações hidrolisáveis ao longo de suas cadeias, por exemplo, ligações amidas, ésteres, uréia e uretanais, que são suscetíveis à biodegradação por ataque de microorganismos e enzimas hidrolíticas. Polímeros substituídos contendo substituintes, tais como hidroxilas, carboxilas, e metilas são preparados com o objetivo de que a introdução destes substituintes aumente a

biodegradabilidade. Para um polímero sintético ser degradado por catálise enzimática, a cadeia polimérica deve ser flexível o suficiente para caber um sítio ativo para a enzima, enquanto um poliéster alifático flexível pode ser biodegradado por sistemas biológicos. O tereftalato de polietileno (PET), por exemplo, que apresenta sistema aromático e rígido pode ser considerado como bioinerte. Outra característica importante é a presença de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos, um polímero que contém tanto grupamentos hidrofílicos quanto hidrofóbicos apresenta maior degradabilidade;

- efeito da morfologia polimérica: a característica de alguns polímeros apresentarem ao longo de suas cadeias, unidades equivalentes repetidas, inerentes da cristalinidade do polímero, também influencia na biodegradabilidade, pois tornam inacessível na molécula, sítios ativos para as enzimas. Durante a biodegradação de polímeros semicristalinos, a cristalinidade tende a aumentar rapidamente, devido ao desaparecimento da fração de fase amorfa no polímero. Para a biodegradação da PCL por fungos filamentosos, observa-se que o fungo produz enzimas extracelulares responsáveis pela degradação seletiva, atribuída à menor organização de empacotamento da região amorfa, que permite acesso mais fácil para as enzimas. Degradações enzimática e química de polímeros *in vitro*, especialmente poliésteres, mostram que a composição de copolímeros com ponto de fusão menores são mais suscetíveis à biodegradação. Uma menor ordem no empacotamento das moléculas corresponde a maior razão de biodegradação;
- efeitos de radiação e tratamentos químicos: fotólise com luz ultravioleta e radiação de raios γ em polímeros produzem radicais ou íons que conduzem à clivagem ou ligações de entrecruzamento. Geralmente, estas mudanças no material o tornam suscetível à biodegradação. A taxa de degradação aumenta até quase todo o polímero fragmentado ser consumido e uma taxa menor de biodegradação ocorre para a porção de ligações de entrecruzamento do polímero;

- efeito da massa molar: muitas das diferenças observadas podem ser atribuídas às diferenças na morfologia, hidrofiliidade-hidrofobicidade em amostras de polímero de variadas massas molares. Os microorganismos produzem tanto exoenzimas (enzimas que degradam os polímeros a partir de grupos terminais) quanto endoenzimas (enzimas que degradam os polímeros randomicamente ao longo da cadeia), espera-se um grande efeito na razão de biodegradação das exoenzimas e um baixo efeito das endoenzimas. Por isto, os plásticos de elevada massa molar são imunes ao ataque microbiano, enquanto os plásticos de baixa massa molar podem ser degradados por microorganismos.

Algumas técnicas são úteis para avaliar a biodegradação de polímeros considerando suas propriedades (BERTOLINI, 2007). A análise térmica ajuda a avaliar e entender o comportamento de polímeros, desde que seja possível avaliar a fase amorfa do polímero. Uma vez que a biodegradação ocorre na fase amorfa de polímeros biodegradáveis, isso pode ser realizado usando calorimetria exploratória diferencial DSC, em atmosfera inerte. Dois ciclos de aquecimento para cada filme são recomendados para eliminar o efeito da história térmica da amostra e um resfriamento antes de aquecer novamente. Os termogramas utilizados para analisar polímeros cristalinos são os do segundo aquecimento.

As propriedades de tensão, como força de tensão à quebra, alongação à quebra e módulo de Young, possibilitam avaliar a biodegradação mecânica, pois quando o polímero passa por modificações nas cadeias, isso reflete nas propriedades mecânicas. A microscopia eletrônica de varredura ajuda a entender o comportamento de polímeros biodegradáveis e blendas poliméricas, seus mecanismos de biodegradação, sua adesão interfacial e a interação entre polímeros e blendas. Também ajuda a monitorar a avaliação da biodegradação pelo comportamento morfológico dos polímeros. A biodegradação também pode ser avaliada baseando-se na rugosidade, pois fungos e bactérias atacam a superfície polimérica produzindo enzimas que degradam a superfície polimérica, como a primeira etapa de biodegradação. Danos na superfície podem ser estimados por medidas da rugosidade da superfície, o perfil da rugosidade da superfície é obtida pelo movimento de uma ponta de diamante sobre a superfície, que é transformado

em sinal elétrico, a partir do qual o perfil da rugosidade é derivado (BERTOLINI, 2007).

A avaliação dos processos de biodegradação de PHB poli(3-hidroxibutirato), PHB-V poli(3 hidroxibutirato-co-valerato) e PCL poli(caprolactama) realizada pelo uso da metodologia do Teste de Sturm demonstra que o PHB é o polímero que mais degrada, enquanto que não se observa uma grande produção de dióxido de carbono para o PHB-V. Neste estudo o PCL foi o polímero que apresentou uma biodegradação menos acentuada (ROSA *et al.*, 2002; ROSA *et al.*, 2003) em outro trabalho utilizando-se o mesmo sistema mas avaliando blendas de PHB e PCL observou-se o mesmo resultado (VOGELSAGERJUNIOR. *et al.*, 2004).

Compósitos de fibras de linho obtidos por injeção foram reforçados com PHB e PHV, aumentando a rigidez das fibras sem alterar as propriedades mecânicas, foi realizado estudo de biodegradação dos compósitos enterrando-se as amostras em solo e avaliando periodicamente, observando-se que durante as duas primeiras semanas houve diminuição acentuada na resistência à tração resultado da quebra de ligações provocada pela absorção de umidade (BARKOULA; GARKHAIL; PEIJS, 2010).

Acetato de celulose e PCL e suas misturas poliméricas foram caracterizadas por análise térmica e submetidas a estudos de biodegradação com o Teste de Sturm. Os autores observaram que o aumento da concentração de acetato nas misturas poliméricas eleva a cristalinidade do PCL e favorece a biodegradação e que o acetato de celulose foi pouco suscetível à biodegradação em meio de cultura sólido com pouca umidade, sendo consideravelmente menor que a observado para o PCL (CALIL *et al.*, 2006).

O Teste de Sturm foi utilizado para avaliar a biodegradação de filmes protéicos preparados pela mistura de linhaça plastificado com glicerol (LEFAUX *et al.*, 2004), de glúten de trigo plastificado com glicerol, com o objetivo de encontrar precursores ideais para polímeros biodegradáveis (DOMENEK *et al.*, 2004), óleos a base de parafina, os quais são usados na produção de lubrificantes e surfactantes.

O 9º Congresso Brasileiro de polímeros de 2007, mostrou a grande importância no estudo de polímeros naturais, tais como o PHB e em especial da biodegradação, o que pode ser observado no grande número de trabalhos referente ao tema. O principal foco está na biodegradação de blendas ou misturas mecânicas. A utilização de solo simulado que consiste em uma mistura composta por 23 % de

terra, 23 % de matéria orgânica (esterco), 23 % de areia e 31% de água foi utilizado para a biodegradação de misturas de PHB com polietileno de baixa densidade (GABOARDI *et al.*, 2007; ROSA *et al.*, 2007). Estudo que utiliza como ensaio para de biodegradação coluna de solo de 12 cm com ambiente úmido em caixas plásticas arejadas foram utilizadas para observar a biodegradação de blendas de PCL/PHB-V, após 30 dias os filmes de PHB-V foram completamente degradados, a blenda PCL/PHB demora mais tempo para ser degradada, devido às possíveis interações entre os dois polímeros (GONÇALVES *et al.*, 2007). Outro estudo de biodegradação do PHB utilizou um sistema com base em normas DIN, ISSO e ASTM, constando de um aquário, onde foi depositado um composto orgânico de composição conhecida, nesse sistema é possível o controle da umidade do composto, esse sistema foi utilizado para estudar a biodegradação de blendas de PHB com bagaço de cana e palha de arroz (KOBAYASHI; AGNELLI, 2007).

A biodegradação de filmes de polialcanoatos, em ecossistemas tropicais tipo mangue, foi monitorada durante oito semanas em três regiões de mangue. A degradação foi observada nas mudanças de superfície e nos resíduos formados e expressa em porcentagem de perda de massa. Os resultados obtidos revelam que os copolímeros de poli(hidroxibutirato-cohidroxivalerato) e poli(hidroxibutirato-cohidroxihexonoato) se degradam de forma similar e em uma razão maior que o PHB puro, o que se deve, em parte, à superfície morfológica desses filmes, que apresentam maior porosidade quando comparado com o PHB puro. Esse fator mostra-se importante para a maior razão de biodegradação (SRIDEWI; BHUBALAN; SUDESH, 2006).

A biodegradação de filmes de PHB, PP (polipropileno) e blenda de PP/PHB por microorganismos de águas de rio poluído e efluente bruto de refinaria de petróleo foi avaliada. Os resultados mostram que a degradação do PHB ocorre tanto na fase amorfa como na fase cristalina, sendo mais intensa em efluente bruto da refinaria de petróleo, seguida da água de rio que recebeu o efluente tratado. O filme de PHB é mais facilmente degradado do que a blenda de PP/PHB, enquanto que o PP não sofre degradação (FARIA, 2009). Em estudos avaliando a biodegradação de filmes de PHB-V, PCL, PP e de suas blendas em solo, observou-se que os filmes apresentaram alterações, quanto à sua estrutura molar e morfologia, ocorrendo processos de biodegradação via erosão superficial, onde o filme de PHB-V se degradou completamente em 30 dias (GONÇALVES, 2009).

A biodegradação de embalagens de alimentos de PHB foi avaliada em vários ambientes, em água potável observou-se que não houve biodegradação, mas em ambiente contendo material orgânico, tais como resíduos e esgoto, as amostras foram degradadas em 90 dias. O que indica que a embalagem de PHB pode ser compostado com resíduos orgânicos comuns e o tempo de biodegradação é compatível com o tempo de compostagem normal. O uso de PHB em embalagens torna-se promissor, pois além de ser degradado posteriormente, sem maiores danos ao meio ambiente, também se apresentou com boa barreira contra a luz ultravioleta incidente, mostrando recomendado para a conservação de alimentos por períodos curtos e longos (BUCCI; TAVARES; SELL, 2007).

2.4. ANÁLISE TÉRMICA

A análise térmica é definida “como um grupo de técnicas em que uma propriedade da amostra é monitorada em função do tempo ou temperatura, enquanto a temperatura da amostra, em uma atmosfera específica é programada” (MAKENZIE, 1985). Este programa pode envolver aquecimento ou resfriamento, à uma razão fixa de mudança de temperatura constante, ou alguma seqüência destes.

Neste trabalho as técnicas de análise térmica utilizadas foram calorimetria exploratória diferencial (DSC), análise termogravimétrica (TG) e análise térmica diferencial (DTA).

2.4.1. ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA TG

A análise termogravimétrica ou termogravimetria é uma técnica em que a mudança de massa da amostra (perda ou ganho de massa) é determinada como uma função de temperatura ou/e de tempo. Ela mede a quantidade e taxa de mudança de massa de um material como uma função da temperatura ou do tempo em uma atmosfera controlada.

O princípio da medida baseia-se no registro da massa restante no suporte da amostra. Assim, torna-se possível o estudo de estabilidade térmica, determinação do

teor de umidade, proporção residual, intermediária ou final de massa, em determinadas temperaturas.

2.4.1. CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC) E ANÁLISE TÉRMICA DIFERENCIAL (DTA)

O princípio das técnicas DSC e DTA tem como base uma técnica na qual a diferença de temperatura entre a substância e o material de referência é medida em função da temperatura, enquanto a substância e o material de referência são submetidos a uma programação controlada de temperatura.

A DTA fornece na maioria das vezes resultados quantitativos, onde eventos térmicos que possam ocorrer com a amostra estejam acompanhados de variação de temperatura entre amostra e referência. A técnica de DSC fornece por sua vez medidas quantitativas dos eventos térmicos, indicando a energia envolvida na análise (WENDLANDT, 1985; CANEVAROLOJR, 2004).

A caracterização exploratória diferencial tem sido utilizada na caracterização térmica de polímeros. Eventos térmicos em polímeros como temperatura de transição vítrea, temperatura de fusão cristalina e de cristalização, composição de misturas poliméricas e reações de cura e de cinética de cristalização são alguns exemplos.

A temperatura de transição vítrea é o valor médio da faixa de temperatura que durante o aquecimento de um material polimérico, permite que as cadeias poliméricas da fase amorfa adquiram mobilidade. Abaixo da temperatura de transição vítrea, o polímero não tem energia interna suficiente para permitir o deslocamento de uma cadeia com relação a outra por mudanças conformacionais (CANEVAROLOJR, 2004).

A temperatura de fusão cristalina é o valor médio da faixa de temperaturas em que durante o aquecimento desaparecem as regiões cristalinas com a fusão dos cristalitos, neste ponto a energia do sistema atinge o nível necessário para vencer as forças intermoleculares secundárias entre as cadeias da fase cristalina, mudando do estado borrachoso para o estado viscoso (fundido). A temperatura de cristalização ocorre quando em uma dada temperatura, dentro da massa polimérica, um número

grande de cadeias poliméricas se organiza espacialmente de forma regular, com a formação de uma estrutura cristalina pontual. Em outros pontos as cadeias estão aptas para se ordenarem formando novos cristais até alcançar toda a massa polimérica, produzindo a cristalização da massa polimérica (CANEVAROLOJR, 2004).

2.4.2. TEORIA CINÉTICA

Para avaliar a análise cinética sob condições não isotermicas considera-se a equação cinética integral definida por:

$$\beta = \frac{AE}{Rg(\alpha)} \int_{E/RT}^{\infty} \frac{\exp(-z)}{z^2} dz, \quad (\text{Equação 9})$$

Onde $\beta = dT/dt$ é a razão de aquecimento (T é a temperatura e t é o tempo), $g(\alpha)$ é a forma integral do modelo de reação como função da extensão da reação de α , A é o fator pré-exponencial, E é a energia de ativação e R é a constante dos gases.

A estimativa dos parâmetros cinéticos é obtida pelo ajuste da Equação 9 aos dados experimentais. Como consequência, requer a avaliação da parte direita da Equação 9, conhecida como integral da temperatura. A dificuldade está no fato desta integral não ter exatamente uma solução analítica exata. Assim, torna-se conveniente a aproximação da integral de temperatura para algumas funções que fornecem estimativas adequadas a estes parâmetros cinéticos.

No trabalho realizado por Capela e Ribeiro (CAPELA; CAPELA; RIBEIRO, 2009), os parâmetros cinéticos são obtidos por meio do método isoconversional usando uma aproximação da integral de temperatura baseado na convergência da fração de Jacobi. Esta aproximação é a razão da função dada pela Equação 10:

$$\int_x^{\infty} \frac{\exp(-z)}{z^2} dz = \frac{\exp(-x)}{x} \frac{x^3 + 14x^2 + 46x + 24}{x^4 + 16x^3 + 72x^2 + 96x + 24} \quad (\text{Equação 10})$$

Neste caso as curvas experimentais apresentam a fração conversional, α , como função da temperatura pela razão de aquecimento, β . Para cada valor fixo de

α há um valor correspondente de temperatura T_α , valores de energia de ativação E_α e valores de fator pré exponencial A_α .

Substituindo a integral na Equação 9 pela aproximação dada na Equação 10, obtém-se a seguinte expressão para a razão de aquecimento β em função de $z_\alpha = 10^3 / RT_\alpha$

$$\beta = \frac{\exp(B_\alpha - E_\alpha z_\alpha)}{z_\alpha} \frac{E_\alpha^3 z_\alpha^3 + 14E_\alpha^2 z_\alpha^2 + 46E_\alpha z_\alpha + 24}{E_\alpha^4 z_\alpha^4 + 16E_\alpha^3 z_\alpha^3 + 72E_\alpha^2 z_\alpha^2 + 96E_\alpha z_\alpha + 24}, \quad (\text{Equação 11})$$

Onde a energia de ativação é em kJ/mol e o parâmetro é definido como:

$$B_\alpha = \ln \left(\frac{10^3 A_\alpha}{Rg(\alpha)} \right) \quad (\text{Equação 12})$$

A estimativa de E_α e B_α podem ser obtidas pelo ajuste não linear da Equação 11 para valores de β em função de x_α .

Uma vez determinada a função $g(\alpha)$ para cada fração isoconversional α , a estimativa para o fator pré exponencial de Arrhenius pode ser obtida a partir da Equação 12 e dada pela seguinte equação

$$\hat{A}_\alpha = \frac{R}{10^3} \exp(\hat{B}_\alpha) g(\alpha) \quad (\text{Equação 13})$$

2.5. CROMATOGRAFIA GASOSA

A cromatografia é uma técnica analítica de separação de substancias. A separação ocorre por interações entre fase móvel e fase estacionária, a fase estacionária compreende uma superfície ou recheio de uma coluna por onde um gás ou liquido (fase móvel) transporta um analito. As interações do analito com a fase estacionária e móvel são características dependentes da estrutura e do comportamento físico químico das amostras (COLLINS; BRAGA; BONATO, 1995).

Na cromatografia gasosa o analito tem que ser volátil sem se decompor. Algumas moléculas para serem analisadas por cromatografia gasosa passam por um processo de derivatização. Neste processo reações químicas são realizadas para tornar o analito em uma forma volátil. Em polímeros, por exemplo o PHB, onde há cadeias de alto valor de massa molar, pode-se realizar quebras de cadeias por

hidrólise e reagindo com outros solventes por reações de esterificação formar ésteres que são estruturas menores e voláteis.

O método direto para análises cromatográficas quantitativas envolve a preparação de uma série de soluções padrão de composições próximas à concentração do analito na amostra, com o objetivo de realizar uma calibração externa. Outro método que pode ser utilizado para análises quantitativas com maior precisão é a padronização interna. A utilização de padrão interno em análises cromatográficas tem o objetivo de minimizar algumas fontes de erros gerados pelo método direto, como por exemplo, incertezas no volume da amostra e na preparação dos padrões e problemas durante o processo de injeção. Na padronização interna uma quantidade de uma substância medida cuidadosamente, que atua como padrão interno é introduzida em cada padrão e na amostra e a razão entre as áreas dos picos do analito e do padrão interno funcionam como parâmetro analítico (LIGIERO *et al.*, 2009).

A validação de um método é um processo importante para que o mesmo possa ser aceito como uma metodologia oficial para uma determinada aplicação. Em cromatografia os procedimentos de validação são importantes, pois envolvem monitoramentos que dizem respeito à saúde pública, monitoramento ambiental, comércio exterior e controle de qualidade de produção.

Os parâmetros de validação incluem seletividade, faixa de trabalho, linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, sensibilidade, exatidão, precisão, robustez e incerteza de medição (RIBANI *et al.*, 2004). Especificidade ou seletividade estão relacionadas ao evento da detecção, se o método produz resposta a um analito apenas, ele é chamado específico, se produz respostas para vários analitos, mas distingue a resposta de um analito dos demais, ele é seletivo. A faixa de trabalho é a faixa de concentrações do analito que o método pode ser aplicado, dentro desta faixa há a faixa linear de trabalho, onde a resposta do sinal terá uma faixa linear com o analito ou o valor da propriedade. Sensibilidade é o parâmetro que demonstra a variação da resposta em função da concentração do analito e pode ser expressa pela inclinação da curva de regressão linear de calibração. Limite de detecção é o menor valor de concentração do analito que pode ser detectado pelo método, enquanto que o limite de quantificação é o menor valor que pode ser determinado com um nível aceitável de precisão e veracidade. A exatidão de um método é definida como sendo a concordância entre o resultado de

um ensaio e o valor de referência aceito como verdadeiro. A precisão é utilizada para avaliar a dispersão entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra em condições definidas. A robustez de um método de ensaio mede a sensibilidade que este apresenta face a pequenas variações. Os estudos de validação produzem dados de desempenho global do método e fatores de influência individuais que podem ser aplicados na estimativa da incerteza associada aos resultados do método (LEITE, 2002; LANÇAS, 2004).

Estudos de otimização e validação de metodologia cromatográfica (JAN *et al.*, 1995) para a determinação da proporção de PHB foram apresentados utilizando clorofórmio como solvente (CUI; BARFORD; RENNEBERG, 2007). A análise consiste na hidrólise em meio ácido utilizando ácido sulfúrico, seguido de esterificação com metanol, desta forma, os ésteres derivados do PHB e ácido benzóico (utilizado como padrão interno), podem ser analisados por cromatografia gasosa com detetor por ionização em chama (GC-FID), como forma de avaliar a pureza do PHB (OEHMEN *et al.*, 2005; BETANCOURT *et al.*, 2007). A esterificação em meio ácido também pode ser feita utilizando álcool isoamilico e ácido clorídrico, produzindo os ésteres 3-hidroxibutirato de isoamila. Este método apresenta a vantagem de não usar solvente clorado (SOUZA *et al.*, 2006b; SANTOS *et al.*, 2007).

Estudos de otimização e validação de método cromatográfico para determinação da proporção de HB foram apresentados usando clorofórmio (SANTOS, 2005). A análise consiste de hidrólise em meio ácido, seguida de esterificação com metanol, assim os ésteres 3-hidroxibutirato de metila, derivado do PHB e benzoato de metila empregado como padrão interno (PI) obtido da esterificação do ácido benzóico podem ser analisados por Cromatografia Gasosa com detector de ionização em chama (GC-FID) como forma de avaliação da pureza monomérica do PHB.

A esterificação em meio ácido também pode ser realizada com álcool isoamilico, produzindo os ésteres 3-hidroxibutirato de isoamila, porém neste método não se utiliza clorofórmio (SOUZA *et al.*, 2006a; SOUZA *et al.*, 2006b).

A otimização e validação de um método analítico eficiente para determinação simultânea de PHB e hidroxiácidos por cromatografia gasosa torna-se importante para avaliar com precisão a composição de filmes com diferentes proporções de

hidroxiácidos, os filmes submetidos ao processo de biodegradação e o estudo de possíveis mudanças na composição inicial.

3. OBJETIVOS

Caracterizar por meio de técnicas de análise térmica e cromatografia gasosa a modificação de cadeia do PHBV4% com os hidroxiácidos ácido málico, glicólico, mandélico e tartárico e a biodegradação em solo destes filmes.

4. EQUIPAMENTOS, PROCEDIMENTOS E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

4.1. MATERIAIS

O PHBV4% na forma de grânulos fornecido pela PHB Industrial (Serrana, SP) foi produzido industrialmente por rota biossintética a partir de sacarose invertida, com a seguinte proporção de PHB/PHV 95/4%.

Os hidroxiácidos: ácido glicólico com massa molar $76,04 \text{ g mol}^{-1}$ e 99 % de pureza e o ácido mandélico com massa molar $152,15 \text{ g mol}^{-1}$ e 98 % de pureza são ambos da marca Acros. Ácido tartárico com massa molar $150,09 \text{ g mol}^{-1}$ e 99,5 % de pureza (Merck) e ácido málico com massa molar de $134,09 \text{ g mol}^{-1}$ e 99 % de pureza (Synth), todos os reagentes hidroxiácidos são PA.

Hidróxido de potássio de massa molar $56,11 \text{ g mol}^{-1}$, pureza 87,8 % (Mallinckrodt), e Hidróxido de lítio de massa molar $23,95 \text{ g mol}^{-1}$ (Mallinckrodt).

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

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

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

4.2. CONDIÇÕES E PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

4.2.1. MODIFICAÇÃO DO PHBV4% COM HIDROXIÁCIDOS

4.2.1.1. Modificação do PHBV4% com hidroxiácidos

Solubilizou-se os grânulos de PHBV4% em clorofórmio mantendo-se durante 10 min em banho de aquecimento com areia (100°C) (banho de aquecimento Tecnal, modelo TE-800), seguida de agitação (mesa agitadora Marconi, modelo Ma-141) de 90 rotações por min durante 20 h a temperatura ambiente.

Solubilizou-se o hidroxiácido em acetona, transferiu-se a solução para o frasco contendo a solução de PHBV4%, de modo a preparar filmes

PHB/hidroxiácidos com diferentes proporções de hidroxiácidos. As proporções das amostras de filme de PHBV4%/hidroxiácidos preparadas foram 90/10 e 80/20 massa/massa.

Submeteu-se os frascos a condições de reação de 110 °C durante 4 h.

Foram preparados filmes de PHBV4%, de acordo com as condições citadas anteriormente. A Figura 3 apresenta um esquema do procedimento utilizado na preparação dos filmes.

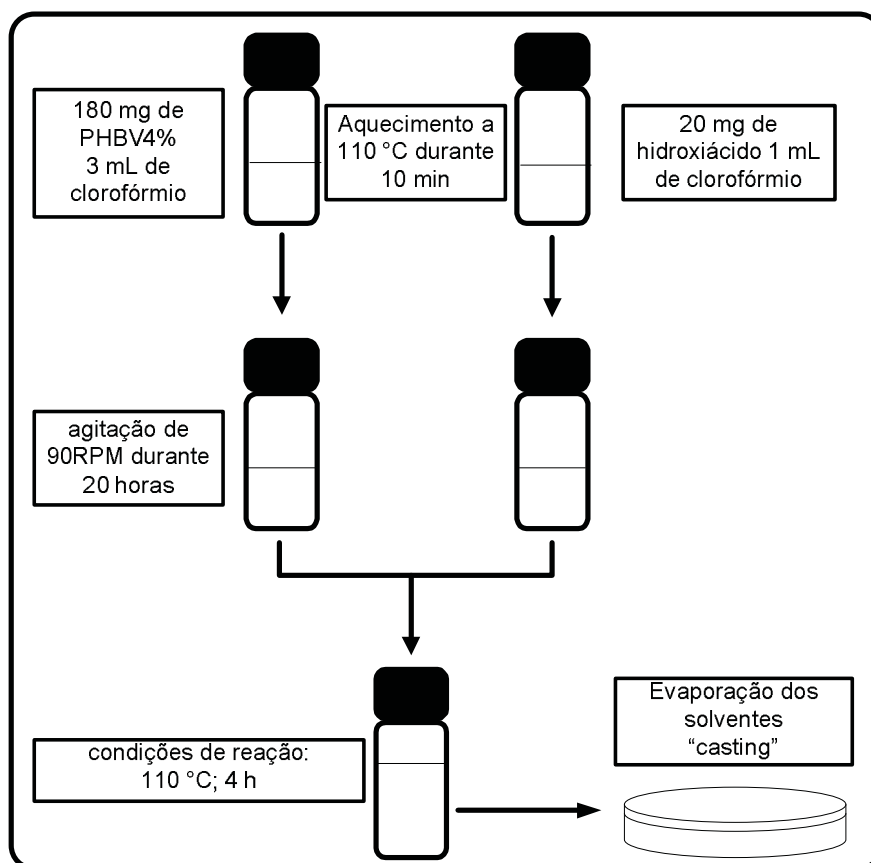


Figura 3: Esquema simplificado do procedimento de preparação dos filmes

4.2.1.2. Preparação e avaliação dos filmes de PHBV4%/hidroxiácidos

A mistura PHBV4%/hidroxiácidos (obtida no item 4.2.1.1) foi mantida em capela sem exaustão durante 24 h para evaporação dos componentes voláteis (clorofórmio e acetona) e conseqüente formação das amostras de filme de PHBV4%/hidroxiácidos, além de amostras PHBV4%, obtida por procedimento similar ao descrito para a mistura. A evaporação natural se faz necessária para garantir a

formação de filmes de forma lenta, evitando que a velocidade de secagem interfira na organização das cadeias do PHBV4%/hidroxiácido durante o processo de cristalização.

4.2.2. DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE ACIDEZ

4.2.2.1. Determinação do índice de acidez do PHBV4%

Solubiliza-se 3 g de filme de PHBV4% em 50 mL de clorofórmio mantendo-se durante 10 minutos em banho de aquecimento com areia (110 °C), seguida de agitação a 90 RPM durante 20 h, à temperatura ambiente.

Adiciona-se algumas gotas de fenolftaleína à solução polimérica.

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

4.2.2.2. Determinação do índice de acidez das misturas de PHBV4%/hidroxiácidos

Prepararam-se misturas de PHBV4% com os quatro hidroxiácidos: ácido glicólico, ácido mandélico, ácido málico e ácido tartárico. As proporções das misturas preparadas foram de 80/20 PHBV4%/hidroxiácido. Após a solubilização do PHBV4%, adicionaram-se as massas de hidroxiácidos aos frascos, em seguida os frascos foram submetidos às condições de reação de temperatura de 110 °C durante 4 h. As amostras foram tituladas de forma análoga a titulação do PHBV4%.

4.2.3. ESTUDO DE COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS FILMES DE PHBV4%/HIDROXIÁCIDOS

4.2.3.1. Análise empregando DSC

Emprega-se Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) (Módulo DSC 2910 da TA Instruments) na determinação da temperatura de transição vítrea (T_g), temperatura de cristalização (T_c) e temperatura de fusão cristalina (T_m).

Faz-se um tratamento térmico aquecendo-se as amostras de 40 °C até 190 °C com razão de aquecimento de 20 °C min⁻¹ e em 190 °C mantém-se durante 5 minutos. Em seguida, resfria-se bruscamente com nitrogênio líquido desde 190 °C até -50 °C e novamente aquece-se a 10 °C min⁻¹ até 200 °C para determinação da, T_g , T_c e T_m .

Analisa-se as amostras, com massa de aproximadamente 6 mg em cadinho de alumínio selado, assim como o de referência sob atmosfera inerte de N₂ com vazão de 50 mL min⁻¹.

4.2.3.2. Avaliação cinética

As análises foram realizadas nas mesmas condições para as análises de DSC das amostras, porém, os parâmetros cinéticos foram obtidos utilizando-se as razões de aquecimento de 5, 10 e 15 °C min⁻¹, para as amostras de PHBV4%, PHBV4%/AT e PHBV4%/AM.

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

Para a análise por TG-DTA (Módulo de análise térmica Simultâneo SDT 2960, da TA Instruments), aqueceu-se cadinhos de alumina abertos para amostras de PHBV4% e dos hidroxiácidos (aproximadamente 6 mg) e referência (α -alumina) com razão de aquecimento de 20 °C min⁻¹ desde 40 até 450 °C sob atmosfera inerte (N₂) com vazão de 50 mL min⁻¹.

4.2.4. BIODEGRADAÇÃO DAS AMOSTRAS DE PHBV4%/HIDROXIÁCIDOS

Os filmes de PHBV4%, PHBV4%/AG e PHBV4%/AM nas proporções 80/20, com espessura de 0,01 cm, foram submetidos a ensaio de biodegradação, que consistiu em deixar as amostras enterradas em solo com $112,0 \text{ g dm}^{-3}$ de matéria orgânica e pH 7,0 dentro de uma estufa de plantas. A temperatura média anual foi de $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e manteve-se a umidade do solo. As amostras foram acondicionadas em potes de aproximadamente 250 mL com um furo no fundo. Os filmes foram enterrados na metade do solo do pote. Os ensaios foram feitos em triplicatas e analisados periodicamente por TG-DTA, DSC e GC-FID. A Figura 4 apresenta o ambiente onde foi realizado o ensaio.



Figura 4: Foto com as amostras submetidas ao ensaio de biodegradação

4.2.5. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE PHBV4% E HIDROXIÁCIDOS POR GC-FID

Uma solução reagente foi preparada adicionando 80 mL de álcool isoamílico, contendo 8 % de ácido clorídrico concentrado e 0,12 % (m/v) de ácido benzóico (padrão interno-PI).

Em frascos (8 mL) foram pesados grânulos do padrão de PHB (Sigma-Aldrich), e adicionados 3 mL de solução reagente. Após aquecimento de $100 \text{ }^{\circ}\text{C}$ em

banho de areia durante 4 horas as amostras foram resfriadas rapidamente em banho de água durante 10 minutos. Após adição de 3 mL de água deionizada e agitação manual vigorosa, os frascos foram mantidos em repouso (1 hora) para separação das fases.

Alíquotas de 1,0 μL foram diretamente injetadas manualmente, no GC-FID (CP-3380 da Varian) para separação na coluna ZBWAX (100% polietilenoglicol, Phenomenex, (30 m x 0,53 mm x 0,25 μm) e detecção por FID. Utilizou-se o modo *splitless*, portanto sem divisão de amostra, tendo em vista o baixo limite de detecção do equipamento para a resposta dos hidroxiácidos.

As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 230 e 260 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente. A coluna foi aquecida de 90 a 220 $^{\circ}\text{C}$ com razão de 8 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e isoterma em 220 $^{\circ}\text{C}$ de 3 min. A sensibilidade do detector foi mantida no valor máximo (Range 11). Utilizou-se hélio como gás de arraste na vazão de 8 mL min^{-1} . A vazão dos gases para a chama do detector foi de 40 mL min^{-1} de hidrogênio, 290 mL min^{-1} de ar sintético e o gás auxiliar utilizado foi o hélio na vazão de 36 mL min^{-1} .

As amostras de filmes de PHBV4%/AM e PHBV4%/AG foram submetidas ao mesmo tratamento de preparação dos padrões, utilizando-se massa de aproximadamente 0,018 g, considerando o intervalo de linearidade da curva de resposta obtida com os padrões de PHBV4%, AT e AM para determinação simultânea dos ésteres isoamílicos.

4.2.6. DETERMINAÇÃO DE MASSA MOLAR VISCOSIMÉTRICA

Preparou-se uma solução polimérica de PHBV4%, aquecendo 1 g de PHBV4% em 25 mL de clorofórmio a 110 $^{\circ}\text{C}$ por 10 min em banho de areia (Banho de aquecimento Tecnal, modelo TE-800)), seguida de agitação (Mesa agitadora Marconi, modelo Ma-141) de 90 rotações por minuto durante 20 horas à temperatura ambiente.

Preparou-se 6 soluções poliméricas com concentrações de 0,02 a 0,008 g. mL^{-1} .

Utilizou-se um viscosímetro Ostwald Fenske calibrado número 150. Para cada medida, deixou-se o viscosímetro submerso em banho de aquecimento com água a temperatura de 30 $^{\circ}\text{C}$ por 15 minutos. Para cada solução submersa no banho, mediu-

se em triplicata os valores de tempo de escoamento. Mediu-se o tempo de escoamento das soluções com um cronômetro.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O estudo dos filmes de PHBV4% preparados na presença de hidroxiácidos avalia as possíveis modificações que estes compostos podem inferir no comportamento térmico do PHB. Os hidroxiácidos possuem grupos reativos carboxílicos e hidroxílicos e sob as condições de reação podem ocorrer interações entre cadeias do PHBV4% e moléculas de hidroxiácidos ou estes atuarem como aditivos. As proporções utilizadas foram 80/20 e 90/10 m/m, PHBV4%/hidroxiácidos, pois, foram as máximas proporções de hidroxiácidos onde observou-se a formação de filmes poliméricos.

5.1. DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE ACIDEZ

Utilizando-se procedimento de titulação ácido-base em meio etanólico seguindo a orientação do método teste padrão, designação D1639 da *American Society for Testing and Materials* (ASTM)(ASTM, 2000), determinou-se o índice de acidez do PHBV4% obtendo-se como resultado um valor de 0,93 mg de hidróxido de potássio para neutralizar um grama de PHBV4%.

Deste modo, a determinação do índice de acidez indica a presença de grupamentos carboxílicos livres aptos a reagirem com os modificadores de cadeia, neste caso os hidroxiácidos.

As proporções das soluções de PHBV4%/hidroxiácidos tituladas foram 80/20 PHBV4%/hidroxiácido. O índice de acidez teórico para as misturas foi calculado utilizando-se a Equação 1 e a Equação 2 e o índice de acidez experimental foi calculado de acordo com a Equação 3. Os valores dos índices de acidez teóricos e experimentais estão apresentados na Tabela 1.

A partir dos valores de índice de acidez da Tabela 1, observa-se que os valores experimentais são todos maiores que os teóricos, isto indica que a presença dos hidroxiácidos provoca quebra de cadeia do PHBV4%. O índice de acidez referente à mistura PHBV4%/AM apresenta a maior diferença de valores experimentais e teóricos, sendo o hidroxiácido que contribui com o maior número de quebras de cadeia do polímero.

Tabela 1: Valores de índice de acidez teórico e experimental do PHBV4% e PHB4%/hidróxiácidos na proporção 80/20

Mistura PHBV4%/hidróxiácido	Índice de acidez teórico (mg de KOH por grama de mistura)	Índice de acidez experimental (mg de KOH por grama de mistura)
PHBV4%/AG	48,5	55,0
PHBV4%/AMn	47,7	89,3
PHBV4%/AM	48,2	137,3
PHBV4%/AT	51,2	84,6

5.2. DETERMINAÇÃO DA MASSA MOLAR VISCOSIMÉTRICA DE FILME DE PHBV4% E DOS FILMES DE PHBV4%/HIDROXIÁCIDOS

A determinação da massa molar viscosimétrica foi realizada de acordo com o procedimento 4.2.6. Os cálculos foram feitos utilizando-se as equações descritas no item 2.2.2. As constantes de Markin-Houwink para o sistema PHB clorofórmio a 30 °C são $K = 1,18 \cdot 10^{-4} \text{ g / dL}$ e $a = 0,78$ (SANTOS, 2005).

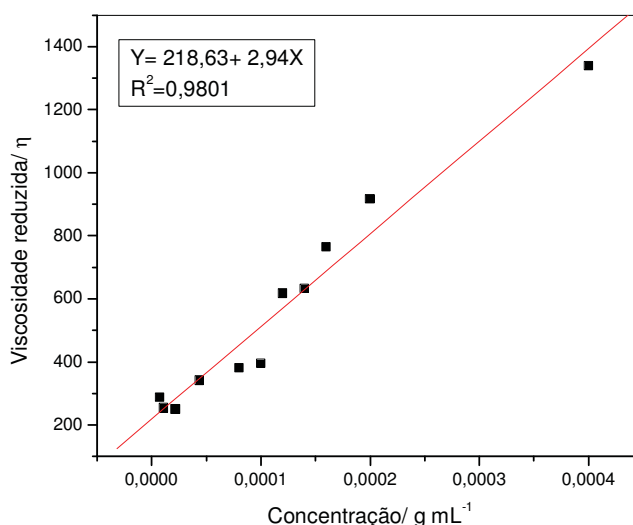


Figura 5: Gráfico para a determinação da viscosidade intrínseca para soluções diluídas de PHBV4%

O valor obtido na extrapolação da equação linear apresentada na Figura 5 foi de 218,63, utilizando-se este valor na Equação 8, obtém-se o valor da massa molar viscosimétrica de 296192 g/mol para o PHBV4%.

Os valores obtidos para o cálculo da viscosidade intrínseca estão apresentados na Tabela 2. Na Tabela 3 estão apresentados os valores de massa molar viscosimétrica média para as amostras de PHBV4%/hidróxiácidos. As

proporções 80/20 apresentam maior quebra de cadeia, o que é observado pelos baixos valores massa molar viscosimétrica média.

Tabela 2: Valores das viscosidades para as soluções diluídas de PHBV4%

Concentração (g/mL)	Tempo (s)	Viscosidade relativa	Viscosidade específica	Viscosidade reduzida (mL/g)
0,0400	1200	54,55	53,55	1338,75
0,0200	425	19,32	53,55	916,00
0,0160	291	13,23	18,32	764,38
0,0140	217	9,86	12,23	632,86
0,0120	185	8,41	8,86	617,50
0,0100	109	4,95	3,95	395,00
0,0080	89	4,05	3,05	381,25
0,0044	55	2,45	1,45	329,72
0,0022	35	1,55	0,55	249,51
0,0010	28	1,28	0,28	253,16
0,0007	27	1,21	0,21	287,67

Tabela 3: Massa molar viscosimétrica média (M) para os filmes de PHBV4%/hidroxiácidos

Proporção	massa molar viscosimétrica média (M/gmol ⁻¹)			
	PHBV4%/AM	PHBV4%/AMn	PHBV4%/AT	PHBV4%/AG
90/10	48763	28614	89431	-
80/20	24832	12401	68779	-

As Figuras 6-11 apresentam a viscosidade reduzida em função da concentração para as soluções poliméricas de PHBV4%/AT nas proporções 80/20 e 90/10, PHBV4%/AM nas proporções 80/20 e 90/10 e para as soluções de PHBV4%/AMn nas proporções 80/20 e 90/10, respectivamente. As soluções poliméricas de PHBV4%/AG nas proporções 80/20 e 90/10 não apresentaram linearidade para a viscosidade reduzida em função da concentração.

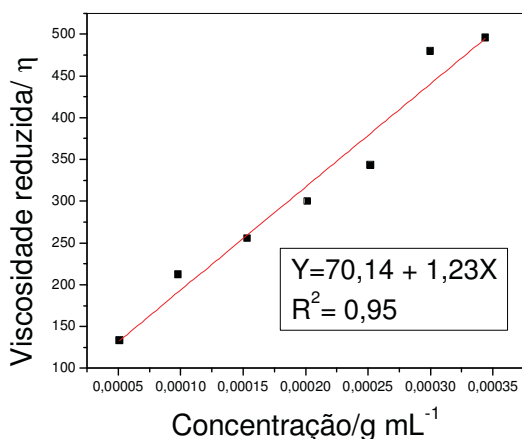


Figura 6: Gráfico para a determinação da viscosidade intrínseca para soluções diluídas de PHBV4%/AT 80/20

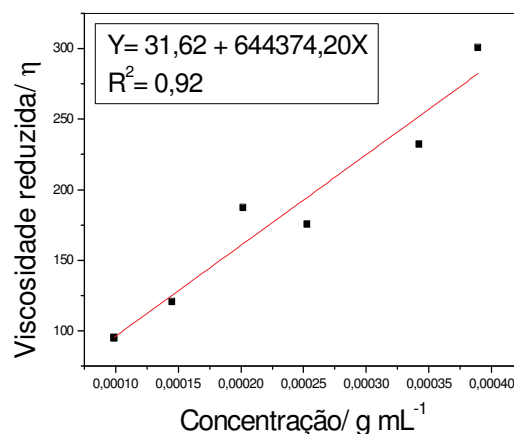


Figura 9: Gráfico para a determinação da viscosidade intrínseca para soluções diluídas de PHBV4%/AM 90/10

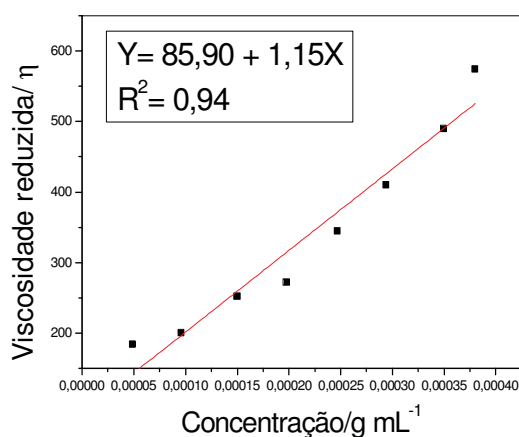


Figura 7: Gráfico para a determinação da viscosidade intrínseca para soluções diluídas de PHBV4%/AT 90/10

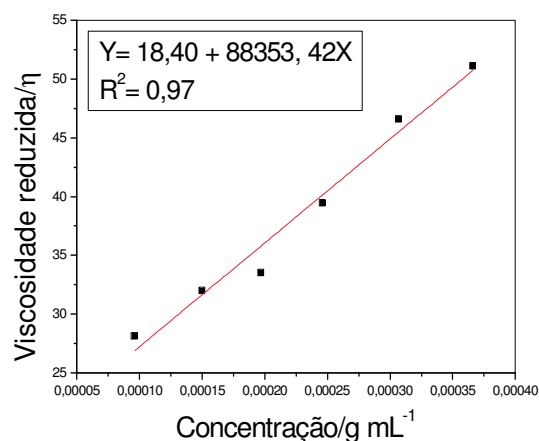


Figura 10: Gráfico para a determinação da viscosidade intrínseca para soluções diluídas de PHBV4%/AMn 80/20

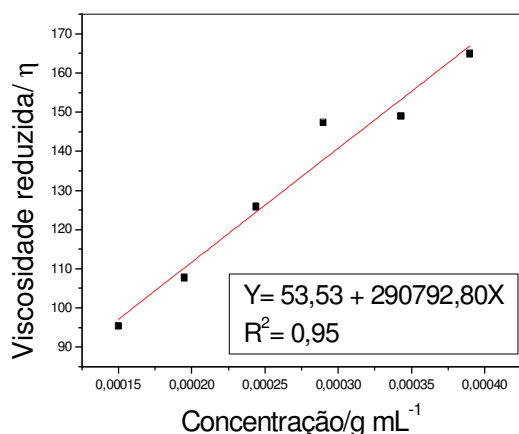


Figura 8: Gráfico para a determinação da viscosidade intrínseca para soluções diluídas de PHBV4%/AM 80/20

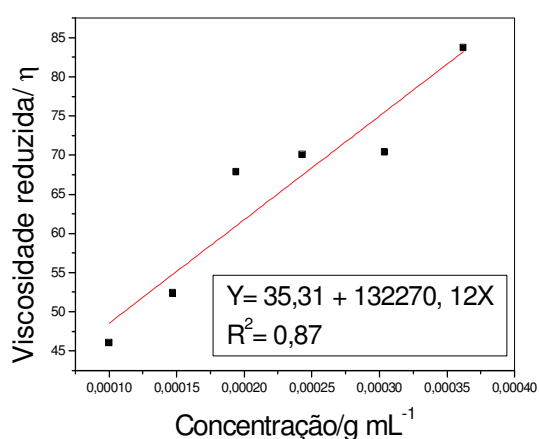


Figura 11: Gráfico para a determinação da viscosidade intrínseca para soluções diluídas de PHBV4%/AMn 90/10

A partir dos valores de massa molar viscosimétrica média pode-se observar que a presença de hidroxiácidos provoca quebra de cadeias do PHBV4%, o que está de acordo com os valores de índices de acidez para as misturas poliméricas apresentadas no item 5.1, onde as misturas apresentam valores experimentais de índice de acidez maiores que os valores teóricos, indicando possíveis quebras de cadeias o que foi confirmado pelos valores de massa molar viscosimétrica. Para a amostra de filme de PHBV4%/AG a ausência de linearidade das soluções para a determinação da massa molar viscosimétrica média pode estar relacionada com a formação de uma estrutura polimérica parcial diferente do PHBV4%, apresentando um comportamento não linear, pois, catalisando quebras de cadeia do PHBV4% os hidroxiácidos podem estar formando pontos de interação com as cadeias.

5.3. ESTUDO DE COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS FILMES DE PHBV4% E DOS HIDROXIÁCIDOS

5.3.1. ESTUDO DO COMPORTAMENTO TÉRMICO POR TG-DTA

5.3.1.1. Filmes de PHBV4%

Para avaliação da modificação de cadeia do PHBV4% com hidroxiácidos estudou-se o comportamento térmico de filmes de PHBV4%, preparado de acordo com o procedimento experimental descrito no item 4.2.1.1.

As curvas TG-DTA do comportamento térmico de amostras de filmes de PHBV4% estão apresentadas na Figura 12. A curva TG (Figura 12) mostra o comportamento térmico do PHBV4% com uma única e completa etapa de degradação térmica entre 270 e 330 °C, que corresponde ao pico endotérmico em 310 °C da curva DTA, além desta apresentar o pico indicativo da fusão do PHBV4% em 178 °C.

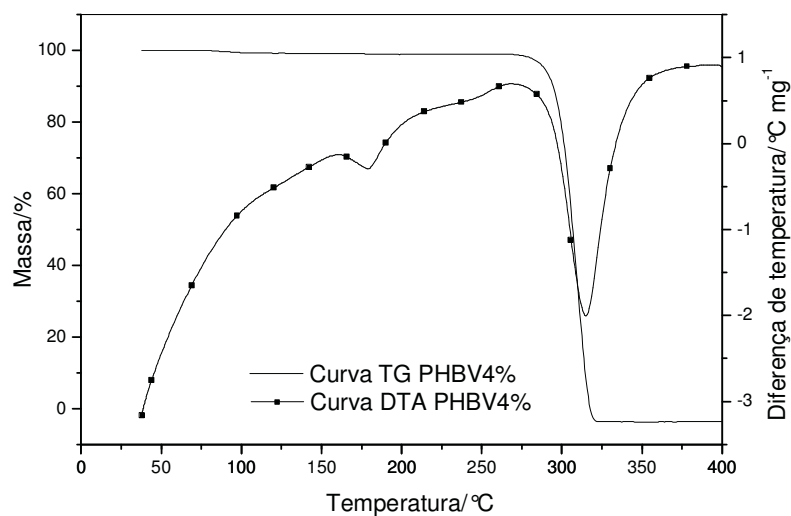


Figura 12: Curvas TG-DTA obtidas em N_2 (50 mL min^{-1}) para estudo do comportamento térmico do PHBV4% com razão de aquecimento de $20 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ e massa de amostra de 6 mg.

5.3.1.2. Hidroxiácidos

A Figura 13 apresenta as curvas TG-DTA para o ácido tartárico. A curva TG apresenta duas etapas distintas de perda de massa, a primeira no intervalo de 170 a 280 $^\circ\text{C}$ correspondente à perda de massa de 92 %, atribuída a vaporização seguida de outra perda de massa, 8 %, no intervalo de 280 a 430 $^\circ\text{C}$ atribuída a decomposição do pirolisado.

A curva DTA apresenta picos endotérmicos de fusão em 175 $^\circ\text{C}$ e pico referente à primeira etapa de perda de massa em 250 $^\circ\text{C}$. Observa-se em 329 $^\circ\text{C}$ pico exotérmico referente a uma reação oxidação do resíduo pirolizado em correspondência com a segunda etapa de perda de massa na curva TG.

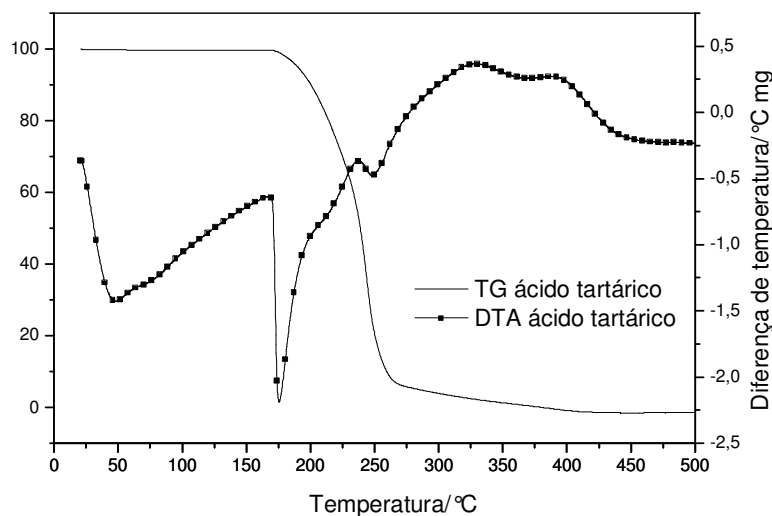


Figura 13: Curvas TG-DTA obtidas em N_2 (50 mL min^{-1}) para estudo do comportamento térmico do ácido tartárico com razão de aquecimento de $20 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ e massa de amostra de 6 mg.

A Figura 14 apresenta as curvas TG-DTA para o ácido glicólico. A curva TG apresenta duas etapas de perda de massa, a primeira no intervalo de 74,5 a 205,8 $^\circ\text{C}$ correspondente a 85 % de perda de massa atribuída à vaporização, a segunda no intervalo de 205 a 450 $^\circ\text{C}$, equivalente à perda de 15 % de massa devido à decomposição do resíduo porolizado.

Observa-se na curva DTA pico endotérmico referente à fusão em 83,7 $^\circ\text{C}$ e pico endotérmico pouco acentuado em 151 $^\circ\text{C}$ referente à primeira etapa de perda de massa. O pico exotérmico em 298,3 $^\circ\text{C}$ é referente à segunda etapa de perda de massa na curva TG.

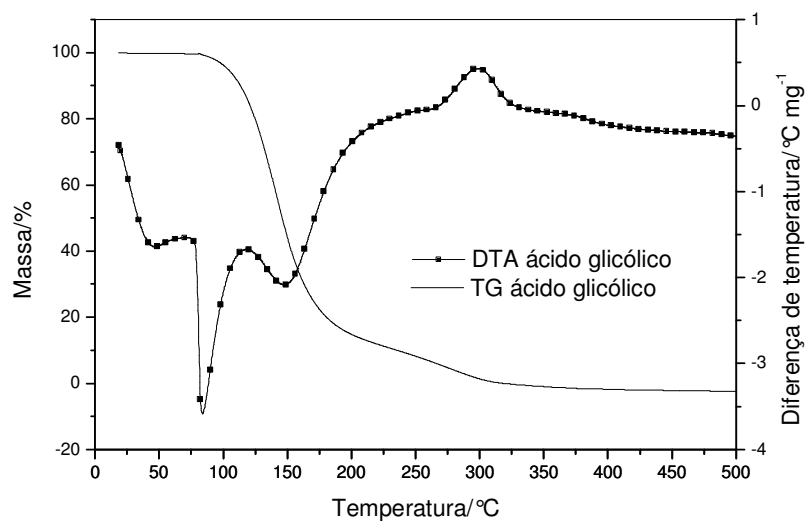


Figura 14: Curvas TG-DTA obtidas em N_2 (50 mL min^{-1}) para estudo do comportamento térmico do ácido glicólico com razão de aquecimento de $20 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ e massa de amostra de 6 mg.

A Figura 15 apresenta as curvas TG-DTA para o ácido málico. A curva TG apresenta uma etapa principal de perda de massa no intervalo de 185 a 287 $^\circ\text{C}$, correspondente a 95 % de perda de massa, atribuída a vaporização do ácido málico. A curva DTA apresenta picos endotérmicos referente à fusão em 137,3 $^\circ\text{C}$ e à vaporização em 265 $^\circ\text{C}$.

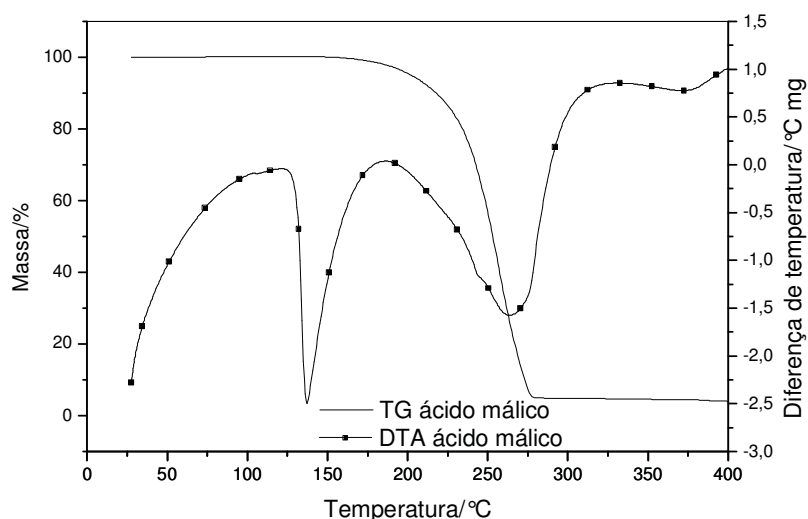


Figura 15: Curvas TG-DTA obtidas em N_2 (50 mL min^{-1}) para estudo do comportamento térmico do ácido málico com razão de aquecimento de $20 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ e massa de amostra de 6 mg.

A Figura 16 apresenta as curvas TG-DTA para o ácido mandélico com três etapas de perda de massa. A primeira, no intervalo de temperatura de 100 a 230 °C, com perda de 85 %, atribuída à vaporização, a segunda etapa no intervalo de 230 a 344 °C e a terceira etapa no intervalo de 344 a 539 °C, que corresponde à perda de 15,3 % e 3,5 % de massa, respectivamente, atribuída à decomposição oxidativa do resíduo pirolisado.

A curva DTA apresenta pico endotérmico de fusão em 123,7 °C e pico exotérmico em 296,5 °C, atribuído à combustão de resíduo de degradação térmica do ácido mandélico.

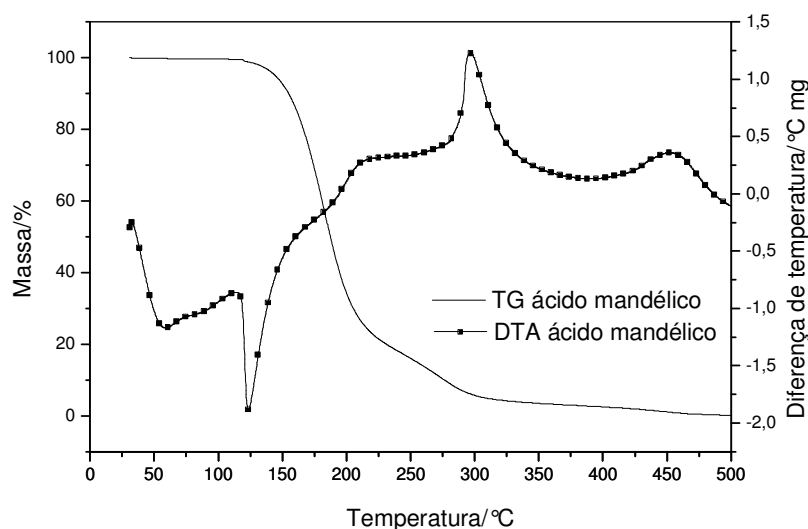


Figura 16: Curvas TG-DTA obtidas em N₂ (50mL min⁻¹) para estudo do comportamento térmico do ácido mandélico com razão de aquecimento de 20 °C min⁻¹ e massa de amostra de 6 mg.

5.3.2. ESTUDO DO COMPORTAMENTO TÉRMICO POR DSC

5.3.2.1. Filmes de PHBV4%

Os filmes de PHBV4% foram analisados por DSC, e as curvas referentes ao primeiro e segundo aquecimentos estão apresentadas na Figura 17.

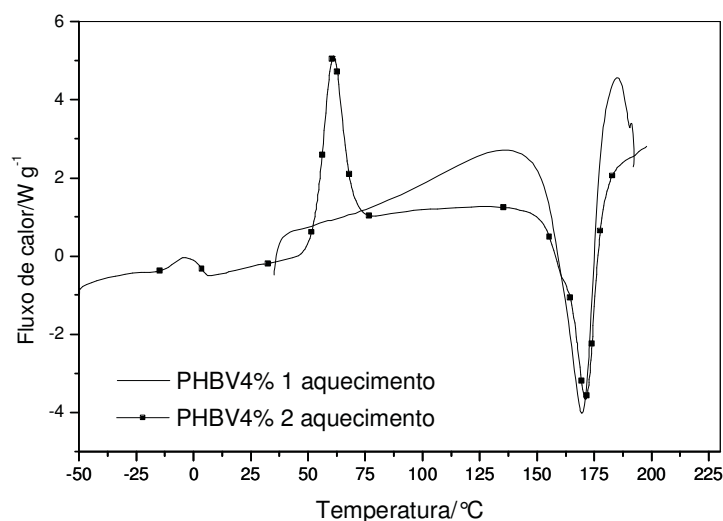


Figura 17: Curvas DSC obtidas com cadinho de alumínio selado para o estudo do comportamento térmico dos filmes de PHBV4% para o primeiro e segundo aquecimentos em atmosfera de N₂ (50 mL min⁻¹), razão de aquecimento de 20 °C min⁻¹ e massa de amostra de 6 mg.

A curva DSC no primeiro aquecimento é referente ao PHB cristalino (KOPINKE; MACKENZIE, 1997). O pico endotérmico em 169,7 °C é atribuído à fusão e baseando-se em um valor de referência (146,0 J g⁻¹) para um polímero de PHB teoricamente 100 % cristalino (ROSA; FRANCO; CALIL, 2001) pode-se calcular a porcentagem cristalizada como 40,1 %. O PHBV4% apresenta o comportamento térmico referente ao PHB homopolímero.

A curva DSC (Figura 17) para o segundo aquecimento foi obtida após *quenching* (resfriamento rápido) da amostra fundida a 190 °C. Observa-se uma variação de linha de base indicativa da transição vítrea em 4 °C, pico exotérmico de cristalização em aproximadamente 61 °C e pico endotérmico de fusão para o PHBV4% em 171,2 °C (KOPINKE; MACKENZIE, 1997).

Com base nas curvas DSC (Figura 17) foram calculados os valores de entalpia de fusão (ΔH_f), porcentagem cristalizada (%crist1) e temperatura de fusão (T_{m1}), temperatura de transição vítrea (T_g), temperatura de cristalização (T_c), entalpia de cristalização (ΔH_c), porcentagem cristalizada (%crist2) e temperatura de fusão (T_{m2}). Estes valores estão apresentados na Tabela 4.

A presença de hidroxivalerato (PHV) nas amostras de PHB influencia na porcentagem cristalizada que diminui com o aumento de PHV, devido ao aumento da fase amorfa e também na dependência do crescimento de regiões cristalinas nas

condições de cristalização (GUNARATNE; SHANKS, 2005). Neste trabalho a amostra de PHBV4% apresenta poucas alterações em relação ao PHB homopolímero.

Tabela 4: Parâmetros obtidos a partir das curvas de DSC apresentadas na Figura 17

Amostra	1º Aquecimento			2º Aquecimento				
	$\Delta H_f/Jg^{-1}$	%crist1	$T_{m1}/^{\circ}C$	$T_g/^{\circ}C$	$T_c/^{\circ}C$	$\Delta H_c/Jg^{-1}$	%crist2	$T_{m2}/^{\circ}C$
PHBV4%	58,5	40,1	169,7	4,0	61,0	36,1	38,8	171,2

5.3.2.2. Hidroxiácidos

As curvas DSC indicando as temperaturas de fusão dos hidroxiácidos estão apresentadas na Figura 18 e os valores correspondentes à fusão estão apresentados na Tabela 5.

A partir dos valores apresentados na Tabela 5, observa-se que o ácido tartárico é o único hidroxiácido que apresenta temperatura de fusão mais próxima à do PHB (176,6 °C), os demais apresentam temperaturas de fusão menores que à do PHB.

Tabela 5: Temperaturas de fusão dos hidroxiácidos

Hidroxiácido	Temperatura de fusão (°C)	Valores teóricos (BUDAVARI, 2001)
Ácido glicólico	81,7	80
Ácido málico	137,8	131-132
Ácido mandélico	124,7	119
Ácido tartárico	176,6	168-170

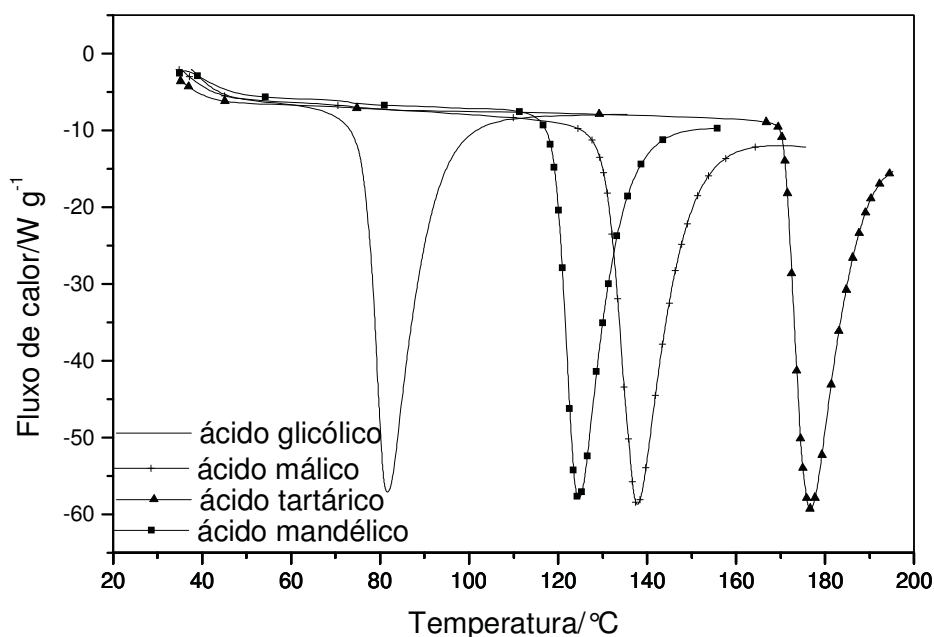


Figura 18: Curvas DSC do comportamento térmico dos hidroxiácidos, obtidas em cadinho de alumínio selado em atmosfera inerte de N_2 (50 mL min^{-1}), razão de aquecimento de $20 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ e massa de amostra de 6 mg.

5.4. ESTUDO DO COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS FILMES DE PHBV4%/HIDROXIÁCIDOS

Cada hidroxiácido apresenta estrutura química distinta dos demais, o que possibilita que cada um possa interagir ou atuar de modo diferente nas misturas com o PHB, formando uma nova estrutura polimérica ou atuando como um plastificante ou aditivo.

5.4.1. ESTUDO DO COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS FILMES DE PHBV4%/HIDROXIÁCIDOS POR ANÁLISE TERMOGRAVIMETRICA (TG) E ANÁLISE TÉRMICA DIFERENCIAL (DTA)

Os filmes de PHBV4%/hidroxiácidos foram analisados por TG-DTA. As curvas analisadas tiveram como parâmetro a curva de degradação do PHBV4%. Os resultados obtidos a partir das curvas apresentadas da Figura 19 até a Figura 22 estão apresentados na Tabela 6 e Tabela 7.

A curva TG para a proporção PHBV4%/AG 80/20 apresenta três etapas de perda de massa, a segunda etapa corresponde ao intervalo de perda de massa referente ao ácido glicólico puro e a terceira referente à degradação térmica do PHBV4%. A proporção PHBV4%/AG 90/10 apresenta apenas duas etapas de perda de massa, a primeira referente à degradação térmica do ácido glicólico e a segunda referente à degradação do PHBV4% como pode ser observado na Tabela 6.

As curvas DTA apresentam pico endotérmico de fusão em aproximadamente 160 °C e pico endotérmico de degradação em aproximadamente 309 °C do PHBV4%, como podem ser observados na Tabela 7. Observa-se também um pico pouco pronunciado para estas amostras em aproximadamente 130 °C, que pode ser referente à volatilização do AG.

Tabela 6: Valores das etapas de perda de massa para os filmes de PHBV4%/hidroxiácidos

Amostra	Perda de massa /%	Intervalo de temperatura (°C)
PHBV4%/AG 80/20	7,6	92-180
	6,6	200-260
	80,4	260-350
PHBV4%/AG 90/10	10,0	180-260
	89,1	206-350
PHBV4%/AT 80/20	7,5	134-250
	94,6	250-350
PHBV4%/AT 90/10	3,8	66-190
	94,2	250-350
PHBV4%/AM 80/20	92,8	180-350
PHBV4%/AM 90/10	101,3	180-350
PHBV4%/AMn 80/20	98,1	180-350
PHBV4%/AMn 90/10	93,8	180-350

Tabela 7: Valores dos eventos térmicos referentes às curvas DTA dos filmes de PHBV4%/hidroxiácidos

Amostra	Evento térmico (°C)				
	T _{m1} PHBV4%	Degradação do PHBV4%	Volatilização ac. glicólico	Fusão ac. málico	Degradação ac. Mandélico
PHBV4%/AG 80/20	158,5	308,3	129,2	-	-
PHBV4%/AG 90/10	168,2	309,9	137,8	-	-
PHBV4%/AT 80/20	169,7	309,4	-	-	-
PHBV4%/AT 90/10	168,2	308,9	-	-	-
PHBV4%/AM 80/20	159,2	308,8	-	125,6	-
PHBV4%/AM 90/10	159,6	307,6	-	131,9	-
PHBV4%/AMn 80/20	155,4	306,9	-	-	112,5
PHBV4%/AMn 90/10	160,9	304,1	-	-	-

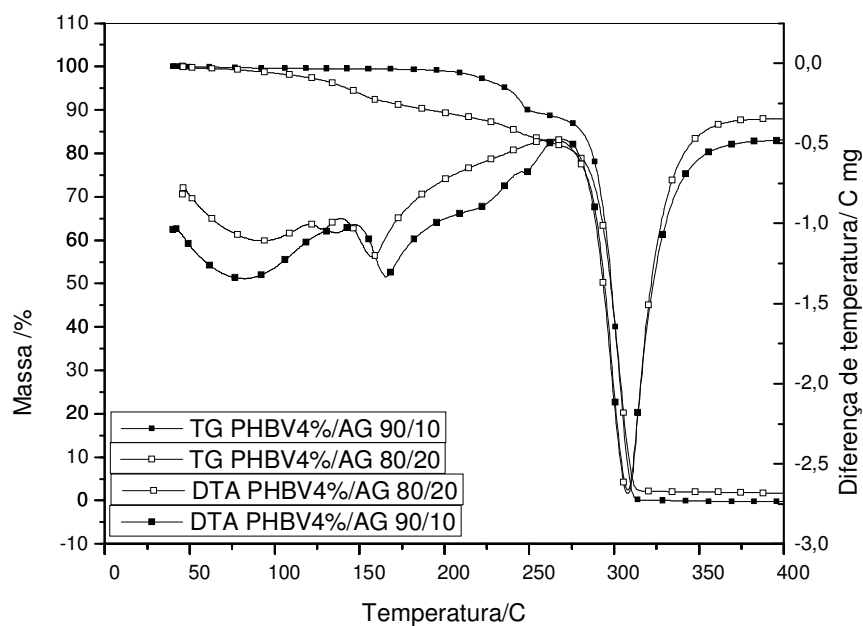


Figura 19: Curvas TG-DTA do comportamento térmico das amostras de PHBV4%/AG nas proporções 90/10 e 80/20.

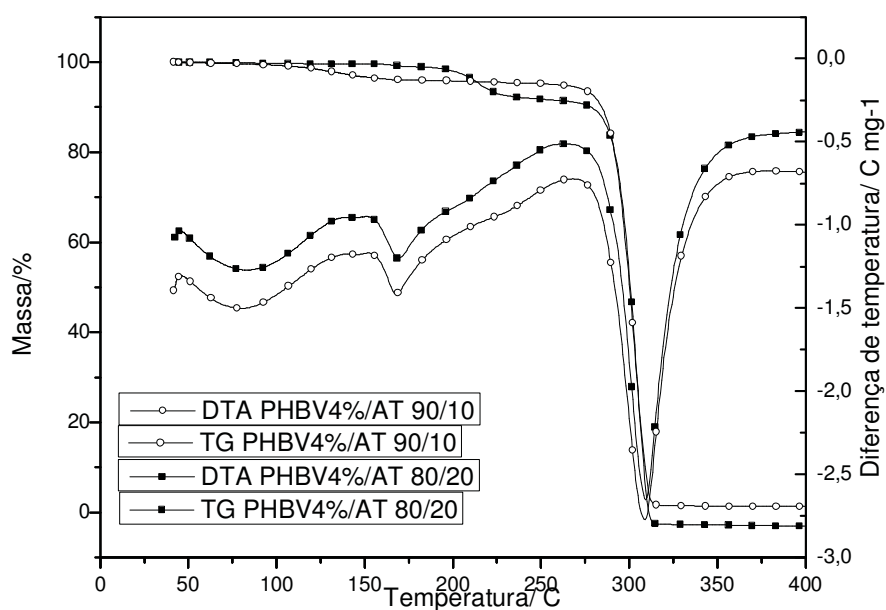


Figura 20: Curvas TG-DTA do comportamento térmico das amostras de PHBV4%/AT nas proporções 90/10 e 80/20.

As curvas TG-DTA para as amostras de PHBV4%/AT estão apresentadas na Figura 20. As curvas TG apresentam a mesma porcentagem de perda de massa na segunda etapa, referente à degradação térmica do PHBV4% e apresentam duas etapas de perda de massa, a primeira referente à degradação térmica do ácido

tartárico e a segunda referente à do PHBV4%. Os eventos térmicos referentes às curvas DTA são fusão e degradação do PHBV4% como apresentadas na Tabela 7.

As curvas TG-DTA para as amostras de PHBV4%/AM estão apresentadas na Figura 21. A degradação térmica do ácido málico ocorre no intervalo de temperatura de 185 a 287 °C, sendo o intervalo de degradação térmica do PHBV4% de 270 a 330 °C, (Figura 12). O comportamento das amostras de PHBV4%/AM 90/10 e PHBV4%/80/20 com relação à degradação térmica são muito semelhantes, iniciando-se no intervalo de degradação do ácido málico e a etapa final de degradação coincidindo com a degradação do PHBV4% como evidenciado na Figura 15.

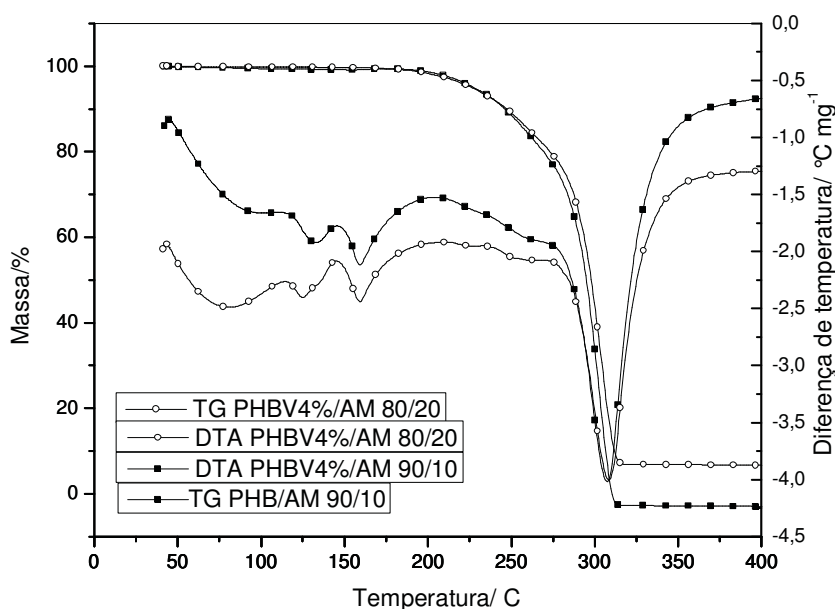


Figura 21: Curvas TG-DTA do comportamento térmico das amostras de PHBV4%/AM nas proporções 90/10 e 80/20.

As curvas DTA para as amostras apresentam três picos endotérmicos, o primeiro em aproximadamente 125 °C, correspondendo à fusão do ácido málico, o segundo em aproximadamente 160 °C, referente à fusão do PHBV4% que na presença de ácido málico apresenta menor temperatura de fusão e o terceiro e maior pico corresponde à degradação térmica do PHBV4%.

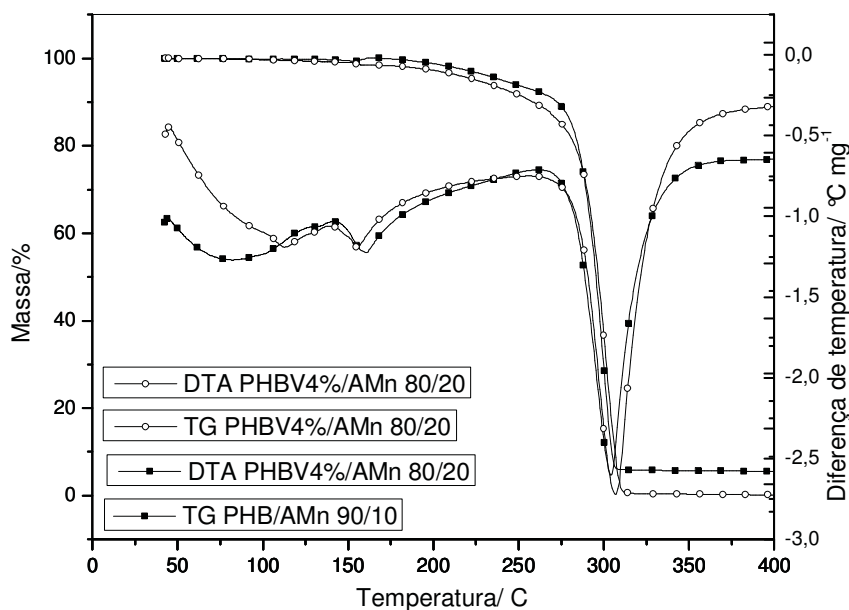


Figura 22: Curvas TG-DTA do comportamento térmico das amostras de PHB/AMn nas proporções 90/10 e 80/20.

As curvas TG-DTA para as amostras PHBV4%/AMn estão apresentadas na Figura 22. As etapas de perda de massa referentes ao ácido mandélico também coincidem com o intervalo de degradação do PHBV4%, deste modo, observa-se apenas uma etapa de perda de massa, pois o início da etapa de perda de massa dá-se com a degradação do ácido mandélico e o final da etapa coincide com o início da degradação do PHBV4%. Os picos das curvas DTA são referentes à fusão e degradação do PHBV4%.

5.4.2. ESTUDO DE COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS FILMES DE PHBV4%/HIDROXIÁCIDOS POR CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

5.4.2.1. PHBV4%/ácido tartárico (PHBV4%/AT)

A Figura 23 e Figura 24 apresentam as curvas DSC referentes ao primeiro e segundo aquecimento para os filmes PHBV4%/AT.

Verifica-se no primeiro e no segundo aquecimento de PHBV4%/AT pico pouco pronunciado entre 140 e 160 °C, que pode ser atribuído a possíveis

interações de cadeias poliméricas do PHBV4% com o ácido tartárico. Essa possível interação pode ter ocorrido com a pequena porcentagem de polihidroxivalerato na amostra, pois a fusão principal referente ao PHBV4% mantém o mesmo valor.

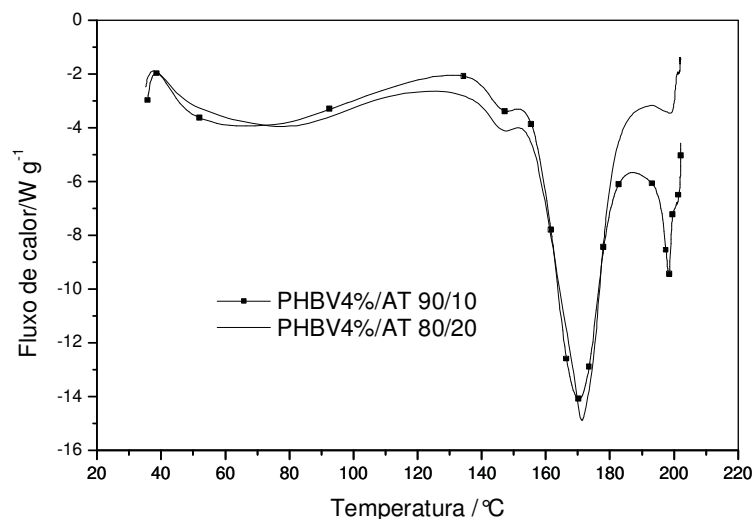


Figura 23: Curvas DSC obtidas com cadinho de alumínio selado para o estudo de comportamento térmico dos filmes de PHBV4%/AT para o primeiro aquecimento em atmosfera inerte de N₂ (50 mL min⁻¹), razão de aquecimento de 20 °C min⁻¹ e massa de amostra de 6 mg.

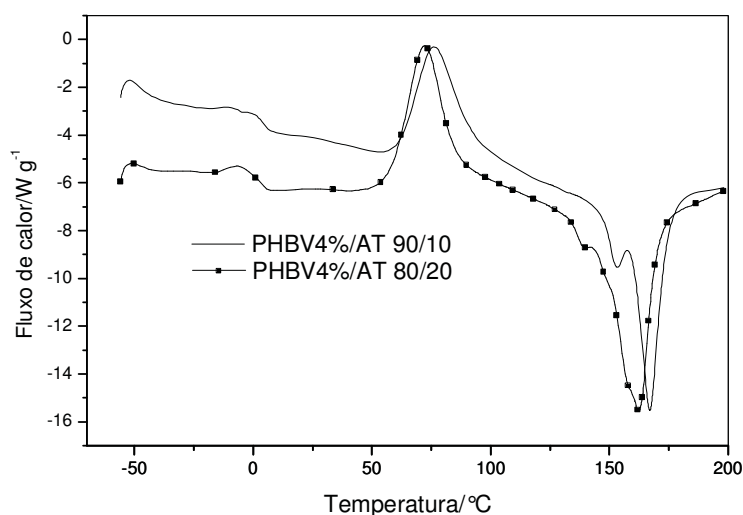


Figura 24: Curvas DSC obtidas com cadinho de alumínio selado para o estudo de comportamento térmico dos filmes de PHBV4%/AT para o segundo aquecimento em atmosfera inerte de N₂ (50 mL min⁻¹), razão de aquecimento de 20 °C min⁻¹ e massa de amostra de 6 mg.

Com base nas curvas DSC foram calculados os valores de ΔH_f , %crist1, T_{m1} , T_g , T_c , ΔH_c , %crist2 e T_{m2} que estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8: Valores referentes à análise realizada com cadinho selado calculados a partir das curvas de DSC apresentadas na Figura 23 e Figura 24

Amostra PHBV4%/AT	1º Aquecimento			2º Aquecimento				
	$\Delta H_f/Jg^{-1}$	%crist1	$T_{m1}/^{\circ}C$	$T_g/^{\circ}C$	$T_c/^{\circ}C$	$\Delta H_c/Jg^{-1}$	%crist2	$T_{m2}/^{\circ}C$
80/20	85,3	58,4	171,3	3,3	72,1	51,6	33,3	162,3
90/10	56,6	38,7	170,0	4,3	76,4	52,2	24,1	167,1
PHBV4%	58,5	40,1	169,7	4,0	61,0	36,1	38,8	171,2

Observa-se que as principais influências do ácido tartárico no comportamento térmico do PHBV4% estão na temperatura de cristalização, fusão e fração cristalizada. Na fração 90/10 já se observa um aumento significativo na temperatura de cristalização, o que sugere que não seria necessário utilizar uma maior quantidade de ácido tartárico para alcançar as modificações nas propriedades.

Do ponto de vista de processamento, o aumento da temperatura de cristalização observado nas misturas em relação ao PHBV4% indica influência da presença do hidroxiácido na organização estrutural para a cristalização. Assim a mistura PHBV4%/AT apresenta um maior intervalo de temperatura no estado viscoelástico até se tornar cristalino e conseqüentemente frágil e quebradiço. Portanto, a alteração destas características do PHBV4% indica a possibilidade de maior período de estabilidade em condições de processamento.

Os outros parâmetros térmicos avaliados apresentaram variações pouco significativas. Exceção para o ΔH_f com maiores valores que àqueles apresentados pelo PHBV4%, pois nas misturas com o ácido tartárico provavelmente o valor calculado de ΔH_f refere-se à soma do calor envolvido na fusão do PHBV4% e do ácido tartárico.

A fração cristalina diminui para o segundo aquecimento em relação ao primeiro para os dois filmes, sendo que para o filme de menor proporção (PHBV4%/AT 90/10) observa-se menor porcentagem do polímero cristalizado tanto no primeiro quanto no segundo aquecimento.

As mudanças ocorridas nas propriedades térmicas do PHBV4% obtidas a partir das curvas DSC indicam aumento na temperatura de cristalização, mas não indicam formação de uma nova estrutura, pois segundo as curvas TG-DTA não há nenhuma etapa diferente dos próprios componentes da mistura sugerindo assim que o ácido tartárico atua como aditivo ou plastificante elevando a temperatura de

cristalização sem reagir ou interagir com as cadeias do PHBV4%. Os picos pouco pronunciados nas curvas DSC indicam que apenas uma pequena porcentagem do PHBV4% pode ter interagido com o ácido tartárico, mas que predominantemente ocorreu uma aditivação polimérica.

5.4.2.2. PHBV4%/ácido málico PHBV4%/AM

A Figura 25 e a Figura 26 apresentam o comportamento térmico para o primeiro e o segundo aquecimento, respectivamente, para os filmes PHBV4%/AM. Os valores dos parâmetros obtidos a partir das curvas DSC estão apresentados na Tabela 9.

A presença de ácido málico nos filmes influencia de maneira significativa o comportamento térmico da mistura de PHBV4%/AM em relação ao PHBV4%.

A Figura 25 para o primeiro aquecimento dos filmes apresenta picos de baixa intensidade em aproximadamente 100 °C e 140 °C, que podem ser atribuídos, respectivamente, à volatilização de solvente residual e à fusão de ácido málico livre na mistura. Assim, observa-se diminuição nos valores de ponto de fusão da mistura PHBV4%/AM.

No segundo aquecimento (Tabela 9) observa-se diminuição nos valores de transição vítrea e de fusão e o aumento de, aproximadamente, 20 °C na temperatura de cristalização em relação ao PHBV4%.

A fusão da mistura PHBV4%/AM na proporção 90/10 durante o segundo aquecimento apresenta pico de fusão de fração residual do ácido málico, seguida de um único evento de fusão da mistura. Por outro lado, na mistura 80/20 observa-se eventos de fusão simultâneos iniciando em temperaturas inferiores e em intervalo maior de temperatura.

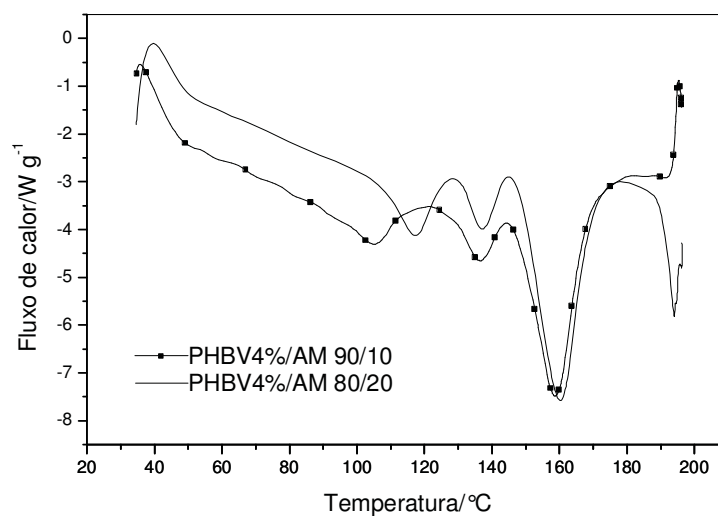


Figura 25: Curvas DSC obtidas com cadinho de alumínio selado para o estudo de comportamento térmico dos filmes de PHBV4%/AM para o primeiro aquecimento em atmosfera inerte de N₂ (50 mL min⁻¹), razão de aquecimento de 20 °C min⁻¹ e massa de amostra de 6 mg.

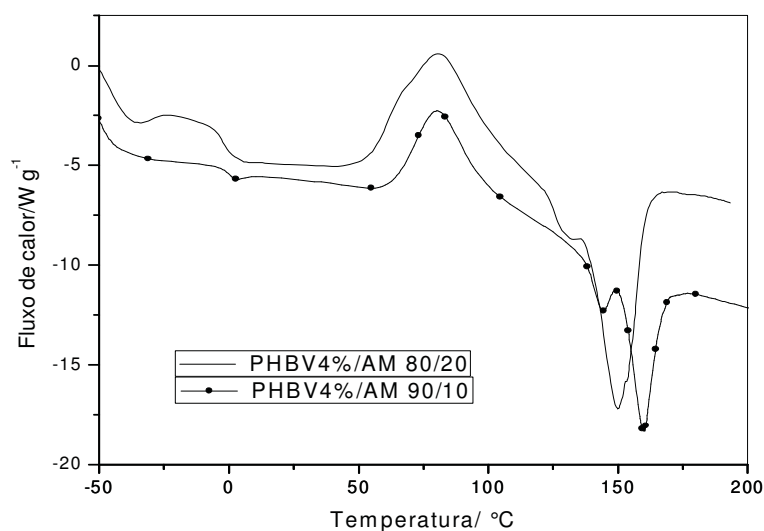


Figura 26: Curvas DSC obtidas com cadinho de alumínio selado para o estudo de comportamento térmico dos filmes de PHBV4%/AM para o segundo aquecimento em atmosfera inerte de N₂ (50 mL min⁻¹), razão de aquecimento de 20 °C min⁻¹ e massa de amostra de 6 mg.

Tabela 9: Valores referentes à análise realizada com cadinho selado calculados a partir das curvas de DSC apresentadas na Figura 25 e Figura 26

Amostra	1º Aquecimento			2º Aquecimento				
	$\Delta H_f/Jg^{-1}$	%crist1	$T_{m1}/^{\circ}C$	$T_g/^{\circ}C$	$T_c/^{\circ}C$	$\Delta H_c/Jg^{-1}$	%crist2	$T_{m2}/^{\circ}C$
80/20	33,6	23,0	160,3	-2,7	79,4	31,3	21,4	147,9
90/10	23,8	16,3	166,8	1,0	83,2	27,1	12,7	163,1
PHBV4%	58,5	40,1	169,7	4,0	61,0	36,1	38,8	171,2

Comparando-se os resultados das curvas TG-DTA com os resultados de DSC, observa-se pelas curvas TG-DTA, não há etapas de perda de massa, diferentes do PHBV4% e ácido málico sozinhos, indicando uma fração modificada, mas as variações nas propriedades térmicas observadas nas curvas DSC indicam uma forte influência do ácido málico no comportamento do PHBV4%, podendo este atuar como aditivo do PHB.

5.4.2.3. PHBV4%/ácido glicólico PHBV4%/AG

Para os filmes de PHBV4%/AG, as curvas DSC referentes ao primeiro e segundo aquecimentos estão apresentadas respectivamente na Figura 27 e Figura 28. Os parâmetros térmicos obtidos a partir das curvas estão apresentados na Tabela 10.

Nas curvas DSC para o primeiro aquecimento não são observados os picos de fusão de ácido glicólico por volta de 80 °C, indicando, assim, que toda a proporção adicionada na mistura pode ter interagido com o PHBV4%. Além disso, verifica-se que tanto nas curvas DSC do primeiro e segundo aquecimentos observa-se fusão da mistura PHBV4%/AG (Tabela 10) em temperatura inferior à fusão do PHBV4%.

Picos entre 120 e 145 °C são observados nas curvas DSC do primeiro aquecimento das amostras. Com maior proporção do hidroxiácido têm-se menores valores de temperatura dos eventos térmicos.

No segundo aquecimento das misturas PHBV4%/AG (Figura 28) observa-se picos simultâneos de cristalização, que podem ser atribuídos à fusão de cristais com má formação estrutural seguida da fusão principal da mistura.

Em relação à mistura PHBV4%/AG 80/20 no segundo aquecimento, observa-se mudança de linha base característica da transição vítrea em torno de -20 e 0 °C. A fração da mistura PHBV4%/AG 80/20 com transição vítrea em torno de -20 °C deve ser a que apresenta pico de fusão principal (143,1 °C). A outra fração pode estar relacionada com a estrutura do PHBV4% sem alteração (em torno de 161,5 °C).

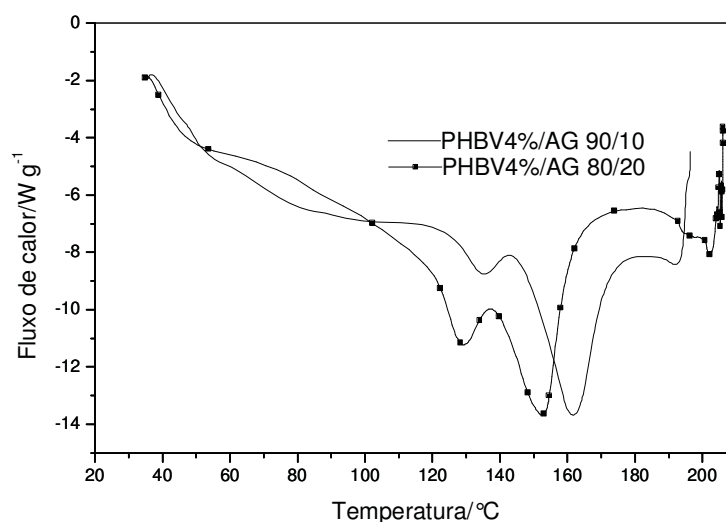


Figura 27: Curvas DSC obtidas com cadinho de alumínio selado para o estudo de comportamento térmico dos filmes de PHBV4%/AM para o primeiro aquecimento em atmosfera inerte de N₂ (50 mL min⁻¹), razão de aquecimento de 20 °C min⁻¹ e massa de amostra de 6 mg.

Tabela 10: Valores referentes à análise realizada com cadinho selado calculadas a partir das curvas de DSC apresentadas na Figura 27 e Figura 28

Amostra	1º Aquecimento			2º Aquecimento				
	$\Delta H_f/Jg^{-1}$	%crist1	$T_{m1}/^{\circ}C$	$T_g/^{\circ}C$	$T_c/^{\circ}C$	$\Delta H_c/Jg^{-1}$	%crist2	$T_{m2}/^{\circ}C$
80/20	74,1	50,7	152,4	-19,9	49,9	24,7	32,5	161,5
90/10	45,3	31,0	161,7	-4,7	59,2	42,1	29,3	162,2
PHBV4%	58,5	40,1	169,7	4,0	61,0	36,1	38,8	171,2

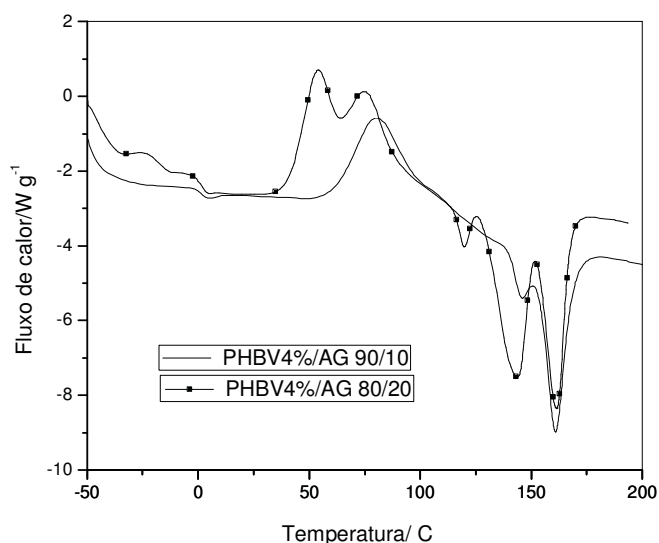


Figura 28: Curvas DSC obtidas com cadinho de alumínio selado para o estudo de comportamento térmico dos filmes de PHBV4%/AM para o segundo aquecimento em atmosfera inerte de N_2 (50 mL min^{-1}), razão de aquecimento de $20 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ e massa de amostra de 6 mg.

A maior proporção de ácido glicólico no filme PHBV4%/AG 80/20 nos filmes foi responsável pela maior alteração dos valores dos parâmetros térmicos de fusão e de transição vítrea.

Os valores obtidos a partir das curvas TG-DTA e DSC indicam que na mistura de PHBV4%/AG houve modificação estrutural, pois as etapas de perda de massa nas curvas TG indicam frações poliméricas com estabilidade diferentes que estão de acordo com os picos duplos de fusão nas curvas DSC, indicando frações com estabilidade e propriedades térmicas diferentes. As diferentes frações podem ter interferido na linearidade dos dados obtidos na determinação molar viscosimétrica, pois misturas ou frações poliméricas do PHBV4% modificado apresentam comportamento diferente do observado para o PHBV4% puro.

5.4.2.4. PHBV4%/ácido mandélico PHBV4%/AMn

A Figura 29 e a Figura 30 apresentam, respectivamente, as curvas DSC para o primeiro e o segundo aquecimento dos filmes de PHBV4%/AMn, os parâmetros térmicos obtidos a partir das curvas estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11: Valores referentes à análise realizada com cadinho selado calculadas a partir das curvas de DSC apresentadas na Figura 29 e Figura 30

Amostra	1º Aquecimento			2º Aquecimento				
	$\Delta H_f/Jg^{-1}$	%crist1	$T_{m1}/^{\circ}C$	$T_g/^{\circ}C$	$T_c/^{\circ}C$	$\Delta H_c/Jg^{-1}$	%crist2	$T_{m2}/^{\circ}C$
80/20	34,8	23,8	155,1	-6,7	61,4	41,2	30,2	147,7
90/10	53,2	36,5	163,3	-2,1	56,1	41,9	32,0	159,8
PHBV4%	58,5	40,1	169,7	4,0	61,0	36,1	38,8	171,2

A partir da Figura 29 observa-se que para a amostra PHBV4%/AMn 80/20 a curva DSC apresenta picos pouco pronunciados de fusão em 99,4 e 127,5 °C, que são atribuídos respectivamente à volatilização de solvente residual e à fusão do ácido mandélico, que não reagiu ou não foi incorporado às cadeias de PHB. O filme de proporção PHBV4%/AMn 90/10 apresenta apenas um pico pouco pronunciado para fusão de ácido mandélico remanescente.

A partir dos valores apresentados na Tabela 11, observa-se que a presença de ácido mandélico nos filmes de PHBV4% influencia na diminuição das temperaturas de fusão para o primeiro e segundo aquecimentos. A diminuição da temperatura de fusão no segundo aquecimento permite que o material seja processado em temperaturas mais baixas diminuindo sua exposição à degradação térmica. A temperatura de transição vítrea diminui em relação à do PHBV4%, assim apresenta um intervalo maior de temperatura no estado viscoelástico.

No segundo aquecimento, observa-se para o filme PHBV4%/AMn 90/10 um pico pouco pronunciado em 125 °C, que pode ser atribuído a cristais com má formação estrutural, seguido da fusão principal da mistura em 147 °C. Para o filme PHBV4%/AMn observa-se o mesmo comportamento e a fusão principal da mistura apresenta dois picos consecutivos principais, o primeiro de maior intensidade em 147,7 °C, o segundo coincide com a fusão da mistura PHBV4%/AMn 90/10, que pode ser devido à frações de misturas PHBV4%/AMn com formações estruturais diferentes.

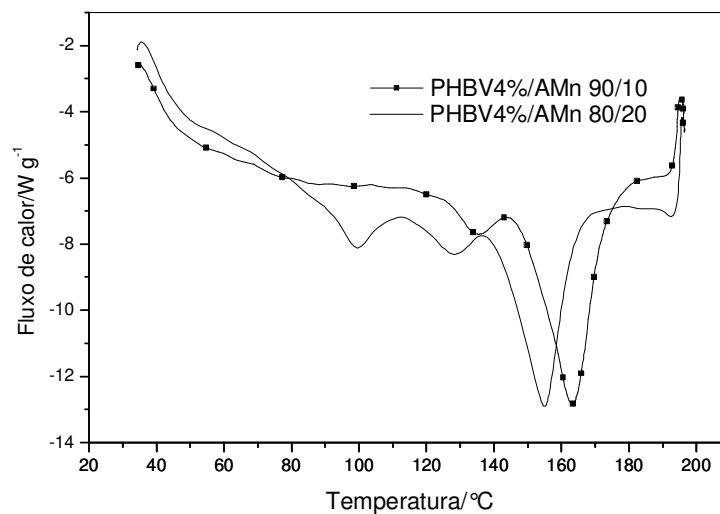


Figura 29: Curvas DSC obtidas com cadinho de alumínio selado para o estudo de comportamento térmico dos filmes de PHBV4%/AMn para o primeiro aquecimento em atmosfera inerte de N_2 (50 mL min^{-1}), razão de aquecimento de $20 \text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e massa de amostra de 6 mg.

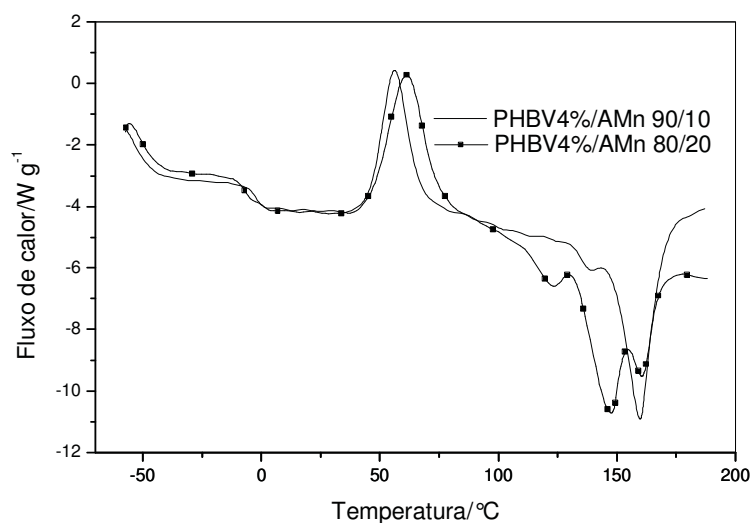


Figura 30: Curvas DSC obtidas com cadinho de alumínio selado para o estudo de comportamento térmico dos filmes de PHBV4%/AMn para o segundo aquecimento em atmosfera inerte de N_2 (50 mL min^{-1}), razão de aquecimento de $20 \text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e massa de amostra de 6 mg.

Os resultados de TG-DTA e DSC indicam que o ácido mandélico atua como aditivo no filme de PHBV4%, sendo apenas uma mistura polimérica, pois as etapas de degradação térmica são referentes aos componentes da mistura.

5.5. DEFINIÇÃO DO HIDROXIÁCIDO PARA A MODIFICAÇÃO DO PHBV4%

A partir dos resultados apresentados observou-se que os hidroxiácidos influenciam de maneiras distintas o comportamento térmico do PHBV4%. O ácido glicólico apresenta modificação de cadeia do PHBV4%, o ácido tartárico também apresenta interações de cadeia com o PHBV4%, enquanto que os ácidos málico e mandélico atuam como aditivos nos filmes.

Como o ácido málico e tartárico proporcionaram o maior aumento na temperatura de cristalização, os filmes com estes ácidos foram escolhidos para o estudo cinético. O ensaio de biodegradação foi realizado com os filmes de PHBV4%/AM e PHBV4%/AG, pois assim seria possível avaliar a influência de um filme modificado e outro com aditivo no processo de biodegradação.

5.6. ESTUDO CINÉTICO DA CRISTALIZAÇÃO DO PHBV4% NA PRESENÇA DE HIDROXIÁCIDOS

O objetivo do estudo cinético dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AT e PHBV4%/AM foi determinar os parâmetros cinéticos, energia de ativação (E_a) e fator pré exponencial de Arrhenius (A). O método isoconversional foi usado como meio confiável e consistente para obter informações cinéticas, as medidas são estimadas sem temperaturas correspondentes, para valores fixos de grau de conversão (α) e também evita o uso explícito de modelos cinéticos (VYAZOVKIN; WIGHT, 1999; DIAS *et al.*, 2008). Desta forma, os dados de energia de ativação (E_a kJ mol⁻¹) foram obtidos aplicando o método isoconversional proposto por Capela e Ribeiro (CAPELA *et al.*, 2009) a partir de procedimentos de regressão não linear.

Os estudos da modificação dos filmes de PHBV4% com hidroxiácidos, tais como, ácido málico (AM) e ácido tartárico (AT) foram realizados na proporção fixa de 90/10 PHBV4%/hidroxiácido (m/m). O comportamento térmico do PHBV4% foi alterado na presença de hidroxiácidos, principalmente em relação à temperatura de cristalização. A Tabela 12 apresenta os valores de temperatura de cristalização dos filmes de PHBV4% em diferentes razões de aquecimento. Observa-se que a temperatura de cristalização do PHBV4% aumenta na presença de hidroxiácidos, havendo possíveis reações de cadeia do PHBV4% com hidroxiácidos, que devem resultar em uma nova composição polimérica

A Figura 31 apresenta os valores de energia de ativação E_a versus fração conversional (α) para a reação de cristalização dos compostos. Os valores médios da energia de ativação das amostras PHBV4%, PHBV4%/MA e PHBV4%/TA foram $73 \pm 9 \text{ kJ mol}^{-1}$, $63 \pm 12 \text{ kJ mol}^{-1}$ e $119 \pm 17 \text{ kJ mol}^{-1}$, respectivamente para o intervalo $0,05 < \alpha < 0,95$. Na Tabela 13 estão apresentados os valores de coeficiente de correlação com os respectivos valores médios 0,9966, 0,9990 e 0,9686, juntamente com os valores do fator pré exponencial de Arrhenius. As frações conversionais 0,05 e 0,1 das amostras de PHBV4% e PHBV4%/AM são coincidentes, devido à possível similaridade do início da reação de cristalização. A amostra PHBV4%/AT apresenta um valor discrepante para a fração conversional 0,2 e a energia de ativação aumenta até a fração conversional 0,25, a partir da qual diminui até a fração 0,95.

Tabela 12: Temperaturas de cristalização das amostras PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AT

Filmes	Temperatura de cristalização / °C	β / °C min ⁻¹
PHBV4%	44,78	5
	51,26	10
	55,57	15
PHBV4%/AM	58,94	5
	68,18	10
	73,62	15
PHBV4%/AT	48,16	5
	53,81	10
	55,52	15

A variação nos valores de $E_a(\alpha)$ em relação a α (Tabela 13) indica que a cristalização não ocorre de maneira homogênea em toda extensão de α . Para a amostra PHBV4%/AT, a energia pode ser influenciada pelas interações entre o ácido tartárico e as cadeias de PHBV4%. A amostra PHBV4%/AM apresenta energias de ativação similares às do PHBV4%, sugerindo que o ácido málico atua como aditivo polimérico. Para ambas as amostras PHBV4%/AM e PHBV4%/AT sugere-se que a energia de ativação em relação a α , diminui devido à relaxação estrutural das moléculas. A energia de ativação E_a versus α foi consistente para obter a E_a , mas a cristalização do PHBV4% com hidroxiácidos não pode ser facilmente explicada por uma simples reação de primeira ordem ou mecanismo de reação de cadeia, porque há uma tendência da ocorrência de quebras randômicas de cadeia, com possíveis contribuições autocatalíticas das cadeias menores.

A Figura 32 apresenta a distribuição da razão de aquecimento β , em função de $1000/RT$. Observa-se que o ajuste apresenta baixa variação para valores de E_1 , que correspondem à energia de ativação.

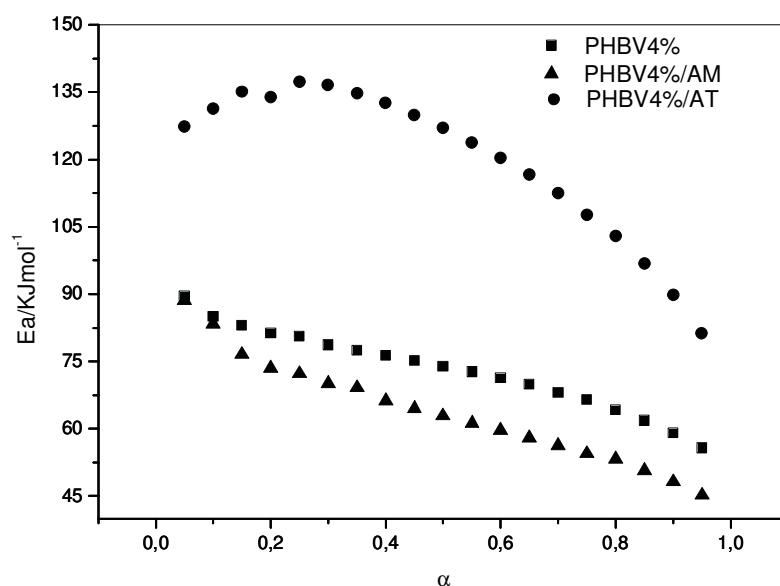


Figura 31: Valores de E_a versus fração conversional.

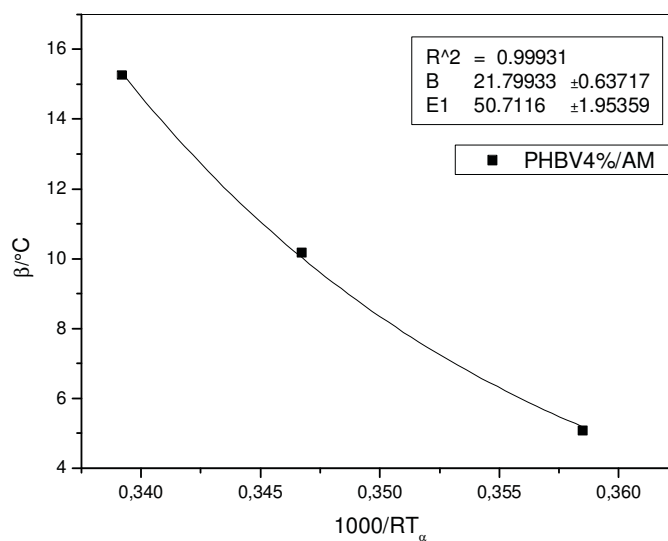


Figura 32: Diagrama de dispersão de β versus grau de conversão (α -85%) para PHBV4%/AM com os ajustes da função.

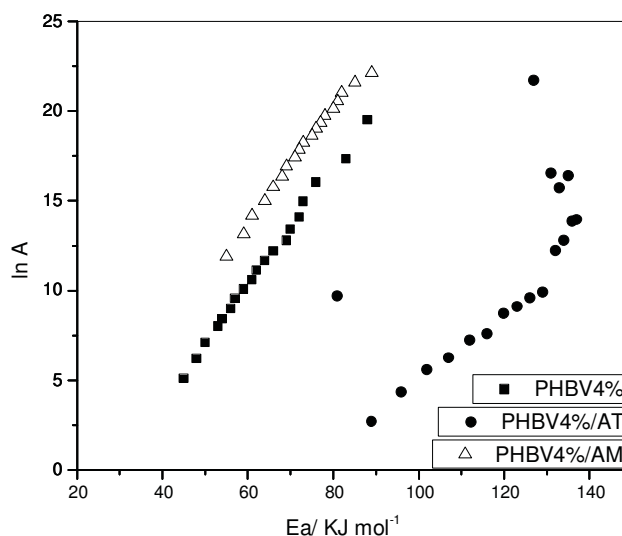


Figura 33: Gráfico de $\ln A$ versus E_a de todos os filmes estudados na avaliação cinética

A Figura 33 apresenta o logaritmo natural do fator pré exponencial de Arrhenius versus a energia de ativação (E_a). A partir deste gráfico observa-se que o PHBV4% e a amostra de filme de PHBV4%/AM apresentam um comportamento linear, indicando que podem apresentar um único mecanismo de reação, porém diferentes entre si, enquanto que a amostra de filme de PHBV4%/AT apresenta linearidade apenas em parte do intervalo de energia, indicando mecanismo de reação mais complexo.

Tabela 13: Valores de coeficiente de correlação (R^2) e energia de ativação (E_a) de todos os filmes estudados na avaliação cinética

α	PHBV4%/AM			PHBV4%/AT			PHBV4%		
	E_a	R^2	A	E_a	R^2	A	E_a	R^2	A
0,05	88	0,99621	2,99E8	127	0,92301	2,7E9	89	0,99886	4,12E9
0,10	83	0,99669	3,42E7	131	0,93252	1,53E7	85	0,99993	2,43E9
0,15	76	0,99738	9,13E6	135	0,94355	1,34E7	82	0,99999	1,38E9
0,20	73	0,99832	3,16E6	133	0,95474	6,63E6	81	0,99988	8,52E8
0,25	72	0,99868	1,32E6	137	0,91897	1,15E6	80	0,99966	5,72E8
0,30	70	0,99911	6,72E5	136	0,93496	1,04E6	78	0,99942	3,83E8
0,35	69	0,9991	3,58E5	134	0,94828	3,52E5	77	0,99918	2,56E8
0,40	66	0,99968	1,99E5	132	0,95893	2,03E5	76	0,99884	1,83E8
0,45	64	0,99984	1,16E5	129	0,96825	2,0E4	75	0,9985	1,28E8
0,50	62	0,99994	6,88E4	126	0,9754	1,45E4	73	0,99803	8,52E7
0,55	61	0,99999	4,0E4	123	0,98198	8,85E3	72	0,99751	5,74E7
0,60	59	0,99999	2,39E4	120	0,98711	6,08E3	71	0,99694	3,72E7
0,65	57	0,99995	1,41E4	116	0,99126	1,93E3	69	0,99626	2,27E7
0,70	56	0,99984	8,11E3	112	0,99477	1,38E3	68	0,99529	1,29E7
0,75	54	0,9997	4,49E3	107	0,9975	5,15E2	66	0,99451	7,14E6
0,80	53	0,99946	3,03E3	102	0,99896	2,62E2	64	0,99326	3,30E6
0,85	50	0,99931	1,21E3	96	1	7,70E1	61	0,99182	1,43E6
0,90	48	0,999	5,0E2	89	0,99899	1,48E1	59	0,9901	5,20E5
0,95	45	0,9988	1,66E2	81	0,99417	1,59E4	55	0,98775	1,47E5

O Estudo cinético indicou que os hidroxiácidos interagem com as cadeias de PHB, podendo atuar como aditivos como por exemplo o ácido málico, provocando as diferenças observadas no comportamento térmico, e interagindo com as cadeias de PHBV4% para o ácido tartárico.

5.7. ESTUDO DE CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DE PHBV4% E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

5.7.1. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) E HIDROXIÁCIDOS POR CROMATOGRAFIA GASOSA (GC-FID)

O teor de PHBV4% e hidroxiácidos pode ser determinado simultaneamente utilizando método analítico, que inclui a esterificação em meio ácido a partir de uma única análise. Os hidroxiácidos utilizados para o estudo de validação dos parâmetros foram os ácidos málico e glicólico, por serem os hidroxiácidos que melhor apresentam resultados de interação com o PHB, os hidroxiácidos ácido tartárico e mandélico não apresentaram picos relativos a seus ésteres no método utilizado. O hidroxivalerato está em pequena quantidade nos filmes, assim, não foi quantificado. Os limites de quantificação para este analito estão muito abaixo dos demais monômeros analisados simultaneamente por este método (SANTOS *et al.*, 2007).

Soluções de padrão de PHB, hidroxiácidos e ácido benzóico (padrão interno - PI) esterificado com álcool isoamílico foram preparados e analisados por GC-FID com diferentes concentrações de PHB, hidroxiácidos e mesma concentração de ácido benzóico. Após esterificação, alíquotas de 1 µL da fase orgânica foram injetadas no GC-FID em triplicata no mesmo dia. Os volumes injetados para as amostras de filme e padrões estão apresentadas na Tabela 14.

Com a hidrólise em meio ácido e esterificação determina-se por GC-FID os ésteres correspondentes, que são hidroxi-acetato de isoamila (AG), hidroxi-butenodioato de isoamila (AM), 3-hidroxibutirato de isoamila (HB) e benzoato de isoamila (PI).

O cromatograma branco da análise (solventes e meio reacional, sem incluir o PHBV4% e os hidroxiácidos) e de uma solução padrão de AG, AM, HB e PI estão apresentados na Figura 34 e Figura 35, respectivamente.

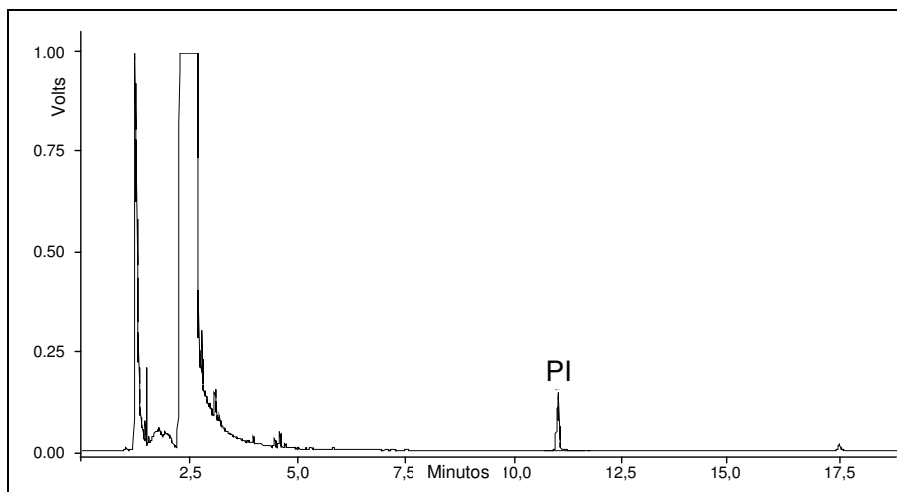


Figura 34: Cromatograma (GC/FID) do branco de análise.

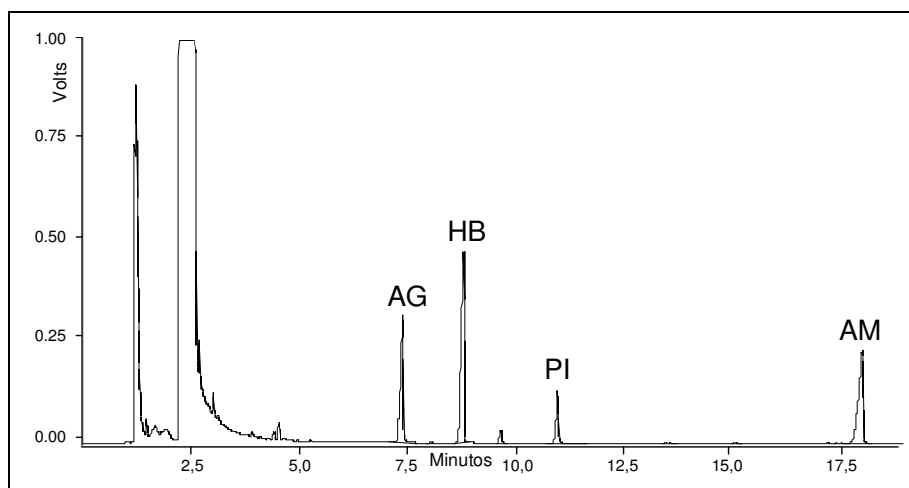


Figura 35: Cromatograma (GC/FID) de uma solução padrão contendo os hidroxiácidos esterificados com álcool isoamilico. AG = hidroxi-acetato de isoamila ; AM= hidroxi-butenodioato de isoamila (AM); HB = 3-hidroxibutirato de isoamila e PI =benzoato de isoamila (padrão interno).

Na Figura 36 está apresentada a curva de resposta analítica (área média HB/PI, AG e AM) em função da massa de HB, além do fator de resposta, ilustrando o intervalo de linearidade dentro dos limites aceitos para validação do método (LEITE, 2002; LANÇAS, 2004).

Tabela 14: Parâmetros do processo de validação do método para determinação de HB, AG e AM

Parâmetro	Valores			Unidades
	HB	AG	AM	
Sensibilidade do método	1064,59	633,29	903,11	-
Intervalo de trabalho	0,29 – 7,11	0,39 – 3,51	0,36 – 4,4	10^{-6} g
Precisão (repetitividade)	1	3	5	%
Recuperação	Nível 1 => 100,0± 0,7	103 ± 2	97 ± 6	%
Média ± DP	Nível 2 => 100,0 ± 0,2	93 ± 1	101 ± 6	
LD do método	0,035	0,018	0,013	10^{-6} g
LQ do método	0,057	0,059	0,039	10^{-6} g

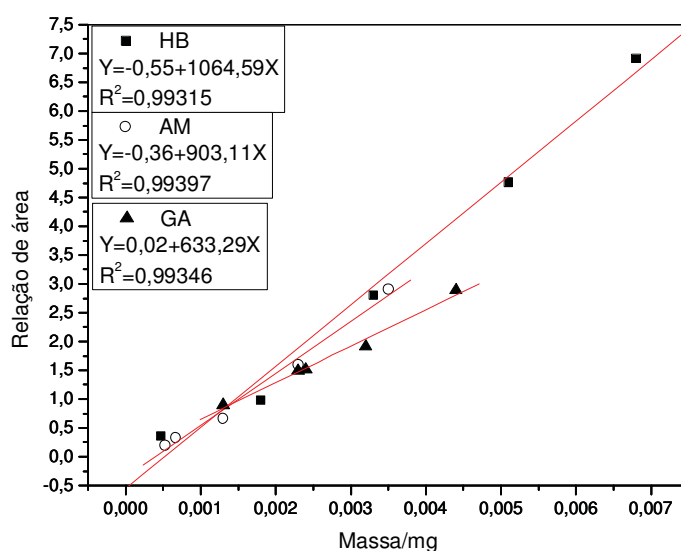


Figura 36: Relação de área em função da massa injetada para os padrões de HB, AG e AM submetidos à derivatização.

Tabela 15: Proporção dos filmes quantificados pelo método apresentado.

Amostra	% HB	% hidroxiácido
PHBV4%/AG 80/20	74,1±0,3	8,5±0,6
PHBV4%/AG 90/10	80,0±1,4	0
PHBV4%/AM 80/20	74,8±1,2	17,4±1,0
PHBV4%/AM 90/10	83,5±1,2	10,3±0,5
PHBV4%	95,4±1,5	-

Os filmes de PHBV4%/AG e PHBV4%/AM nas proporções 90/10 e 80/20, filme de PHBV4%, submetidos à reação de esterificação apresentaram algumas variações nas proporções esperadas, porém dentro dos limites de recuperação. As

amostras de PHBV4% e PHBV4%/málico analisadas apresentaram porcentagem de PHBV4% e de ácido málico de acordo com a proporção esperada, porém nos filmes de PHBV4%/AG a porcentagem de ácido glicólico encontrada foi bem abaixo da esperada, isso é atribuído à formação de estruturas que não sofreram a reação de esterificação, não sendo quantificadas.

Os resultados de quantificação monomérica para os filmes de PHBV4%/AG estão relacionados com os resultados obtidos nas curvas DSC, onde observam-se picos de cristalização e fusão referentes a frações diferentes da mistura polimérica. Isso pode ter ocorrido por que uma destas frações, apresentando estrutura química diferente, não sofrendo a esterificação e provocando modificações nas propriedades térmicas. Para o ácido málico a quantificação monomérica encontrada está de acordo com os dados de TG-DTA e DSC onde o mesmo não modifica a estrutura do PHBV4%.

5.7.2. COMPARAÇÃO DO USO DE PADRÃO INTERNO EM ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS PARA DETERMINAÇÃO MONOMÉRICA DE PHB

Para demonstrar a importância do padrão interno nas análises cromatográficas, para o cálculo da porcentagem de HB, foram realizados os cálculos sem a utilização do padrão interno. O gráfico da área em função da concentração está apresentado na Figura 37 e os valores das amostras, calculados a partir da curva, estão na Tabela 16.

Tabela 16: Proporção dos filmes quantificados pelo método apresentado sem padrão interno

Amostra	% HB	% hidroxiácido
PHBV4%/AG 80/20	79,4±3,7	3,1±1,1
PHBV4%/AG 90/10	84,1±9,1	0
PHBV4%/AM 80/20	74,8±10,1	15,5±1,7
PHBV4%/AM 90/10	86,3±5,8	6,0±0,5
PHBV4%	102,0±3,1	-

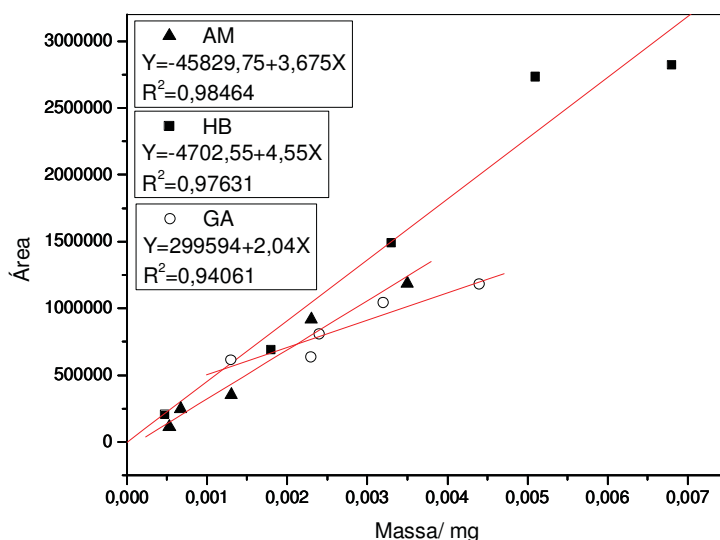


Figura 37: Área dos picos em função da massa injetada para os padrões de HB, AG e AM submetidos à derivatização (método sem padrão interno).

Comparando-se os valores da Tabela 16 com os da Tabela 15, pode-se observar que sem o padrão interno o fator de correlação é menor. O valor de porcentagem encontrado para o PHBV4% está mais coerente utilizando o padrão interno. Aplicando-se o teste t pode-se averiguar se estatisticamente o método utilizando o padrão interno é significativo. Como observado na Tabela 17, os valores de t calculados são menores que o valor tabelado que é igual a 2,92 para um intervalo de confiança de 95% (LEITE, 2002). Neste caso não há diferença significativa entre as médias.

Tabela 17: Valores de t calculados para os métodos com e sem padrão interno

Amostra	t calculado para HB	t calculado para Hidroxiácidos
PHBV4%/AG 80/20	2,47	7,46
PHBV4%/AG 90/10	0,71	-
PHBV4%/AM 80/20	2,21	1,67
PHBV4%/AM 90/10	0,81	1,05
PHBV4%	3,41	

Uma das formas de comparar precisões entre dois conjuntos de dados é o teste F, no qual se utiliza a análise de variância (o quadrado da estimativa do desvio padrão é a estimativa da variância). Com o valor obtido, verifica-se a significância em função da distribuição de valores de F correspondentes aos números de graus

de liberdade dos dois conjuntos, neste caso o valor de distribuição F com 5 % de probabilidade é 19,0 (LEITE, 2002).

Na Tabela 18 estão apresentados os valores de F calculados para os desvios apresentados na Tabela 15 e Tabela 16, comparando a precisão dos métodos. A diferença entre as duas precisões apresentadas pelo método direto e com padronização interna foi significativa para as misturas poliméricas de PHBV4%/AG e PHBV4%/AM nas duas proporções avaliadas. Para o PHBV4% e a porcentagem dos hidroxiácidos não há significância entre as duas precisões ao nível de 5 %.

Tabela 18: Valores de teste F para os métodos com e sem padrão interno

Amostra	F calculado para HB	F calculado para Hidroxiácidos
PHBV4%/AG 80/20	152,11	3,36
PHBV4%/AG 90/10	49,00	-
PHBV4%/AM 80/20	70,84	2,89
PHBV4%/AM 90/10	70,84	1,00
PHBV4%	4,27	-

Em resumo, a partir deste estudo utilizando a quantificação monomérica por CG-FID, verificou-se que o método apresentado é um método exato, porém com baixa precisão.

O método de cromatografia gasosa foi validado e aplicado com sucesso para a quantificação dos monômeros de PHBV4% e dos hidroxiácidos simultaneamente. A quantificação cromatográfica das misturas permitiu avaliar a composição monomérica dos filmes, e complementar os resultados de análise térmica, onde constatou-se que a mistura PHBV4%/AG apresentava uma fração modificada na mistura polimérica, que as alterações nas propriedades térmicas e a quantificação monomérica menor que a esperada indicou possível modificação de cadeia. Enquanto que para a mistura PHBV4%/AM indicou apenas uma mistura polimérica.

5.8. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES SUBMETIDOS À BIODEGRADAÇÃO

5.8.1. ASPECTO VISUAL DOS FILMES SUBMETIDOS A BIODEGRADAÇÃO

O estudo de biodegradação foi realizado utilizando-se os filmes de PHBV4%, PHBV4%/AG e PHBV4%/AM na proporção 80/20. Os filmes submetidos ao ensaio de biodegradação, durante 1, 3, 6 9, 12 e 18 meses, foram fotografados e as imagens estão apresentadas na Figura 38. Observa-se que os filmes apresentaram mudanças no aspecto visual mais acentuada a partir do sexto mês, principalmente para as amostras de filmes das misturas PHB/AM e PHB/AG, onde observou-se que no sexto e nono mês houve uma degradação maior. Os filmes de PHBV4% mostraram-se mais resistentes do que as misturas, mesmo após nove meses em ambiente enterrado no solo. Após 18 meses as amostras de filmes de PHBV4%/AG e PHBV4%/AM foram totalmente fragmentadas no solo, provavelmente ocorreu biodeteriorização, pois não foi analisado os resíduos de cadeias poliméricas no solo e produtos formados neste processo.

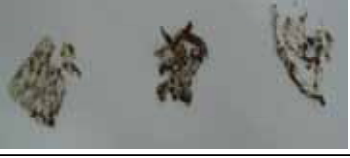
Tempo / meses	Fotos das amostras de filmes		
	PHBV4%	PHBV4%/AM	PHBV4%/AG
1			
3			
6			
9			
12			
18		Totalmente fragmentado	Totalmente fragmentado

Figura 38: Fotos das amostras de filmes submetidos ao teste de biodegradação

5.8.2. ANÁLISE CROMATOGRÁFICA NA AVALIAÇÃO DAS AMOSTRAS DE FILMES EXPOSTOS À BIODEGRADAÇÃO

As amostras de filmes submetidas ao ensaio de biodegradação foram removidas do solo após de 1, 3, 6, 9, 12 e 18 meses. Aplicando o método cromatográfico validado foram quantificadas simultaneamente a porcentagem de HB, AM e AG das amostras de filmes retiradas do solo. Na Figura 39 estão apresentados os resultados e seus respectivos desvios padrão para HB, AG e AM, que foram quantificados nos filmes.

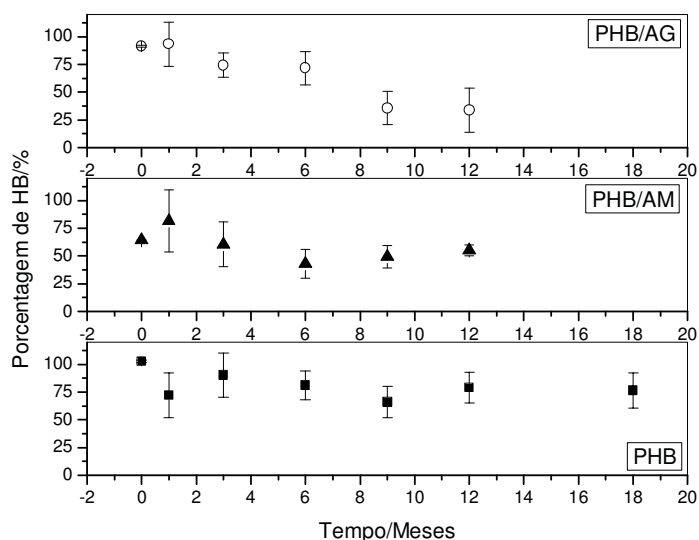


Figura 39: Porcentagem monomérica dos filmes submetidos ao ensaio de biodegradação

No tempo zero, a Figura 39 apresenta a porcentagem de HB nos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG antes das amostras serem submetidas ao ensaio de biodegradação.

Os resultados (Figura 39) indicam uma pequena interação entre AG e AM com a cadeia polimérica do PHBV4%. Conseqüentemente, foi recuperado uma quantidade menor que a proporção inicial (PHBV4%/AM e PHBV4%/AG 80/20%) usada na preparação dos filmes, porcentagem de HB menor que 80 % e AG e AM menor que 20 %.

A porcentagem de AM no filme PHBV4%/AM foi de 17,40 % no tempo zero, ou seja, antes da exposição à degradação, isto indica que o ácido málico inicialmente adicionado aos filmes continua presente como ácido. Isto também demonstra que o PHBV4% com o ácido málico é uma simples mistura, provavelmente sem interação química. As amostras de filmes de PHBV4%/AM analisadas após três meses do ensaio de biodegradação contêm somente 6,36 % de AM, certamente o AM foi extraído pela unidade do solo. Logo, as amostras subsequentes não apresentaram porcentagem de AM.

A porcentagem de AG no filme PHBV4%/AG antes da exposição à biodegradação foi 14,68 %, como discutido para o filme PHBV4%/AM, possivelmente esta porcentagem de AG no filme está como ácido na mistura. Para a amostra de filme PHBV4%/AG após a exposição à biodegradação, a porcentagem de AG não foi

detectada. Uma vez que o ácido glicólico apresenta elevada solubilidade em água, este pode ter sido extraído pela umidade do solo e não quantificado, ou estar presente na fração modificada não sendo detectado nem quantificado.

As amostras de filmes analisadas após a submissão ao teste de biodegradação apresentam variações nos valores comparados com os filmes não submetidos ao teste (0 meses). A porcentagem de HB nas amostras de filmes diminuiu a partir do nono mês. Provavelmente, devido a algumas mudanças na estrutura do PHBV4% durante a biodeteriorização. Nesse caso, podem ter ocorrido quebras de cadeia do PHBV4% como consequência da interação com grupos ésteres de AG e AM, formando diferentes produtos que não foram identificados no cromatograma.

Os valores apresentados na Figura 39 para a porcentagem de HB nos filmes tendem a diminuir a partir do primeiro até o nono mês. A partir do nono mês a porcentagem de HB pode ser considerada constante nos filmes. Este comportamento indica uma maior velocidade de biodeteriorização durante o primeiro mês até chegar a uma estrutura mais estável do PHBV4%, e precisa de mais tempo para degradar (CORRÊA *et al.*, 2008).

Os desvios padrões obtidos para as amostras de filmes expostas à biodegradação estão apresentados na Figura 39, onde pode observar-se que estes valores estão de acordo com os dados da validação descritos na Tabela 14. Os altos valores para os desvios padrões nos resultados de quantificação de HB após a biodeteriorização devem-se ao resultado do ambiente onde as amostras foram expostas.

Os resultados apresentados na Figura 39 demonstram que o AG e o AM adicionados ao filme de PHBV4% apresentam uma importante influência na velocidade de biodeteriorização da cadeia do PHBV4%. Como as moléculas de ácido glicólico e málico são menores o ataque dos microorganismos pode começar por elas. Com a extração de AG e AM da estrutura do PHBV4%, o filme se torna mais suscetível ao ataque da água e dos microorganismos.

5.8.3. ESTUDO DO COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS FILMES DEGRADADOS POR ANÁLISE TÉRMICA

5.8.3.1. Estudo de comportamento térmico dos filmes degradados por TG-DTA

O estudo de biodegradação foi realizado com as amostras de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG nas proporções 80/20. As amostras foram enterradas em solo, a umidade do solo foi mantida constante e a temperatura média em estufa foi de 25 °C.

Após um mês em solo observou-se que as amostras de filmes de PHBV4%/hidroxiácidos perderam a porcentagem referente ao hidroxiácido adicionado, apresentando comportamento térmico nas curvas TG-DTA e DSC semelhante ao do PHBV4%, enquanto as amostras de PHBV4% mantiveram as mesmas características. As curvas TG e DTA das amostras de filmes de PHBV4%, PHBV4%/AG e PHBV4%/AM, sem serem submetidas ao ensaio de biodegradação estão apresentadas na Figura 40 e Figura 41, respectivamente. Os comportamentos térmicos das amostras de filmes após um mês de ensaio de biodegradação estão apresentados na Figura 42 e Figura 43, respectivamente.

Os valores de perda de massa obtidos a partir das curvas TG e os eventos térmicos obtidos a partir das curvas DTA estão apresentados na Tabela 19 e Tabela 20. Os valores de perda de massa para as amostras sem serem submetidas à biodegradação encontram-se apresentados no item 5.4.1 e na Tabela 19.

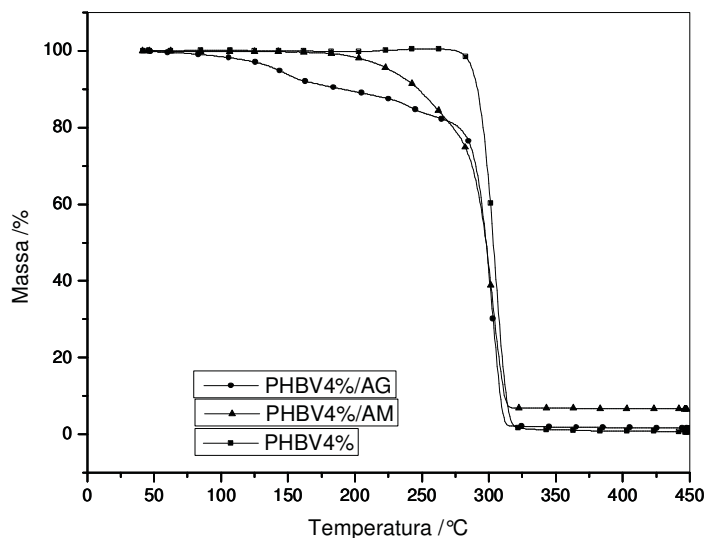


Figura 40: Curvas TG das amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG no tempo zero, sem serem submetidas a biodegradação.

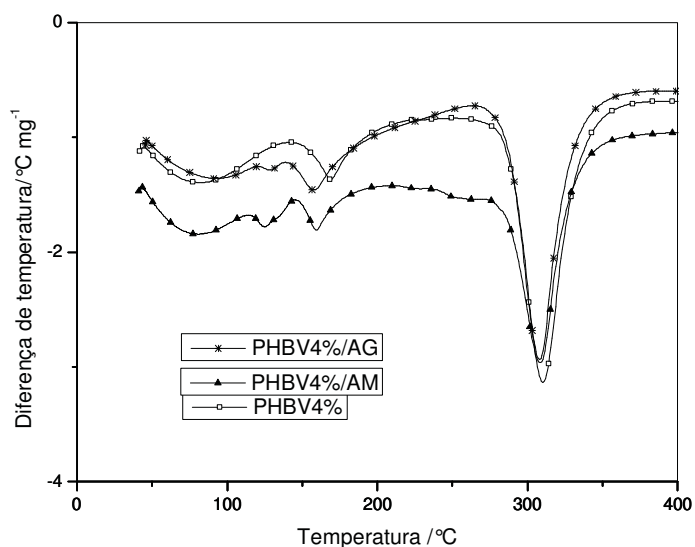


Figura 41: Curva DTA das amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG no tempo zero, sem serem submetidas à biodegradação.

Observa-se que para as amostras submetidas a um mês de biodegradação, mostra uma diminuição na temperatura de degradação, como pode ser observado na Figura 42. Para as amostras submetidas a nove meses de biodegradação essa diminuição na temperatura de degradação é mais acentuada.

As amostras submetidas a nove meses de biodegradação apresentaram menores perdas de massa nas curvas TG (Figura 48), devido à agregação de partículas de solo às amostras, formando resíduos.

As curvas TG para o PHBV4% apresentaram perda de massa de aproximadamente 1 % de material volátil antes de 250 °C e entre 250 e 350 °C as cadeias poliméricas foram totalmente degradadas. Na curva DTA observa-se um pico endotérmico de fusão em 169 °C e um referente à decomposição térmica em 310 °C, como apresentado e discutido no item 5.3.1.1.

Os comportamentos térmicos de decomposição para os ácidos málico e glicólico estão apresentados no item 5.3.1.2. Para os filmes de PHBV4%/AG e PHBV4%/AM os comportamentos térmicos apresentados são o mesmo descrito no item 5.4.1.

Para as amostras de filme que foram retiradas do solo no primeiro mês (PHBV4%/AG e PHBV4%/AM) observa-se perda de massa referente à porcentagem dos hidroxiácidos, como mostrado nas curvas TG na Figura 42 e os valores referentes à curva apresentados na Tabela 19. Provavelmente isso ocorre devido à elevada solubilidade em água dos hidroxiácidos, presente na umidade do solo. Como apresentado na Figura 42 e Figura 43 e Tabela 19 e Tabela 20 o comportamento térmico das misturas de PHB mantém as mesmas características do PHBV4%.

As amostras de filmes analisadas após de nove, doze e dezoito meses de exposição à biodegradação apresentaram comportamentos térmicos semelhantes às amostras retiradas do solo após seis meses, como mostram as curvas TG-DTA apresentadas da Figura 46 até a Figura 49. Devido à agregação de partículas de solo nas amostras, obteve-se um resíduo inorgânico após 300 °C. Observa-se que, os pontos de fusão para o PHBV4% e para as misturas poliméricas PHBV4%/AG e PHBV4%/AM encontram-se em foi aproximadamente 170°C, independente do tempo de exposição à biodegradação ou da composição da amostra. Entretanto, os picos endotérmicos da DTA, devido à decomposição de cadeias, tenderam a menores valores de temperatura, aproximadamente 295 °C para os filmes analisados após o nono mês de biodegradação , assim como para as amostras de PHBV4%/AG.

Tabela 19: Valores médios obtidos a partir das curvas TG para as amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após diferentes tempos de biodegradação

Tempo de exposição à biodegradação (meses)	% de perda de massa das amostras			% de resíduo inorgânico do solo		
	PHBV4%	PHBV4%/AM	PHBV4%/AG	PHBV4%	PHBV4%/AM	PHBV4%/AG
1	98,0	93,9	96,0	-	-	-
3	92,4	96,5	97,8	-	-	-
6	87,7	73,0	60,6	11,6	26,6	38,7
9	86,9	36,0	46,2	12,4	63,3	52,6
12	80,7	80,6	48,0	18,9	18,6	51,7
18	81,8	-	-	17,8	-	-

Tabela 20: Picos obtidos a partir das curvas DTA para as amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após diferentes tempos de biodegradação

Tempo de exposição à biodegradação (meses)	Pico endotérmico de degradação/°C			Pico endotérmico de fusão/°C		
	PHBV4%	PHBV4%/AM	PHBV4%/AG	PHBV4%	PHBV4%/AM	PHBV4%/AG
0	310,5	308,8	308,3	169,3	159,2	158,5
1	307,5	307,0	291,1	169,3	169,8	172,0
3	306,5	303,0	296,9	171,2	169,5	171,7
6	301,6	298,3	296,4	170,5	171,2	169,7
9	294,8	294,7	294,5	171,2	169,5	170,4
12	303,1	303,1	300,0	173,4	171,8	171,4
18	301,6	-	-	169,6	-	-

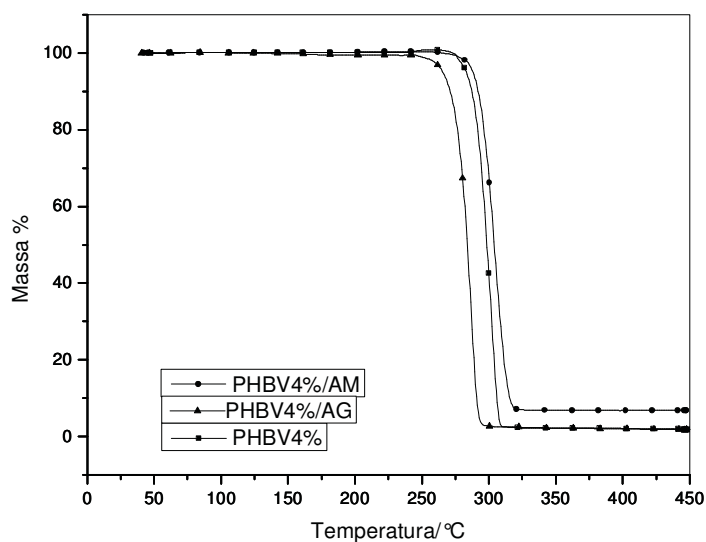


Figura 42: Curvas TG das amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após um mês expostas à biodegradação.

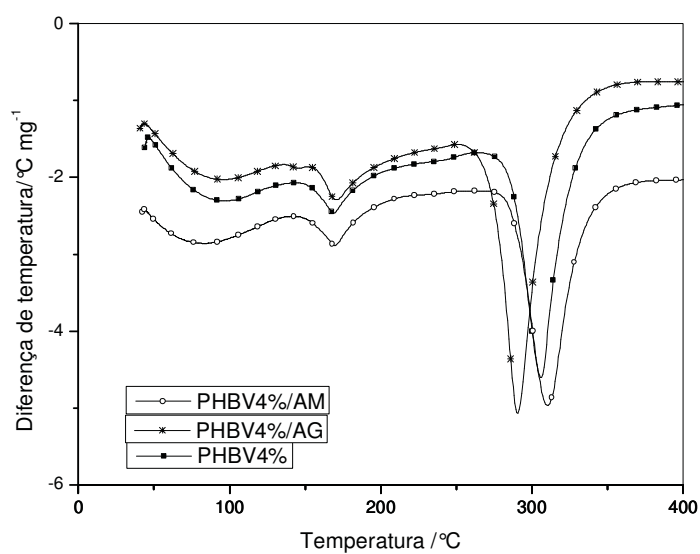


Figura 43: Curvas DTA das amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após um mês expostas à biodegradação.

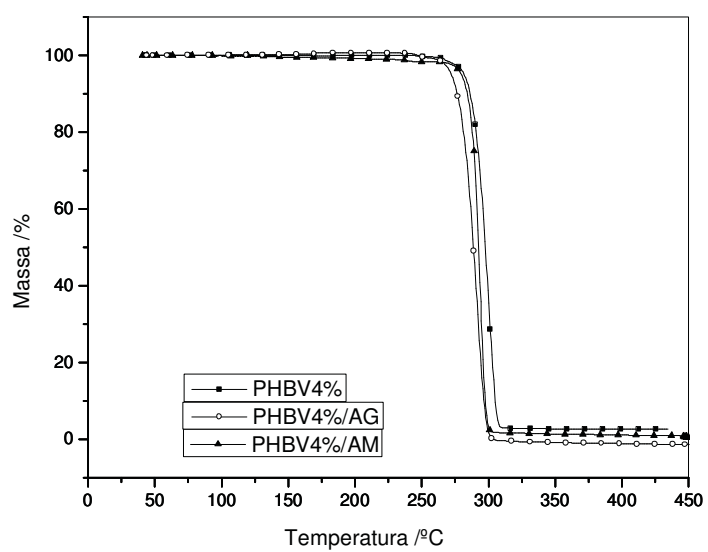


Figura 44: Curvas TG das amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após três meses expostas à biodegradação.

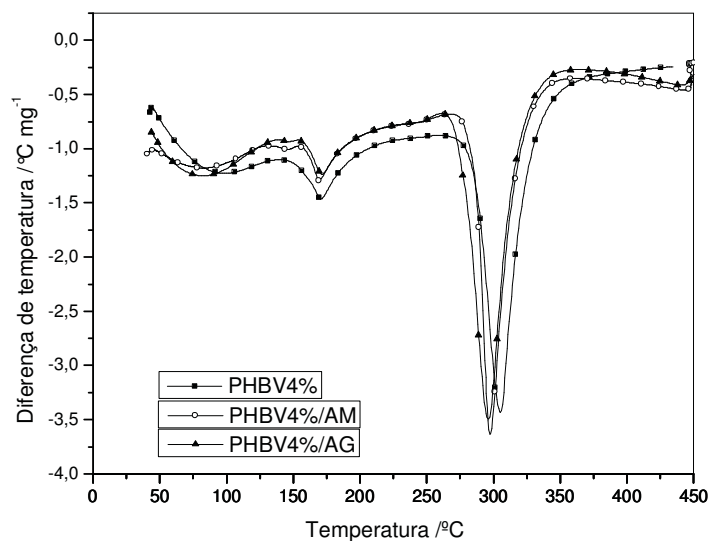


Figura 45: Curvas DTA das amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após três meses expostas à biodegradação.

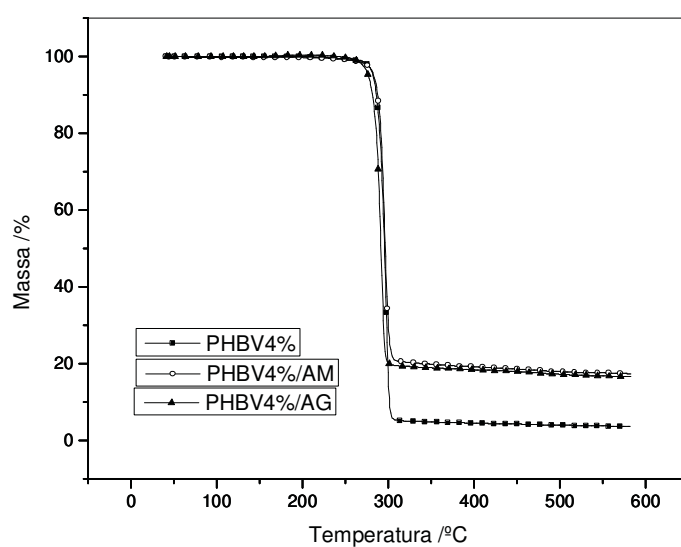


Figura 46: Curvas TG das amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após seis meses expostas à biodegradação.

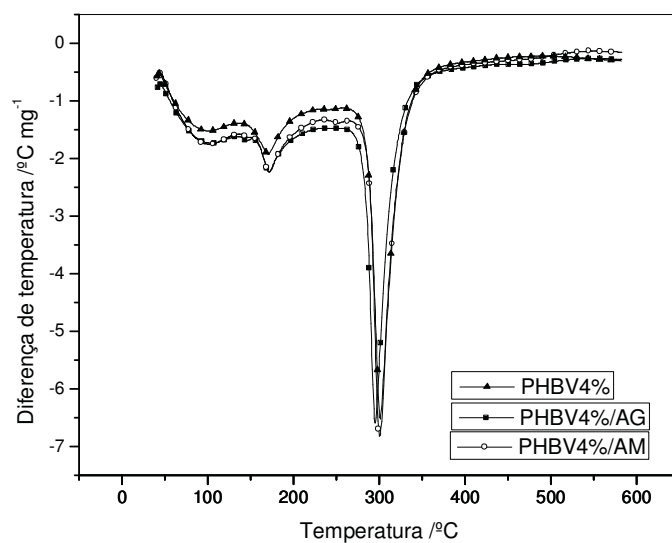


Figura 47: Curvas DTA das amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após seis meses expostas à biodegradação.

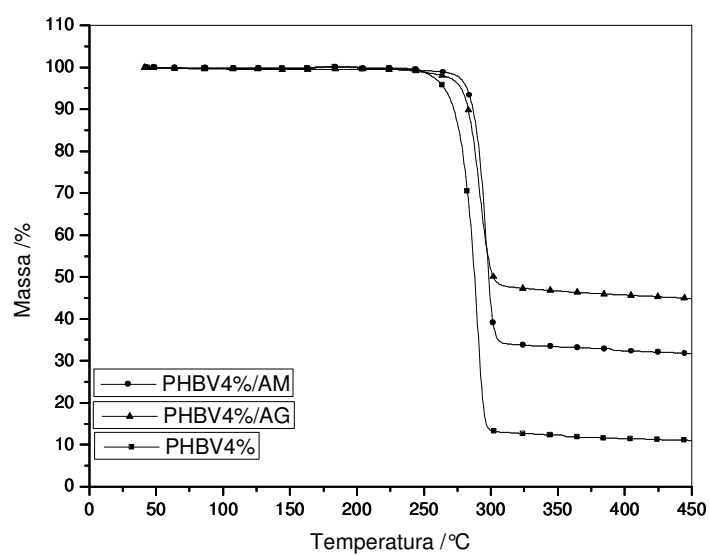


Figura 48: Curvas TG das amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após nove meses expostas à biodegradação.

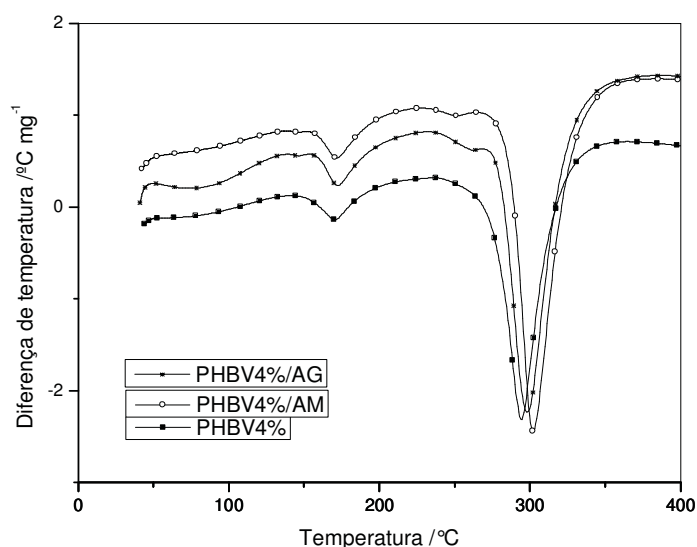


Figura 49: Curvas DTA das amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após nove meses expostas à biodegradação.

5.8.3.2. Estudo de comportamento térmico dos filmes por DSC

As análises por DSC foram realizadas para avaliar a influência de AG e AM na biodegradação do PHBV4%. Os filmes foram analisados antes e após serem submetidos ao ensaio de biodegradação. As discussões para as amostras analisadas antes do ensaio de biodegradação estão apresentadas no item 5.3.2 e 5.4.

As curvas DSC para o primeiro e segundo aquecimentos para as amostras sem serem submetidas à biodegradação e submetidas a 1, 3, 6, 9, 12 e 18 meses estão apresentadas da Figura 50 até a Figura 59 e os valores obtidos a partir das curvas encontram-se apresentados na Tabela 21.

Nas curvas DSC também se observa que as amostras submetidas à biodegradação a partir do primeiro mês apresentam o comportamento térmico do PHBV4%, ou seja, os hidroxiácidos foram solubilizados pela umidade do solo. Para as amostras submetidas a um e nove meses observa-se no primeiro aquecimento um pequeno pico de fusão antes da fusão do PHB, que pode ser devido à fusão da porcentagem de polihidroxivalerato na amostra.

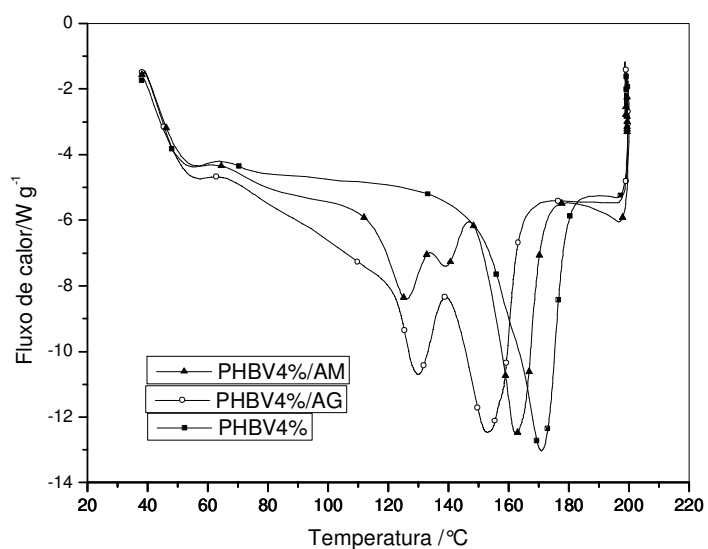


Figura 50: Curvas DSC no primeiro aquecimento para as amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG no tempo zero, sem serem expostas à biodegradação.

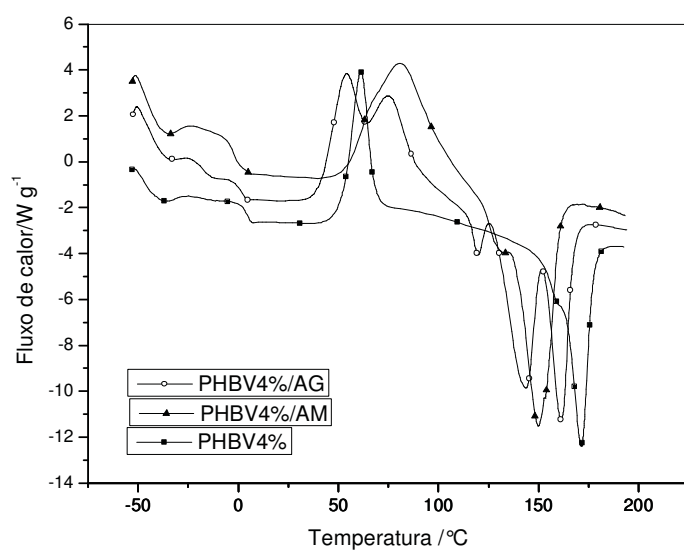


Figura 51: Curvas DSC no segundo aquecimento para as amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG no tempo zero, sem serem expostas à biodegradação.

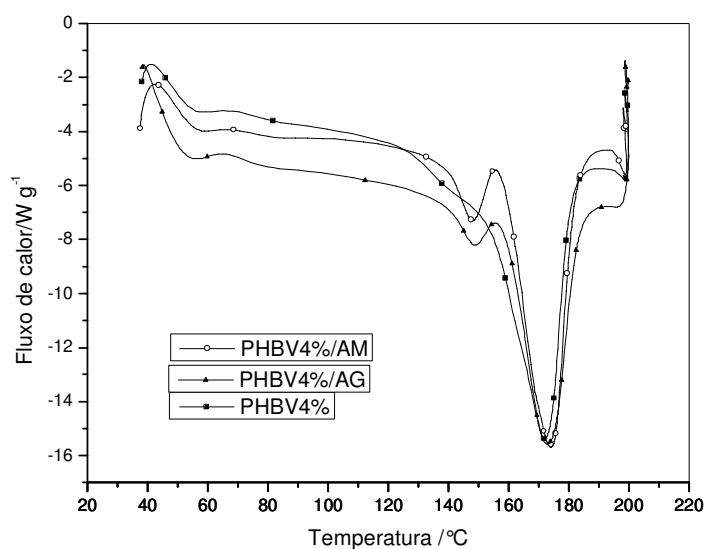


Figura 52: Curvas DSC no primeiro aquecimento para as amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após um mês expostas à biodegradação.

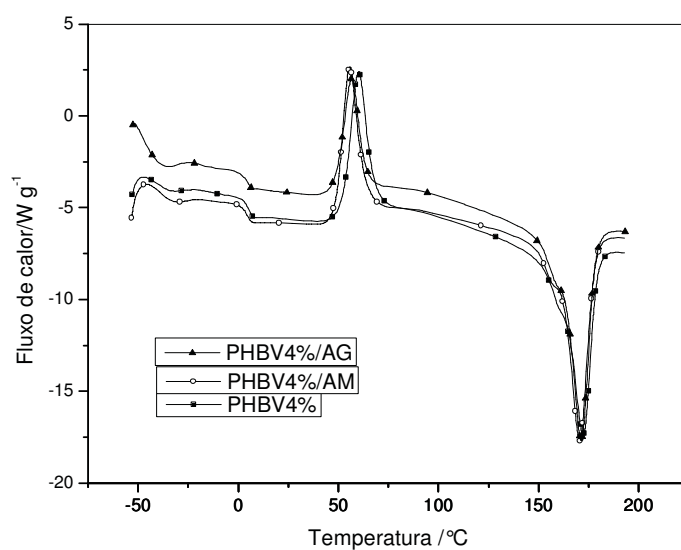


Figura 53: Curvas DSC no segundo aquecimento para as amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após um mês expostas à biodegradação.

Tabela 21: Valores médios referentes à análise realizada com cadinho selado calculadas a partir das curvas de DSC apresentadas da Figura 50 até a Figura 59.

Amostra	1º AQUECIMENTO			2º AQUECIMENTO					
	$\Delta H_f/Jg^{-1}$	%crist1	$T_{m1}/^{\circ}C$	$T_g/^{\circ}C$	$T_c/^{\circ}C$	$\Delta H_c/Jg^{-1}$	%crist2	$T_{m2}/^{\circ}C$	
PHBV4%	77,9	53,3	170,9	4,8	61,1	46,3	50,4	171,3	
PHBV4%/AM	49,6	33,9	162,4	-1,8	80,3	52,5	28,2	150,1	
PHBV4%/AG	38,3	26,2	154,1	1,4	53,7	42,6	41,0	161,3	
PHBV4% (1 mês)	67,6	46,2	172,1	5,2	60,4	42,1	46,9	172,0	
PHBV4%/AM (1 mês)	57,6	39,5	172,5	4,6	63,7	42,3	38,3	169,8	
PHBV4%/AG (1 mês)	64,1	43,9	174,2	4,5	56,9	36,1	48,5	171,3	
PHBV4% (3 meses)	73,8	50,5	171,9	5,5	55,9	37,4	44,4	172,5	
PHBV4%/AM (3 meses)	57,3	39,2	171,3	4,9	63,2	31,2	44,2	171,1	
PHBV4%/AG (3 meses)	60,9	41,7	173,4	4,7	57,4	33,9	46,9	171,4	
PHBV4% (6 meses)	62,3	42,7	171,9	5,3	57,4	3,5	48,6	173,1	
PHBV4%/AM (6 meses)	38,7	77,3	171,5	5,0	59,4	6,6	29,4	172,3	
PHBV4%/AG (6 meses)	43,5	29,8	171,3	5,5	59,9	5,0	31,3	172,1	
PHBV4% (9 meses)	67,1	45,9	171,9	5,8	56,0	11,0	44,5	173,9	
PHBV4%/AM (9 meses)	26,5	18,1	169,7	5,4	58,5	7,5	17,6	171,4	
PHBV4%/AG (9 meses)	35,1	24,1	170,2	5,2	54,3	5,9	25,9	170,7	
PHBV4% (12 meses)	49,2	29,8	170,0	0,1	49,0	62,7	30,6	171,7	
PHBV4%/AM (12 meses)	20,7	16,0	167,6	4,5	42,6	25,5	24,7	165,3	
PHBV4%/AG (12 meses)	26,8	18,4	168,4	3,2	55,1	14,2	18,5	169,7	
PHBV4% (18 meses)	50,5	26,1	168,8	2,4	48,6	26,0	24,9	169,3	

Os valores de T_g , T_c , T_m , and % Crist (porcentagem de PHB cristalizado) foram determinados e calculados a partir das curvas DSC e apresentados na Tabela 21. A porcentagem cristalizada foi calculada considerando-se a entalpia de fusão para uma amostra 100 % cristalina de PHB ($\Delta H = 146,0 \text{ J g}^{-1}$) (ROSA *et al.*, 2001).

Nos valores de T_{m1} e T_{m2} a numeração 1 e 2 refere-se respectivamente, ao primeiro e segundo aquecimentos. As amostras de PHBV4% sem biodegradação e as expostas à biodegradação e removidas do solo até o nono mês apresentam valores de %crist1, %crist2 e T_c constantes. Todavia, para os filmes de PHBV4% e as misturas poliméricas de PHBV4%/AG e PHBV4%/AM após nove meses de biodegradação apresentam valores baixos de %crist1, %crist2 e T_c . Independentemente do tempo de biodegradação os valores de T_g foram constantes para as amostras analisadas.

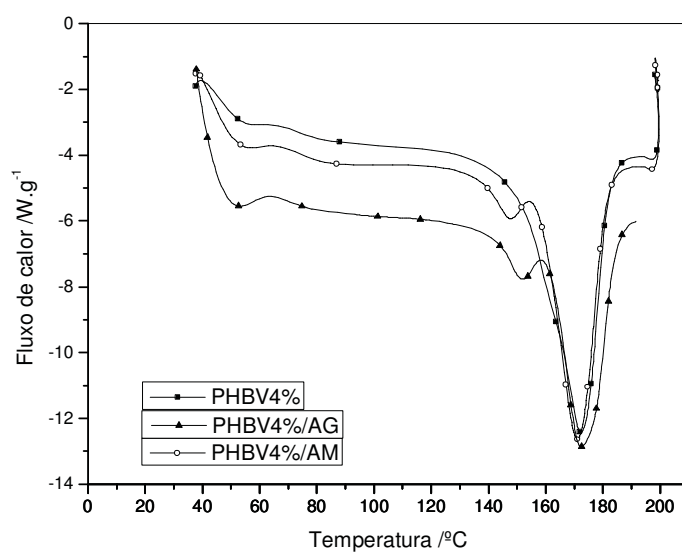


Figura 54: Curvas DSC no primeiro aquecimento para as amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após três meses expostas à biodegradação.

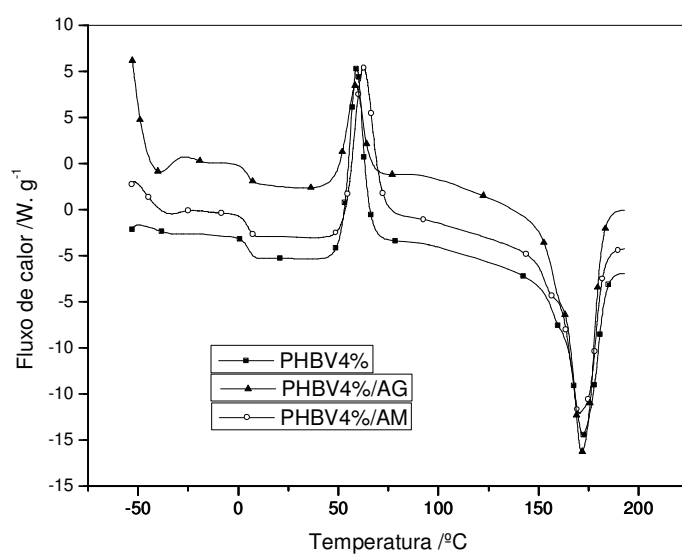


Figura 55: Curvas DSC no segundo aquecimento para as amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após três meses expostas à biodegradação.

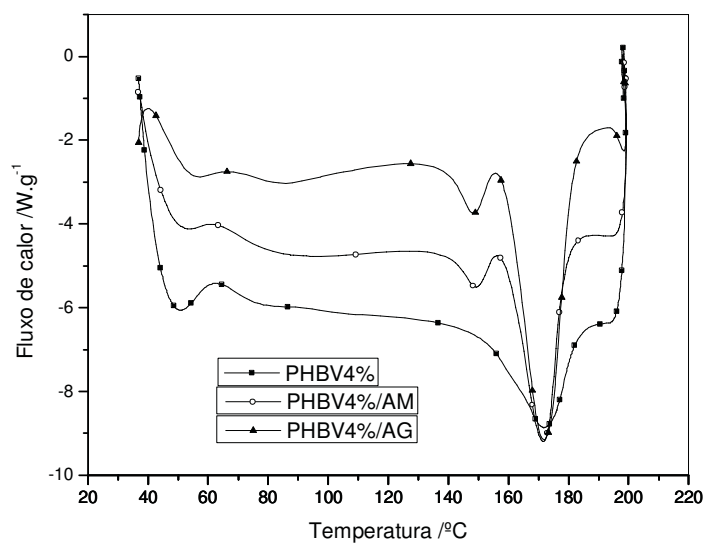


Figura 56: Curvas DSC no primeiro aquecimento para as amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após seis meses expostas à biodegradação.

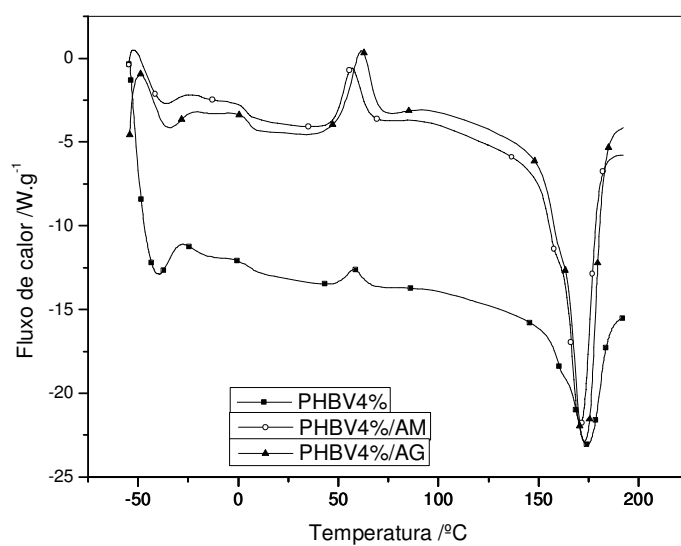


Figura 57: Curvas DSC no segundo aquecimento para as amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após seis meses expostas à biodegradação.

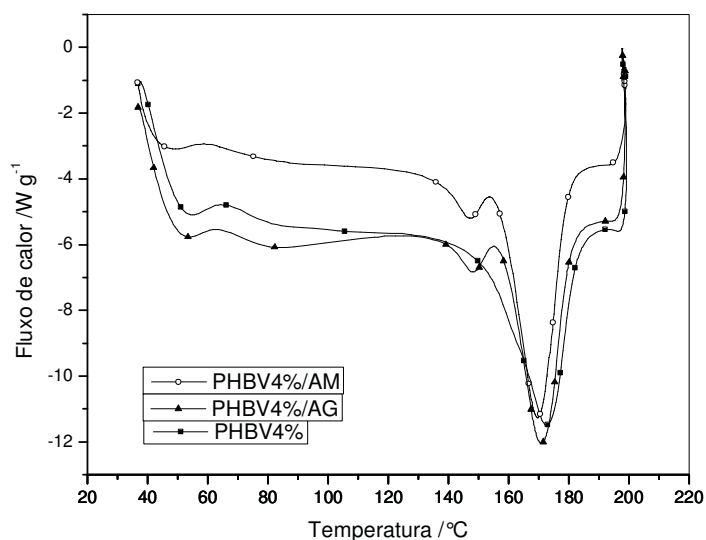


Figura 58: Curvas DSC no primeiro aquecimento para as amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após nove meses expostas à biodegradação.

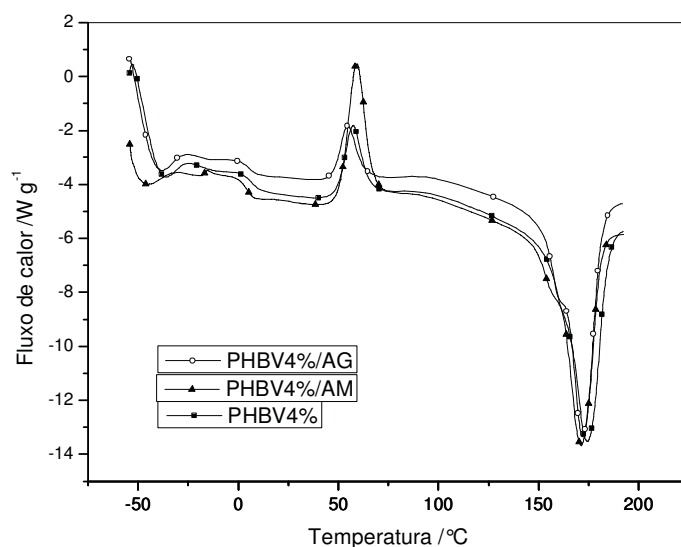


Figura 59: Curvas DSC no segundo aquecimento para as amostras dos filmes de PHBV4%, PHBV4%/AM e PHBV4%/AG após nove meses expostas à biodegradação.

O ensaio de biodegradação permitiu avaliar as misturas poliméricas do ponto de vista ambiental. As técnicas de análise térmica permitiram caracterizar as misturas. Os hidroxiácidos ácido málico e ácido glicólico são os que mais influenciam no comportamento térmico do PHBV4%, o primeiro como aditivo e o segundo como modificador de cadeia, alterando algumas de suas propriedades importantes como diminuição da temperatura de fusão e transição vítrea, mantendo a estabilidade térmica, o que pode ser observado nas curvas TG. Além de alterar propriedades

importantes do comportamento térmico do PHBV4% os hidroxiácidos aceleraram o processo de biodegradação do mesmo.

Os resultados de análise térmica TG-DTA e DSC das amostras de filmes submetidas à biodegradação indicam que os hidroxiácidos, AG e AM foram solubilizados pela umidade do solo. No entanto a estrutura do PHBV4% nos filmes PHBV4%/AM e PHBV4%/AG ficaram na forma de filmes até o décimo segundo mês, depois deste tempo observou-se completa fragmentação das amostras. Como consequência, a incorporação de hidroxiácidos nos filmes acelerou o processo de degradação, devido ao aumento da área superficial exposta, influenciando fortemente na estabilidade das cadeias do PHB, durante o ensaio de biodegradação.

6. CONCLUSÕES

A partir dos resultados de análise térmica e cromatografia gasosa, conclui-se que os hidróxiácidos ácido glicólico e ácido tartárico interagem com as cadeias do PHBV4%, enquanto que os ácidos málico e mandélico atuam como aditivo nos filmes.

O estudo de biodegradação permite concluir que a presença dos hidroxiácidos ácido málico e glicólico acelerou o processo de biodeteriorização dos filmes em relação ao PHBV4%.

7. TRATAMENTO DE RESÍDUOS

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

8. SUGESTÃO DE TRABALHOS FUTUROS

Para caracterização estrutural complementar da modificação do PHBV4% com hidroxíaxidos pode-se utilizar as técnicas de análise espectrométrica, tais como, infravermelho e ressonância magnética nuclear.

Avaliar os resíduos de cadeia e possíveis produtos de biodeteriorização ou biodegradação no solo.

REFERÊNCIAS

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **D5338-98**: standard test method for determining the anaerobic biodegradation of plastic materials in the presence of municipal sewage sludge. West Conshohocken, 1997a. 6 p.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **D5210-92**: standard test method for determining the aerobic biodegradation of plastic materials under controlled composting conditions. West Conshohocken, 1997b. 6 p.

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

BARKOULA, N. M.; GARKHAIL, S. K.; PEIJS, T. Biodegradable composites based on flax/polyhydroxybutyrate and its copolymer with hydroxyvalerate. **Industrial Crops and Products**, v. 31, n.1, p. 34-42, 2010.

BELGACEM, M. N.; GANDINI, A. **Monomers, polymers and composites from renewable resources**. Amsterdam: Elsevier, 2008. 562 p.

BERTOLINI, A. C. **Biopolymers technology**. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2007. 199 p.

BETANCOURT, A.; YEZZA, A.; HALASZ, A.; VAN TRA, H.; HAWARI, J. Rapid microwave assisted esterification method for the analysis of poly-3-hydroxybutyrate in *Alcaligenes latus* by gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v.1154, n.1-2, p. 473-476, 2007.

BUCCI, D. Z.; TAVARES, L. B. B.; SELL, I. Biodegradation and physical evaluation of PHB packaging. **Polymer Testing**, v. 26, n. 7, p. 908-915, 2007.

BUDAVARI, S. **The Merck index**: an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. 13th ed. New Jersey, 2001. p. 766; 794; 1552.

CALIL, M. R.; GABOARDI, F.; GUEDES, C. G. F.; ROSA, D. S. Comparison of the biodegradation of poly(ϵ -caprolactone), cellulose acetate and their blends by the Sturm test and selected cultured fungi. **Polymer Testing**, v. 25, n. 5, p. 597-604, 2006.

CANEVAROLO JUNIOR, S. V. **Ciência dos polímeros**. São Paulo: Artliber, 2002. 110 p.

CANEVAROLO JUNIOR, S. V. Análise térmica: termogravimetria. In: _____. (Ed.). **Técnicas de caracterização de polímeros**. São Paulo: Artliber, 2004. v. 209.

CAPELA, J.; CAPELA, M.; RIBEIRO, C. Rational approximations of the Arrhenius integral using Jacobi fractions and gaussian quadrature. **Journal of Mathematical Chemistry**, v. 45, n. 3, p. 769-775, 2009.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable polymers. **Progress in Polymer Science**, v. 23, n. 7, p. 1273-1335, 1998.

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

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Introdução a métodos cromatográficos**. 7. ed. Campinas: Ed. UNICAMP, 1995. 279 p.

CORDEBELLO, F. T. S. Polímeros do futuro: tendências e oportunidades. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 12, n. 4, p. 4-25, 2002.

CUI, Y.; BARFORD, J. P.; RENNEBERG, R. Gas chromatographic determination of Poly(3-hydroxybutyrate) with alkaline hydrolysis and acid esterification. **Analytical Letters**, v. 40, n. 15, p. 2915 - 2924, 2007.

DIAS, D.; CRESPI, M.; RIBEIRO, C.; FERNANDES, J.; CERQUEIRA, H. Application of non-isothermal cure kinetics on the interaction of poly(ethylene terephthalate) — Alkyd resin paints. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 91, n. 2, p. 409-412, 2008.

DOMENEK, S.; FEUILLOLEY, P.; GRATRAUD, J.; MOREL, M-H.; GUILBERT, S. Biodegradability of wheat gluten based bioplastics. **Chemosphere**, v. 54, n. 4, p. 551-559, 2004.

FARIA, A. U. D. **Biodegradação de polipropileno (PP), de polihidroxibutirato (PHB) e da blenda PP/PHB (1:1) por microorganismos de rio poluído e efluente bruto de refinaria de petróleo**. 2009. 57 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada)- Instituto de Biociências de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2009.

FAZENDA, J. M. R. **Tintas e vernizes: ciência e tecnologia**. 2005. 1064 p.

FRANCHETTI, S. M. M.; MARCONATO, J. C. Polímeros biodegradáveis - uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 811-816, 2006.

GABOARDI, F.; CALIL, M. R.; ATTILI, D.; ROSA, D. S. Avaliação da biodegradabilidade de blendas de PHB/PEBD com cera de polietileno oxidada (CPO) e estearato de manganês (EMN) em solo simulado e identificação da microbiota fúngica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS, 9., 2007, Campina Grande. **Anais...**São Carlos: ABPol, 2007. 1 CD ROM.

GOMEZ, J. G. C.; BUENO NETTO, C. L. Produção de plásticos biodegradáveis por bactérias. **Revista Brasileira de Engenharia Química**, v. 17, n. 2, p. 24-29, 1997.

GONÇALVES, S. P. C. **Biodegradação de filmes de PHBV, PCL, PP e blendas pela ação de microorganismos de solo**. 2009. 159 f. Tese (Doutorado em Microbiologia Aplicada)- Instituto de Biociências de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2009.

GONÇALVES, S. P. C.; FRANCHETTI, S. M. M.; CHINAGLIA, D. L.; AGNELLI, J. A. M. Estudo de biodegradação da blenda PCL/PHB-V em solo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS, 9., 2007, Campina Grande. **Anais...** São Carlos: ABPol, 2007. 1 CD ROM.

GUNARATNE, L. M. W. K.; SHANKS, R. A. Melting and thermal history of poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) using step-scan DSC. **Thermochimica Acta**, v. 430, n. 1-2, p. 183-190, 2005.

HAY, J. N.; SHARMA, L. Crystallisation of poly(3-hydroxybutyrate)/polyvinyl acetate blends. **Polymer**, v. 41, n. 15, p. 5749-5757, 2000.

JAN, S.; ROBLOT, C.; GOETHALS, G.; COURTOIS, J.; COURTOIS, B.; SAUCEDO, J. E. N.; SEGUIN, J. P.; BARBOTIN, J. N. Study of parameters affecting poly(3-hydroxybutyrate) quantification by gas chromatography. **Analytical Biochemistry**, v. 225, n. 2, p. 258-263, 1995.

KOBAYASHI, M.; AGNELLI, J. A. M. Desenvolvimento e caracterização de compósitos poliméricos biodegradáveis. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS, 9., 2007, Campina Grande. **Anais...** São Carlos: ABPol, 2007. 1 CD ROM.

KOPINKE, F. D.; MACKENZIE, K. Mechanistic aspects of the thermal degradation of poly(lactic acid) and poly(β -hydroxybutyric acid). **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 40-41, p. 43-53, 1997.

LANÇAS, F. **Validação de métodos cromatográficos**. 6. ed. São Carlos: Rima, 2004. v. 6, 62 p.

LEFAUX, S.; MANCEAU, A.; BENGUIGUI, L.; CAMPISTRON, I.; LAGUERRE, A.; LAULIER, M.; LEIGNEL, V.; TREMBLIN, G. Continuous automated measurement of carbon dioxide produced by microorganisms in aerobic conditions: application to proteic film biodegradation. **Comptes Rendus Chimie**, v. 7, n. 2, p. 97-101, 2004.

LEITE, F. **Validação em análise química**. 4. ed. Campinas: Átomo. 2002. 224 p.

LIGIERO, C. B. P.; REIS, L. A. D.; PARRILHA, G. L.; BAPTISTA FILHO, M.; CANELA, M. C. Comparação entre métodos de quantificação em cromatografia

gasosa: um experimento para cursos de química. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1338-1341, 2009.

LUENGO, J. M.; GARCÍA, B.; SANDOVAL, A.; NAHARRO, G.; OLIVERA, E. R. Bioplastics from microorganisms. **Current Opinion in Microbiology**, v. 6, n. 3, p. 251-260, 2003.

MAKENZIE, R. C. Nomenclature for thermal analysis. **Pure and Applied Chemistry**, v. 57, n.11, p. 1737-1740, 1985.

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

OEHMEN, A.; KELLER-LEHMANN, B.; ZENG, R. J.; YUAN, Z.; KELLER, J. Optimisation of poly-[beta]-hydroxyalkanoate analysis using gas chromatography for enhanced biological phosphorus removal systems. **Journal of Chromatography A**, v. 1070, n. 1-2, p. 131-136, 2005.

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

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

ROSA, D. S.; PANTANO FILHO, R. **Biodegradação**: um ensaio com polímeros. Bragança Paulista: Moara, 2003. 112 p.

ROSA, D. S.; FRANCO, B. L. M.; CALIL, M. R. Biodegradabilidade e propriedades mecânicas de novas misturas poliméricas. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 11, n. 2, p. 82-88, 2001.

ROSA, D. S.; CHUI, Q. S. H.; PANTANO FILHO, R.; AGNELLI, J. A. M. Avaliação da biodegradação de Poli-3-(Hidroxibutirato), Poli-3-(Hidroxibutirato-co-valerato) e Poli-e-(caprolactona) em solo compostado. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 12, n. 4, p. 311-317, 2002.

ROSA, D. S.; GUEDES, C. G. F.; GABOARDI, F.; FOGACCIA, J. Biodegradação de blendas de PHB/PEBD submetidas aos envelhecimentos natura e térmico. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS, 9., 2007, Campina Grande. **Anais...** São Carlos: ABPol, 2007. 1 CD ROM.

ROSA, D. S.; PANTANO FILHO, R.; CHUI, Q. S. H.; CALIL, M. R.; GUEDES, C. G. F. The biodegradation of poly-[β]-(hydroxybutyrate), poly-[β]-(hydroxybutyrate-co-[β]-

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

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

SANTOS, A. F.; POLESE, L.; RIBEIRO, C. A.; ERNANDES, J. R.; DAMETTO, A. C.; MANGILI, L. S. Validação de métodos para determinação do teor de 3-hidroxibutirato e 3-hidroxivalerato em polímero biodegradável. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 1951, 2007.

SANTOS, R. F. D. S. **Estabilização radiolítica do polímero biodegradável poli(hidroxibutirato) (PHB)**. 2007. 106 f. Dissertação (Mestrado em Química)- Departamento de Química, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2007.

SOUZA, J. L.; SANTOS, A. F.; POLESE, L.; CRESPI, M. S.; RIBEIRO, C. A. Otimização e validação de metodologia cromatográfica para determinação simultânea de composição monomérica em polímero biodegradável. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE CROMATOGRAFIA E TÉCNICAS AFINS, 2., 2006, São Pedro. **Anais...**São Carlos: IIC, 2006a. 1 CD-ROM.

SOUZA, J. L.; SANTOS, A. F. D.; POLESE, L.; CRESPI, M. S.; RIBEIRO, C. A. Otimização e validação de metodologia cromatográfica para determinação simultânea de composição monomérica em polímero biodegradável. **Eclética Química**, v. 31, p. 49-54, 2006b.

SPITALSKÝ, Z.; LACÍK, I.; LATHOVÁ, E.; JANIGOVÁ, I.; CHODÁK, I. Controlled degradation of polyhydroxybutyrate via alcoholysis with ethylene glycol or glycerol. **Polymer Degradation and Stability**, v. 91, n. 4, p. 856-861, 2006.

SQUIO, C. R.; ARAGÃO, G. M. F. Estratégias de cultivo para produção dos plásticos biodegradáveis poli(3-hidroxibutirato) e poli(3-hidroxibutirato-co- hidroxivalerato) por bactérias. **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 615-622, 2004.

SRIDEWI, N.; BHUBALAN, K.; SUDESH, K. Degradation of commercially important polyhydroxyalkanoates in tropical mangrove ecosystem. **Polymer Degradation and Stability**, v. 91, n. 12, p. 2931-2940, 2006.

VINHAS, G. R. M.; ALMEIDA, Y. D. M. B. D.; LIMA, M. A. G. D. A.; SANTOS, L. A. Estudo das propriedades e biodegradabilidade de blendas de poliéster/amido submetidas ao ataque microbiano. **Química Nova**, v. 30, n. 7, p. 1584-1588, 2007.

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

VYAZOVKIN, S.; WIGHT, C. A. Model-free and model-fitting approaches to kinetic analysis of isothermal and nonisothermal data. **Thermochimica Acta**, v. 340-341, p. 53-68, 1999.

WENDLANDT, W. W. **Thermal analysis**. 3rd ed. New York: John Wiley, 1985. 814 p.