
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(Microbiologia Aplicada)**

**BIODEGRADAÇÃO DE FILMES DE PHBV, PCL, PP E BLENDS
PELA AÇÃO DE MICRORGANISMOS DE SOLO.**

Suely Patrícia Costa Gonçalves

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Microbiologia Aplicada.

Abril - 2009

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

547.87 Gonçalves, Suely Patrícia Costa
G635b Biodegradação de filmes de PHBV, PCL, PP e blendas
pela ação de microrganismos de solo / Suely Patricia Costa
Gonçalves. – Rio Claro : [s.n.], 2009
157 f. : il., figs., gráfs., tabs., fots.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Sandra Mara Martins Franchetti

1. Polímeros. 2. Blenda. 3. Química orgânica. I. Título.

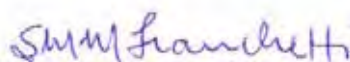
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(MICROBIOLOGIA APLICADA)

TESE DE DOUTORADO defendida em 30.04.2009

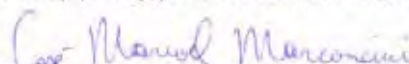
Biodegradação de filmes de PHBV, PCL, PP e BLENDS pela ação de microorganismos de solo

SUELY PATRICIA COSTA GONÇALVES

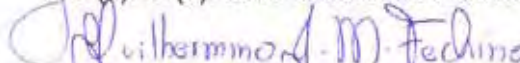
Comissão Examinadora:



Prof(a). Dr(a). *Sandra Mara Martins Franchetti*



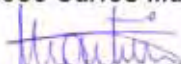
Prof(a). Dr(a). *José Manoel Marconcini*



Prof(a). Dr(a). *Guilhermino José Macedo Fachine*



Prof(a). Dr(a). *José Carlos Marconato*



Prof(a). Dr(a). *Marcos Roberto Monteiro*

DEDICÁTORIA

Aos meus pais, Celso e Juraci, com amor, admiração e gratidão pela compreensão, carinho, presença e incansável apoio ao longo de toda a minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Deus em sua infinita Sabedoria.

À Prof. Dra. Sandra Mara Martins Franchetti, pela orientação, amizade e confiança.

Ao Prof Dr. Dante Luis Chinaglia, pela amizade, grande ajuda e apoio.

À minha família, em especial meus queridos irmãos Paulo, Cristina e Maura, e cunhados Jane, César e Ricardo pelo apoio dado. Aos meus amados sobrinhos Giovanna e George.

Ao meu querido, Daniel Cristiano Serafim pelo amor, carinho e companheirismo.

Ao Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista – Rio Claro, por meio do Programa de Microbiologia Aplicada, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudo concedida durante o trabalho.

Aos Técnicos do Departamento de Bioquímica e Microbiologia / UNESP – Rio Claro, pela amizade, ajuda e apoio no desenvolvimento do trabalho. Em especial a Maria Luiza, pela amizade, companheirismo e ajuda contínua.

Ao corpo docente do Departamento de Bioquímica e Microbiologia / UNESP – Rio Claro, pela disposição, ajuda e conselhos no desenvolvimento do trabalho.

Ao Prof. Dr. Aldo E. Job e Prof. Dr. Carlos José L. Constantino – Unesp/Presidente Prudente, e sua equipe, pelo apoio e cortesia, tornando possível a realização das análises térmicas.

A todos os amigos do Laboratório IV, pela amizade, paciência, companheirismo e auxílio no desenvolvimento do trabalho.

Aos colegas do Programa de Microbiologia Aplicada / UNESP – Rio Claro.

“A percepção do desconhecido é a mais fascinante das experiências. O homem que não tem os olhos abertos para o misterioso passará pela vida sem ver nada.”

“O impossível existe até quando alguém duvide dele e prove o contrário.”

Albert Einstein

“O prazer no trabalho aperfeiçoa a obra.”

Aristóteles

Resumo

Neste trabalho, estudou-se a biodegradação dos filmes de PHB-V, PCL, PP e das blendas de PCL/PHB-V (4:1) e PP/PHB-V (4:1) em solo. Os filmes poliméricos foram preparados por compressão a quente e analisados através das análises de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV), calorimetria exploratória diferencial (DSC), termogravimetria (TG) e difração de raio-X (DRX), para investigar os processos de biodegradação por um período de 120 dias. A atividade microbiana foi monitorada durante todo o período de experimento, bem como vários parâmetros: pH, temperatura, umidade, matéria orgânica, quantidade de CO₂ e quantificação de microrganismos.

Após os diferentes tempos do ensaio em solo, os filmes poliméricos apresentaram alterações quanto a sua estrutura molecular e morfologia em diferentes intensidades. Os processos de biodegradação observados nos diferentes filmes poliméricos, ocorreram via erosão superficial. O filme de PHB-V, foi o mais suscetível ao ataque microbiano, sendo completamente decomposto em 30 dias. O grau de cristalinidade de PHB-V permaneceu inalterado, pois a biodegradação ocorreu simultaneamente nas fases amorfa e cristalina. Para os filmes de PCL a biodegradação ocorreu tanto na fase amorfa como na interface do polímero. Os filmes de PP, após a biodegradação apresentaram uma ordenação na estrutura cristalina, denominada como “quemi-cristalização”. A biodegradação das blendas de PCL/PHB-V (4:1) e PP/PHB-V (4:1) ocorreu na interfase dos dois componentes da blenda, indicando que a imiscibilidade/morfologia são fatores que influenciam significativamente no processo de degradação.

Palavras chave: Biodegradação; Polímeros; Blenda; Solo.

Abstract

In this work, we studied the biodegradation of the films of PHB-V, PCL, PP and the blends of PCL / PHB-V (4:1) and PP / PHB-V (4:1) in soil. The polymer films were prepared by melt-pressing and were evaluated by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), scanning electron microscopy (SEM), differential scanning calorimetry (DSC), thermogravimetry (TGA) and X-ray diffraction (XRD), and investigated with respect to their microbial degradation in soil after 120 days. Microbial activity was monitored during the whole experiment, and various parameters: pH, temperature, moisture, organic matter, amount of CO₂ and quantification of microorganisms.

After different times of the test in soil, the polymer films showed changes in their molecular structure and morphology in different intensities. The processes of biodegradation observed in various polymer films, occurred via surface erosion. The film of PHB-V was the most susceptible to microbial attack and was completely decomposed in 30 days. The degree of crystallinity of PHB-V remained unchanged since the degradation occurred in both crystalline and amorphous phases. For films of PCL biodegradation occurred in both the amorphous phase as the interface of the polymer. The films of PP after biodegradation underwent an arrangement of the crystalline structure, known as "chemi-crystallization". The biodegradation of the blends of PCL / PHB-V (4:1) and PP / PHB-V (4:1) occurred in the interphase of the two components of the blends, indicating that the immiscibility/morphology are factors that significantly influence the process of degradation.

Keywords: Biodegradation. Polymers. Blend. Soil.

Lista de Ilustrações

Fotografia 01 – a - Coluna de solo; b - detalhe sistema de gotejamento de água.....	24
Fotografia 02 – Polímeros na coluna de solo.....	24
Fotografia 03 – Respirômetro de Bartha.....	26
Fotografia 04 – PHB-V (a) original; (b) após 15 dias em coluna de solo.....	38
Fotografia 05 - PCL (a) original; (b) 30 dias; (c) 60 dias; (d) 90 dias; (e) 120 dias após tratamento microbiano em coluna de solo.....	51
Fotografia 06 - PCL/PHB-V (4:1) (a) original; (b) 30 dias; (c) 60 dias; (d) 90 dias; (e) 120 dias após tratamento microbiano em coluna de solo.....	61
Fotografia 07 - PP (a) original; (b) 30 dias; (c) 60 dias; (d) 90 dias; (e) 120 dias após tratamento microbiano em solo.....	73
Fotografia 08 - PP/PHB-V (4:1) (a) original; (b) 30 dias; (c) 60 dias; (d) 90 dias; (e) 120 dias após tratamento microbiano em solo.....	85

Lista de Figuras

Figura 01 – Micrografia eletrônica de transmissão de corte fino de células de <i>R. eutropha</i> , contendo grande quantidade de PHA.....	05
Figura 02 – Fórmula estrutural do poli(3-hidroxi butirato-co-hidroxi valerato).....	05
Figura 03 – Fórmula estrutural do poli(ϵ -caprolactona).....	06
Figura 04 – Fórmula estrutural do polipropileno.....	08
Figura 05 – Agregado de solo	09
Figura 06 – Representação esquemática do processo de degradação no ambiente.....	12
Figura 07 – Representação dos teores de umidade e temperatura do solo.....	32
Figura 08 – Matéria orgânica do solo.....	33
Figura 09 – pH do solo durante o período de biodegradação.....	35
Figura 10 – Evolução de CO ₂ das amostras do solo nos diferentes tempos de biodegradação.....	36
Figura 11 – Espectros de FTIR dos filmes de PHB-V: original e biotratado após 15 dias em coluna de solo.....	39
Figura 12 – MEV dos filmes de PHB-V (a) original; (b) biotratado solo 15 dias.....	42
Figura 13 – % perda de massa filmes PHB-V após tratamento microbiano.....	43
Figura 14 – Curvas de DSC dos filmes de PHB-V: original e biotratado em solo.....	44
Figura 15 – Curvas de TG dos filmes de PHB-V: original e biotratado.....	46
Figura 16 – DRX dos filmes de PHB-V: original e biotratado.....	47
Figura 17 – Esquema lamela tipo “sandwich”: núcleo composto pelas unidades de HB, e as unidades HV nas arestas.....	49
Figura 18 – Espectro de FTIR dos filmes de PCL: original e biotratado em diferentes tempos.....	52
Figura 19 – MEV: PCL (a) original; (b) 30 dias; (c) 60 dias; (d) 90 dias; (e) 120 dias após tratamento microbiano em coluna de solo.....	54
Figura 20 – % perda de massa filmes PCL após tratamento microbiano.....	55
Figura 21 – Curvas de DSC dos filmes PCL: original e biotratado em diferentes tempos.....	56
Figura 22 – Curvas de TG dos filmes de PCL: original e biotratado em diferentes tempos.....	57
Figura 23 – DRX dos filmes de PCL: original e biotratado em diferentes tempos.....	59
Figura 24 - Espectros de FTIR dos filmes da blenda PCL/PHB-V (4:1): original e biotratado	

em solo.....	62
Figura 25 – MEV dos filmes da blenda PCL/PHB-V (4:1) (a) original; (b) 30 dias; (c) 60 dias; (d) 90 dias; (e) 120 dias após tratamento microbiano em coluna de solo.....	64
Figura 26 - % perda de massa filmes da blenda PCL/PHB-V (4:1) após tratamento microbiano.....	65
Figura 27 – Curvas de DSC dos filmes da blenda PCL / PHB-V (4:1): original e biotratado em diferentes tempos.....	66
Figura 28 – Curvas de TG dos filmes da blenda PCL / PHB-V (4:1): original e biotratado em diferentes tempos.....	68
Figura 29 – DRX dos filmes da blenda PCL / PHB-V (4:1): original e biotratado em diferentes tempos.....	70
Figura 30 - Espectro FTIR dos filmes de PP original e biotratado em diferentes tempos.....	74
Figura 31 – MEV dos filmes de PP (a) original; (b) 30 dias; (c) 60 dias; (d) 90 dias; (e) 120 dias após tratamento microbiano em coluna de solo.....	76
Figura 32 – Curvas de DSC dos filmes de PP: original e biotratado em diferentes tempos.....	78
Figura 33 – Modelo de PP na forma α (a) estrutura ordenada - α_2 (b) estrutura desordenada - α_1	79
Figura 34 – Curvas de TG dos filmes de PP: original e biotratado em diferentes tempos.....	81
Figura 35 – DRX dos filmes de PP: original e biotratado em diferentes tempos.....	82
Figura 36 - Espectro FTIR dos filmes da blenda PP/PHB-V (4:1): original e biotratado em diferentes tempos.....	86
Figura 37 – MEV dos filmes da blenda PP/PHB-V (4:1) (a) original; (b) 30 dias; (c) 60 dias; (d) 90 dias; (e) 120 dias após tratamento microbiano em coluna de solo.....	88
Figura 38 – Curvas de DSC dos filmes da blenda PP/PHB-V (4:1): original e biotratado em diferentes tempos.....	90
Figura 39 – Curvas de TG dos filmes da blenda PP/PHB-V (4:1): original e biotratado em diferentes tempos.....	91
Figura 40 – DRX dos filmes da blenda PP/PHB-V (4:1): original e biotratado em diferentes tempos.....	93
Figura A1 - Espectro FTIR: PHB-V original e biotratado em solo.....	111

Figura A2 – DSC e DDSC: PHB-V (a) original; (b) biotratado 15 dias.....	112
Figura A3 – TG e DTG: PHB-V (a) original; (b) PHB-V: biotratado 15 dias.....	113
Figura B1 - Espectro FTIR: PCL original e biotratado em solo.....	114
Figura B2 – DSC e DDSC: PCL (a) original; (b) biotratado 30 dias; (c) biotratado 60 dias; (d) biotratado 90 dias; (e) biotratado 120 dias.....	115
Figura B3 – TG e DTG: PCL(a) original; (b) biotratado 30 dias; (c) biotratado 60 dias; (d) biotratado 90 dias; (e) biotratado 120 dias.....	118
Figura C1 - FTIR: PCL / PHB-V (4:1) original e biotratado em solo.....	121
Figura C2 – DSC e DDSC: PCL/PHB-V (4:1) (a) original; (b) biotratado 30 dias; (c) biotratado 60 dias; (d) biotratado 90 dias; (e) biotratado 120 dias.....	122
Figura C3 – TG e DTG: PCL/PHB-V (4:1) (a) original; (b) biotratado 30 dias; c) biotratado 60 dias; (d) biotratado 120 dias.....	125
Figura D1 - Espectro de FTIR: PP original e biotratado em solo.....	127
Figura D2 – DSC e DDSC: PP (a) original; (b) biotratado 30 dias; (c) biotratado 60 dias; (d) biotratado 90 dias; (e) biotratado 120 dias.....	128
Figura D3 – TG e DTG: PP (a) original; (b) biotratado 30 dias; (c) biotratado 60 dias; (d) biotratado 90 dias; (e) bitratado 120 dias.....	131
Figura E1 - Espectro de FTIR: PP/PHB-V (4:1) original e biotratado em solo.....	134
Figura E2 – DSC e DDSC: PP/PHB-V (4:1) (a) original; (b) biotratado 30 dias; (c) biotratado 60 dias; (d) biotratado 90 dias; (e) biotratado 120 dias.....	135
Figura E3 – TG e DTG: PP/PHB-V (4:1) (a) original; (b) biotratado 30 dias; (c) biotratado 60 dias; (d) biotratado 90 dias; (e) biotratado 120 dias.....	138

Lista de Tabelas

Tabela 01 - Propriedades dos polímeros.....	22
Tabela 02 - Propriedades do solo.....	23
Tabela 03 - Composição média (g/Kg) do solo acondicionado nas caixas usadas neste trabalho.....	31
Tabela 04 – Relação C/N.....	34
Tabela 05 – Número de bactérias e fungos (em duplicata) nas amostras de solo.....	36
Tabela 06 - Atribuições das bandas de absorção de FTIR, para os filmes de PHB-V.....	40
Tabela 07 - Relação de intensidade de absorção no IR no filme de PHB-V.....	40
Tabela 08 - Valores de temperatura de fusão (T_f); entalpias de fusão (ΔH_f) e grau de cristalinidade (X_C), para os filmes de PHB-V.....	44
Tabela 09 - Valores das temperaturas de início (T_{onset}) e máxima velocidade (T_{pico}) para os filmes de PHB-V.....	46
Tabela 10 - Valores dos graus de difração (2θ), largura à meia altura do pico (FWHM) e espaçamento interlamelar (d) para os filmes de PHB-V.....	48
Tabela 11 – Grau de cristalinidade dos filmes de PHB-V por DRX.....	48
Tabela 12 - Atribuições das bandas de absorção de FTIR, para os filmes de PCL.....	52
Tabela 13 – Relação de intensidade de absorção no IR no filme de PCL.....	53
Tabela 14 - Valores de temperatura de fusão (T_f); entalpias de fusão (ΔH_f) e grau de cristalinidade (X_C), para os filmes de PCL.....	56
Tabela 15 - Valores das temperaturas de início (T_{onset}) e máxima velocidade (T_{pico}) para os filmes de PCL.....	58
Tabela 16 - Valores de 2θ , largura à meia altura do pico (FWHM) e espaçamento (d) para os filmes de PCL.....	59
Tabela 17 – Grau de cristalinidade dos filmes de PCL por DRX.....	60
Tabela 18 - Atribuições das bandas de absorção de FTIR, para os filmes de PCL / PHB-V (4:1).....	62
Tabela 19 - Relação de intensidade de absorção no IR no filme de PCL / PHB-V (4:1).....	63
Tabela 20 - Valores de temperatura de fusão (T_f); entalpias de fusão (ΔH_f) e grau de cristalinidade (X_C), para os filmes da blenda PCL/PHB-V (4:1).....	67
Tabela 21 - Valores das temperaturas de início (T_{onset}) e máxima velocidade (T_{pico}) para os	

filmes da blenda PCL/PHB-V (4:1).....	69
Tabela 22 - Valores de 2θ , largura à meia altura do pico (FWHM) e espaçamento (d) para os filmes de PCL/PHB-V (4:1).....	70
Tabela 23 – Grau de cristalinidade dos filmes de PCL/PHB-V (4:1) por DRX.....	71
Tabela 24 - Atribuições das bandas de absorção de FTIR, para os filmes de PP.....	74
Tabela 25 - Relação de intensidade de absorção no IR no filme de PP.....	75
Tabela 26 - Valores de temperatura de fusão (T_f); entalpias de fusão (ΔH_f) e grau de cristalinidade (X_C), para os filmes da blenda PP.....	78
Tabela 27 - Valores das temperaturas de início (T_{onset}) e máxima velocidade (T_{pico}) para os filmes de PP.....	81
Tabela 28 - Valores de 2θ , largura à meia altura do pico (FWHM) e espaçamento (d) para os filmes de PP.....	83
Tabela 29 - Grau de cristalinidade dos filmes de PP por DRX.....	83
Tabela 30 - Atribuições das bandas de absorção de FTIR, para os filmes de PP / PHB-V (4:1).....	86
Tabela 31 - Relação de intensidade de absorção no IR no filme de PP / PHB-V (4:1).....	87
Tabela 32 - Valores de temperatura de fusão (T_f); entalpias de fusão (ΔH_f) e grau de cristalinidade (X_C), para os filmes da blenda PP/PHB-V (4:1).....	90
Tabela 33 - Valores das temperaturas de início (T_{onset}) e máxima velocidade (T_{pico}) para os filmes da blenda PP/PHB-V (4:1).....	92
Tabela 34 - Valores de 2θ , largura à meia altura do pico (FWHM) e espaçamento (d) para os filmes de PP/PHB-V (4:1).....	94
Tabela 35 – Grau de cristalinidade dos filmes de PP/PHB-V (4:1) por DRX.....	94

Lista de Abreviaturas e Siglas

PAD	Polímeros ambientalmente degradáveis
PCL	Poli(ϵ -caprolactona)
PHA	Polihidroxialcanoatos
PHB	Poli(hidroxibutirato)
PHB-V	Poli(hidroxibutirato-co-valerato)
PP	Polipropileno
iPP	Polipropileno isotático
PVC	Poli(cloreto de vinila)
PET	Poli(tereftalato de etileno)
TPS	Amido plastificado com glicerol
PLA	Poli(ácido láctico)
HB	Hidroxibutirato
HV	Hidroxivalerato
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
NBR	Norma Brasileira
IR	Infravermelho
FTIR	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
TGA	Termogravimetria
DRX	Difração de raio – X
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
NMP	Número mais provável
UFC	Unidade formadora de colônias
PCA	<i>Plate Count Agar</i>
PDA	<i>Potato Dextrose Agar</i>

Lista de Símbolos

I	banda de absorção
I_0	banda de padrão interno
T_f	temperatura de fusão
T_g	temperatura de transição vítrea
ΔH_f	calor de fusão
ΔH_f^0	calor de fusão de um polímero hipoteticamente 100% cristalino
X_c	grau de cristalinidade
T_{onset}	temperatura inicial de perda de massa
T_{pico}	temperatura máxima de perda de massa
FWHM	largura à meia altura do pico
d	espaçamento interlamelar

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	02
2.1. POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS.....	03
2.1.1. Polihidroxibutirato (PHB) e Polihidroxibutirato-co-valerato (PHB-V).....	04
2.1.2. Poli(ε-caprolactona) (PCL).....	06
2.2. BLENDA.....	07
2.3. MICROBIOLOGIA DO SOLO.....	09
2.4. BIODEGRADAÇÃO.....	11
2.5. BIODEGRADAÇÃO DE POLÍMEROS.....	14
3. OBJETIVOS	21
4. MATERIAIS E MÉTODOS	22
4.1. POLÍMEROS.....	22
4.2. PREPARO DOS FILMES POLIMÉRICOS.....	22
4.3. SOLO.....	23
4.4. ENSAIO DE BIODEGRADAÇÃO – COLUNA DE SOLO.....	24
4.5. ANÁLISES DO SOLO.....	25
4.5.1. Determinação do pH do solo.....	25
4.5.2. Temperatura do solo.....	25
4.5.3. Determinação da umidade.....	25
4.5.4. Determinação do Teor de Matéria Orgânica.....	26
4.5.5. Respiração Microbiana (Evolução de CO ₂).....	26
4.5.6. Quantificação de Microrganismos.....	27
4.6. MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO DOS POLÍMEROS.....	28
4.6.1. Espectroscopia de Infravermelho (FTIR).....	28
4.6.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	28
4.6.3. Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	29
4.6.4. Termogravimetria (TG).....	29

4.6.5. Difração de Raio – X (RDX).....	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	31
5.1. SOLO.....	31
5.2. POLÍMEROS.....	38
5.2.1. PHB-V.....	38
5.2.1.1. Observação visual.....	38
5.2.1.2. FTIR.....	39
5.2.1.3. MEV.....	41
5.2.1.4. Medidas de massa.....	42
5.2.1.5. DSC.....	43
5.2.1.6. TG.....	45
5.2.1.7. Difração de raio-X (DRX)	47
5.2.2. PCL.....	51
5.2.2.1. Observação visual.....	51
5.2.2.2. FTIR.....	51
5.2.2.3. MEV.....	53
5.2.2.4. Medidas de massa.....	55
5.2.2.5. DSC.....	55
5.2.2.6. TG.....	57
5.2.2.7. DRX.....	58
5.2.3. PCL / PHB-V.....	61
5.2.3.1. Observação visual.....	61
5.2.3.2. FTIR.....	62
5.2.3.3. MEV.....	63
5.2.3.4. Medidas de massa.....	65
5.2.3.5. DSC.....	65
5.2.3.6. TG.....	68
5.2.3.7. DRX.....	69
5.2.4. PP.....	73
5.2.4.1. Observação visual.....	73
5.2.4.2. FTIR.....	73
5.2.4.3. MEV.....	75
5.2.4.4. Medidas de massa.....	77

5.2.4.5. DSC.....	77
5.2.4.6. TG.....	80
5.2.4.7. DRX.....	82
5.2.5. PP/PHB-V.....	85
5.2.5.1. Observação visual.....	85
5.2.5.2. FTIR.....	85
5.2.5.3. MEV.....	87
5.2.5.4. Medidas de massa.....	89
5.2.5.5. DSC.....	89
5.2.5.6. TG.....	91
5.2.5.7. DRX.....	93
6. SÍNTESE DOS RESULTADOS.....	96
7. CONCLUSÕES.....	98
REFERÊNCIAS.....	99
APÊNDICE.....	110
Apêndice A – PHB-V.....	111
Apêndice B - PCL.....	114
Apêndice C – PCL/PHB-V (4:1).....	121
Apêndice D - PP.....	127
Apêndice E – PP/PHB-V (4:1).....	134

1. Introdução

Um dos produtos comerciais de maior consumo em nosso planeta são os polímeros, que, sob diversas formas, tornaram-se indispensáveis à sociedade atual. A ampla aplicação dos polímeros, em função dos avanços tecnológicos em várias áreas, aliada à motivos econômicos, tornam estes materiais próprios para aplicação em bens duráveis e em embalagens. Apesar das suas propriedades e aplicabilidade, a durabilidade e resistência dos polímeros sintéticos, constituem um sério problema ao ambiente devido seu aumento pós consumo. Os problemas decorrentes do descarte inadequado dos materiais poliméricos têm levado a reflexão sobre possíveis alternativas para amenizar tal questão. Dentre as alternativas, a biodegradação tem sido proposta como uma opção para a redução do acúmulo de resíduos sólidos, resultando em materiais mais acessíveis a assimilação microbiana. A biodegradação da maioria dos polímeros sintéticos na natureza é um processo lento que envolve tanto as condições ambientais, quanto a composição ou formulação dos polímeros, que aceleram ou não as taxas de degradação.

Polímeros biodegradáveis têm sido uma alternativa ambientalmente correta para aplicações nas quais possam substituir os não biodegradáveis. No entanto, propriedades mecânicas insatisfatórias, dificuldade de processamento e alto custo, restringem seu uso.

A obtenção de blendas poliméricas a partir da mistura de polímeros biodegradáveis com os sintéticos, podem permitir uma interação maior com os microrganismos do meio ambiente e portanto, uma maior degradação e redução do impacto ambiental por parte dos resíduos plásticos descartados.

Este trabalho tem como propósito investigar a biodegradação de filmes poliméricos em solo, de materiais biodegradáveis - poli(hidroxibutirato-co-valerato) (PHB-V), poli(ϵ -caprolactona) (PCL) e material não biodegradável – polipropileno (PP) e suas respectivas blendas – PCL/PHB-V (4:1) e PP/PHB-V (4:1).

2. Revisão Bibliográfica

Os polímeros sintéticos substituíram outros materiais em diversas aplicações em função da sua leveza, facilidade de processamento, menor custo, propriedades mecânicas e químicas satisfatórias, e atualmente são indispensáveis em nossa vida. Foram desenvolvidos, originalmente, visando sua durabilidade e resistência a todas as formas de degradação (Blass, 1988). Os polímeros plásticos apresentam uma alta resistência química e certa elasticidade e por essa razão, são utilizados em muitos bens de consumo duráveis e não duráveis (Reddy et al., 2003).

Plásticos convencionais apresentam muitas vantagens frente a outros materiais. Sua versatilidade faz com que os materiais poliméricos sejam largamente utilizados. Porém após completar seu ciclo de vida útil, são dispostos nos diferentes ecossistemas, causando sérios problemas ambientais. Atualmente há um aumento no consumo de plásticos, sendo o setor de embalagens responsável por um terço do total de resinas transformadas no Brasil (Falcone et al., 2007). Este aumento no consumo de materiais plásticos gera um maior acúmulo dos resíduos destes materiais acarretando inúmeros problemas ecológicos.

No Brasil, segundo dados da Associação Brasileira das Indústrias Químicas (ABIQuim) o consumo aparente (resultado da soma da produção com as importações, menos as exportações) de resinas termoplásticas em 2008 foi de aproximadamente 4,5 milhões toneladas (com aumento 8% em relação a 2007), este levantamento engloba o polietileno (PE), polipropileno (PP), poliestireno (PS), poli(cloreto de vinila) (PVC) e o copolímero de etileno e acetato de vinila (EVA), não incluindo poli(tereftalato de etileno) (PET) (www.abiquim.org.br, capturado em 27/01/09).

Dentre as soluções mais utilizadas para minimizar o impacto ambiental, destacam-se os métodos combinados de reciclagem, incineração e biodegradação. A reciclagem tem sido uma das melhores saídas para a resolução do problema, ao menos parcialmente. Entretanto, apenas ela, não é suficiente para processar a grande quantidade de plásticos descartados e nem todos os polímeros apresentam boa resposta à reciclagem, por causa da queda de suas propriedades, quando comparadas às resinas virgens (Ramis et al., 2004). Uma das idéias colocadas em prática, para a diminuição do impacto ambiental causado pelos resíduos, é o conceito que visa Reduzir, Reutilizar e Reciclar, conhecido como 3 R's, que estimula a população a pensar de forma consciente em tudo aquilo que consomem.

Já a incineração, quando controlada de maneira apropriada, é uma alternativa já praticada em muitos países. No entanto, a queima de polímeros pode produzir materiais voláteis, tóxicos, como é o caso do PVC, cuja incineração libera cloreto de hidrogênio (Blass, 1988). Outro fator que inviabiliza a utilização da incineração de materiais plásticos é o custo de operação de incineradores.

A tendência atual é desenvolver ações para minimizar a geração de resíduos plásticos; como exemplo o desenvolvimento de materiais que, após o consumo, gerem menos resíduos e/ou resíduos menos agressivos ao meio ambiente. Sendo, que uma destas tendências é o emprego de polímeros biodegradáveis e suas blendas.

2.1. Polímeros biodegradáveis

O crescimento do consumo de polímeros acarreta uma necessidade de estudos para a substituição dos materiais convencionais por materiais biodegradáveis. Para um polímero biodegradável ser utilizado, ele deve degradar no meio após seu consumo, em um período de 180 dias e ter no mínimo 90% do carbono orgânico convertido a dióxido de carbono (ABNT/NBR 15448-2).

Os polímeros ambientalmente degradáveis (PADs) são compostos por materiais naturais e sintéticos que sofrem alterações químicas, sob a influência de fatores ambientais. Os produtos de degradação devem sofrer completa assimilação microbiana e/ou associação aos processos metabólicos normais dos microrganismos (Rosa & Filho, 2003). É imprescindível que tanto a degradação como os produtos produzidos por ela não causem qualquer alteração no ambiente.

Dentre os polímeros biodegradáveis, destacam-se os polihidroxialcanoatos (PHAs), que recebem atenção especial particularmente por serem materiais produzidos por fontes renováveis e também por apresentarem várias aplicações, tais como nas áreas médica, farmacêutica, agrícola e de embalagens (Zagar et al. 2006). Polihidroxialcanoatos (PHAs) são poliésteres alifáticos, produzidos e acumulados intracelularmente como reserva de carbono e energia por inúmeros microrganismos, quando no meio de cultura, com limitação de nutrientes essenciais (nitrogênio, potássio, magnésio, ferro etc.), e excesso de fonte de carbono (Formolo et al., 2003). São sintetizados por mais de 75 gêneros diferentes de

bactérias gram-positivas e gram-negativas (Reddy et al., 2003). Apresentam propriedades mecânicas similares à vários termoplásticos sintéticos e não são tóxicos, além de possuírem alto grau de polimerização e alta cristalinidade. São ópticamente ativos e insolúveis em água (Reddy et al., 2003).

A produção de PHAs ocorre sobre uma ampla variedade de substratos, a partir de fontes renováveis (sacarose, amido, celulose, triacilglicerol), fontes fósseis (metano, óleo mineral), resíduos agroindustriais (melaço, soro de queijo, glicerol), químicos (ácido propiônico, ácido 4-hidroxibutírico) e dióxido de carbono (Reddy et al., 2003)

Uma característica dos PHAs é sua capacidade de degradação, tanto por mecanismos enzimáticos e/ou hidrolíticos, em uma variedade de ecossistemas, incluindo condições aeróbias e anaeróbias (Luo & Netravali, 2003).

2.1.1. Polihidroxibutirato (PHB) e Polihidroxibutirato-co-valerato(PHB-V)

O polihidroxibutirato (PHB) pertence quimicamente a classe dos poliésteres - polihidroxicanoatos (PHAs), possuindo propriedades termoplásticas e características físicas e mecânicas semelhantes as do polipropileno (PP) e apresentando a particularidade de ser biodegradável quando exposto à ambientes biologicamente ativos. É não tóxico, possui alta regularidade da cadeia polimérica linear e elevada massa molar. O interesse pelo PHB não se restringe a sua biodegradabilidade, mas a sua síntese a partir de fontes renováveis de carbono, oriundas da agroindústria, permitindo um processo cíclico sustentável para sua produção e uso (Formolo et al., 2003).

O processo de produção do PHB constitui-se de uma etapa fermentativa, onde o microrganismo metaboliza o açúcar disponível no meio e acumula o polímero no interior da célula, como fonte de reserva. São armazenados na forma de grânulos (medindo 0,2 – 0,5 µm de diâmetro) no interior de bactérias gram-positivas e gram-negativas, podendo chegar a até 90% da massa seca da célula, como pode ser observado na figura 01 (Braunegg et al.,1998; Reddy et al., 2003).

Na etapa posterior, o polímero acumulado no interior do microrganismo é extraído e purificado até a obtenção do produto final sólido e seco, pronto para ser utilizado em processos convencionais de transformação de termoplásticos.

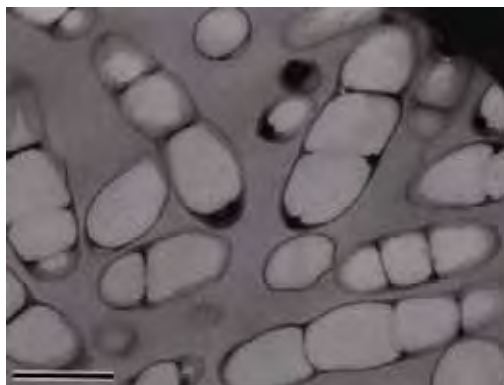


Figura 01 - Micrografia eletrônica de Transmissão de corte fino de células de *R. eutropha*, contendo grande quantidade de PHA (Sudesh & Doi, 2000).

O PHB tem uma temperatura de fusão (T_f) de aproximadamente 179°C e possui um grau de cristalinidade que pode variar de 60-70% , sendo rígido e quebradiço (Kanziz et al., 2007).

O copolímero PHB-V, poli(3-hidroxi-butirato-co-hidroxi-valerato), é um material semicristalino de cadeia linear, que apresenta unidades de hidroxi-butirato (HB), e unidades hidroxi-valerato (HV) em menor proporção (Figura 02).

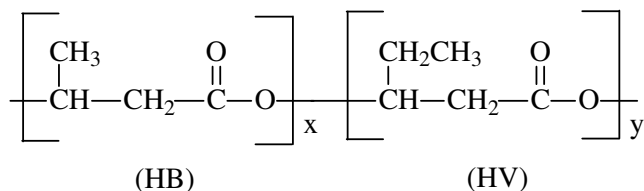


Figura 02 - Fórmula estrutural do poli(3-hidroxi-butirato-co-hidroxi-valerato).

As propriedades físicas e térmicas desses copolímeros são fortemente dependentes do conteúdo de unidades de hidroxi-valerato (HV). O PHB-V também possui propriedades mecânicas e térmicas similares a apresentadas pelos termoplásticos convencionais, como o polipropileno e polietileno (Kanziz et al., 2007).

Apesar de apresentar melhores propriedades em relação ao PHB, principalmente, com relação à redução da fragilidade, o PHB-V tem limitações na sua aplicabilidade em relação aos polímeros convencionais, devido ao seu alto grau de cristalinidade, baixa resistência ao impacto e custo relativamente alto (Avella et al., 2000).

A variação da estrutura química da unidade monomérica e a quantidade de copolímero resultam em uma variação nos pontos de fusão e cristalinidade e também nas propriedades mecânicas. A temperatura de fusão decresce significativamente com o aumento da fração de

HV no copolímero, podendo chegar a temperaturas de 71°C para PHB-V com 40% molar de HV (Kanziz et al.,2007).

A preparação de blendas de PHB-V com outros polímeros flexíveis é possível, sendo importante para melhorar as propriedades dos componentes, e também como controle do perfil de biodegradação (Ikejima & Inoue, 2000).

2.1.2. Poli(ε-caprolactona) (PCL)

Poli(ε-caprolactona) (PCL) é um poliéster alifático sintético (Figura 03), que é degradável nos diferentes ambientes biologicamente ativos, incluindo rios e solo. Apresenta alta massa molar e cristalinidade, sendo estes, alguns dos fatores que afetam a biodegradabilidade. (Eldsäter et al., 2000)

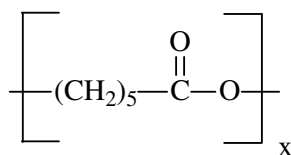


Figura 03 - Fórmula estrutural do poli(ε-caprolactona).

PCL é um poliéster semicristalino (com aproximadamente 50% cristalinidade), sendo conhecido por sua biodegradabilidade e não toxicidade. Este material polimérico é bastante utilizado em aplicações biomédicas como suturas reabsorvíveis, em sistemas de liberação de drogas e também como enxertos. PCL é um dos polímeros comercialmente biodegradável e hidrofóbico, possui boas propriedades mecânicas e é compatível com muitos outros polímeros (formando blendas), um fato que aumenta seu campo de aplicações. (Elzien et al., 2004). Possui temperatura de fusão (T_f) a aproximadamente 60°C, temperatura de transição vítrea (T_g) de aproximadamente - 60°C e é considerado biodegradável por sua susceptibilidade à hidrólise das ligações do grupo éster (Estellés et al., 2008).

2.2. Blendas

Blenda polimérica é a mistura física de dois ou mais polímeros estruturalmente diferentes, com a possibilidade de baixa quantidade de interação química. Normalmente, as propriedades resultantes da mistura são associações entre as propriedades dos homopolímeros. O preparo de uma blenda pode atender a diferentes propósitos, obtendo um material com novas características e/ou reduzir custos sem alterar de forma crítica as propriedades de interesse para uma determinada aplicação.

A miscibilidade entre dois componentes é importante papel na morfologia, propriedades térmicas e mecânicas e também na biodegradabilidade do material. As blendas binárias podem ser classificadas usualmente por serem miscíveis, parcialmente miscíveis e imiscíveis.

Do ponto de vista tecnológico as blendas são normalmente classificadas em compatíveis e incompatíveis. Diz-se que uma blenda é compatível quando suas propriedades finais apresentam um comportamento aditivo ou sinérgico em relação aos valores apresentados pelos componentes individuais. Um sistema incompatível é aquele que apresenta valores de propriedades inferiores aos apresentados pelos componentes, em separado.

Polímeros biodegradáveis ainda não são capazes de competir com os polímeros tradicionais, especialmente devido ao custo elevado e desempenho inferior em algumas propriedades (Falcone et al., 2007). Em consequência, o interesse por materiais menos agressivos ao ambiente, levou à investigações do uso de blendas com polímeros não degradáveis e diferentes materiais biodegradáveis. A expectativa é a obtenção de uma redução no impacto ambiental, por parte dos polímeros não degradáveis, reduzindo seu tempo de biodegradação.

Polipropileno (PP) é um dos polímeros sintéticos mais baratos, de ampla aplicação tecnológica, de elevada resistência química a solventes e grande versatilidade. Largamente utilizado em aplicações como recipientes para embalagem, sacaria, pisos tipo carpete, seringas de injeção descartáveis, peças automotivas, carcaças de eletrodomésticos, brinquedos, material hospitalar (Mano & Mendes, 1999).

O PP é um polímero termoplástico de estrutura semicristalina do grupo das poliolefinas, com $T_g = 4-12^\circ\text{C}$ e $T_f = 165-175^\circ\text{C}$. Sua alta cristalinidade, entre 60 e 70%, lhe confere elevada resistência mecânica, rigidez e dureza (Figura 04) (Blass, 1988).

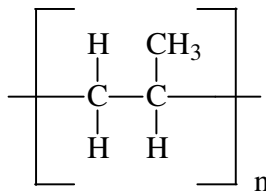


Figura 04 - Fórmula estrutural do polipropileno

Contudo o PP é um polímero não biodegradável, sendo os microrganismos incapazes de metabolizá-lo em um período de 180 dias, conforme a NBR 15448-2 (ABNT, 2008). Porém, é um polímero altamente suscetível à fotodegradação quando exposto ao tempo (Bonelli et al., 2001). Mudanças nas propriedades do PP, podem ser originadas através de mudanças químicas no material por pós-cristalização, degradação térmica durante processamento (Billiani & Fleischmann, 1990) ou por envelhecimento físico (Fiebig et al., 1999), até mesmo as características geométricas da rosca da extrusora podem acelerar o processo de degradação do polímero (Canevarolo, 2000).

Estudo da obtenção de blendas de polipropileno isotático (iPP) com amido plastificado com glicerol (TPS) proveniente da produção do biodiesel, e a análise de biodegradação em solo simulado, foram estudados por Bardi et al. (2008) A biodegradação das diferentes composições da blenda iPP/TPS em solo simulado, após o período de 30 dias, mostrou que quanto maior o teor de TPS, maior a taxa de perda de massa, devido a ação dos microrganismos na fase do TPS na blenda.

Ramis et al. (2004) também estudaram a biodegradabilidade da blenda de polipropileno (PP) e Mater-Bi (amido/copolímero etileno vinil álcool – EVOHs) em solo por um período de 12 meses. A partir dos resultados, os autores concluíram que a mistura de PP/Mater-Bi sofrem transformações (aumento da estabilidade térmica), e indicaram que o processo de biodegradação ocorre essencialmente no amido e não matriz PP.

Blendas entre polímeros biodegradáveis e sintéticos também podem ter como propósito o aumento à resistência e degradação como no estudo realizado por Reddy et al. (2008) de blendas de fibras de poli(acido láctico) (PLA) e polipropileno. Neste caso, foram produzidas blendas a partir de cinco proporções, para melhorar a resistência à hidrólise e degradação, com relação a fibras de PLA puras. Os autores concluíram que a extensão da hidrólise e biodegradação da blenda podem ser controladas pela variação da quantidade de PP na blenda. Os resultados dos ensaios de biodegradação em compostagem, realizados por 45

dias, indicaram que a biodegradabilidade de PLA reduz de 70% no PLA (em fibras puras) para 56, 36 e 9% em blendas contendo 20, 50 e 80% de PP.

2.3. Microbiologia do solo

O solo é considerado como um recurso natural, constituído por material mineral e por matéria orgânica, que cobre, de forma mais ou menos contínua, a maior parte da superfície continental da Terra (Freire, 2006). O solo pode ser considerado como um sistema complexo e muito dinâmico e se constitui um excelente habitat para populações microbianas (Figura 05.)

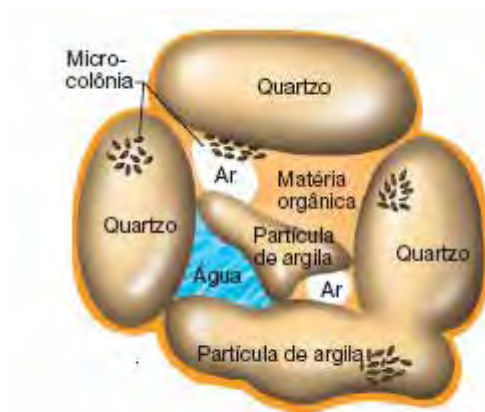


Figura 05 – Agregado de solo (Madigan et al, 2004)

O solo é um ambiente muito heterogêneo, descontínuo e estruturado pela fase sólida (argila, húmus e complexos organominerais) formando unidades cujos tamanhos variam de < 0.2 mm a > 2 mm de diâmetro. A variabilidade no tamanho das partículas ou agregados do solo faz com que ele seja composto por inúmeras pequenas comunidades (micro habitat).

O solo contém provavelmente maior número de indivíduos e maior diversidade que qualquer outro habitat ou ecossistema. Os organismos que o compõem desempenham funções essenciais para o funcionamento do ecossistema, reações de ciclagem e fluxos dos vários nutrientes essenciais, influenciando assim diretamente a fertilidade do solo, além de exercer efeitos na formação da estrutura e manutenção dos agregados.

Cada microrganismo possui uma estrutura característica e requer condições nutricionais específicas, dispõe de distintas habilidades bioquímicas, e tem uma tolerância às condições do ambiente. Nas comunidades microbianas, nem todos os organismos possuem a mesma importância na determinação de suas características, sendo que apenas algumas espécies exercem maior influência devido ao número de indivíduos, produtividade ou atividade. Em ecossistemas particulares, determinados microrganismos atuam se estão adaptados no meio físico-químico, e também toleram a influência biótica da comunidade (Heinz, 1988).

As condições físico-químicas de um microambiente podem sofrer rápidas alterações em relação ao tempo e espaço. As comunidades microbianas exibem diversos tipos de interações, podendo ou não ser benéficas. Em muitos casos, as populações interagem e cooperam entre si, otimizando suas capacidades nutricionais, em que os produtos metabólicos finais de alguns microrganismos servem como nutrientes para outros (Madigan et al, 2004). Por meio das atividades metabólicas, os organismos removem nutrientes do meio e os utilizam na biossíntese de novas células. Ao mesmo tempo, os organismos excretam uma série de produtos finais de metabolismo no meio.

As propriedades de um ecossistema são controladas, em grande parte, pelas atividades microbianas. Gradualmente um ecossistema microbiano sofre modificações químicas e físicas em decorrência dos processos metabólicos. Em virtude de sua história evolutiva e da necessidade de adaptação aos mais diversos ambientes, os microrganismos acumularam uma grande diversidade genética, constituindo a base de processos ecológicos, além de manterem relações vitais entre si. Um grama de solo pode conter 10 bilhões de microrganismos, representando milhares de espécies (Zilli et al., 2003).

Um dos principais fatores que afetam a atividade microbiana no solo corresponde à disponibilidade de água (Mandigan et al., 2004). A água do solo é em grande parte, responsável pelo controle do ar e da temperatura do solo. Em solo compostado a umidade considerada ideal varia de 50 – 60% e níveis abaixo de 30% inibem a atividade microbiana e em meio muito úmido (acima de 65%) resulta em decomposição lenta e anaerobiose (Fialho et al., 2005). A água é essencial para os microrganismos do solo, pois afeta o metabolismo intracelular, o movimento dos nutrientes, de produtos tóxicos e a aderência às partículas de argila. Outro fator importante para a atividade enzimática é a temperatura do solo (Mandigan et al., 2004), pois afeta o crescimento e a sobrevivência dos microrganismos. A elevação da temperatura, até certos limites, leva ao aumento do crescimento e das atividades metabólicas.

Entretanto, acima de uma certa temperatura, determinadas proteínas podem sofrer danos irreversíveis. Cada microrganismo apresenta uma temperatura mínima (abaixo da qual é incapaz de crescer), uma temperatura ótima (crescimento ocorre rapidamente) e uma temperatura máxima (crescimento torna-se impossível). Em ambientes terrestres são encontrados microrganismos mesófilos, com ótimo crescimento em temperaturas medianas.

O efeito da temperatura de incubação de espécies de *Aspergillus* isoladas de solo, na degradação de PHB e PHB-V (16 % HV), estudada por Sanyal et al. (2006), mostra que a degradação dos polímeros foi maior na temperatura de 37 °C, porém com significativa inibição de crescimento dos microrganismos. Esta variação de temperatura é devido a diferença entre a temperatura ótima de crescimento do fungo e da atividade da despolimerases de PHA. Espécies de *Streptomyces* isoladas e utilizadas na degradação de PHB (Manna et al., 1999), apresentaram um aumento de degradação na temperatura de 30 °C, que está associada ao aumento da população microbiana e de sua atividade, devido a natureza mesofílica dos microrganismos.

2.4. Biodegradação

A biodegradação é considerada um tipo de degradação, envolvendo atividade biológica, sendo definida como: “um processo importante e irreversível para uma significativa mudança da estrutura do material, tipicamente caracterizado pela perda de propriedades (isto é: integridade, massa molar, deformações estruturais e mecânicas) e/ou fragmentação. A degradação é influenciada pelas condições do meio em um determinado período, composto de uma ou mais etapas” (Krzan et al., 2006). Geralmente a biodegradação de materiais poliméricos nos diferentes ecossistemas é afetada pelas características inerentes do material a ser degradado, e os vários fatores microbiológicos e ambientais, sendo estes interdependentes.

Fatores microbiológicos têm grande importância na biodegradabilidade dos materiais plásticos, tais como a distribuição, abundância, diversidade, atividade e adaptação da microbiota. A adaptação da microbiota pode resultar em um aumento na biodegradação do substrato devido a mudanças no genótipo da população, induzindo a produção de enzimas extracelulares capazes de degradar o substrato, ou ocorrer uma mudança na estrutura da comunidade com o aumento de determinadas populações que estão envolvidas no processo de

biodegradação (Palmisano & Pettigrew, 1992). Várias populações podem atuar em um consórcio microbiano para atacar e clivar o substrato. O ataque inicial começa com a colonização da superfície do polímero, representado no esquema da figura 06.

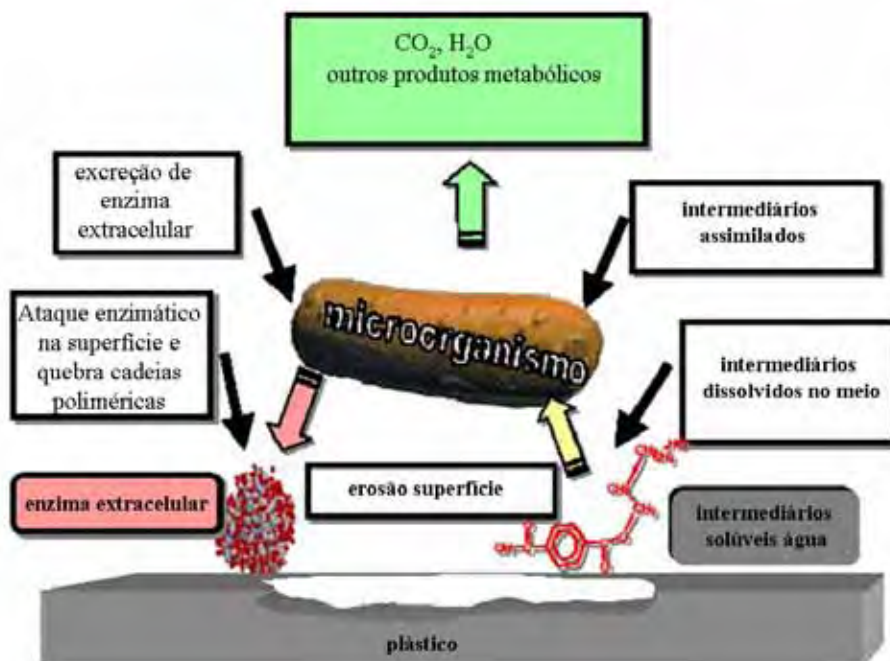


Figura 06 - Representação esquemática do processo de degradação no ambiente (Shah et al., 2008)

Materiais poliméricos são normalmente biodegradados por hidrólise seguido de oxidação. Na fase inicial ocorre a desintegração, que está associada à deterioração das propriedades físicas: descoloração, fragilidade e fragmentação. A segunda fase, a última, é a conversão dos fragmentos dos polímeros, depois da quebra em tamanho menor, para CO_2 , água, biomassa (condições aeróbias) e CH_4 e biomassa em casos de condições anaeróbias e em energia para os microrganismos, em ambos os casos (Krzan et al., 2006).

A influência da porosidade (rugosidade) da matriz polimérica é também um dos fatores determinantes na velocidade de degradação e indução ao crescimento celular. A biodeterioração de um polímero sintético pode ser considerada como um fenômeno de adesão da superfície polimérica (Martins-Franchetti & Marconato, 2006), onde ocorre a colonização dos microrganismos na forma de biofilme, que consiste em uma mistura complexa de microrganismos, água e substâncias poliméricas extracelulares (Flemming, 1998).

Em geral, nos processos de respiração aeróbia, compostos orgânicos naturais e a maioria dos sintéticos, são oxidados (perdendo elétrons), promovendo a síntese de adenosina

trifosfato (ATP), um composto rico em energia. O O₂ comumente atua com acceptor terminal de elétrons, e as moléculas do substrato poderão ser completamente oxidadas a CO₂, com maior produção de ATP (Madigan et al., 2004). O consumo de oxigênio ou a formação de dióxido de carbono são bons métodos para indicar a degradação de polímeros (Shah et al., 2008).

A clivagem das cadeias carbônicas dos materiais poliméricos pela ação dos microrganismos ocorre por ação biofísica, bioquímica e está diretamente influenciada pela ação enzimática (Jayasekara et al., 2005).

Enzimas são macromoléculas predominantemente protéicas, imprescindível aos seres vivos, pois aceleram as reações químicas que mantêm e regulam os processos vitais (Mueller, 2006). Os microrganismos representam uma excelente fonte de enzimas devido à sua diversidade bioquímica. As enzimas produzidas por microrganismos podem estar localizadas dentro das células (intracelulares) ou podem ser sintetizadas e excretadas no meio (extracelulares).

As enzimas extracelulares são capazes de digerir as cadeias poliméricas em unidades menores (monômeros e/ou oligômeros), que serão metabolizadas como fonte de nutriente (carbono) pelos microrganismos (Jayasekara et al., 2005).

A degradação enzimática procede na superfície do substrato, onde a enzima adequa-se sobre a conformação estereoquímica do polímero, que sofre, então, erosão superficial. As enzimas degradam seletivamente a região amorfa ou menos ordenada que permite a difusão das mesmas sob o substrato, embora a região cristalina também possa ser degradada. Os ataques enzimáticos podem ocorrer em qualquer ponto ao longo da cadeia polimérica (tipo -endo) e ataque seletivo, principalmente em finais de cadeia e/ou grupos específicos (tipo -exo) (Mochizuki, 1997; Herzog, 2006).

A degradação pode alterar a rugosidade da superfície, levar ao aparecimento de furos e crateras, à fragmentação, mudanças na cor, ou a formação de biofilmes na superfície polimérica. Estas mudanças podem ser usadas como indicativo de ataque microbiano. (Shah et al., 2008). Porém, a deterioração pode ser resultado da fragmentação dos polímeros, mas não necessariamente sua completa mineralização (Palmisano & Pettigrew, 1992).

A razão de biodegradação é influenciada por diferentes fatores do meio como a população microbiana, temperatura, pH e suplementação de nutrientes e como mencionado, anteriormente, da composição do polímero (Sridewi et al., 2006).

Portanto as propriedades químicas e físicas dos polímeros têm grande influência na biodegradabilidade. A massa molar é um fator determinante, sendo que a baixa massa molar favorece a biodegradação (Tokiwa & Calabia, 2004). Assim como a temperatura de fusão do polímero, que possui grande efeito na degradabilidade enzimática, isto é, geralmente ocorre uma menor taxa de degradação, com o aumento da temperatura de fusão (Tokiwa & Calabia, 2004).

Devem ser considerados os aspectos como a área superficial, presença na cadeia principal de determinados grupos funcionais, ligações hidrolisáveis e/ou oxidáveis, natureza dos substituintes, estereoconfiguração, flexibilidades conformacional, grau de cristalinidade, a presença de aditivos e a acessibilidade enzimática, que também afetam a biodegradabilidade destes materiais (Palmisano & Pettigrew, 1992). Polímeros amorfos tendem a degradar mais rapidamente pelo menor empacotamento das cadeias (Rosa et al., 2004).

2.5. Biodegradação de polímeros

Os PHAs como mencionados anteriormente podem ser biodegradados em diferentes ecossistemas, Sridewi et al (2006) estudaram a biodegradação de filmes de PHB, PHB-V (5% HV) e PHB-HHX (5% HHX) - poli(hidroxibutirato-co-hidroxihexanoato) em três diferentes áreas de manguezais no sul da Malásia, por 8 semanas. A razão de degradação para os copolímeros foram maiores devido as diferenças de cristalinidade e morfologia da superfície. As amostras dos filmes de PHB foram degradadas em 6 semanas e as amostras dos copolímeros ocorreram em 4 semanas. Nas diferentes áreas de trabalho também foram observados resultados diferentes, sendo a área intermediária entre o manguezal e o rio, a que apresentou mais rápida degradação dos filmes, atribuídas à grande atividade de microrganismos.

A relação entre a biodegradação de PHB-V e o número de microrganismos capazes de degradá-lo em três diferentes suspensões de solo, foram investigadas por Song et al (2003). O número de microrganismos foi estimado pelo método de número mais provável (NMP), sendo 4.3×10^5 UFC / grama solo jardim; 5.06×10^5 UFC / grama solo alagado, 3.87×10^5 UFC / grama solo rio. Depois de cinco semanas a perda de massa de PHB-V (espessura 0,05-0,08 mm) foi de 18.26 %, 22.32% e 16.77%, respectivamente para as suspensões de solo de

jardim, alagado e rio. Os resultados sugerem que a razão de biodegradação de PHB-V para cada tipo de solo, está relacionada com o maior número de microrganismos.

Mergaert et al (1993) estudaram a degradação microbiana de PHB e PHB-V(10% HV) (filmes com espessura 2 mm) em solo, incubados a temperatura constante de 15, 28 e 40°C por 200 dias. Concluíram que a degradação em solo, é devido à ação dos microrganismos, resultando na perda das propriedades mecânicas dos polímeros. Os filmes poliméricos sofrem degradação em solo, pois a superfície dos polímeros é degradada enzimaticamente, gerando fragmentos de baixa massa molar, que são rapidamente metabolizados pela comunidade microbiana, resultando na perda de massa das amostras dos polímeros. O copolímero (PHB-V) tende a ser degradado mais rapidamente que o homopolímero, mas as diferenças entre as razões de degradação variam com o tipo de solo, temperatura e nas diferentes composições da microbiota dominante na degradação. Das amostras usadas nos estudos de biodegradação, foram isolados e identificados 250 espécies capazes de degradar PHB e PHB-V, sendo 105 bactérias gram-negativas, principalmente pertencentes as espécies *Acidovorax facilis* e *Variovorax paradoxus*, 36 espécies *Bacillus*, 68 espécies *Streptomyces*, e fungos, principalmente *Aspergillus fumigatus* e espécies do gênero *Penicillium*.

Fungos também são capazes de crescer sobre o substrato, podendo excretar metabólitos agressivos, causando deterioração do material devido a produção de ácidos orgânicos. Sanyal et al (2006), analisaram a biodegradação de PHB e PHB-V (16%HV) por 6 fungos isolados de solos, sendo todos *Aspergillus* spp. Para todos os *Aspergillus* spp testados, o máximo de biodegradação ocorreu em temperatura de 37°C, pH ótimo entre 6.5-7.0, entretanto a suplementação do meio com fonte de carbono externa (glucose, frutose, lactose entre outros) teve um efeito inibitório na taxa de degradação para ambos polímeros.

A degradabilidade de poliésteres natural e sintético (PHB, PHB-V e PCL, com espessura de 100µm) foi investigada por Abou-Zeid et al. (2001) em dois lodos anaeróbios, sendo isoladas e caracterizadas culturas capazes de degradar estes materiais, que foram estudados em condições controladas em laboratório. Os filmes de PHV e PHB-V incubados em dois lodos anaeróbios exibiram significativa degradação entre 6-10 semanas, sendo monitoradas a perda de massa e a formação de biogás. Os filmes de PCL tendem a degradar mais lentamente que os poliésteres naturais. Em outro trabalho dos mesmos autores (Abou-Zeid et al., 2004) foram testados os mesmos polímeros e os sintéticos poli(trimetileno adipato) em condições anaeróbias, e verificaram que diferentes enzimas são específicas para degradar cada um dos poliésteres, apresentado despolimerases com características similares.

Mudanças químicas na estrutura polimérica podem ocorrer durante a fusão dos polímeros a altas temperaturas em uma atmosfera com deficiência de oxigênio, isto é a degradação térmica pode ser empregada anteriormente ao processo de biodegradação. Rosa et al. (2004) estudaram a biodegradabilidade dos polímeros PHB, PHB-V e PCL (espessura de 1mm) após envelhecimento térmico de 100, 120 e 140°C, para os filmes de PHB e PHB-V, e para os filmes de PCL 30, 40 e 50°C, por um período de 192, 425 e 600 horas. Após estes testes térmicos os filmes foram biodegradados em solo compostado a pH 11, monitorando a massa residual a cada 30 dias, em um período total de 10 meses. Dos polímeros estudados o PHB-V foi mais biodegradável que PCL, quando colocado em solo compostado a pH 11. Segundo os autores, o PHB-V apresenta um alto nível de biodegradação devido a hidrólise das ligações ésteres de sua estrutura. Os diferentes tempos usados nos testes térmicos não foram suficientes para degradar PHB-V, mas a temperatura e o tempo de exposição exerceram efeitos significativos em PHB e PCL.

Ishigaki et al (2004) estudaram a degradabilidade de PHB-V, PCL, blenda amido/PVA e acetato de celulose. Foram realizados testes em reatores landfill em condições anaeróbia e aeróbia. Os filmes de PCL mostraram tendência similar em ambos reatores, com perda de massa de aproximadamente 30% em 80 dias. Foram observados por MEV, furos e quebras superficiais. Para os filmes de PHB-V a massa foi reduzida a quase 100% em 120 dias, sendo que após 25 dias havia muita fragmentação no reator aeróbio. Já em condições anaeróbias a perda de massa e quebra nos filmes de PHB-V não foram significativas. Os filmes da blenda amido/PVA e acetato de celulose apresentaram degradação similar, não sendo observadas quebras dos filmes.

Filmes de blendas de PCL / PHB (70/30) (2mm espessura) foram incubadas na presença de um consórcio de microrganismos isolados do meio ambiente já contaminado com resíduos plásticos, por La Cara et al (2003). Os microrganismos coletados do solo, foram isolados e mantidos em meio de cultura. Nas condições usadas no trabalho, os homopolímeros foram degradados apresentando erosão nas áreas amorfas. A blenda mostrou após 20 dias de incubação a presença de “esferas” de PCL e esferulitos de PHB indicando completa degradação do material.

Lefèvre et al., 2001 estudaram a interação entre microrganismos e substrato, utilizando PCL (80 µm de espessura) e culturas puras isoladas de resíduos industriais em meio líquido. Foram realizados testes em duas diferentes condições, uma sob alta e outra sob baixa agitação. Os dados experimentais sugerem que na biodegradação de PCL sob alta agitação,

não ocorre formação de biofilme na superfície do polímero, sendo que a degradação ocorre preferencialmente nas regiões amorfas. Em condições de baixa agitação, após 150 horas de inoculação, houve a formação de biofilme na superfície polimérica, resultando no aparecimento de estruturas na forma de esferas, no polímero.

Eldsäter et al., 2000 estudaram a erosão superficial dos filmes de PCL (espessura de 40 µm) em meio compostado por um período de 45 dias, em lodo de esgoto anaeróbio, e em meio líquido com cultura pura contendo o fungo *Aspergillus fumigatus* (período de 49 dias), e comparados com hidrólise química em solução de tampão fosfato a pH 10,5 e temperaturas de 23 e 50°C. As amostras que foram biotratadas apresentaram ranhuras ou quebras, já as amostras tratadas em meio abiótico não apresentaram alterações superficiais. Diferenças na microbiota e morfologia das amostras resultaram em diferentes mecanismos de erosão. A degradação em compostagem resultou em ranhuras paralelas ou quebras, enquanto as amostras biotratadas por *A.fumigatus* produziu um padrão de erosão na forma esferulítica. A fase amorfa foi degradada mais rapidamente que a cristalina, produzindo frações com baixa massa molar.

A biodegradação aeróbia e anaeróbia de PCL, da blenda amido/PCL (Mater-bi®), PLA e Eastar bio® (polibutadieno adipato-co-tereftalato) (espessura de 20 µm) foram estudados em fase sólida em condições aeróbias e na fase líquida (meio cultura) tanto aerobiamente e anaerobiamente por Massardier-Nageotte et al., 2006. Neste estudo, foram determinadas variação de massa, geração de biogás, porcentagens de biodegradação, análises térmicas, caracterização por FTIR e RMN, entre outros. Após 28 dias, ocorreu a degradação em meio líquido e em condições aeróbias, para Mater-bi® e PCL inoculados com microrganismos isolados do lodo da estação de tratamento de água. As perdas de massa foram de 45% e 35%, respectivamente para Mater-bi® e PCL. Testes realizados em meio sólido mostraram a total colonização da superfície de PCL pelos microrganismos, impedindo a avaliação do polímero após o tratamento microbiano.

As propriedades da biodegradabilidade de PCL e da blenda de PCL/amido adipato plasticizado com Edenol (50:35:15) (espessura 0,5 mm) foram realizados em solo, utilizando um método respirométrico, de acordo com a norma ASTM D 5988-96, avaliando a evolução de dióxido de carbono e perda de massa, por um período de 90 dias (Mariani et al., 2007). Um pequeno aumento na cristalinidade da blenda, em função do tempo de incubação foi observado, confirmando o ataque preferencial dos microrganismos no amido. Segundo os

autores, como conseqüência do consumo de amido, houve a reorganização das cadeias de PCL resultando no aumento da cristalinidade do polímero após 90 dias.

Contat-Rodrigo et al. (2001), estudaram amostras de PP com um aditivo biodegradável Bioefect 72000 (amido e outros compostos – não mencionados) e avaliaram a biodegradabilidade em solo por 21 meses, sendo as amostras caracterizadas por termogravimetria. Os resultados de Contat-Rodrigo et al, mostraram que o aditivo Bioefect sofreu maiores mudanças pelo processo de degradação em solo do que a matriz de PP. Através das análises de DMTA (análise térmica dinâmico mecânica), os autores concluíram que as regiões interfaciais (fase cristalina-amorfa) sofrem as maiores alterações durante o processo de degradação e isto influi na fase cristalina do polímero.

Morancho et al., 2006 estudaram a biodegradabilidade em solo da blenda de PP/Mater-Bi AF05H (amido plasticizado com EVOH – etileno vinilalcool) (espessura de 1,8mm) durante um ano e compararam o efeito foto-oxidativo da blenda antes do tratamento microbiano(2006). A blenda PP/Mater-Bi sofreu mudanças morfológicas após tratamento microbiano, sendo que os resultados sugerem que o processo de degradação começa na região amorfa do amido e não afeta a matriz de PP, devido à heterogeneidade da blenda. A foto-oxidação reduziu a cristalinidade da blenda, devido a formação de radicais livres que podem favorecer as quebras das cadeias.

Blendas de PP/Lignina foram estudadas por Canetti et al. (2004), que observaram um aumento da temperatura de degradação térmica em função do conteúdo de lignina na blenda, que por outro lado, não influenciou na cinética de cristalização de PP. Na presença de lignina, o PP cristalizou tanto na forma cristalina α como β . Em um outro estudo com a blenda PP/Lignina, Canetti et al. (2006), investigaram a degradação térmica em condições oxidativas e não-oxidativas. Análises morfológicas mostraram boa dispersão e boa aderência entre a lignina e a matriz PP. A fração cristalina β , é fortemente influenciada pelo tratamento térmico. A formação da fase β durante o processo de cristalização foi promovida por um aumento na taxa de cristalização. A lignina presente na mistura é capaz de produzir um elevado rendimento de cinzas que é responsável pelo aumento da temperatura de degradação.

Estudos das propriedades da blenda PP(oxidado)/PCL e sua degradação enzimática em meio líquido, foram realizados por Arcana et al. (2007). A degradação enzimática da blenda PP-PCL ocorreu em menor proporção do que a de PCL, porém a razão de degradação aumentou com o aumento do teor de PCL na blenda. A utilização de PP oxidado na preparação de blendas melhorou a degradação devido ao aumento da compatibilidade de cada

componente na blenda, pois reduz as fases cristalinas de cada componente. Além disso, os autores atribuíram a biodegradação ao processo de hidrólise do PCL e das regiões interfaciais (compatíveis) entre os polímeros, reduzindo as fases cristalinas de cada polímero.

Blendas de polipropileno (PP) com polihidroxibutirato (PHB), foram preparados por casting, seguido por moldagem para obtenção de filmes finos (espessura 0,2 mm). Polipropileno foi oxidado com peróxido de hidrogênio, produzindo novos grupos funcionais, tais como grupos carbonila e hidroxila na cadeia polimérica. Filmes de PHB foram parcialmente degradados em 30 dias (48% perda de massa), e polipropileno oxidado praticamente não foi biodegradado (0% perda de massa) neste mesmo período, usando lodo ativado em meio sólido. A biodegradação da blenda foi menor comparada com a do homopolímero PHB, e a biodegradabilidade tendem a aumentar com o aumento do conteúdo de PHB. Os autores concluíram que embora os microrganismos tivessem dificuldade para atacar a fração de polipropileno na blenda, a análise da superfície (MEV) mostrou que houve erosão na superfície polimérica (Arcana et al., 2006).

A biodegradabilidade de filmes de copolímeros etileno-propileno, polipropileno isotático e polietileno de baixa densidade (PEBD) (espessura aproximadamente de 100 μm), previamente irradiados por raios UV (100 horas), foram estudados por Pandey & Singh (2001). A taxa de degradação foi fortemente dependente da composição do copolímero e aumentou acentuadamente com a diminuição do teor de etileno. Importante erosão superficial foi detectada por MEV após os filmes serem submetidos à compostagem. Os autores estimaram que a cisão das cadeias foi diretamente relacionada com a foto – irradiação, sendo esta, um precursor da biodegradação.

Cacciari et al. (1993) estudaram a biodegradação de polipropileno isotático, com um consórcio microbiano sem fonte de carbono adicional. Foram testadas tiras de polipropileno, incubadas durante cinco meses, em um meio mineral. A partir dos resultados, concluíram que tanto as espécies aeróbias como as anaeróbias, com diferentes capacidades catabólicas, agiram em cooperação para degradar filmes de polipropileno. A biodegradação foi atribuída à perda de massa das amostras de PP. Os materiais extraídos do meio de cultura foram caracterizados pela realização de análises cromatográficas e espectrais. Estas revelaram que os produtos encontrados neste material continham uma mistura de hidrocarbonetos, e uma mistura de ésteres aromáticos, estes últimos utilizados como plastificantes de poliolefinas.

Os inúmeros ambientes e as características particulares de cada polímero, nas diferentes condições em que foram estudados, bem como a diversidade e capacidade

microbiológica em biodegradar e/ou biodeteriorar polímeros naturais e sintéticos, foram fatores motivantes para o estudo da biodegradação de materiais poliméricos, empregando solo de jardim.

3. Objetivos

Este trabalho tem por objetivo investigar a degradação de filmes poliméricos de poli(hidroxi-butilato-co-valerato) (PHB-V), poli(ϵ -caprolactona) (PCL), poli(propileno) (PP) , e as respectivas blendas PCL/PHB-V e PP/PHB-V, obtidos por fusão, através da ação de microrganismos do solo.

Os ensaios de biodegradação realizados em coluna de solo foram acompanhados através de medidas de pH, umidade, temperatura, evolução de CO₂ (respirometria), teor de matéria orgânica e quantificação de microrganismos.

Para a avaliação da biodegradação dos filmes poliméricos foram utilizadas as técnicas de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV), calorimetria exploratória diferencial (DSC), termogravimetria (TG), difração de raio – X (RDX) e perda de massa.

4. Materiais e Métodos

4.1. Polímeros

Na tabela 01 estão apresentadas algumas propriedades dos polímeros utilizados no trabalho. Os polímeros foram doados pelo Departamento de Engenharia de Materiais - Universidade Federal de São Carlos, sem os dados de grau de cristalinidade; foram utilizados como tais.

Tabela 01 - Propriedades dos polímeros.

Polímero	M_w (g / mol)	T_g (° C)	T_f (° C)	ΔH_f (J/g)
Poli hidróxibutirato – co – valerato (PHB-V) *	650.000	-1	180	109
Poli ε- caprolactona (PCL)	85.000	65	60	136
Poli propileno (PP)	145.000	4	175	209

* 6,2 % HV

4.2. Preparo dos filmes poliméricos

Os filmes poliméricos foram obtidos em prensa hidráulica, marca Solab com aquecimento à temperatura de 180⁰C e submetidos à pressão de 89.10 kgf/cm² por 5 minutos, com resfriamento nas condições de ambiente controlado – temperatura 25 – 26⁰C (Laboratório IV, Departamento de Bioquímica e Microbiologia – UNESP/Rio Claro). Para a obtenção das blendas, os polímeros foram pesados, colocados em almofariz e misturados manualmente, produzindo blendas a partir de uma mistura de 20 % (em massa) de PHB-V em

relação à massa de PCL e PP. Todos os filmes preparados, apresentavam espessura média de 100 μm .

4.3. Solo

As amostras de solo utilizadas para os ensaios de biodegradação, foram coletadas de uma área do jardim do Campus UNESP/ Rio Claro, e os experimentos realizados entre os meses de novembro/2006 – março/2007. As propriedades do solo estão apresentadas na tabela 02.

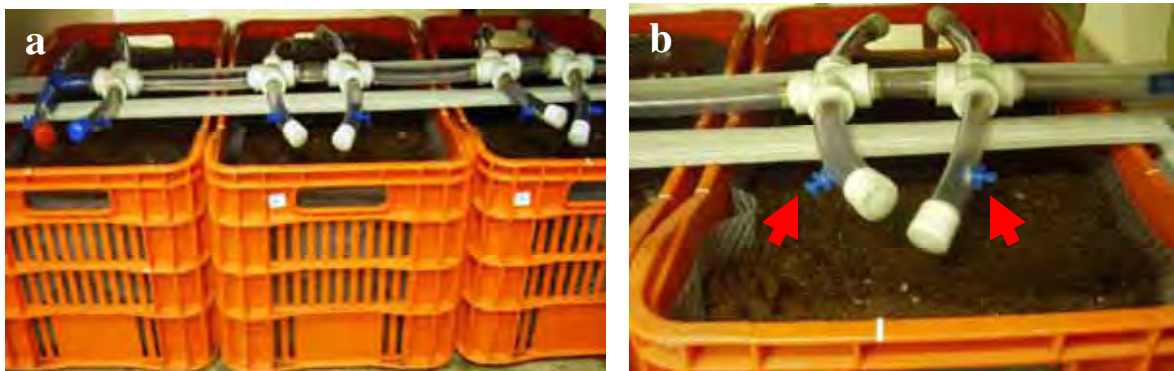
Tabela 02 - Propriedades do solo

P	K	Ca	Mg	H + Al	Al	S
Fósforo	Potássio	Cálcio	Magnésio	Ac.Potenci	Alumínio	Enxofre
(mg/dm ³)	(mmolc/dm ³)	(mmolc/dm ³)	(mmolc/dm ³)	al (mmolc/dm ³)	(mmolc/dm ³)	(mg/dm ³)
51	2,7	136	26	25	0	7
B	Cu	Fe	Mn	Zn	CTC	
Boro	Cobre	Ferro	Manganês	Zinco	Cap.TrocaCat.	
(mg/dm ³)	(mg/dm ³)	(mg/dm ³)	(mg/dm ³)	(mg/dm ³)	(mmolc/dm ³)	
0,96	2,8	168	40	33	189,7	

P,K,Ca,Mg: Resina; H + Al: Tampão SMP; Al: KCl; S: Fosf. Cálcio; B: água quente; Cu, Fe, Mn, Zn: DTPA-TEA

Laboratório de Solos AFOCAPI/COPLACANA – Piracicaba / SP

As amostras dos solos foram peneiradas em malhas de grossa (3 mm), e colocadas em caixas (36x56x31 cm) para os ensaios de biodegradação (Fotografia 01). A umidade foi controlada por um sistema de gotejamento de água, indicado pelas setas (Fotografia 01-b).



Fotografia 01 – a - Coluna de solo; b - detalhe sistema de gotejamento de água.

4.4. Ensaio de biodegradação – coluna de solo

Os filmes poliméricos (5x5 cm), em duplicatas, foram enterrados em caixas contendo solo. Foram colocados uma primeira camada de solo de aproximadamente 15 cm, Fotografia 02 e acima dos filmes poliméricos uma camada de aproximadamente 10 cm de solo. As amostras dos filmes permaneceram durante 4 meses em ambiente controlado (Laboratório IV, Departamento de Bioquímica e Microbiologia – UNESP/Rio Claro), sendo removidas após 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 e 120 dias. As amostras tratadas foram cuidadosamente limpas, com água e colocadas em dessecador por 48 horas, para posterior análises.



Fotografia 02 – Polímeros na coluna de solo

4.5. Análises do solo

No período do ensaio de biodegradação dos filmes poliméricos foi acompanhado o perfil do solo empregado nas colunas. As amostras de solo foram coletadas a cada 15 dias e analisadas, segundo as técnicas descritas a seguir.

4.5.1. Determinação do pH do solo

Foi determinado o pH do solo segundo a metodologia pH em CaCl_2 0,01M da Embrapa (1997). Colocou-se 10 g amostra do solo, previamente peneirado (malha 0,2mm), adicionou-se 25 mL da solução de CaCl_2 0,01M. Aguardou-se 15 minutos para completo molhamento da amostra. Agitou-se, após 30 minutos de repouso, determinou-se o pH da solução, em medidor de pH (Digimed DMPH-1, Ag/AgCl, pH $\pm 0,01$).

4.5.2. Temperatura do solo

A temperatura do solo foi monitorada através de termômetro de mercúrio, em graus Celsius ($^{\circ}\text{C}$). Foram determinadas as temperaturas do solo da camada superficial, logo acima das amostras dos polímeros.

4.5.3. Determinação da umidade

Amostras de 5 g de solo, foram levadas para secar em cadinho de porcelana tarado, em estufa a $105 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, em três repetições. Após este período esfriou-se em dessecador.

A umidade foi determinada, em porcentagem, pela diferença dos pesos dos solos antes e após a secagem em estufa (Embrapa, 1997).

4.5.4. Determinação do Teor de Matéria Orgânica

A determinação do teor da matéria orgânica do solo foi analisada seguindo a metodologia de combustão de matéria orgânica em forno mufla (Pereira et al., 2006). Segundo Pereira et al. (2006) os teores de matéria orgânica determinados em mufla são satisfatórios para amostras de solo com elevado conteúdo de carbono orgânico.

Pesou-se 2 g amostra de solo peneirada em malha 0,2 mm , submeteu-se a amostra a 550 °C por 5 horas em mufla. Em seguida esperou-se o total resfriamento da amostra, em ambiente livre de umidade (dessecador).

O cálculo do teor de matéria orgânica foi realizado pela diferença das massas dos solos antes e após a secagem na mufla.

4.5.5. Respiração Microbiana (Evolução de CO₂)

A atividade de microrganismos no solo foi avaliada pela técnica de respirometria. A metodologia utilizada foi a descrita por Bartha & Pramer (Cetesb, 1990), que quantifica o dióxido de carbono desprendido na respiração microbiana do solo.

Foram utilizados 50 g de solo de cada amostra de solo, adicionados em um respirômetro de Bartha, um sistema fechado constituído de duas câmaras interligadas (Fotografia 03).



Fotografia 03 – Respirômetro de Bartha

O dióxido de carbono desprendido foi coletado em 10 mL de KOH (0,2 N). As amostras de KOH retiradas foram adicionadas em erlenmeyer, contendo 1,0 mL de solução de cloreto de bário (BaCl₂) 1M (para precipitar todo o CO₂) e 2 gotas de fenolftaleína como indicador, sendo tituladas com ácido clorídrico (HCl) 0,1 N.

As amostras do solo, em duplicata, foram incubadas a temperatura de 28 ± 2 °C, e monitoradas por 3 dias consecutivos.

A produção de CO₂ no respirômetro foi calculada pela seguinte expressão:

$$\text{mg CO}_2 = (A - B) * 50 * 0,044 * f_{\text{HCl}}$$

onde:

A – volume de solução de HCl 0,1 M gasto na titulação, prova em branco, em mL;

B – volume de solução de HCl 0,1 M gasto na titulação, utilizando o solo, em mL;

50 – fator conversão equivalente em μmol de CO₂;

0,044 – fator de conversão μmol de CO₂ em mg de CO₂;

f_{HCl} – fator de solução de HCl 0,1 M

4.5.6. Quantificação de Microrganismos

Para a determinação da comunidade microbiana presente no solo foi utilizado a técnica do número mais provável (NMP) em plaqueamento por *Pour Plate*, fazendo –se diluição em série a extinção (Jahnel, 1999). O número de microrganismos foi avaliado a cada 30 dias, sendo realizadas as análises em duplicatas.

Foram pesados 10 g de solo e adicionados em erlenmeyer contendo 90 mL de solução salina (NaCl 0,85%), previamente esterilizados em autoclave. Os erlenmeyers foram agitados por 10 minutos a 150 rpm em agitador circulante. Alíquotas de 1mL do sobrenadante foram retiradas do erlenmeyer e adicionadas a tubos de ensaio, contendo 9,0mL de solução salina estéril, seguindo-se a série de diluições.

As diluições adequadas, com contagem de unidades formadoras de colônias (UFC), sendo então as diluições para bactérias de 10⁻³ – 10⁻⁴ e para fungos a partir de 10⁻² – 10⁻³. A partir destas diluições foram inoculadas em placa de petri (em duplicata) contendo os meios

de cultura *Plate Count Agar* (PCA) para bactérias; e o meio *Potato Dextrose Agar* suplementado com cloranfenicol (PDA – cloranfenicol) para fungos.

As placas de petri foram incubadas durante 48 horas a 30°C. Após este período foram realizadas a contagem da presença de unidades formadoras de colônias (UFC).

4.6. Métodos de Caracterização dos Polímeros

4.6.1. Espectroscopia no Infravermelho (FTIR)

As análises de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) das amostras foram feitas no espectrofotômetro modelo FTIR 8300, Shimadzu, com resolução 4 cm⁻¹, para identificar as bandas características das amostras antes e após a biodegradação. Todos os filmes poliméricos foram analisados por FTIR antes e também após o tratamento microbiano.

4.6.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As morfologias das blendas produzidas, assim como os homopolímeros, foram avaliadas utilizando-se um microscópio eletrônico de varredura modelo Zeiss DSM 940 - A operando a 4 keV (ESALQ / USP – Piracicaba/SP). As amostras analisadas por microscopia eletrônica de varredura foram metalizadas com ouro, metalizador MED 010 - Balzers e o suporte foi feito com fita de carbono.

4.6.3. Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As análises de DSC, foram realizadas em equipamento DSC 204 – NETZSCH (FTC / UNESP – Presidente Prudente/SP), usando-se aproximadamente 5 mg de amostra, em panela de alumínio selada. As medidas foram feitas em fluxo de nitrogênio com uma razão de aquecimento 10°C/min, na faixa de temperatura 20 a 200°C, para a aquisição da primeira varredura.

A cristalinidade relativa determinada por DSC seguiu a seguinte relação:

$$X_C = (\Delta H_f / \Delta H_f^0) * 100$$

onde: ΔH_f = calor de fusão da amostra e ΔH_f^0 = calor de fusão de um polímero hipoteticamente 100% cristalino.

4.6.4. Termogravimetria (TG)

A termogravimetria das blendas produzidas foram realizadas na faixa de temperatura entre 20°C e 600°C, a uma razão de aquecimento de 20°C/min. Todas as análises foram efetuadas em uma termobalança TGA 209 – NETZSCH (FTC / UNESP – Presidente Prudente/SP), usando-se aproximadamente 5 mg de amostra, em porta amostra de alumina, em atmosfera de nitrogênio com fluxo de 15 mL/min.

4.6.5. Difração de Raio – X (DRX)

As análises de difração de Raio-X foram realizadas com uma varredura de 10 à 35 graus (2θ) e com uma velocidade de 0,36° /minuto em um difratômetro RIGAKU ROTAFLEX, Modelo RU200B, Camara de Multipurpose de Raios-X, de fonte de radiação $\text{CuK}\alpha$ (IFSC / USP – São Carlos)

Os cálculos de índice de cristalinidade foram baseados na equação.

$$\% X_C = (I_C / I_C + I_A) * 100$$

onde, I_A é a área abaixo da linha da região amorfa e I_C é a área remanescente abaixo dos picos cristalinos.

Para o cálculo das cristalinidades relativas foram determinadas as áreas correspondentes a I_C e I_A . Para isto a linha de separação entre ambas as fases é obtida pela interpolação da seleção manual de vários pontos. A área dos picos cristalinos foram obtidos através de ajustes matemáticos (curvas de Gauss e Lorentz) a partir da indexação das reflexões de Bragg, e estimadas as porcentagens de taxa de cristalinidade.

O tamanho dos cristalitos foi calculado pela equação de Scherrer (Ray, et al., 2003), descrita a seguir:

$$D = \frac{k * \lambda}{B * \cos \theta}$$

D – diâmetro médio dos cristalitos;

B – largura a meia altura do pico de maior intensidade;

θ - ângulo do pico de maior intensidade;

k – constante, cujo valor depende do formato da partícula – adotou-se o valor para partículas de formato esférico = 0,9;

λ - comprimento de onda dos raios-x

5. Resultados e Discussões

Os ensaios de biodegradação em coluna de solo são importantes como indicativos da suscetibilidade dos diferentes materiais poliméricos ao ataque microbiológico. A atividade metabólica e a diversidade dos microrganismos existentes no solo contribuem para a degradação dos materiais sintéticos.

A atividade microbiana está correlacionada com as condições do solo, portanto foram analisados o pH, temperatura, umidade, matéria orgânica, quantidade de CO₂ e nitrogênio. A monitoração destas condições do solo permitiu um entendimento da dinâmica e do processo de biodegradação dos materiais poliméricos.

5.1. Solo

Os resultados de granulometria são apresentados na forma de valores médios de areia, silte e argila do solo utilizado no início do experimento (Tabela 03), e são importantes na determinação da quantidade de água retida e população microbiana.

Tabela 03 - Composição média (g/Kg) do solo acondicionado nas caixas usadas neste trabalho.

Solo	Areia	Silte	Argila
	392	446	163

A classe textural do solo utilizado no experimento é franca (Freire, 2006) pois apresenta uma mistura equilibrada de areia, silte e argila. Geralmente esses solos apresentam as características boas dos solos arenosos (retêm pouca água, apresentam boa permeabilidade e boa aeração) e as dos solos argilosos (são coesos, plásticos e pegajosos).

A porcentagem da umidade e a temperatura do solo, do experimento deste trabalho, estão apresentadas na Figura 07. Observamos que a umidade média do solo durante os 120

dias do experimento foi de 40 %, sendo que a capacidade de campo do solo foi de 60 %. A temperatura do solo apresentou pequenas flutuações, sendo que a média foi de 22°C.

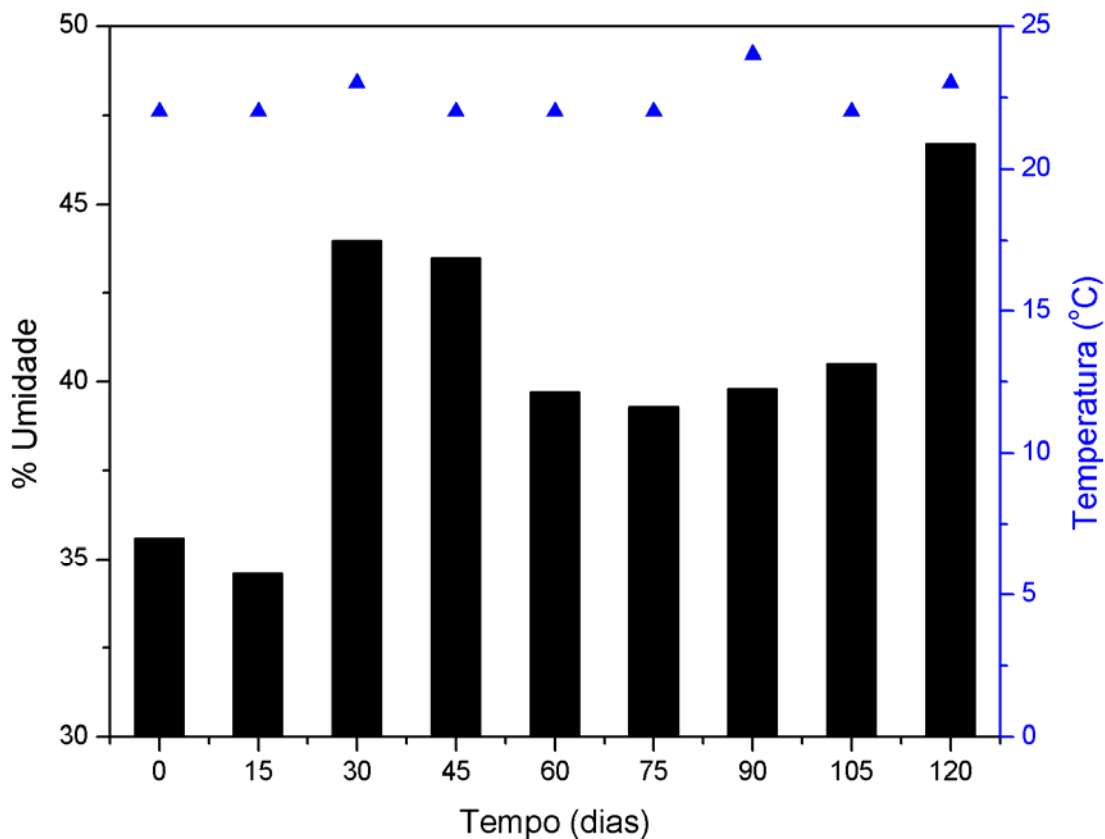


Figura 07 – Representação dos teores de umidade e temperatura do solo

Os microrganismos presentes no solo, precisam de uma fonte de carbono para o crescimento celular, assim como de uma fonte de energia além de nitrogênio para a manutenção das funções metabólicas necessárias para o crescimento (Mandigan et al., 2004). O carbono orgânico constitui o elemento fundamental da matéria orgânica dos solos uma vez que é composta por cerca de 60 % desse elemento, enquanto os demais elementos perfazem o restante.

No período do experimento, observamos na Figura 08 que a quantidade de matéria orgânica apresentou uma média de 258,7 g/ Kg de solo. A matéria orgânica do solo se constitui num componente importante da fertilidade do mesmo, exercendo múltiplos efeitos sobre as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo (Freire, 2006).

A maior quantidade de matéria orgânica se encontra nos horizontes superficiais (Freire, 2006), que é o caso do solo utilizado no experimento, com grande quantidade de matéria orgânica, devido à serrapilheira existente no local de retirada do solo. A maior

atividade microbiana ocorre nas camadas superficiais, ricas em matéria orgânica. A atividade e número de microrganismos no solo, dependem, em grande parte, do balanço dos nutrientes presentes (Mandigan et al., 2004).

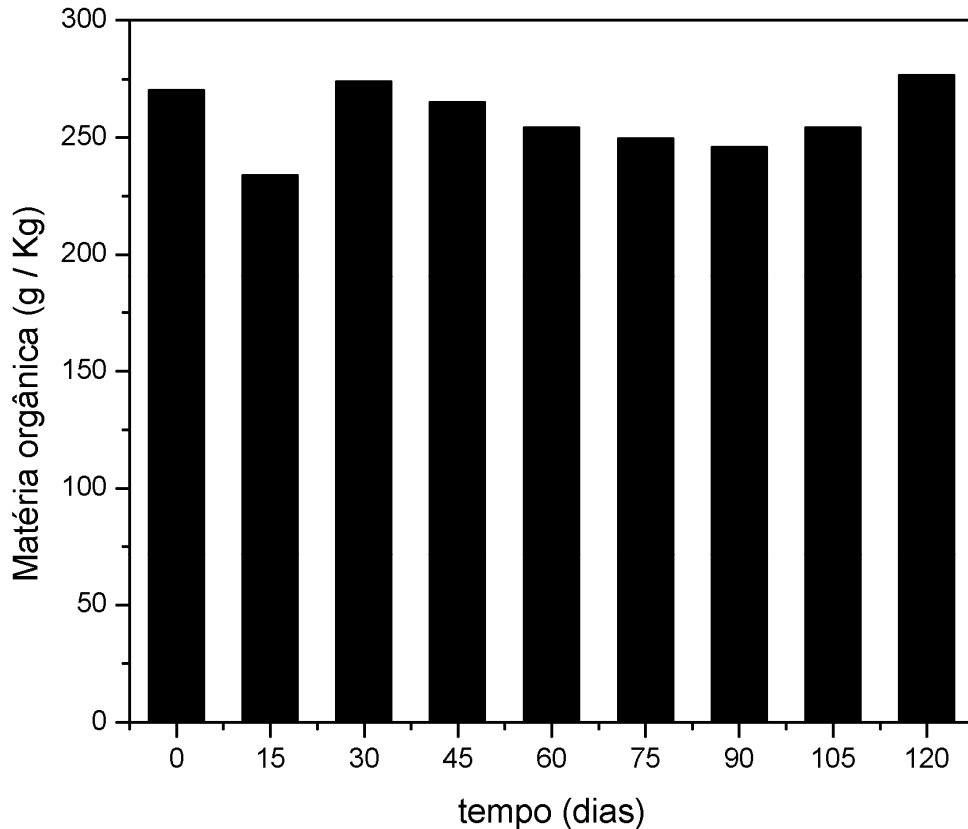


Figura 08 - Matéria orgânica do solo

O conteúdo de carbono e nitrogênio presente no solo é dado pela relação entre C/N. Para o início do processo de compostagem o intervalo de valores de C/N entre 25 e 45 é definido como ótimo. Valores mais elevados significam que não há nitrogênio suficiente para um ótimo desenvolvimento das populações microbianas sendo, a velocidade de decomposição reduzida (Fialho et al., 2005).

A relação C/N do solo ao longo do período do ensaio de biodegradação está listada na Tabela 04. Esta relação mostra que o solo manteve alto conteúdo de carbono em relação ao nitrogênio, neste tipo de solo, durante os 120 dias, favorecendo a velocidade de decomposição da matéria orgânica.

Tabela 04 – Relação C/N

Tempo (dias)	0	30	60	90	120
Relação C/N	17/1	11/1	17/1	15/1	14/1

Outra propriedade importante do solo, ligada ao desenvolvimento microbiano é a acidez ou neutralidade (reação do solo) expressa pelo pH. A maioria dos microrganismos possui uma faixa de pH onde seu crescimento é possível, sendo esta entre pH 5 e 9 (Mandigan et al., 2004). Seu mecanismo de ação pode ser diferente para diferentes microrganismos. Os efeitos podem ser diretos sobre o metabolismo, permeabilidade das membranas e adsorção, ou indiretos sobre a fisiologia e solubilização de elementos tóxicos. Segundo Sanyal et al. (2006) para todas as espécies de *Aspergillus* isoladas, a degradação de PHB e PHB-V foi maior na faixa de pH 6,5 – 7,0. PHB despolimerases de *Penicillium* spp. apresenta maior atividade na faixa de pH 5,0 – 6,5, já para *A. fumigatus* apresenta máxima atividade em pH 8,0 – 9,0 (Sanyal et al. 2006).

Os resultados apresentados na Figura 09 indicam que o solo possui características ácidas, acentuando-se ao final do experimento.

A acidez do solo verificado durante todo o período de biodegradação, provavelmente tenha sido um fator de grande influência no pequeno desenvolvimento das bactérias e na proliferação de fungos, já que muitos fungos apresentam seu melhor desenvolvimento em faixas ácidas de pH (Espósito & Azevedo, 2004).

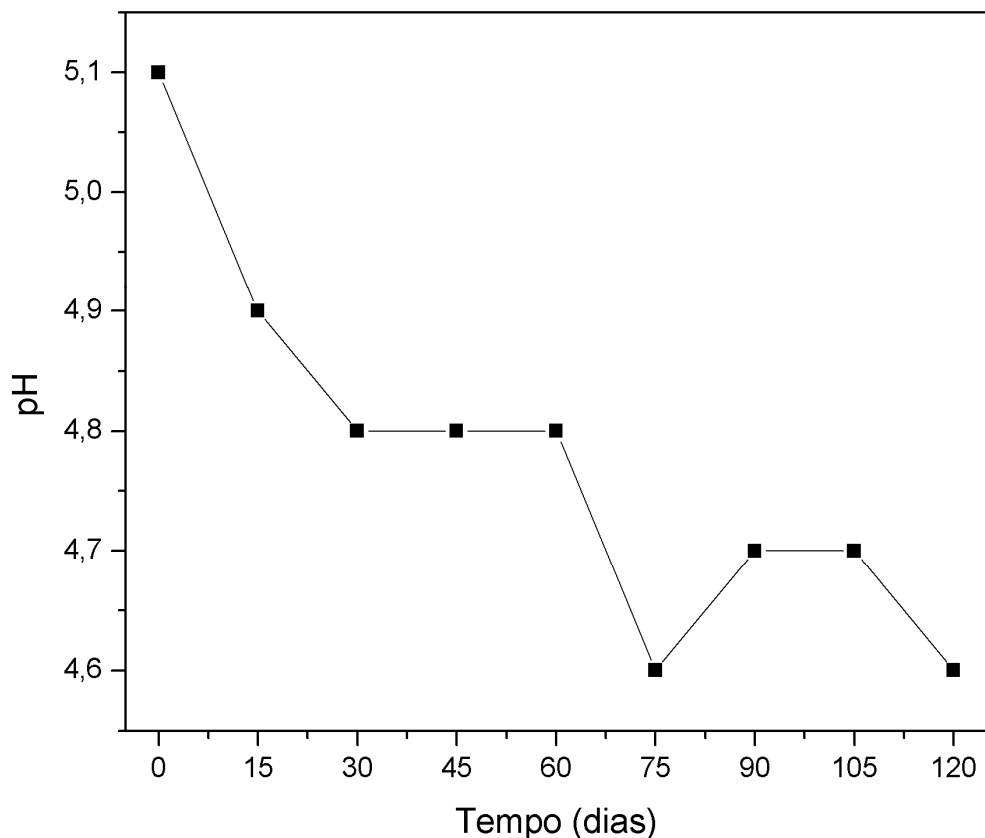


Figura 09 - pH do solo durante o período de biodegradação

O comportamento da respiração microbiana é considerado um indicador da atividade da microbiota no solo, podendo ser avaliado pela monitoração da produção de dióxido de carbono durante a biodegradação dos compostos orgânicos. Como CO_2 é um produto da respiração aeróbia, seu monitoramento pode ser utilizado como parâmetro no estudo da atividade metabólica de microrganismos.

Na Figura 10 apresenta-se os dados de evolução de CO_2 das amostras do solo utilizadas nas caixas no período de 120 dias, exibindo uma tendência de aumento com o tempo, refletindo, portanto uma maior atividade microbiana em função do tempo do tratamento microbiano.

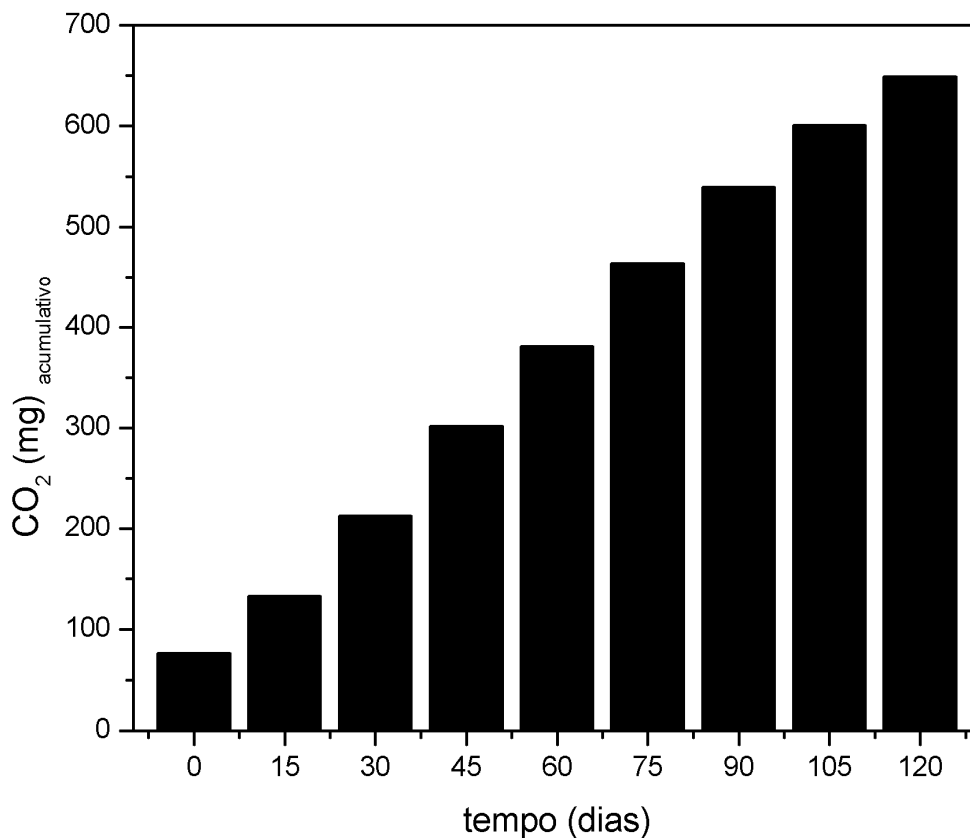


Figura 10 - Evolução de CO₂ das amostras do solo nos diferentes tempos de biodegradação

As contagens de UFC para bactérias e fungos, durante os 120 dias de experimento, estão apresentadas na Tabela 05.

Tabela 05 – Número de bactérias e fungos (em duplicata) nas amostras de solo.

Tempo (dias)	Bactérias (UFC/g solo)	Fungos (UFC/g solo)
0	4.3×10^7	1.7×10^5
30	3.8×10^7	2.2×10^5
60	2.0×10^7	3.5×10^5
90	5.0×10^7	6.4×10^5
120	1.9×10^7	7.8×10^5

Observou-se a partir da contagem das UFC que o número de fungos presentes no solo teve um aumento significativo em todos os períodos, tendo um favorecimento ao

desenvolvimento da população fúngica após 90 dias. Este aumento foi influenciado pela acidez do solo verificado anteriormente (Figura 09) durante todo o período de biodegradação. Em relação ao número de bactérias, os resultados apresentados mostram uma diminuição da população, porém também no período de 90 dias, houve um aumento significativo.

Estes resultados indicam que as variações das condições ambientais, tais como temperatura e pH, influenciam no comportamento das espécies e consequentemente na atividade desta microbiota.

As condições do solo durante o período do ensaio de biodegradação foram, portanto favoráveis à biodeterioração dos materiais poliméricos. Os diversos fatores estudados e apresentados, indicam que é possível a decomposição / alteração dos filmes poliméricos em solo. Os distúrbios causados no sistema com a adição dos diferentes polímeros, não gerou mudanças severas e/ou drásticas nas propriedades do solo, mantendo controlada a atividade microbiana.

As mudanças observadas com relação ao tempo, são resultados das atividades da comunidade microbiana e dos fatores físicos do solo. Estas alterações do ambiente e da atividade dos microrganismos estão interligadas, e influenciam na biodeterioração das matrizes poliméricas.

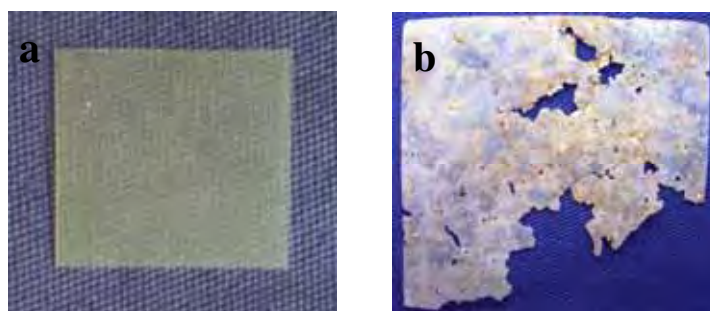
5.2. Polímeros

Os homopolímeros e suas respectivas blendas, após os diferentes tempos do ensaio de biodegradação em solo, apresentaram alterações quanto sua estrutura e morfologia em diferentes intensidades, relacionado às características de cada material.

5.2.1. PHB-V

5.2.1.1. Observação visual

Os filmes do homopolímero PHB-V foi fotografado antes e após o tratamento microbiano em coluna de solo (Fotografia 04). Visualmente observamos a deterioração do filme de PHB-V após curto período (15 dias) do ensaio de biodegradação. Para os demais períodos do experimento de biodegradação, não foi possível detectar os filmes de PHB-V devido ao alto nível de desintegração (completamente biodegradados), impossibilitando análises posteriores.



Fotografia 04 - PHB-V (a) original; (b) após 15 dias em coluna de solo

5.2.1.2. FTIR

A espectroscopia de absorção no FTIR foi utilizada para a verificação de mudanças estruturais nas cadeias poliméricas, após o tratamento microbiano no solo.

Os espectros de FTIR dos filmes de PHB-V originais (antes do tratamento microbiano) e biotratados, após 15 dias em solo, estão apresentados na Figura 11, sendo possível à identificação dos grupos funcionais apresentados na tabela 06 (Xu et al., 2002; Vogelsanger et al., 2003; Li et al., 2003). Estes espectros foram normalizados em relação à banda de padrão interno, 1452 cm^{-1} , escolhida por não mudar durante o tempo de biodegradação.

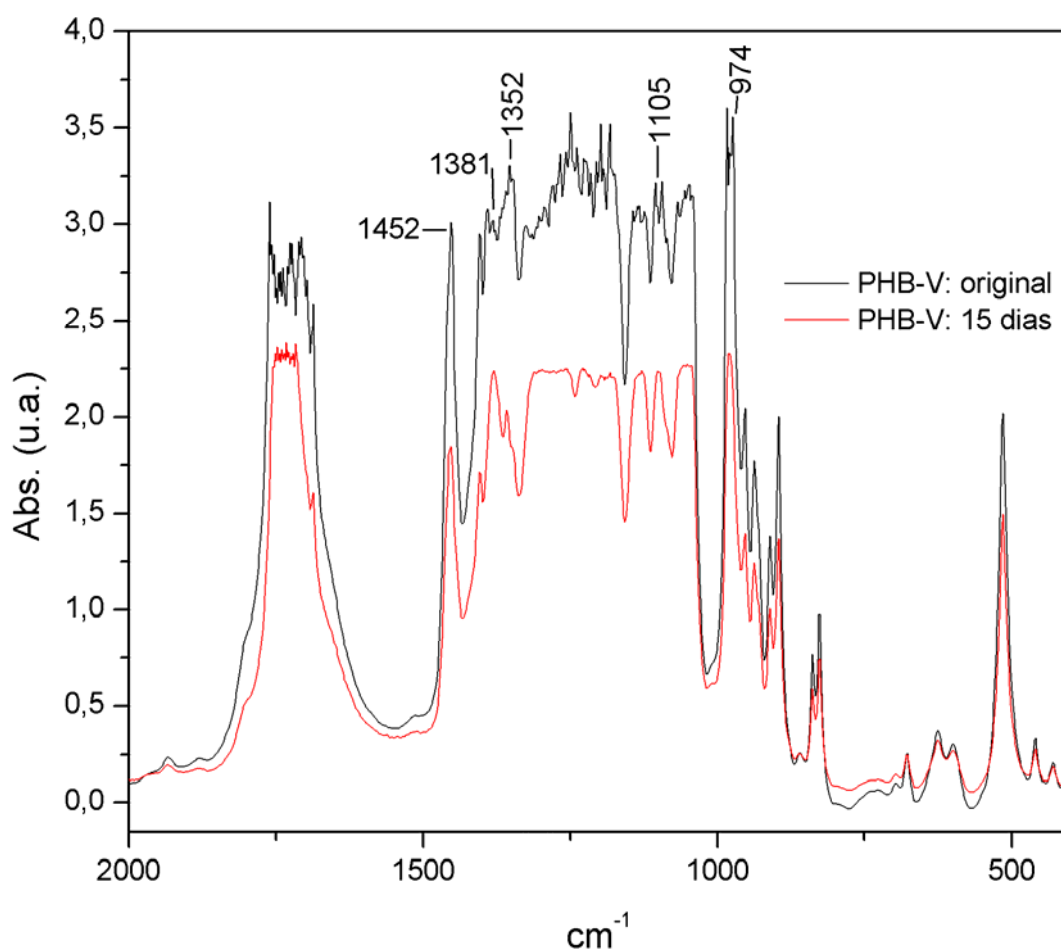


Figura 11 – Espectros de FTIR dos filmes de PHB-V: original e biotratado após 15 dias em coluna de solo

Tabela 06 - Atribuições das bandas de absorção de FTIR, para os filmes de PHB-V.

λ (cm ⁻¹)	Grupos funcionais
973	C – C
983	C – C
1093	C – O estiramento éster
1105	C – O estiramento éster
1182	C – O – C estiramento (a)
1245	C – O – C estiramento
1352	CH deformação + CH ₃ deformação simétrica
1380	CH ₃ deformação simétrica (c)
1452	CH ₃ deformação assimétrica
1722	C = O estiramento (c)
1745	C = O estiramento (a)

(c) fase cristalina (a) fase amorfa - Xu et al.(2002); Vogelsanger et al. (2003); Li et al. (2003)

Comparando-se os espectros observamos diferenças que fornecem informações a respeito da cristalinidade do poliéster. A diferença de intensidade de certas bandas é sensível ao grau de cristalinidade, sendo algumas em maior ou em menor extensão (Luo & Netravali, 2003). Na Tabela 07 estão as relações das intensidades de absorção (I / I_0) dos filmes de PHB-V, referente à banda de padrão interno (I_0), 1452 cm⁻¹ (gráfico A1, Apêndice A).

Tabela 07 - Relação de intensidade de absorção no IR no filme de PHB-V.

λ (cm ⁻¹)	I / I_0 original	I / I_0 30 dias
974	1,18	---
980	---	1,26
1101	---	1,21
1105	1,07	---
1381	1,00	1,21

Obs.: --- ausência de banda

Com relação ao filme após o tratamento microbiano no solo, houve a supressão das bandas na região de $1245 - 1319 \text{ cm}^{-1}$, referentes à vibração de estiramentos de grupos C-O-C, tanto na fase cristalina como na amorfa. Observamos o deslocamento na banda em 1352 cm^{-1} para 1357 cm^{-1} , referente a deformação do grupo C-H e deformação simétrica do grupo CH_3 . No espectro do filme original, verificamos duas bandas a 1093 e 1105 cm^{-1} , referentes à vibração de estiramento de grupo C-O em ésteres (Li et al., 2003). Para o espectro do filme biotratado, ocorrem o deslocamento para 1101 cm^{-1} .

Para o filme de PHB-V original existem duas bandas em 974 e 983 cm^{-1} (C-C), no espectro do filme após o tratamento microbiano há uma única banda em 980 cm^{-1} . A banda em 980 cm^{-1} pode ser atribuída a grupos C-H do ácido 2-butenóico, que é o principal produto de degradação térmica de PHB (Jenkins et al., 2007). Li et al. (2003) também demonstraram que os produtos de degradação térmica de PHB-V, através dos picos de absorção nos espectros de TG-FTIR, são principalmente ésteres insaturados, ácidos carboxílicos e pequena quantidade de água. Ainda neste mesmo trabalho, os autores identificaram o ácido 2-butenóico como o principal produto de degradação, em porcentagem (45,47 %) da pirólise de PHB-V, através de cromatografia – espectrômetria de massa a 590°C em 10 segundos.

Comparando os valores de intensidades observamos um pequeno aumento de intensidade em 1381 cm^{-1} , banda relativa à fase cristalina, que é insensível ao grau de cristalinidade e a composição do copolímero (Luo & Netravali, 2003; Bloembergen et al., 1986). Na região de $1700 - 1760 \text{ cm}^{-1}$, também ocorreram mudanças, após o tratamento microbiano, tanto nas fases cristalinas como nas amorfas, do grupo carbonílico.

Desta maneira, os filmes de PHB-V submetidos ao tratamento microbiano no solo, foram biodegradados pela ação dos microrganismos, ocorrendo reações hidrolíticas de grupos ésteres e quebras oxidativas da cadeia polimérica.

5.2.1.3. MEV

A morfologia da superfície da matriz polimérica pode indicar a instabilidade do material quando exposto ao tratamento microbiano. As micrografias do filme de PHB-V original e após o tratamento microbiano, estão apresentados na Figura 12.

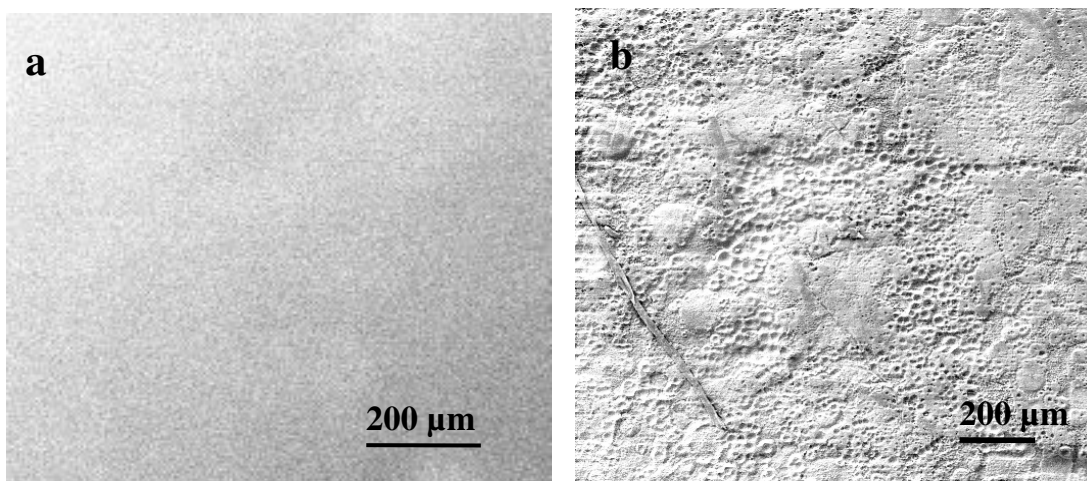


Figura 12 – MEV dos filmes de PHB-V (a) original; (b) biotratado solo 15 dias

Verificamos que o filme submetido ao tratamento microbiano no solo apresenta crateras e erosão por toda a extensão da superfície, diferente da superfície lisa do filme original. Isto reflete a ocorrência da erosão superficial do polímero, atribuído ao ataque microbiano, resultando em mudanças morfológicas da superfície polimérica. Avella et al. (2000) estudaram a biodegradabilidade de PHB/reforçado com fibras de palha de trigo utilizando solo compostado, a morfologia dos filmes foi analisada por MEV, e mostrou, no caso de PHB-V puro, uma textura esferulítica, após 38 % de perda de massa, confirmando a erosão preferencial da fase interlamelar (fase amorfa), como consequência da erosão microbiana, de maneira semelhante à Figura 12b .

5.2.1.4. Medidas de massa

Os valores de porcentagem de perda de massa dos filmes de PHB-V estão apresentados na Figura 13. No período de 15 dias a perda foi de aproximadamente 35 % e em 30 dias ocorreu total decomposição dos filmes.

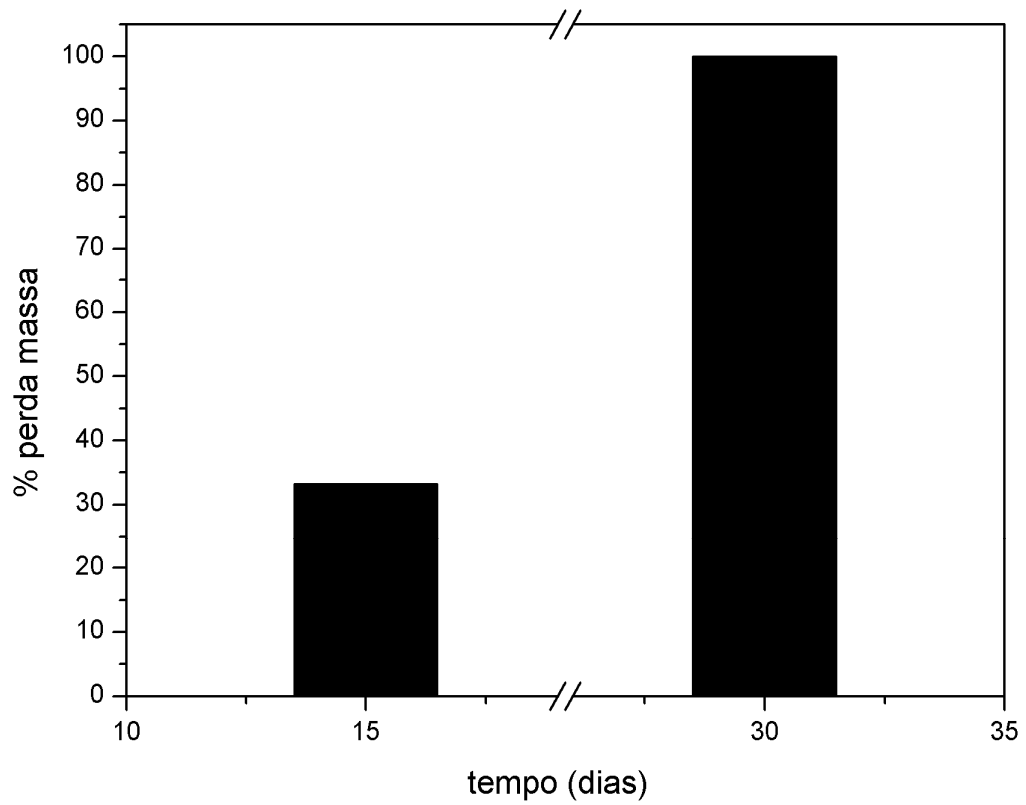


Figura 13 - % perda de massa filmes PHB-V após tratamento microbiano.

5.2.1.5. DSC

Na Figura 14 estão apresentadas as curvas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) para os filmes de PHB-V original e biotratado em coluna de solo, para verificação de possíveis modificações.

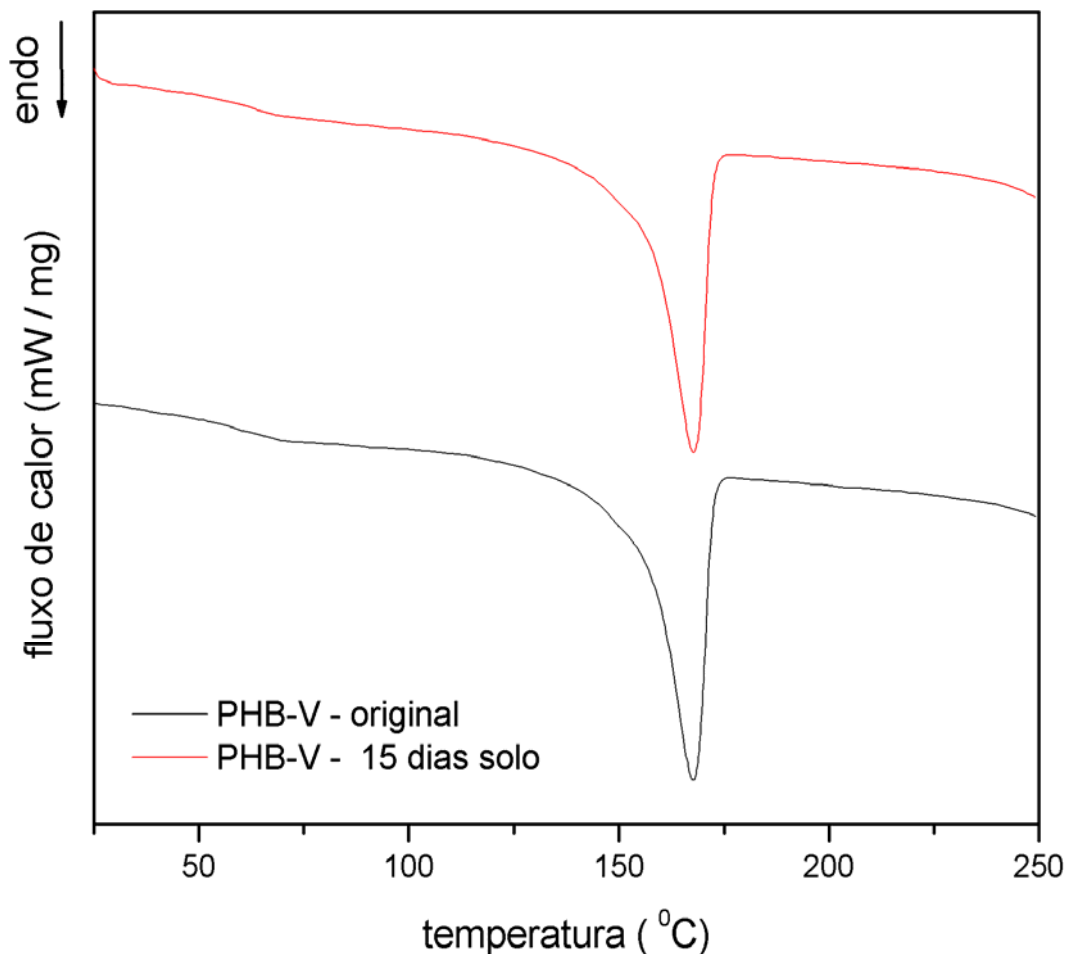


Figura 14 – Curvas de DSC dos filmes de PHB-V: original e biotratado em solo.

Pode-se verificar a presença de um único pico a 167°C, correspondente a fusão do PHB-V. Conforme a literatura (Bluhm et al., 1986) a temperatura de fusão (T_f) de PHB puro é 179°C e PHV puro é 105 – 108°C. Observamos que os valores das T_f (temperatura de fusão - transição endotérmica) e as entalpias de cristalização (ΔH_f), dos polímeros original e biotratado não sofreram alterações (Tabela 08). As derivadas das curvas de DSC, para determinação das T_f , estão no apêndice A (figura A2).

Tabela 08 - Valores de temperatura de fusão (T_f); entalpias de fusão (ΔH_f) e grau de cristalinidade (X_c), para os filmes de PHB-V

Tempo de degradação dias	T_f °C	ΔH_f J/g	X_c %
0	167,7	70,7	65
15	167,8	69,3	64

O grau de cristalinidade dos filmes de PHB-V foi calculado a partir dos dados de calor de fusão teórico do PHB-V hipoteticamente 100% cristalino, $\Delta H_f^0 = 109 \text{ J/g}$ (Qiu et al., 2005). O estado cristalino caracteriza-se por apresentar um arranjo tridimensional e regular ao longo de pelo menos uma parte das cadeias poliméricas, uma vez que este estado é caracterizado por apresentar um arranjo molecular ordenado. Sendo assim, as cadeias poliméricas podem existir em dois diferentes estados: amorfo e cristalino, que indicam as regiões de desordem e ordem no polímero, respectivamente.

Os graus de cristalinidade dos filmes de PHB-V também permaneceram constantes, não sendo possível a detecção de mudanças entre a composição das fases cristalina e amorfa do polímero pela técnica utilizada. Tsuji & Suzuryoshi (2002) estudando filmes de PHB e PCL após biodegradação em água do mar, verificaram que as T_f e T_g (temperatura de transição vítrea) permaneceram inalteradas após 5 semanas de testes. Não detectaram mudanças de biodegradação através de medidas de DSC, e concluíram que os processos de degradação ocorreram via mecanismos de erosão superficial. Segundo a literatura (Timmins et al., 1996 e Luo & Netravali, 2003), as regiões cristalinas de PHB são degradadas na mesma razão que as regiões amorfas, e a cristalinidade do filme permanece constante.

5.2.1.6. TG

Os filmes de PHB-V original e biotratado em solo também foram analisados por termogravimetria (TG), para avaliar a degradação térmica dos mesmos (Figura 15). Na Tabela 09 apresenta os dados de temperatura inicial de perda de massa (T_{onset}) e temperatura máxima de perda de massa (T_{pico}) para os filmes de PHB-V. Os valores de T_{pico} foram determinados a partir das temperaturas máximas dos picos observados na primeira derivada das curvas de TG, apresentadas no Apêndice A (figura A3).

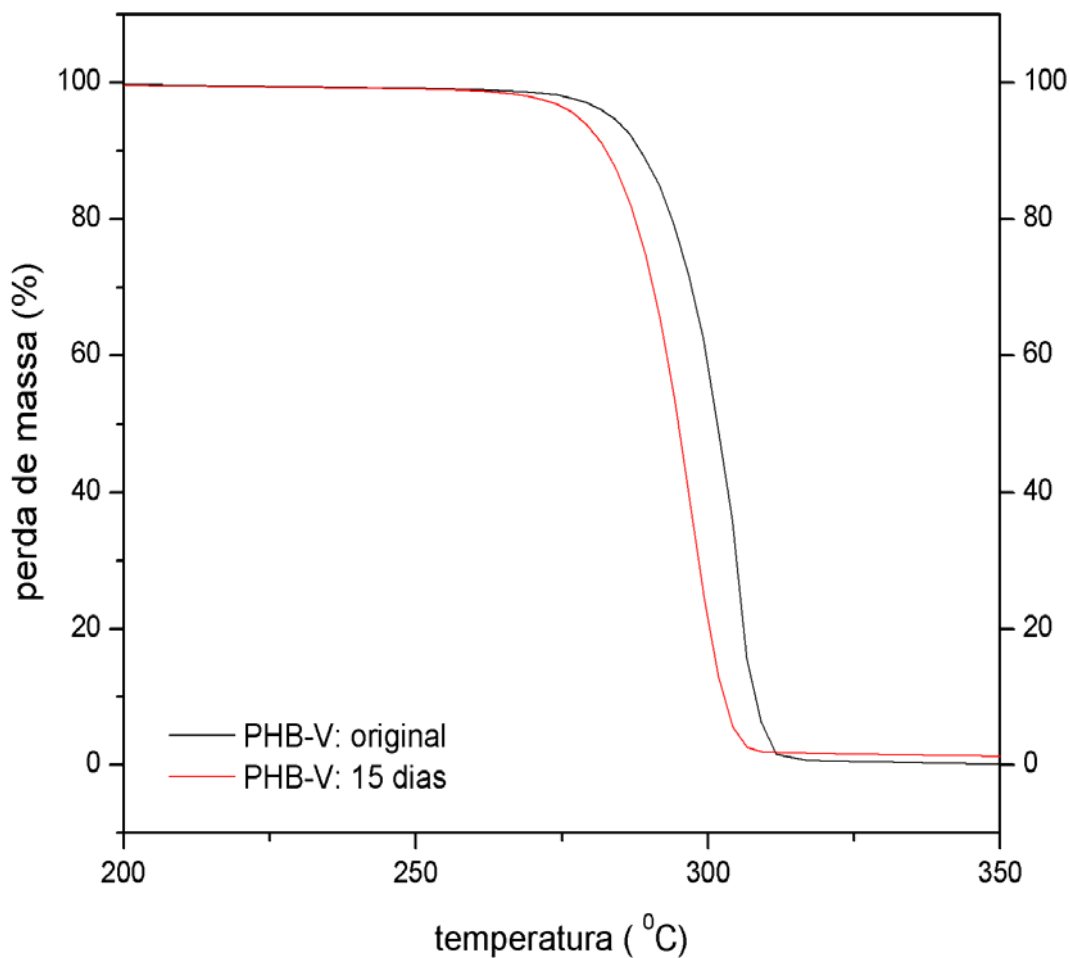


Figura 15 – Curvas de TG dos filmes de PHB-V: original e biotratado.

Tabela 09 - Valores das temperaturas de início (T_{onset}) e máxima velocidade (T_{pico}) para os filmes de PHB-V

Tempo de degradação dias	T_{onset} °C	T_{pico} °C
0	288,7	304,1
15	282,3	296,7

Observamos que a decomposição térmica para os filmes de PHB-V ocorrem em uma única etapa. Os valores de T_{onset} e T_{pico} têm um decréscimo de 6,4°C e 7,4°C, respectivamente, demonstrando uma menor estabilidade térmica para o filme de PHB-V após tratamento microbiano. Provavelmente devido a hidrólise e quebras das cadeias poliméricas, visto a ocorrência do ataque microbiano na superfície dos filmes (ver MEV e FTIR).

5.2.1.7. Difração de raio-X (DRX)

Foram realizados estudos de difração de raio-X com a finalidade de investigar a estrutura cristalina de PHB-V, já que pelas análises de DSC não foi possível notar a diferença de fração cristalina nas amostras original e biotratadas (Figura 16).

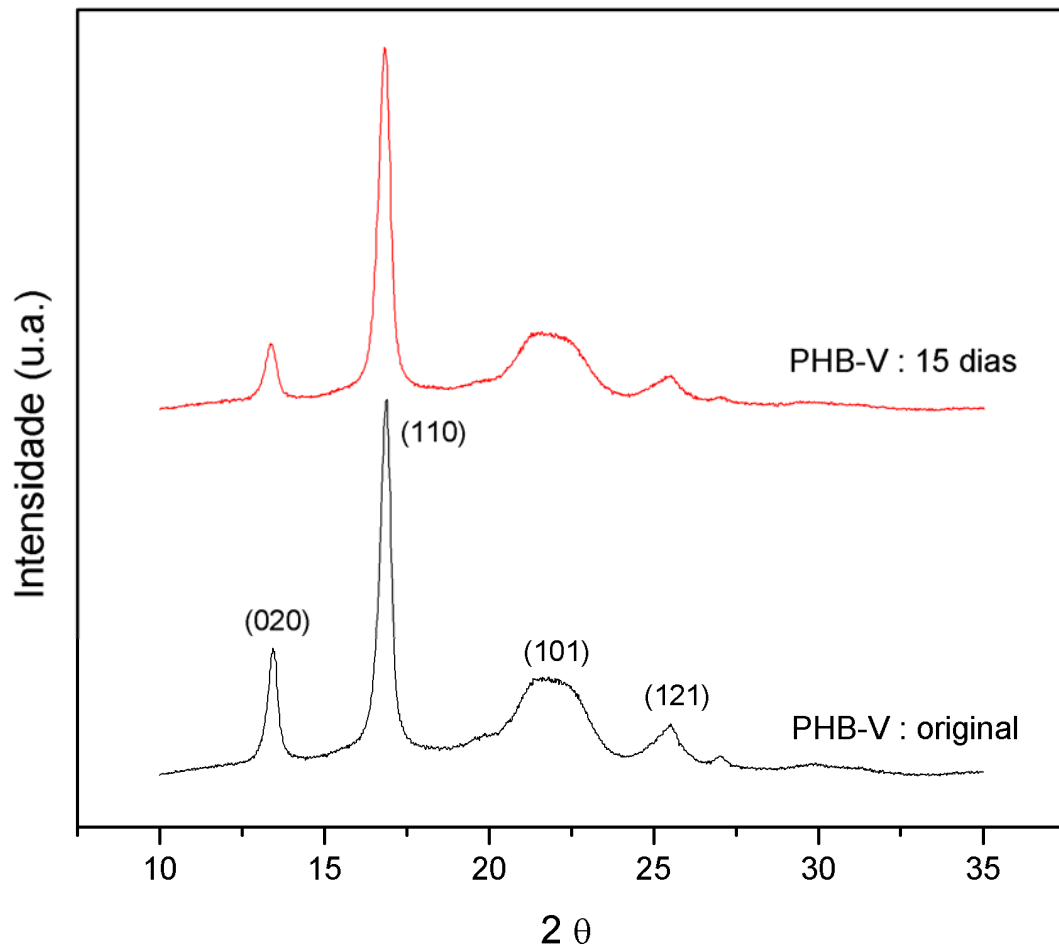


Figura 16 – DRX dos filmes de PHB-V: original e biotratado.

A tabela 10 apresenta os parâmetros dos difratogramas de raio-X, graus de difração (2θ) no plano (110), largura à meia altura do pico (FWHM) e espaçamento interlamelar (d) para os filmes de PHB-V.

Tabela 10 - Valores dos graus de difração (2θ), largura à meia altura do pico (FWHM) e espaçamento interlamelar (d) para os filmes de PHB-V.

Tempo degradação dias	2θ (110)	FWHM	d nm
0	16,86	0,35	5,25
15	16,84	0,40	5,26

Os picos principais de reflexão para os filmes de PHB-V original e biotratado, foram respectivamente em (110) em $2\theta \sim 16,86^\circ$, (101) em $2\theta \sim 21,62^\circ$ e (121) em $2\theta \sim 25,52^\circ$ e em (020) em $2\theta \sim 13,4^\circ$ (Figura 16) (Galego et al., 2000). Segundo Mitomo et al. (1995) o pico de difração característico da fase cristalina de PHV (polihidroxivalerato) no plano (110) também ocorre em $2\theta \sim 13^\circ$, e que o aumento na intensidade deste pico está relacionado com o aumento da composição HV.

Os valores de espaçamento interlamelar $d(110)$ determinados para cada polímero permaneceram constantes (Tabela 10). O tamanho dos cristalitos foi calculado utilizando a equação de Scherrer (Ray et al., 2003), e o tamanho médio dos cristalitos foi de 0,39 e 0,35 nm, respectivamente para os filmes de PHB-V original e biotratado.

O grau de cristalinidade calculado utilizando os dados de difração de raio-X, está apresentado na Tabela 11, que foi realizado em relação ao pico cristalino no plano 110. Não houve diferença significativa na fração cristalina do filme de PHB-V, após 15 dias de tratamento microbiano em colona de solo.

Tabela 11 – Grau de cristalinidade dos filmes de PHB-V por DRX

Tempo degradação dias	X_c %
0	59
15	56

Estudos de cristalização de PHB-V (Bluhm et al., 1986; Bloembergen et al., 1989; Yoshie et al., 2001) mostram que este polímero apresenta o fenômeno de isodimorfismo. No PHB-V com baixo conteúdo de unidades HV (valerato), há abundância de longas seqüências das unidades de HB (butirato), existindo a tendência de que o núcleo seja composto

totalmente pelas unidades de HB e as unidades de HV se localizarem somente nas arestas. Nesta situação, as unidades de HV estão provavelmente concentradas na superfície dos núcleos, como apresentado no esquema da Figura 17.

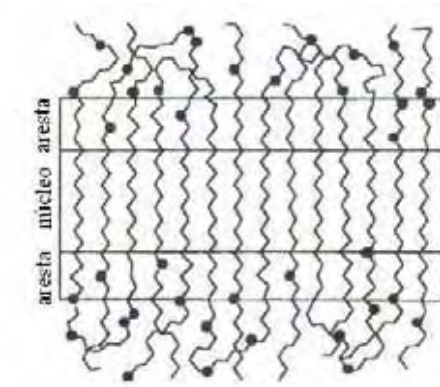


Figura 17 - Esquema lamela tipo "sandwich": núcleo composto pelas unidades de HB, e as unidades HV nas arestas (Yoshie et al., 2001).

Todos os resultados apresentados são consistentes com o modelo de isodimorfismo de PHB-V, indicando que a razão de degradação do filme polimérico foi atribuída à erosão superficial. Sendo degradadas, simultaneamente, tanto a fase amorfa e cristalina, conseqüentemente a razão de cristalinidade do polímero, permanece inalterada durante os primeiros 15 dias de tratamento microbiano (DSC, DRX).

A diferença entre os graus de cristalinidade determinados por DSC e DRX, respectivamente 65 e 59%, para os filmes originais, pode ser explicada pelas diferenças intrínsecas de cada um dos métodos usados no cálculo de cristalinidade. Os picos endotérmicos (DSC), mais extensos, incluem os vários tipos de cristais, não só os cristais maiores (mais ordenados), como também os menores (menos ordenados). No caso do DRX, o cálculo de cristalinidade se faz a partir do pico cristalino principal.

Resultados obtidos no estudo de degradação de PHB-V em solo por Sang et al. (2002), demonstraram que a degradação foi resultado do consórcio microbiano que colonizou a superfície do polímero. A deterioração do filme polimérico ocorre através do ataque microbiano, que pode ser devido à ação tanto de exo e/ou endo enzimas. O ataque enzimático pode começar pelos sítios mais acessíveis, como os finais de cadeia existentes nas arestas cristalinas. Este tipo de ataque é atribuído a ação de exo enzimas, que podem reduzir o plano lamelar, prosseguindo para cada aresta cristalina em direção ao centro do cristal polimérico. A ação das endo enzimas, está relacionada com a cisão das cadeias, onde o ataque seria iniciado

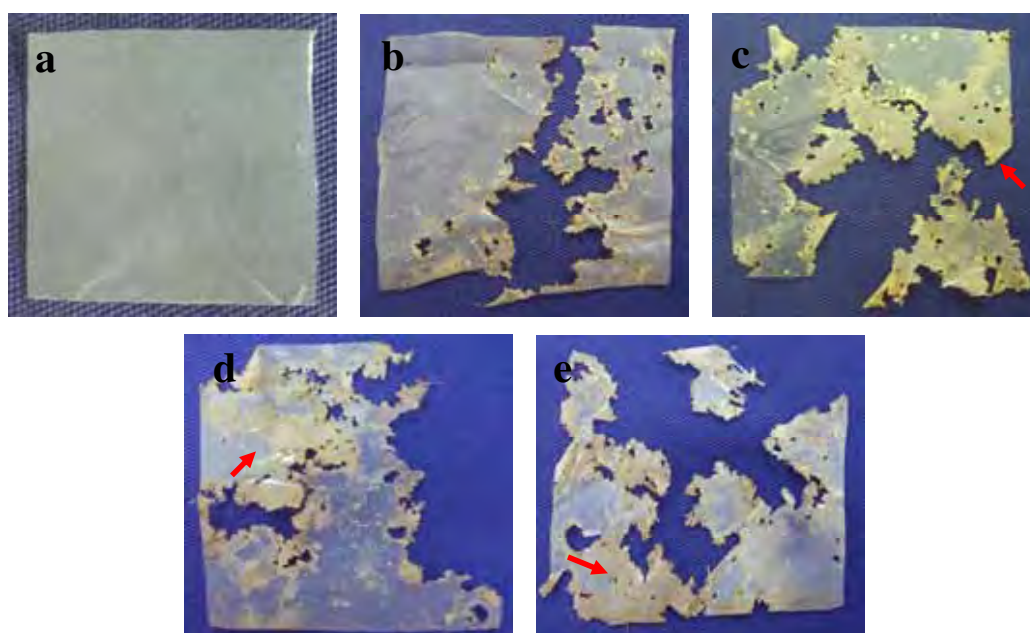
nas “dobras” das cadeias, continuando perpendicularmente no plano lamelar, sendo interrompido no denso núcleo lamelar, onde a ordenação das cadeias é maior (Hocking et al., 1996).

Os filmes de PHB-V sofreram modificações estruturais e morfológicas, via erosão superficial durante os primeiros 15 dias de tratamento microbiano no solo, caracterizando o processo de biodegradação. As mudanças ocorridas foram atribuídas ao ataque dos microrganismos do solo, ocorrendo reações hidrolíticas e oxidativas na cadeia polimérica. Estas mudanças levaram à uma menor estabilidade térmica do material (TG).

5.2.2. PCL

5.2.2.1. Observação visual

A deterioração dos filmes de PCL pode ser visualizada na Fotografia 05, que apresenta os filmes antes e após os diferentes tempos do tratamento microbiano no solo. Fragmentação e rupturas são observados para todos os filmes que foram biotratados; após 60 dias aparecem algumas regiões mais opacas (indicado pelas setas vermelhas), indícios de ataque microbiano.



Fotografia 05 - PCL (a) original ; (b) 30 dias; (c) 60 dias; (d) 90 dias; (e) 120 dias após tratamento microbiano em coluna de solo

5.2.2.2. FTIR

Foram realizadas as análises de FTIR para os filmes de PCL, os espectros estão apresentados na Figura 18 e as atribuições das respectivas bandas de absorção de FTIR estão apresentadas na Tabela 12. Os espectros foram normalizados em relação à banda de padrão interno do PCL 2864 cm^{-1} .

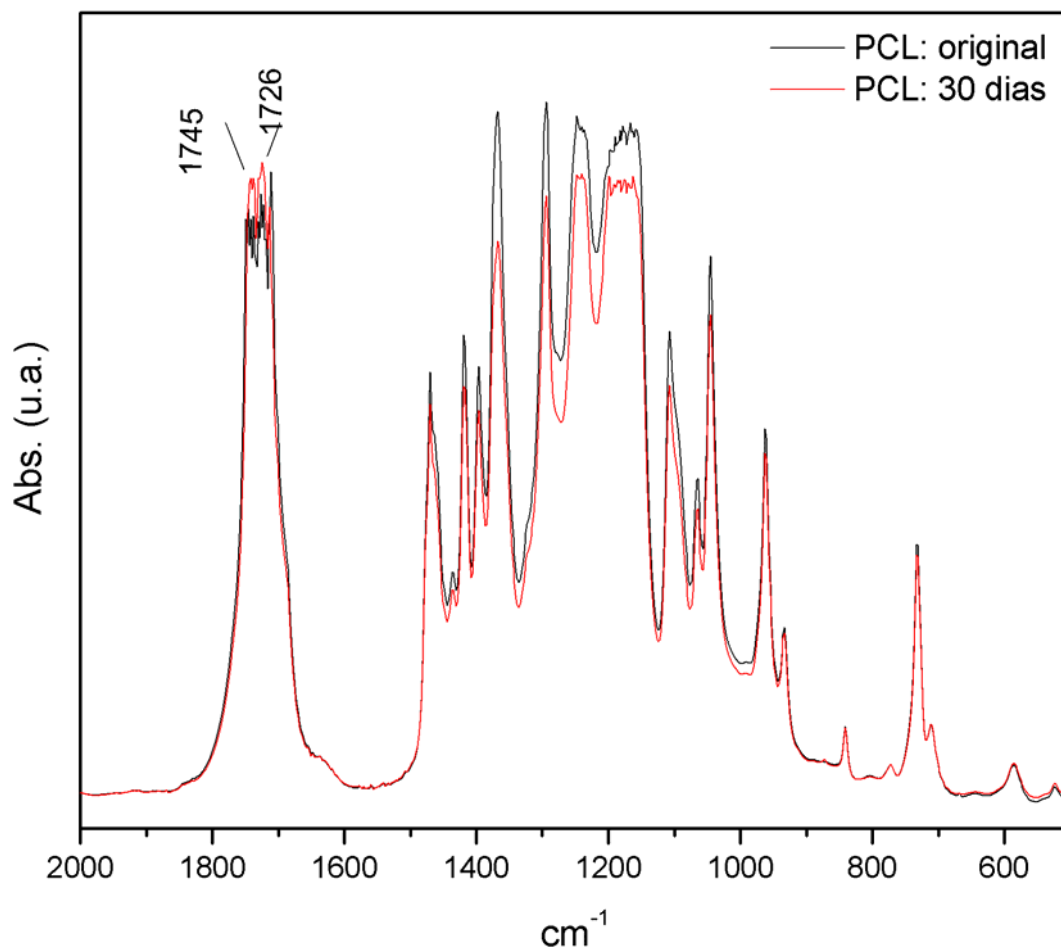


Figura 18 – Espectro de FTIR dos filmes de PCL:original e biotratado em diferentes tempos.

Tabela 12 - Atribuições das bandas de absorção de FTIR, para os filmes de PCL

λ (cm^{-1})	Grupos funcionais
1174	C(=O)-O deformação axial assimétrica
1245	C-O-C estiramento assimétrico
1294	C-O / C-C estiramento(c)
1722	C=O estiramento (c)
1745	C=O estiramento (a)
2866	CH ₂ estiramento simétrico
2943	CH ₂ estiramento assimétrico
2950	CH ₂ estiramento assimétrico

(c) fase cristalina; (a) fase amorfa (Elzien et al., 2004; He & Inoue, 2000; Campos, 2004)

De maneira geral, após 60 dias do ensaio de biodegradação em solo, os espectros de FTIR dos filmes de PCL apresentam baixa resolução, não permitindo uma adequada interpretação (ver Figura B1, Apêndice B).

Após o tratamento microbiano no solo, observamos deslocamentos na faixa de 2930 – 2950 cm^{-1} , atribuídas aos estiramentos simétrico e assimétrico do grupo CH_2 . Na região de 1700 cm^{-1} , verificam-se as bandas definidas, a 1745 cm^{-1} e 1724 cm^{-1} , atribuídas a grupos carbonila ($\text{C}=\text{O}$), nas fases amorfas e cristalinas respectivamente. Há uma diminuição de intensidade da carbonila na fase amorfa (1745 cm^{-1}), Tabela 13. Também observamos perdas de grupos carbonílicos a 1737 cm^{-1} .

Os filmes de PCL foram biodeteriorados, preferencialmente, na fração amorfa do polímero, indicada pela diminuição de intensidade da banda de vibração do grupo carbonílico e pelas quebras das ligações éster das cadeias de PCL.

Tabela 13 – Relação de intensidade de absorção no IR no filme de PCL.

λ (cm^{-1})	I / I_0 original	I / I_0 30 dias
1726	0,92	1,15
1737.7	1,77	1,14
1745.4	1,88	1,12
2937.3	---	1,35
2943.1	2,24	---
2952.8	---	1,37

I_0 referente à banda de padrão interno 2864 cm^{-1}

5.2.2.3. MEV

As mudanças na morfologia dos filmes de PCL podem ser observadas na Figura 19, onde estão apresentadas as microscopias eletrônicas. Após a exposição dos filmes por diferentes períodos ao tratamento microbiano no solo, suas superfícies apresentaram crateras, fissuras e erosão atribuídas ao ataque dos microrganismos. O aparecimento de estruturas organizadas pode ser visualizado no filme retirado do solo, depois de 60 dias.

Inicialmente a superfície dos filmes poliméricos é lisa e uniforme, com o aumento do tempo da biodegradação, as mudanças morfológicas ficam mais intensas. A deterioração e/ou erosão da superfície polimérica é um processo interfacial, que depende fortemente dos parâmetros ambientais (Flemming, 1998). Como conseqüências do ataque microbiológico surgem mudanças nas propriedades da superfície polimérica.

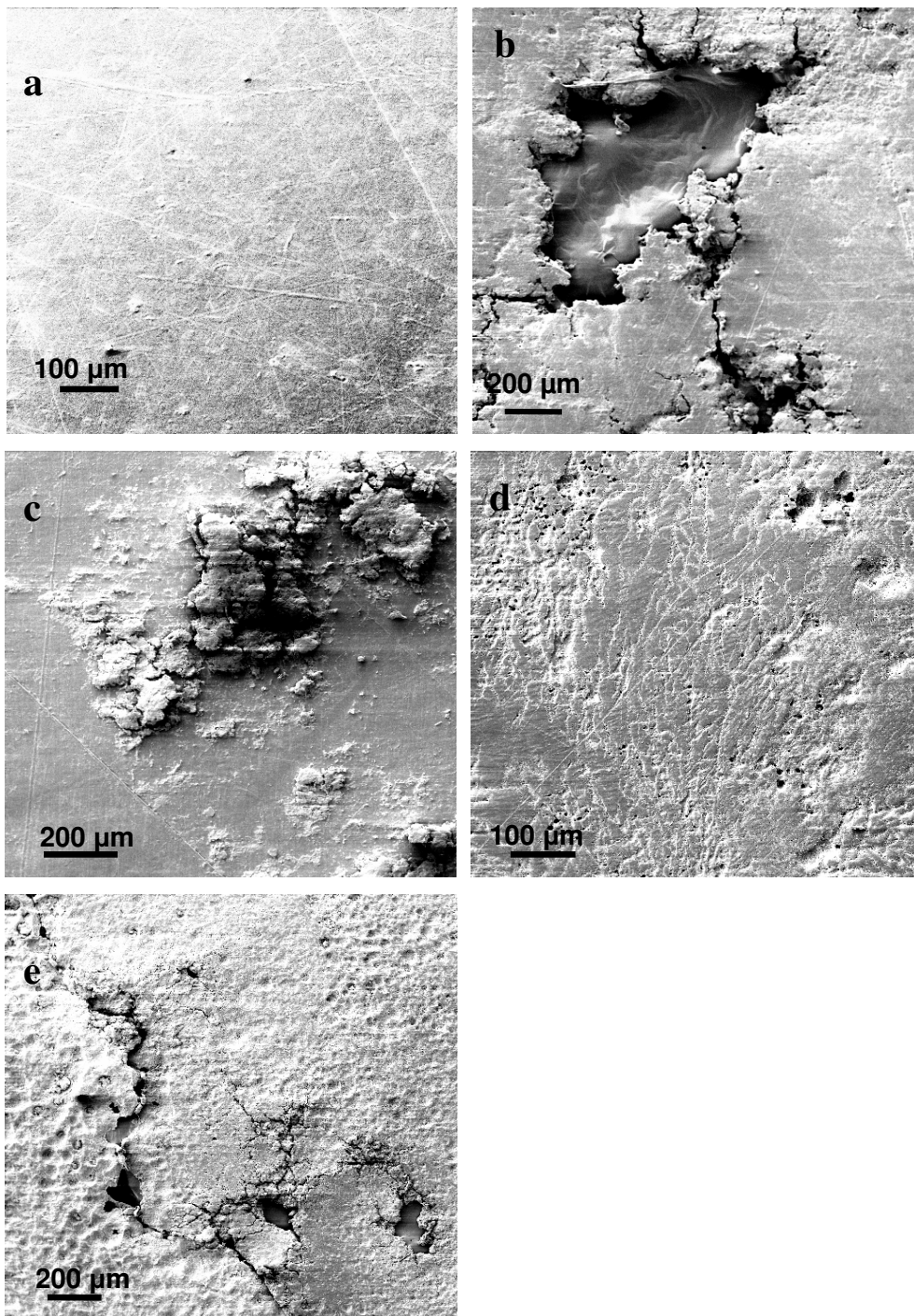


Figura 19 – MEV dos filmes de PCL (a) original; (b) 30 dias; (c) 60 dias; (d) 90 dias; (e) 120 dias após tratamento microbiano em coluna de solo

5.2.2.4. Medidas de massa

As perdas de massa dos filmes de PCL estão apresentadas na Figura 20. No período de 120 dias a perda foi de aproximadamente 36%, evidenciando o processo de biodegradação.

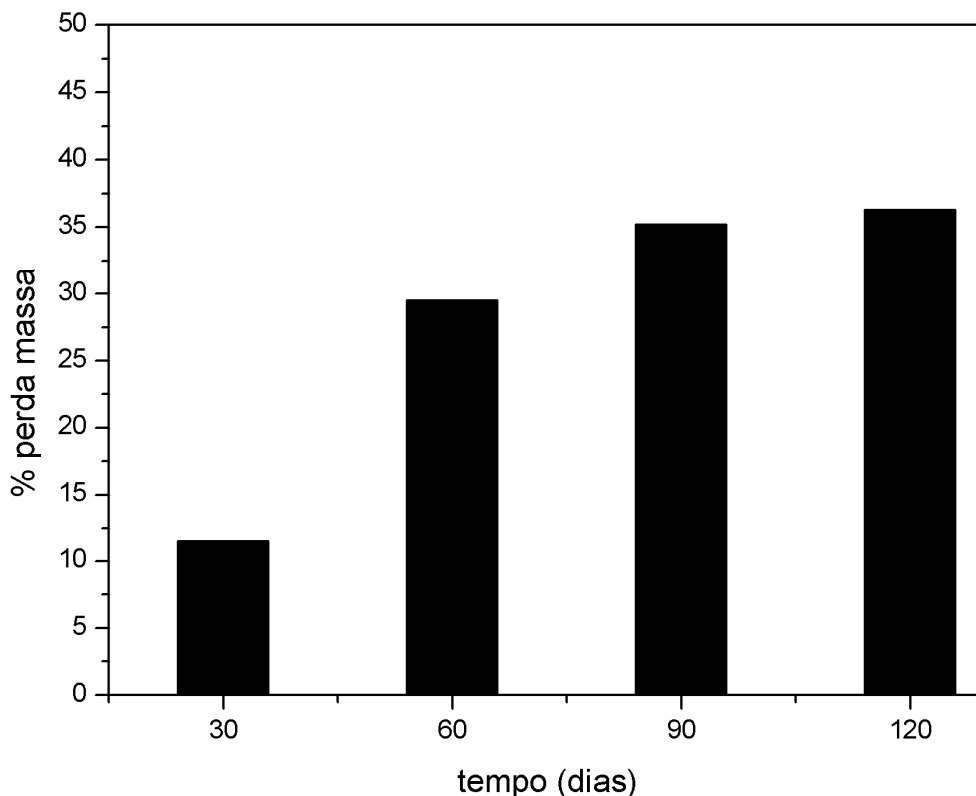


Figura 20 - % perda de massa filmes PCL após tratamento microbiano

5.2.2.5. DSC

As curvas de DSC para os filmes de PCL original e biotratado em solo estão apresentadas na Figura 21. As temperaturas e entalpias de fusão, juntamente com os cálculos das porcentagens de cristalinidade estão apresentadas na Tabela 14. A cristalinidade de PCL foi calculada usando como referência a entalpia de fusão 136 J/g (Qiu et al., 2005) para o polímero hipoteticamente 100% cristalino.

A diferença da temperatura de fusão para os filmes original e biotratado é mínima, respectivamente 58,9 °C e 60,7 °C após 30 dias de ensaio em solo. Não havendo alterações significativas da T_f para os diferentes tempos de degradação (derivadas das curvas de DSC, Apêndice B).

Os graus de cristalinidade também não apresentaram mudanças significativas, com um pequeno aumento de 59,5 % (filme original) para 63,3 %, após 90 dias de ensaio.

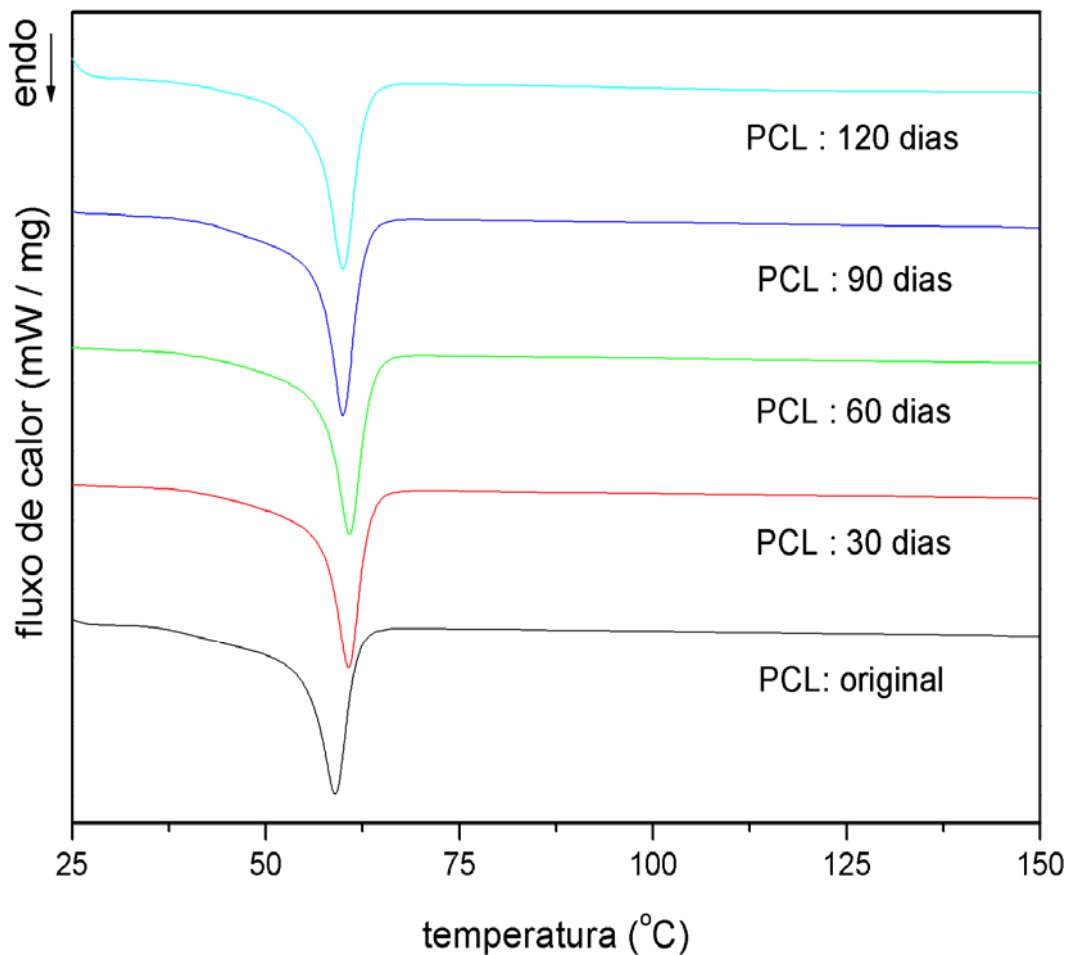


Figura 21 – Curvas de DSC dos filmes PCL: original e biotratado em diferentes tempos

Tabela 14 - Valores de temperatura de fusão (T_f); entalpias de fusão (ΔH_f) e grau de cristalinidade (X_c), para os filmes de PCL

Tempo degradação dias	T_f °C	ΔH_f J/g	X_c %
0	58,9	81,0	59,5
30	60,7	80,2	59,0
60	60,8	83,6	61,4
90	60,0	86,1	63,3
120	60,0	78,4	57,6

5.2.2.6. TG

As curvas de TG do polímero original e biotratados estão apresentadas na Figura 22. A degradação térmica de PCL ocorre em uma única etapa. A temperatura inicial da degradação térmica (T_{onset}) para o filme original de PCL é $399,3^{\circ}\text{C}$ diminuindo em média 12°C para os filmes após tratamento microbiano no solo, que pode ser verificado na Tabela 15. Os picos de temperatura máxima (T_{pico}) também são em média $18,8^{\circ}\text{C}$ mais baixos para os filmes, após o tratamento microbiano, Tabela 15 e Apêndice B.

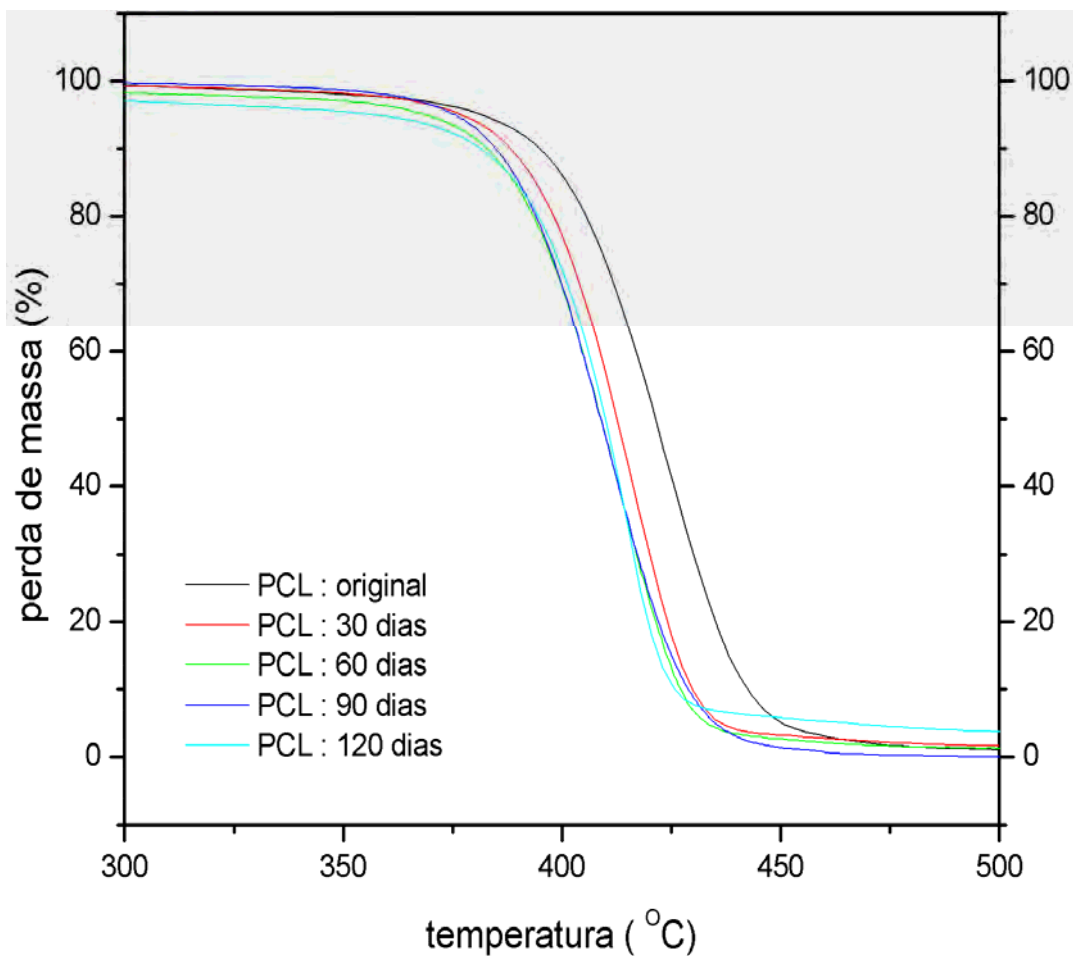


Figura 22 – Curvas de TG dos filmes de PCL: original e biotratado em diferentes tempos

Tabela 15 - Valores das temperaturas de início (T_{onset}) e máxima velocidade (T_{pico}) para os filmes de PCL

Tempo degradação dias	T_{onset} °C	T_{pico} °C
0	399,3	432,2
30	387,2	415,0
60	386,6	412,1
90	383,8	411,0
120	390,3	415,5

Para os filmes de PCL há uma diminuição da estabilidade térmica em função do aumento do tempo de biodegradação. A partir dos resultados de FTIR pode-se concluir que a biodegradação ocorre preferencialmente nas regiões amorfas e interfaciais (fases cristalina – amorfa) do polímero, o que concorda com a literatura (Eldsäter et al., 2000).

5.2.2.7. DRX

Os difratogramas de raio-X para os filmes de PCL estão apresentados na Figura 23. Os índices de reflexão em (110) em $2\theta \sim 21,3^\circ$ e em (200) $2\theta \sim 23,6^\circ$ (Tokiwa et al, 2007) estão apresentados na Tabela 16. Observamos que os valores de espaçamento das lamelas não sofreram mudanças durante o período de biodegradação, assim como os valores de largura à meia altura no plano (110).

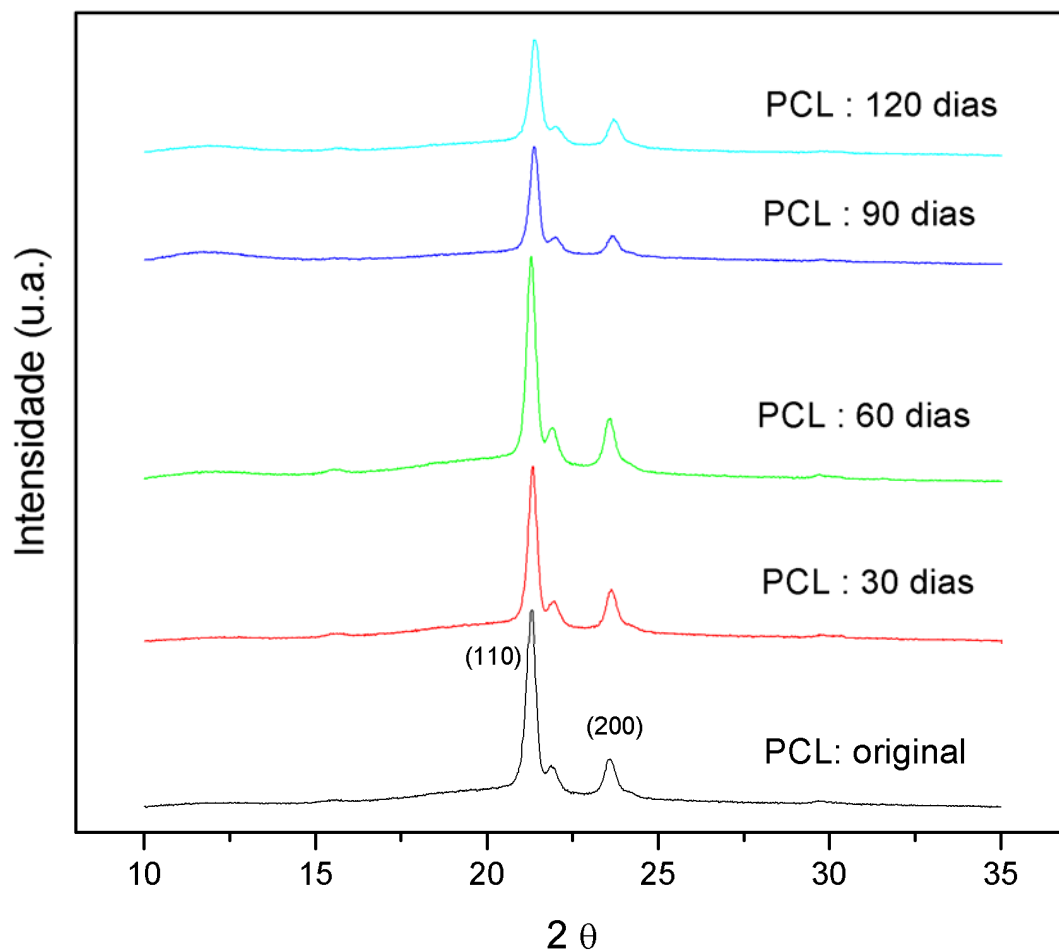


Figura 23 – DRX dos filmes de PCL: original e biotratado em diferentes tempos

Tabela 16 - Valores de 2θ , largura à meia altura do pico (FWHM) e espaçamento (d) para os filmes de PCL

Tempo degradação dias	2θ (110)	FWHM	d nm
0	21,30	0,30	4,17
30	21,32	0,30	4,17
60	21,28	0,30	4,17
90	21,38	0,30	4,15
120	21,40	0,35	4,15

Os valores de largura à meia altura no plano (100) são constantes, assim como os tamanhos médios dos cristalitos calculados (0,46 nm), após o tratamento microbiano.

O grau de cristalinidade dos filmes de PCL sofre pequenas alterações nos diferentes tempos do tratamento microbiano no solo (Tabela 17), até 90 dias de tratamento microbiano. O cálculo foi realizado em relação ao pico cristalino no plano 110 de PCL.

Tabela 17 – Grau de cristalinidade dos filmes de PCL por DRX

Tempo degradação dias	X_c %
0	51
30	46
60	42
90	45
120	50

O efeito da degradação enzimática de filmes de PCL foi investigado em uma temperatura de 37 °C utilizando Pseudomonas lípase por Vidaurre et al. (2008). Com a degradação enzimática dos filmes observaram erosão e um aumento da rugosidade na superfície das amostras. Também observaram que o processo de degradação enzimática, não alterou a cristalinidade (resultados observados por DSC), pois eram afetadas tanto as fases amorfa como a cristalina. No entanto, ocorreu modificação da estrutura da fase cristalina, atribuída como consequência da fragmentação da cadeia, causada pela diminuição da massa molar das cadeias poliméricas.

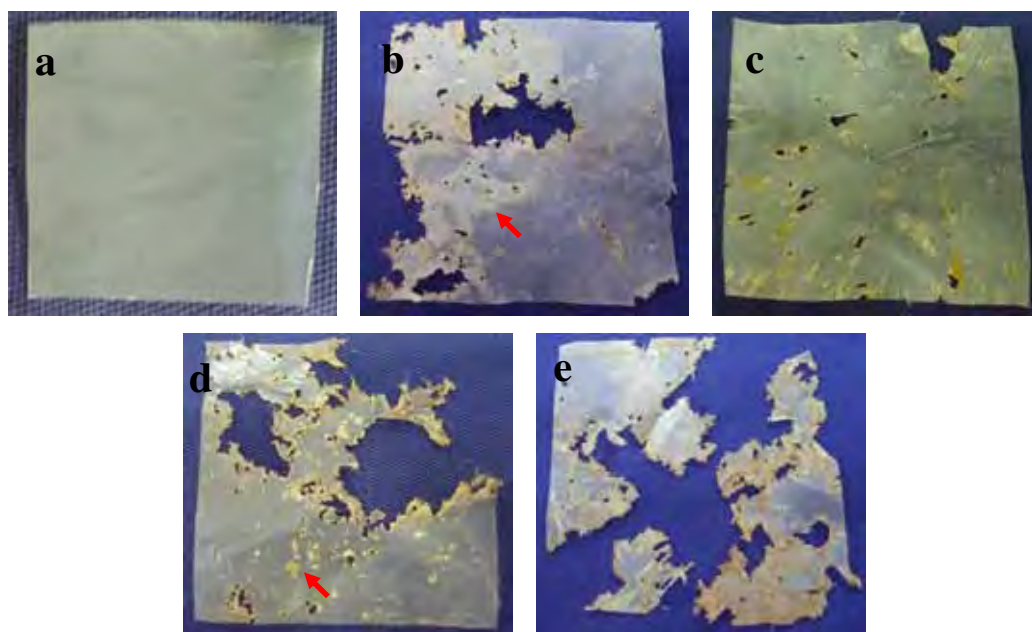
Os mecanismos envolvendo endo e exo enzimas envolvidos na deterioração do polímero, variam com a taticidade e também com a cristalinidade dos filmes poliméricos.

Neste trabalho, observou-se a biodegradação do PCL (FTIR, MEV), principalmente nas fases amorfa e interfaciais, por quebras das ligações ésteres na cadeia macromolecular. O ataque microbiano se fez pela ação enzimática (exo-enzimas) agindo na superfície dos filmes (erosão – MEV).

5.2.3. PCL / PHB-V

5.2.3.1. Observação visual

A blenda de PCL/PHB-V (4:1) foi estudada pela comparação com os homopolímeros. As amostras foram fotografadas após o ensaio de biodegradação em solo, a análise visual esta apresentada na Fotografia 06. Todos os filmes tratados no solo, apresentaram quebras e fissuras. As setas (vermelho) indicam regiões mais opacas e “aglomerados”. Notou-se que o filme exposto ao tratamento microbiano de 60 dias apresentou coloração amarelada (pigmentado).



Fotografia 06 – Filmes da blenda de PCL/PHB-V (4:1) (a) original; (b) 30 dias; (c) 60 dias; (d) 90 dias; (e) 120 dias após tratamento microbiano em coluna de solo.

5.2.3.2. FTIR

Os espectros de FTIR dos filmes da blenda PCL/ PHB-V (4:1) original e biotratadas, estão apresentados na Figura 24, e a identificação dos grupos funcionais apresentados na Tabela 18. Os espectros foram normalizados em relação à banda de padrão interno 2866 cm^{-1}

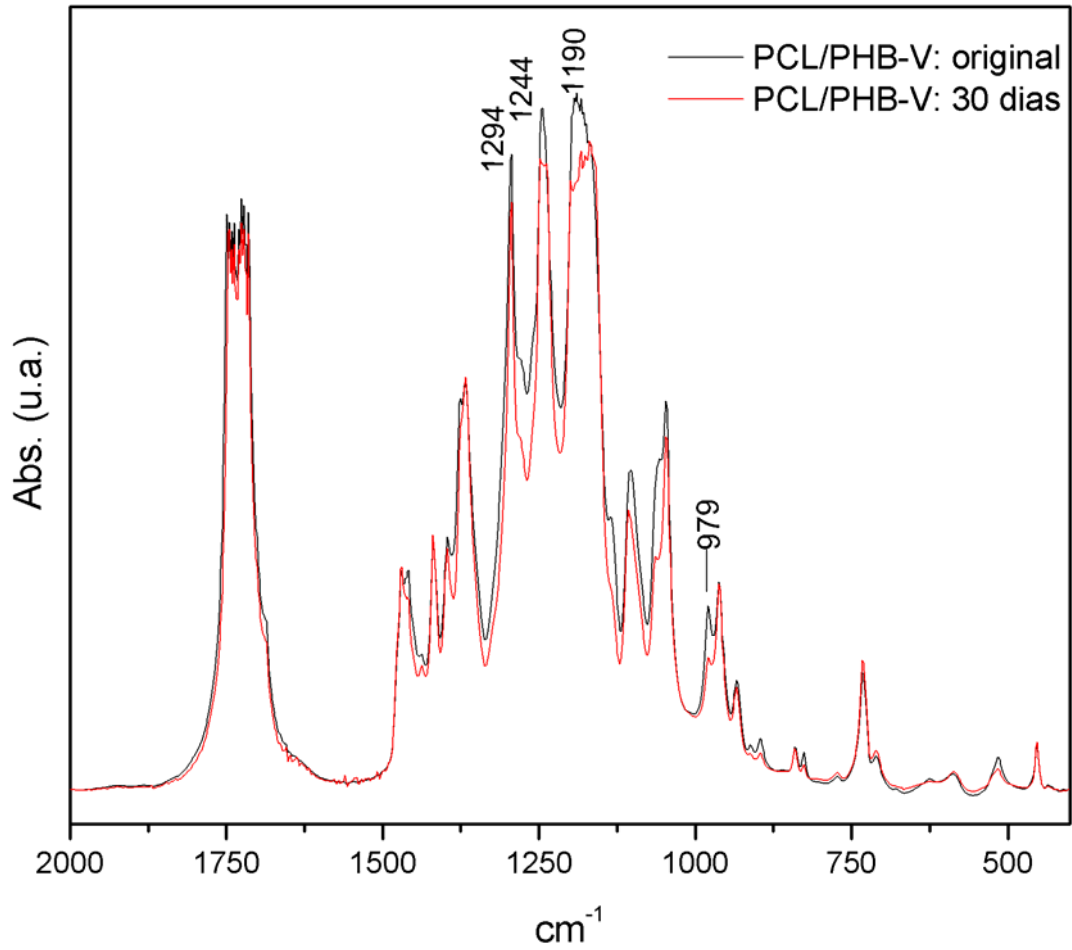


Figura 24 – Espectros de FTIR dos filmes da blenda PCL/PHB-V (4:1): original e biotratado em solo

Tabela 18 - Atribuições das bandas de absorção de FTIR, para os filmes de PCL / PHB-V (4:1)

λ (cm^{-1})	PHB-V	PCL
1186	C – O – C estiramento (a)	
1242		C-O-C estiramento assimétrico
1294		C-O / C-C estiramento(c)

1722	C = O estiramento (c)	C=O estiramento (c)
1745	C = O estiramento (a)	C=O estiramento (a)
2866	CH ₂ estiramento simétrico	CH ₂ estiramento simétrico

(c) fase cristalina; (a) fase amorfa

Como os homopolímeros utilizados na preparação da blenda são poliésteres alifáticos seus espectros são similares e não há mudanças nas posições das bandas. Como observado para os filmes de PCL, após 60 dias de experimento em solo, os espectros de FTIR da blenda PCL/PHB-V (4:1) apresentam baixa resolução, não permitindo uma adequada interpretação (item C Apêndice).

Nos primeiros 30 dias de experimento verificamos uma diminuição de intensidade da banda em 1190 cm⁻¹ (atribuída à vibração dos grupos C-O-C relativo à fase amorfa de PHB-V, e também em 1244 cm⁻¹ e 1294 cm⁻¹ (respectivamente, estiramento assimétrico de C-O-C e C-O de PCL).

Os filmes da blenda PCL/PHB-V (4:1) apresentaram-se biodeteriorados após o tratamento microbiano no solo, mostrando erosão superficial e mudanças estruturais (hidrólise das ligações ésteres).

Tabela 19 - Relação de intensidade de absorção no IR do filme de PCL / PHB-V (4:1).

λ (cm ⁻¹)	I / I ₀ original	I / I ₀ 30 dias
979	0,67	0,46
1190	2,35	1,89
1244	2,33	1,94
1294	2,15	1,83

I₀ referente à banda de padrão interno 2866 cm⁻¹

5.2.3.3. MEV

As microscopias eletrônicas das blendas estão apresentadas na Figura 25. A morfologia dos filmes da blenda de PCL/PHB-V (4:1), após os ensaios de biodegradação em solo, apresenta crateras e erosão, em todos os tempos de tratamento microbiano, sendo evidente a deterioração em 120 dias de tratamento microbiano. Segundo Corrêa et al. (2008),

a morfologia das amostras de PHB expostas à biodegradação em solo muda, apresentando ranhuras, fissuras e poros. Após as amostras ficarem enterradas por três meses, a camada mais superficial de PHB foi completamente degradada e iniciou-se a degradação em uma nova camada, e os autores sugeriram que a biodegradação ocorreu de modo “layer by layer” (camada por camada).

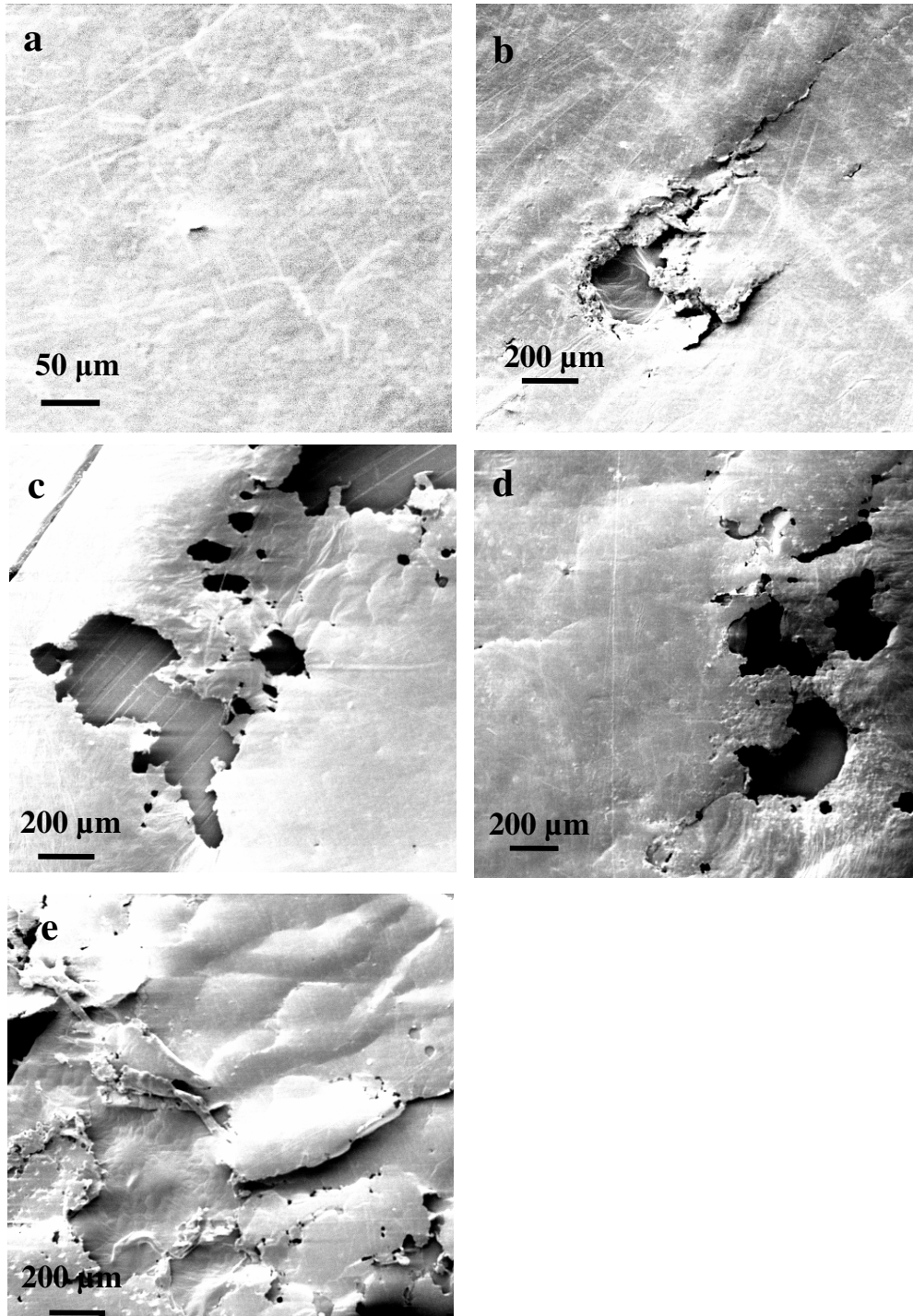


Figura 25 – MEV dos filmes da blenda PCL/PHB-V (4:1): (a) original; (b) 30 dias; (c) 60 dias; (d) 90 dias; (e) 120 dias após tratamento microbiano em coluna de solo

5.2.3.4. Medidas de massa

Os valores de porcentagem de perda de massa da blenda durante os ensaios de biodegradação em solo estão apresentados na Figura 26. As perdas de massa para os filmes das blends foram semelhantes aos filmes de PCL, ao longo do experimento. Porém, após 120 dias houve uma perda ligeiramente maior para os filmes da blenda, de aproximadamente 39%, evidenciando o processo de biodegradação.

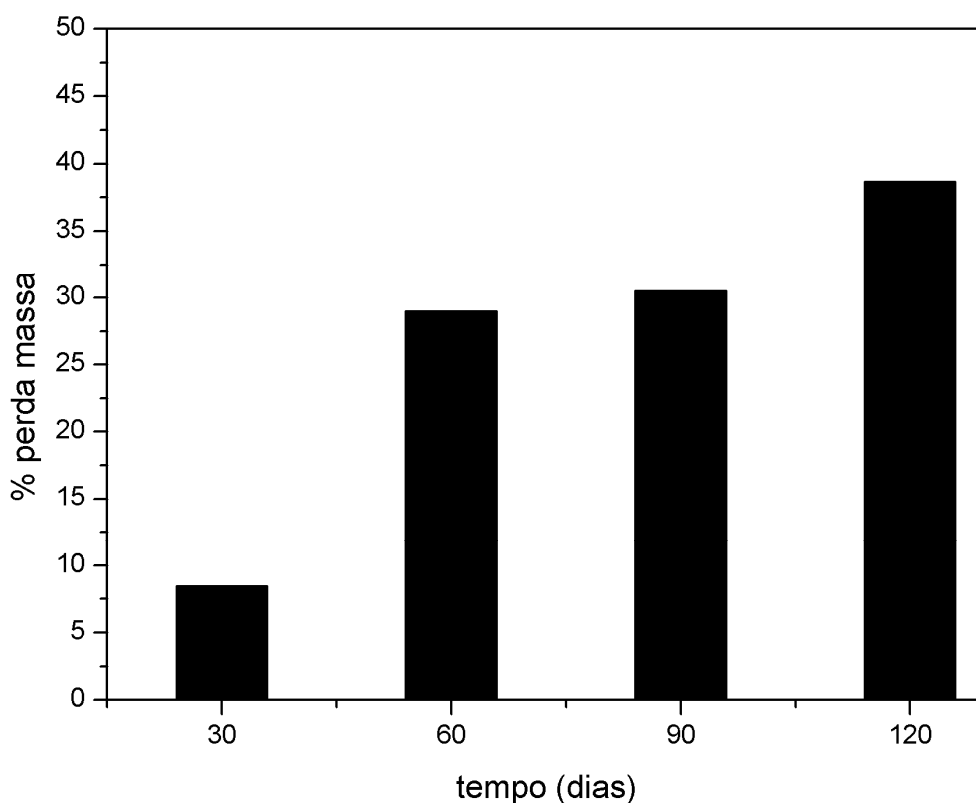


Figura 26 - % perda de massa filmes da blenda PCL/PHB-V (4:1) após tratamento microbiano

5.2.3.5. DSC

Na Figura 27 apresenta-se as curvas de DSC para os filmes da blenda de PCL/PHB-V (4:1) original e biotratada. Verificamos a presença de dois picos em aproximadamente a 60°C e 167°C, correspondendo respectivamente a T_f de PCL e a de PHB-V (Apêndice C).

Não há alterações significativas da T_f para as blends submetidas ao ensaio de biodegradação comparada ao filme original da blenda.

O grau de cristalinidade obtido a partir da análise de DSC normalizado para a composição de cada componente da blenda, apresentou aumento de 10% nos primeiros 30 dias de experimento para a fração de PCL (Tabela 20). Para os demais tempos observamos um menor aumento no grau de cristalinidade de 5 e 6%, comparado com o filme original.

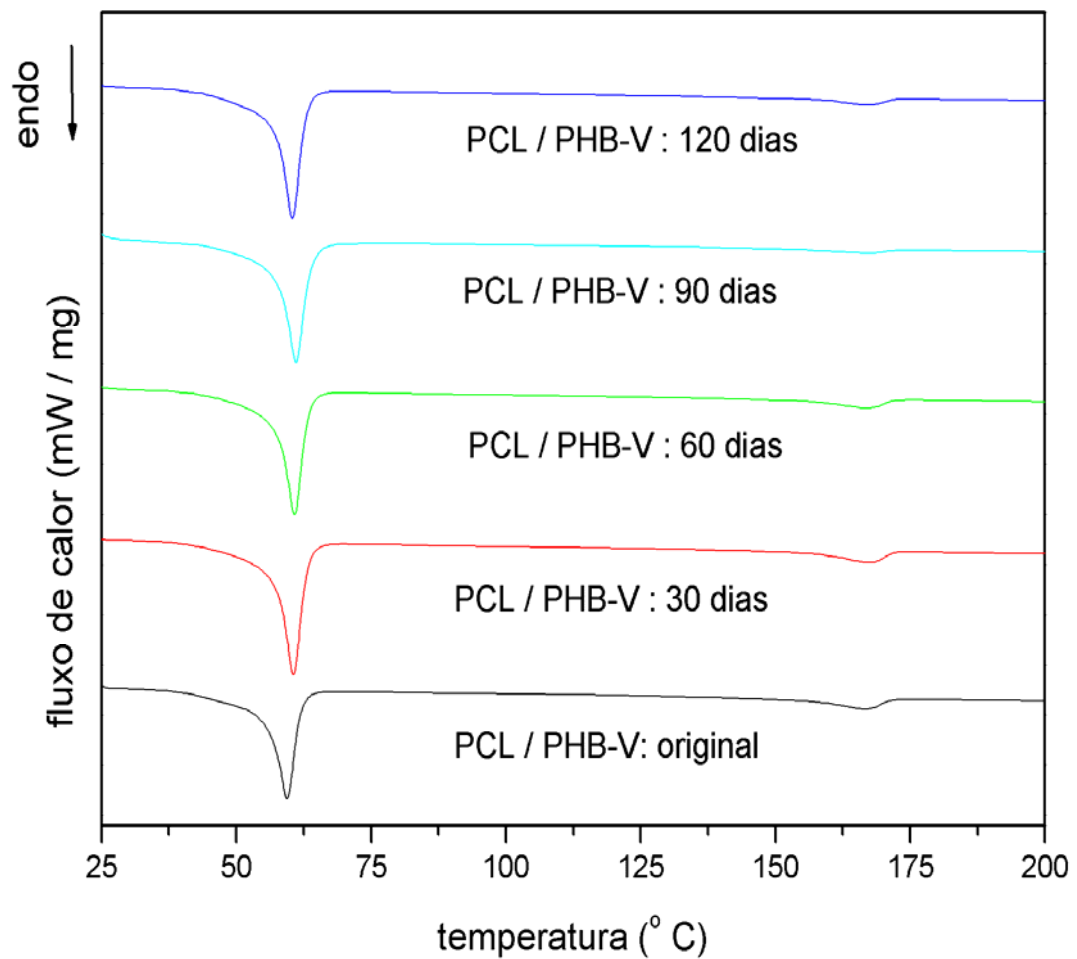


Figura 27 – Curvas de DSC dos filmes da blenda PCL / PHB-V (4:1): original e biotratado em diferentes tempos

Tabela 20 - Valores de temperatura de fusão (T_f); entalpias de fusão (ΔH_f) e grau de cristalinidade (X_C), para os filmes da blenda PCL/PHB-V (4:1).

Tempo degradação dias	PCL			PHB-V		
	T_f	ΔH_f	X_C	T_f	ΔH_f	X_C
	°C	J/g	%	°C	J/g	%
0	59,5	64,3	47	166,7	8,6	24
30	60,6	77,7	57	167,4	9,3	25
60	60,8	70,6	51	167,1	5,7	16
90	61,1	72,9	53	167,2	4,9	13
120	60,4	74,1	54	167,2	4,7	13

Na fração de PHB-V ocorreu uma diminuição de 8 e 11% no grau de cristalinidade após 60 e 90 dias. O grau de cristalinidade de PHB-V apresentado na blenda foi menor que nos filmes do homopolímero puro.

Qiu et al. (2005) estudaram a cristalização da blenda PCL/PHB-V, indicando que a adição de PCL reduz aparentemente a razão de cristalização de PHB-V na blenda. A presença de PCL suprime a nucleação de PHB-V. Também, associam o baixo grau de cristalização de PHB-V como uma restrição física do crescimento de esferulitos, devido a presença dos domínios de PCL. A presença de PCL na blenda de PCL/PHB-V não influencia no mecanismo de cristalização de PHB-V, mas reduz o grau de cristalização. Chun & Kim (2000) também estudaram a blenda de PHB-V/PCL preparadas por “casting”, concluindo que a nucleação de PHB-V na blenda é suprimida pela adição de PCL, indicando um efeito negativo de PCL sobre a nucleação primária de PHB-V. Os resultados aqui obtidos concordam com estes estudos.

No presente estudo, verificou-se uma diminuição da porcentagem da fração cristalina de PHB-V na blenda, após o tratamento microbiano, sugerindo ataque microbiano em finais de cadeias na fase cristalina, devido à ação microbiana nas interfases dos dois polímeros, sendo preferencialmente nas unidades de HV concentradas nas superfícies dos núcleos cristalinos de HB (modelo Figura 17).

Para a fração de PCL na blenda, ocorre preferencialmente, ataque microbiano na fase amorfa e interfase (PCL – PHB-V), havendo rearranjo de cadeias e aumento da fração

cristalina, portanto o PHB-V ao sofrer o ataque microbiano (cisão de cadeias) e conseqüente deterioração, favorece as mudanças morfológicas do PCL, na interfase entre os dois polímeros.

5.2.3.6. TG

Na Figura 28 estão ilustradas as curvas de TG da blenda original e biotratadas. A degradação térmica da blenda ocorre em duas etapas, relativo a perda de massa de PHB-V e PCL, respectivamente. A temperatura inicial da degradação térmica (T_{onset}) para o filme original é 288,3°C e 396,3°C diminuindo para 284,7°C e 391,2°C para os filmes após 120 dias de tratamento microbiano em solo (Tabela 21). Os picos de temperatura máxima (T_{pico}) também são em média 7,5°C mais baixo para os filmes após o tratamento microbiano, Apêndice C.

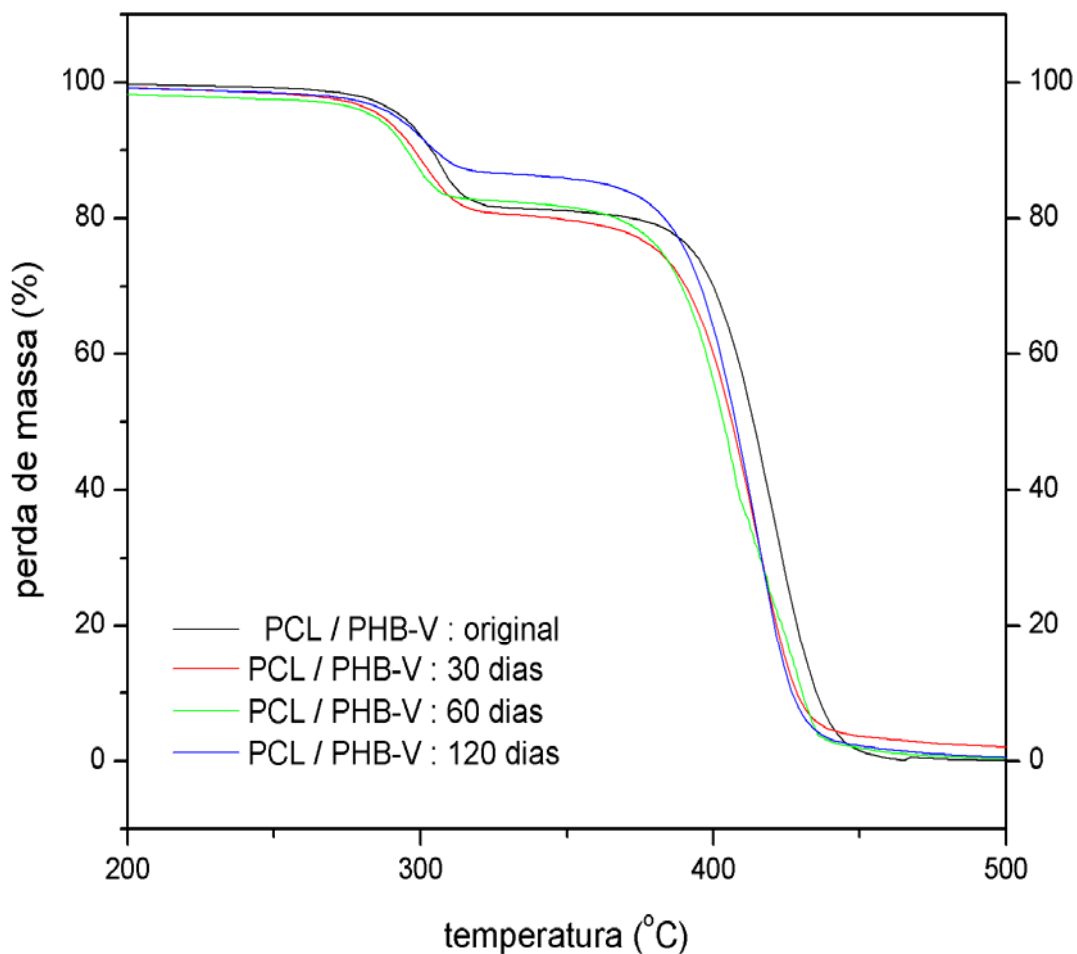


Figura 28 – Curvas de TG dos filmes da blenda PCL / PHB-V (4:1): original e biotratado em diferentes tempos.

Tabela 21 - Valores das temperaturas de início (T_{onset}) e máxima velocidade (T_{pico}) para os filmes da blenda PCL/PHB-V (4:1)

Tempo degradação dias	PCL		PHB-V	
	T_{onset} °C	T_{pico} °C	T_{onset} °C	T_{pico} °C
0	396,3	420,0	288,3	307,5
30	386,1	414,1	281,4	301,6
60	389,1	409,6	286,5	296,6
120	391,2	414,0	284,7	301,5

Os resultados das análises térmicas nos permitiram concluir que a blenda de PCL/PHB-V (4:1) é imiscível, como já relatado na literatura (Qiu et al., 2005; Chun & Kim, 2000; Lovera et al, 2007). As mudanças em temperaturas de decomposição ocorridas durante o período de biodegradação da blenda foram correspondentes aos apresentados para cada homopolímero, individualmente.

Segundo Lovera et al. (2007), que estudaram a biodegradação da blenda de PHB/PCL (diferentes proporções 90:10; 80:20; 70:30; 60:40 e 50:50) preparadas por “casting” (evaporação de solvente), as blendas eram preferencialmente atacadas, em comparação com os homopolímeros. No caso do presente trabalho, a imiscibilidade dos polímeros parece melhorar de modo geral o processo de degradação, devido a defeitos e imperfeições na interfase entre os dois diferentes polímeros.

5.2.3.7. DRX

Na Figura 29 estão apresentados os difratogramas de raio-X para os filmes da blenda de PCL/PHB-V (4:1). Os índices de reflexão dos polímeros são: para o PHB-V $d(110) 2\theta \sim 16,8^\circ$ e para o PCL $d(110) 2\theta \sim 21,3^\circ$. Os parâmetros dos difratogramas estão listados na Tabela 22.

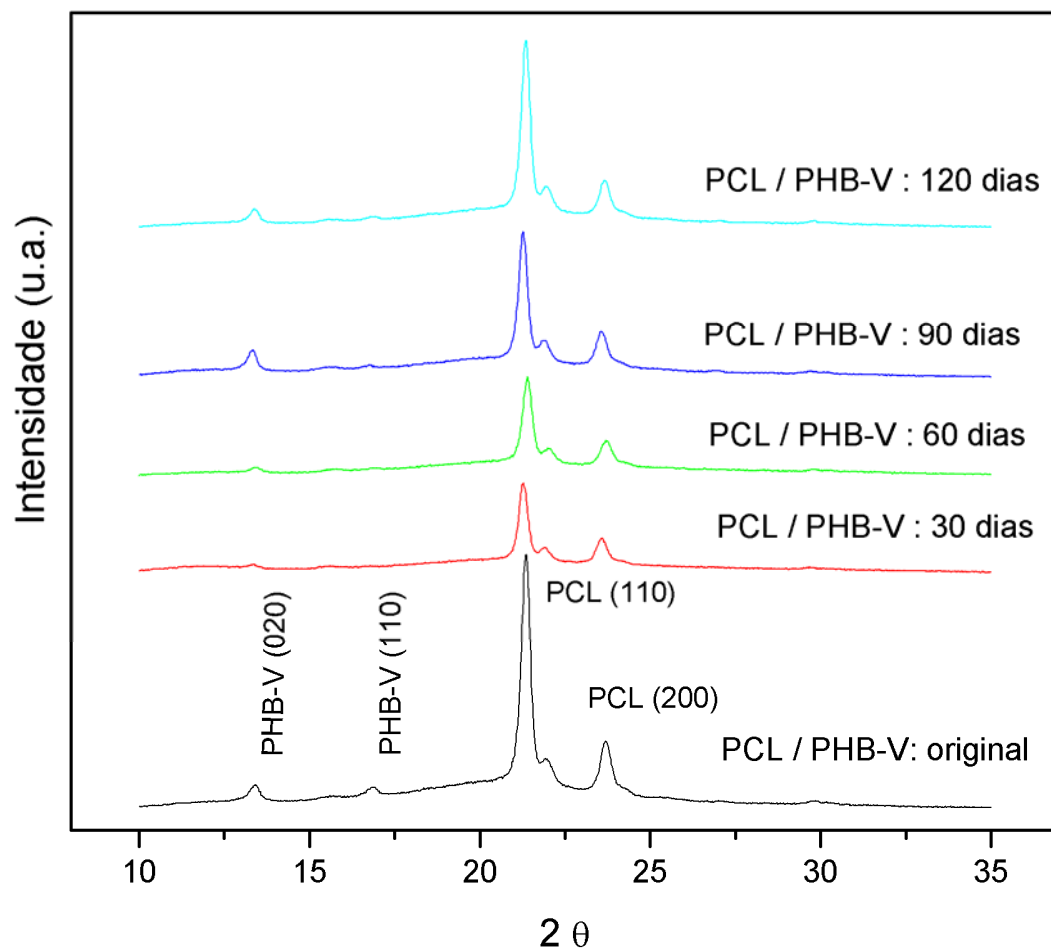


Figura 29 – DRX dos filmes da blenda PCL / PHB-V (4:1): original e biotratado em diferentes tempos

Tabela 22 - Valores de 2θ , largura à meia altura do pico (FWHM) e espaçamento (d) para os filmes de PCL/PHB-V (4:1)

Tempo degradação dias	PCL			PHB-V		
	2θ (110)	FWHM	d nm	2θ (110)	FWHM	d nm
0	21,36	0,33	4,15	16,86	0,33	5,25
30	21,26	0,30	4,17	16,76	0,24	5,28
60	21,34	0,30	4,16	16,88	0,40	5,25
90	21,26	0,30	4,17	16,82	0,24	5,26
120	21,40	0,30	4,15	15,74	0,19	5,62

Os valores de espaçamento das lamelas para a fração de PCL na blenda não sofreram mudanças durante o período de biodegradação. Para a fração de PHB-V observamos um aumento no espaçamento das lamelas após 120 dias de experimento e alterações dos valores de largura à meia altura com os diferentes tempos de biodegradação, que podem ser atribuídos ao ordenamento do retículo, conforme Tsuji & Ikarashi (2004). Os tamanhos médios dos cristalitos (calculados) da blenda, não mudaram com o tratamento microbiano.

Os graus de cristalinidade calculados para os filmes da blenda, após tratamento microbiano no solo, estão apresentadas na Tabela 23. O cálculo foi realizado em relação aos picos cristalinos no plano 110 e 200 de PCL (componente em maior concentração na blenda).

Tabela 23 – Graus de cristalinidade dos filmes de PCL/PHB-V (4:1) por DRX

Tempo de degradação dias	X_c %
0	40
30	39
60	38
90	36
120	40

A partir dos resultados de DRX pode-se observar que na blenda, após o tratamento microbiano, a fração cristalina permanece inalterada, em relação aos filmes da blenda original.

As enzimas são conhecidas como catalisadores, em muitos casos, com uma alta especificidade do substrato, o que significa que uma distinta enzima catalisa apenas uma reação especial com alta eficiência (Mueller, 2006). Oda et al. (1995) isolaram de um solo, cinco espécies de fungo capazes de degradar tanto PHB como PCL. Uma das espécies foi identificada como *Paecilomyces lilacinus*, e em 10 dias degradou quase completamente PHB e 10 % de PCL. A produção de ambas enzimas despolimerases de PHB e PCL, por *P. lilacinus* foi observada, sendo o pH e temperatura ótimos diferentes para cada enzima.

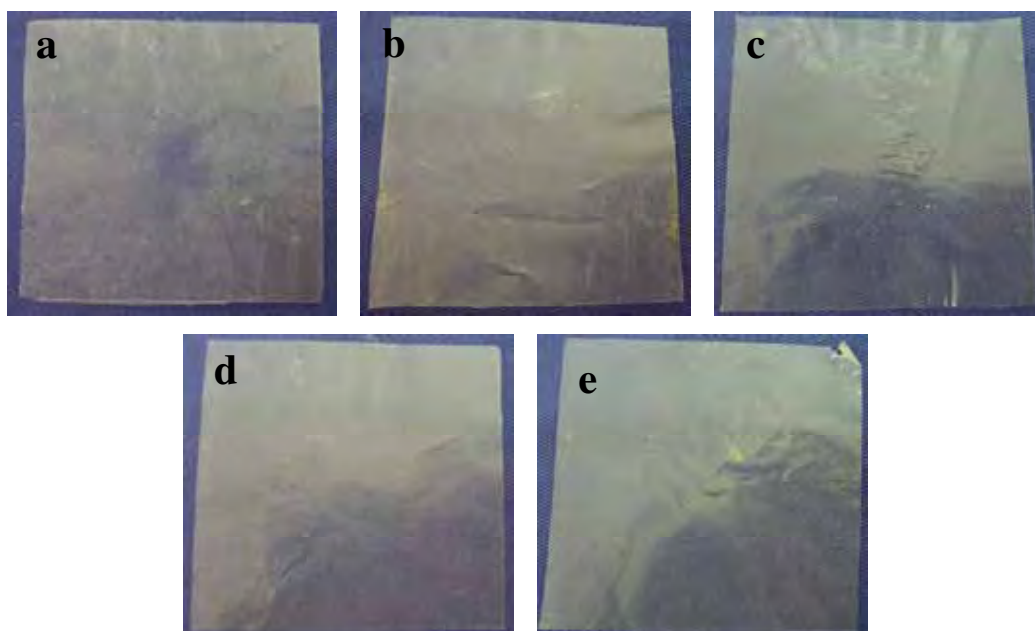
No presente trabalho, prevaleceu a deterioração superficial (erosão) da blenda provocada pela ação enzimática (específica para cada componente da blenda) e

consequentemente hidrólise de grupos ésteres dos dois polímeros. Na blenda, onde ocorre a restrição da nucleação de PHB-V devido a presença de PCL, a deterioração acontece nas fases amorfa e interfase PCL/PHB-V. Portanto, induzindo mudanças nas fases de PCL próximas dos domínios de PHB-V (interfase). Isto levaria a rearranjos da cadeia do PCL e um aumento da fração cristalina (verificada por DSC – item 5.2.3.5.). Além disso, a fase amorfa de PCL também vai sendo consumida.

5.2.4. PP

5.2.4.1. Observação visual

Filmes de polipropileno também foram submetidos ao ensaio de biodegradação em solo, e fotografados, Fotografia 07. Através da análise visual não foi possível observar nenhuma alteração dos filmes de PP.



Fotografia 07 - PP (a) original; (b) 30 dias; (c) 60 dias; (d) 90 dias; (e) 120 dias após tratamento microbiano no solo.

5.2.4.2. FTIR

Na Figura 30 estão apresentados os espectros de FTIR dos filmes de PP original e biotratados, e a identificação dos grupos funcionais apresentados na Tabela 24.

A análise dos espectros de FTIR, quando comparada com a literatura (Koenig, 1999), permite a determinação da conformação da cadeia polimérica, que neste caso, é isotática. A estrutura isotática de PP, apresenta todos os grupos metilas posicionados no mesmo lado quando a cadeia está na conformação zigue-zague planar (Auriemma, et al, 2000). Para

diferentes polímeros isotáticos, diferentes ângulos de torção helicoidal são obtidos, devido a interação estérica dos grupos metílicos. A cadeia isotática de PP assume sua conformação mais estável na forma de hélice com simetria ternária, pois favorece o acomodamento dos grupos metílicos laterais ao longo da cadeia.

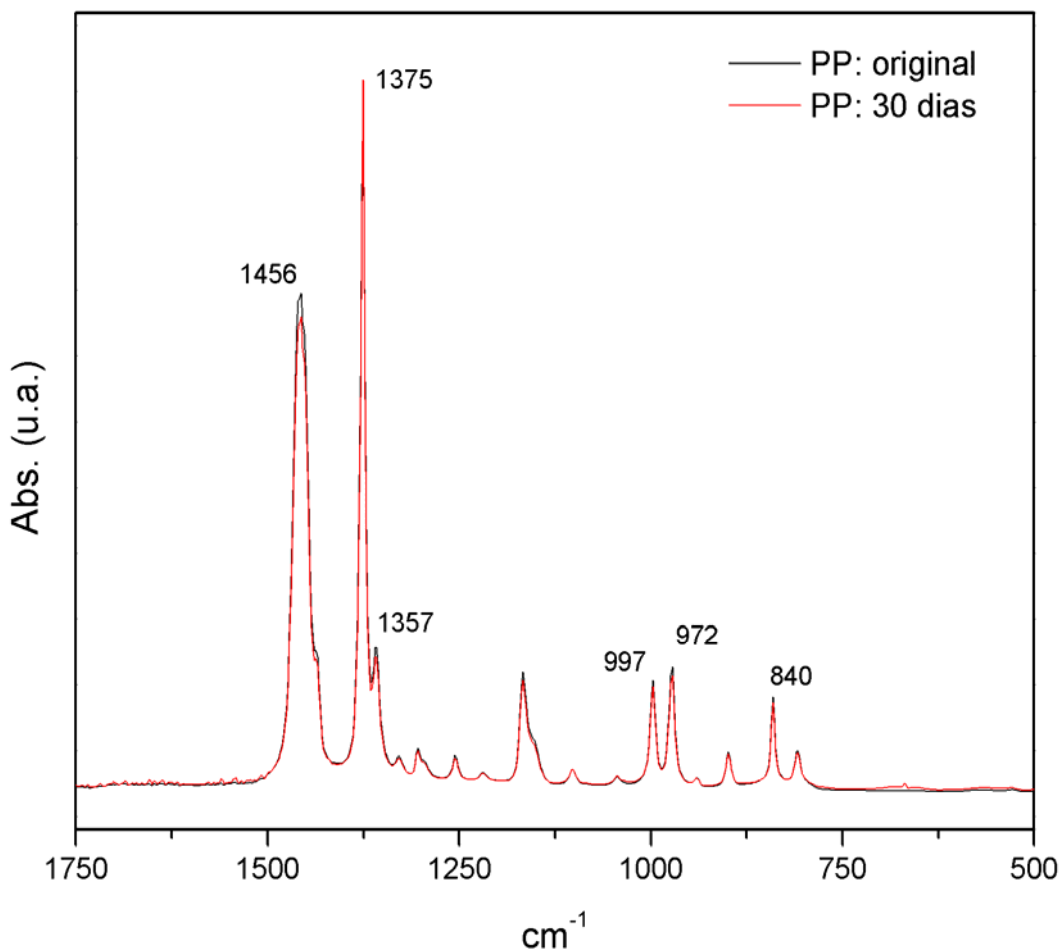


Figura 30 - Espectro FTIR dos filmes de PP original e biotratado em diferentes tempos

Tabela 24 - Atribuições das bandas de absorção de FTIR, para os filmes de PP

λ (cm ⁻¹)	Grupos funcionais
840	C – C estiramento (*) (#) CH ₂ / CH ₃ rocking
972	C – C estiramento (a) CH ₂ / CH ₃ rocking
997	C – C estiramento (*) CH ₂ / CH ₃ rocking
1357	C – H (c)

1375	C - H deformação angular simétrica (a)
1456	CH ₃ deformação angular assimétrica (a)
2872	CH ₃ deformação axial simétrica

(*) fase α cristalina; (#) mesofase; (c) fase cristalina; (a) fase amorfa (Parthasarthy et al., 2002)

Não ocorreu nenhuma alteração significativa nos espectros de absorção de FTIR em relação aos diferentes tempos de tratamento microbiano (Apêndice D).

Na Tabela 25, estão apresentadas as relações de intensidade de absorção (I / I_0) dos filmes de PP, referente à banda de padrão interno (I_0), 2835,1 cm^{-1} . Também não houve nenhuma alteração significativa.

Tabela 25 - Relação de intensidade de absorção no IR no filme de PP.

λ (cm^{-1})	I / I_0 original	I / I_0 30 dias	I / I_0 60 dias	I / I_0 90 dias	I / I_0 120 dias
840	0,18	0,16	0,19	0,22	0,19
972	0,22	0,20	0,23	0,28	0,22
997	0,20	0,19	0,22	0,26	0,21
1375	1,06	1,07	1,08	1,07	1,06
1456	0,78	0,73	0,81	0,98	0,72

5.2.4.3. MEV

Na Figura 31 estão apresentadas às micrografias eletrônicas dos filmes de PP, nos diferentes tempos de tratamento em solo. A literatura (Arcana et al., 2006) apresenta o polipropileno resistente à decomposição pelos microrganismos, porém em nosso estudo, observamos alterações, sugerindo diferenças na morfologia dos filmes, após os diferentes tempos de tratamento microbiano.

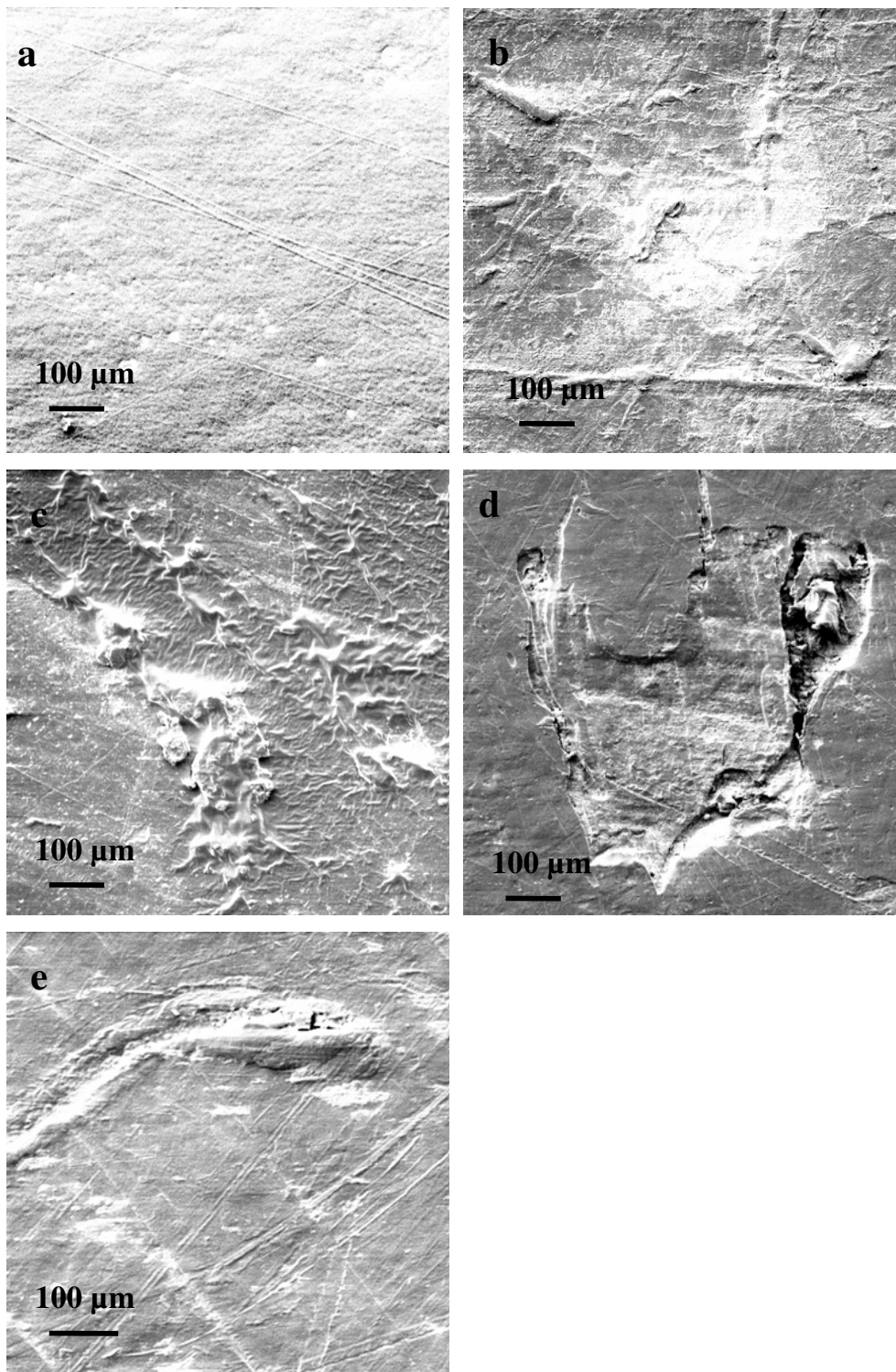


Figura 31 – MEV dos filmes de PP: (a) original; (b) 30 dias; (c) 60 dias; (d) 90 dias; (e) 120 dias após tratamento microbiano em coluna de solo.

Obs.: filmes obtidos por fusão a 180°C e resfriados em ambiente climatizado (temperatura 25-26°C).

5.2.4.4. Medidas de massa

As perdas de massa para os filmes de PP não foram significativas, após 120 dias de tratamento microbiano a perda de massa foi de aproximadamente 1%, mostrando que não houve degradação.

5.2.4.5. DSC

As curvas de DSC para os filmes de PP original e biotratados, estão apresentados na Figura 32. Na Tabela 26 estão às temperaturas e entalpias de fusão e também o grau de cristalinidade das amostras. Foi usada como referência a entalpia de fusão 209 J/g (Costa et al, 2007) para o polímero hipoteticamente 100% cristalino.

O polipropileno foi caracterizado pela presença de um pico de transição térmica em 162,6°C e um ombro em 155,6°C, correspondendo à temperatura de fusão (Alamo et al, 1999; Cho et al, 2003; Qiu et al, 2007). Não observou-se diferenças após 120 dias do ensaio em solo.

O grau de cristalinidade também não apresentou mudanças significativas, durante os diferentes tempos de ensaio de biodegradação.

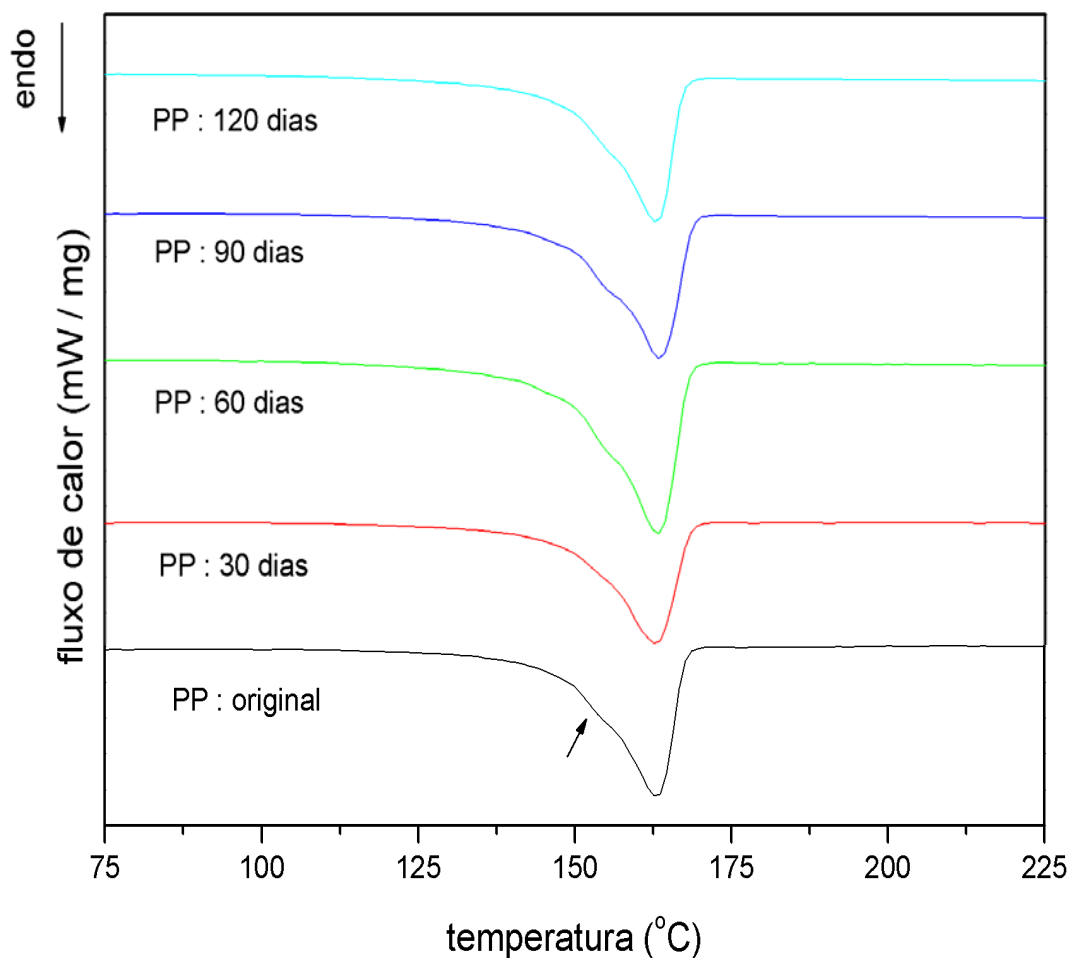


Figura 32 – Curvas de DSC dos filmes de PP: original e biotratado em diferentes tempos

Tabela 26 - Valores de temperatura de fusão (T_f); entalpias de fusão (ΔH_f) e grau de cristalinidade (X_c), para os filmes da blenda PP

Tempo degradação dias	T_f °C	ΔH_f J/g	X_c %
0	162,6	91,8	48
30	162,4	93,9	49
60	163,3	88,6	46
90	163,2	87,9	46
120	163,2	93,8	49

A derivada da curva calorimétrica, Apêndice D, apresenta os picos de temperaturas aproximadamente em 165°C, 159 °C e 152 °C. Dependendo das condições de cristalização (temperatura e taxa de resfriamento), pode-se obter diferentes fases cristalinas de PP. Em condições de rápido resfriamento do polímero, produz uma fase mesomórfica, que corresponde a uma ordem intermediária entre o estado cristalino e amorfo (Zia et al, 2006).

Devido à configuração estérica dos grupos metila, a cadeia isotática assume uma configuração helicoidal de simetria ternária, isto é, que se repete após três unidades monoméricas. Polipropileno isotático possui três formas cristalinas, conhecidas como fase α , fase β e fase γ . Uma forma difere da outra pela simetria da célula unitária, empacotamento e grau de desordem estrutural (Auriemma et al, 2000; Naiki et al., 2000; Drozdov & Christiansen, 2003; Yuan et al 2004; Chen et al, 2005; Qiu et al, 2007; Nakamura et al., 2008).

A principal forma cristalina do PP isotático é a forma α , que pode ser formada pela rotação da cadeia para o lado direito ou para o esquerdo, com respeito ao seu eixo longitudinal. As cadeias helicoidais podem ter orientação para cima e/ou para baixo durante o dobramento das cadeias, formando cristais da forma cristalina α , denominadas α_1 e α_2 (Auriemma et al, 2000; Naiki et al., 2000; Drozdov & Christiansen, 2003; Yuan et al 2004; Chen et al, 2005; Qiu et al, 2007; Nakamura et al., 2008).

A estrutura α_1 (estrutura desordenada) é formada pela distribuição aleatória das posições dos grupos metila das cadeias para cima e para baixo, já a estrutura α_2 (estrutura ordenada) é caracterizada pela regularidade das posições acima e abaixo dos grupos metila ao longo da cadeia (Auriemma et al. 2000; Naiki et al., 2000; Yuan et al 2004), Figura 33.

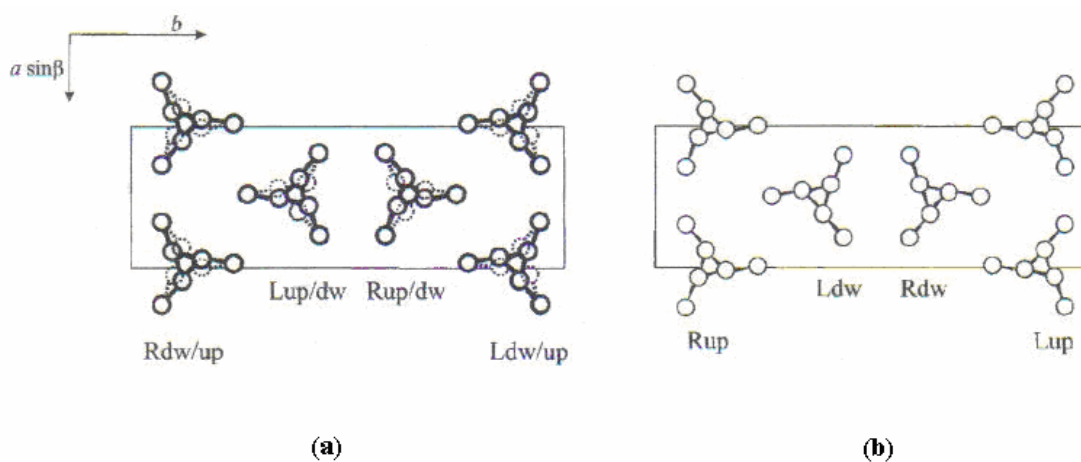


Figura 33 – Modelo de PP na forma α (a) estrutura desordenada - α_1 (b) estrutura ordenada - α_2 (Auriemma et al. 2000)

Segundo Hikosaka e Seto apud Auriemma et al (2000), podem existir regiões intermediárias de PP, onde as estruturas α_1 e α_2 coexistem, em várias quantidades dentro de um mesmo cristal.

Na cristalização do polipropileno isotático, como mencionado anteriormente, forma-se preferencialmente a forma α , que pode ser acompanhada por uma menor ou maior quantidade de forma β (Cho et al, 2002; Gu et al, 2002; Yuan et al., 2004; Nakamura et al., 2008). A transformação da forma β (fase menos estável) para a forma α estável, ocorre durante processo de recristalização (Zhu et al., 2001; Yuan et al., 2004; Chen et al., 2005; Nakamura et al., 2008). Também, alguns resultados deste processo de transformação de fase, referem-se ao efeito de memória causado por núcleos residuais da forma α do PP (Gu et al, 2002; Cho et al., 2003). O processo de transformação de fase consiste de vários estágios intermediários baseados na rotação e transição das cadeias de PP (Cho et al., 2003). Estes processos dependem da estrutura molecular e da regularidade das cadeias, e são dependentes da história térmica da amostra (Cho et al., 2003).

5.2.4.6. TG

As curvas de TG estão apresentadas na Figura 34, para os filmes de PP, original e biotratado em solo. A Tabela 27 apresenta os dados de temperatura inicial de perda de massa (T_{onset}) e temperatura máxima de perda de massa (T_{pico}) para estes filmes. Os valores de T_{pico} foram determinados a partir das temperaturas máximas dos picos observados na primeira derivada das curvas de TG, apresentadas no Apêndice D.

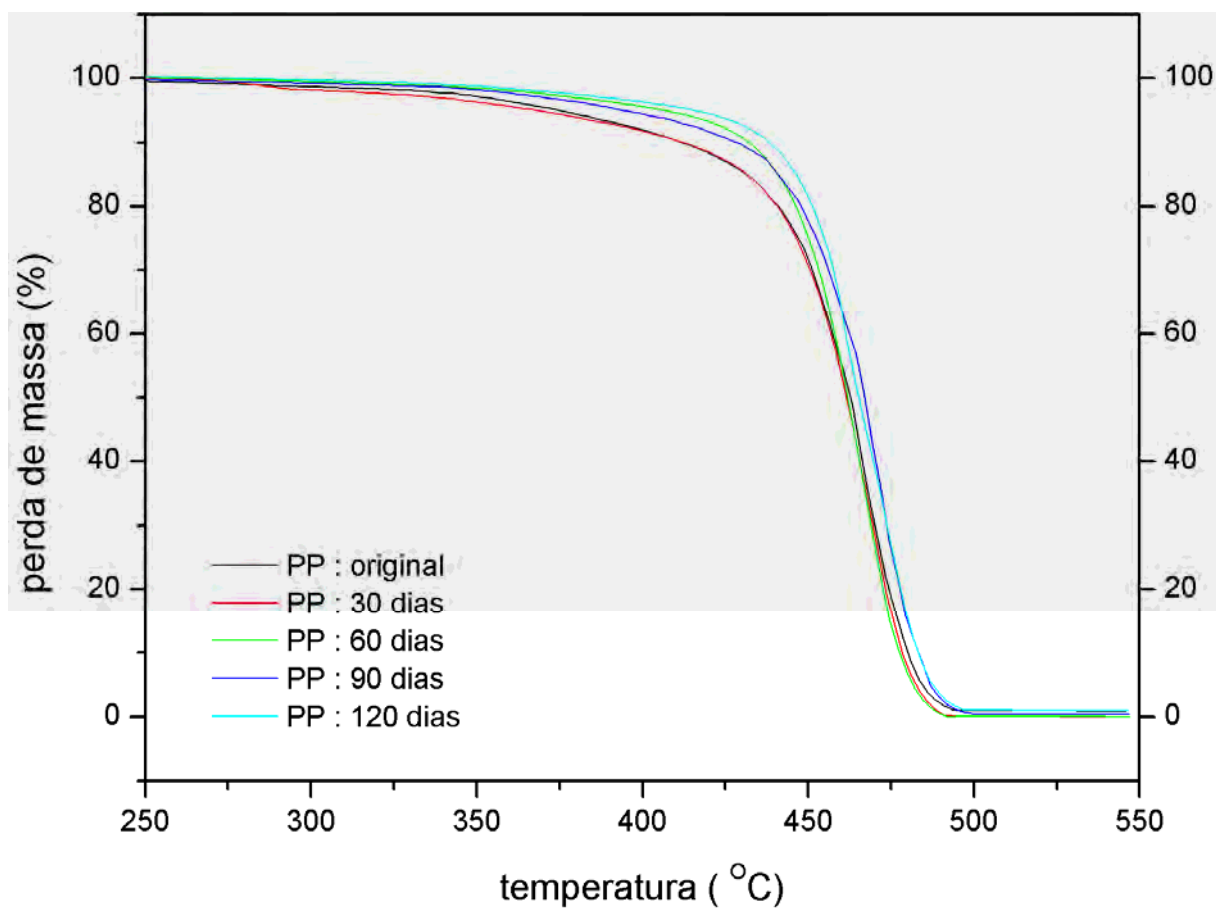


Figura 34 – Curvas de TG dos filmes de PP: original e biotratado em diferentes tempos.

Tabela 27 - Valores das temperaturas de início (T_{onset}) e máxima velocidade (T_{pico}) para os filmes de PP

Tempo degradação dias	T_{onset} °C	T_{pico} °C
0	443,3	468,4
30	445,4	468,5
60	443,7	467,1
90	448,1	471,9
120	447,5	473,2

Os filmes de PP após o tratamento microbiano tornaram-se mais resistentes à degradação térmica, pois o T_{onset} das amostras são maiores que a do material original. Esta tendência ao aumento na estabilidade térmica é resultado das mudanças que o polímero sofre quando submetido aos ensaios em solo, que é diferente da tendência observada para os filmes

de PHB-V e PCL. Esta resistência, neste caso, é difícil explicar, uma vez que o grau de cristalinidade é semelhante nos filmes antes e após o tratamento microbiano.

5.2.4.7. DRX

Os difratogramas de raio-X para os filmes de PP estão apresentados na Figura 35. Observamos os picos da forma α nos planos (110) em $2\theta \sim 13,9^\circ$, (040) em $2\theta \sim 16,7^\circ$, (130) em $2\theta \sim 18,4^\circ$ e (111) em $2\theta \sim 21,7^\circ$. Também observamos os picos da forma β nos planos (300) em $2\theta \sim 15,9^\circ$ e (301) em $2\theta \sim 21^\circ$, atribuídos por Machado et al (2005). Os parâmetros da difração referentes ao plano (110) da forma α do PP estão apresentados na Tabela 28.

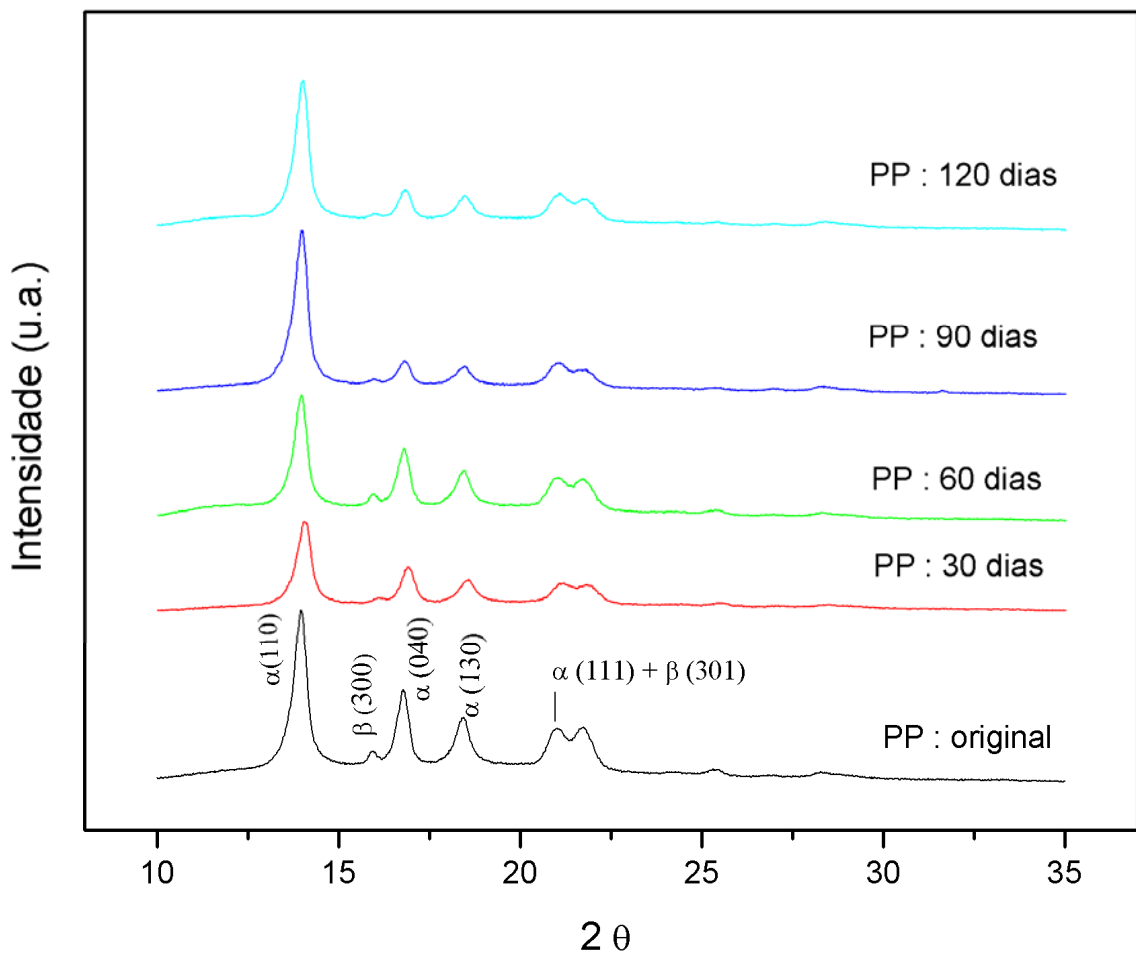


Figura 35 – DRX dos filmes de PP: original e biotratado em diferentes tempos

Tabela 28 - Valores de 2θ , largura à meia altura do pico (FWHM) e espaçamento (d) para os filmes de PP.

Tempo degradação dias	2θ (110)	FWHM	d nm
0	13,96	0,33	6,34
30	14,06	0,40	6,30
60	13,96	0,35	6,34
90	13,94	0,35	6,35
120	14,00	0,35	6,32

Os valores de espaçamento das lamelas para PP não sofreram mudanças durante o período de biodegradação, assim como os tamanhos médios dos cristalitos (0,42 nm).

Na Tabela 29 estão apresentados os graus de cristalinidade calculados dos filmes de PP, a partir do pico cristalino no plano 110, após tratamento microbiano em solo.

Tabela 29 – Grau de cristalinidade dos filmes de PP por DRX

Tempo degradação dias	X_c %
0	48
30	51
60	46
90	46
120	55

O grau de cristalinidade dos filmes de PP sofre pequenas alterações nos diferentes tempos do tratamento microbiano no solo, sendo maior após 120 dias de experimento.

Como os resultados de DRX mostram que as formas α e β coexistem nas amostras, a quantidade relativa da modificação β foi estimada de acordo com o termo empírico K, calculado seguindo a equação (Cho et al. 2002):

$$K = I_{(300)\beta} / (I_{(300)\beta} + I_{(110)\alpha} + I_{(040)\alpha} + I_{(130)\alpha})$$

Onde $I_{(110)}$, $I_{(040)}$ e $I_{(130)}$ são as intensidades dos picos da forma α nos respectivos planos (110, (040) e (130); e $I_{(300)}$ é a intensidade do pico no plano (300) da forma β . O valor de K será 1 somente quando a forma β está presente.

O valor de K para o filme de PP original foi de 0,08 passando para 0,06 após 120 dias de experimento em solo. Diminui a fração cristalina menos estável (β), que sofre transição para a fase mais estável (α).

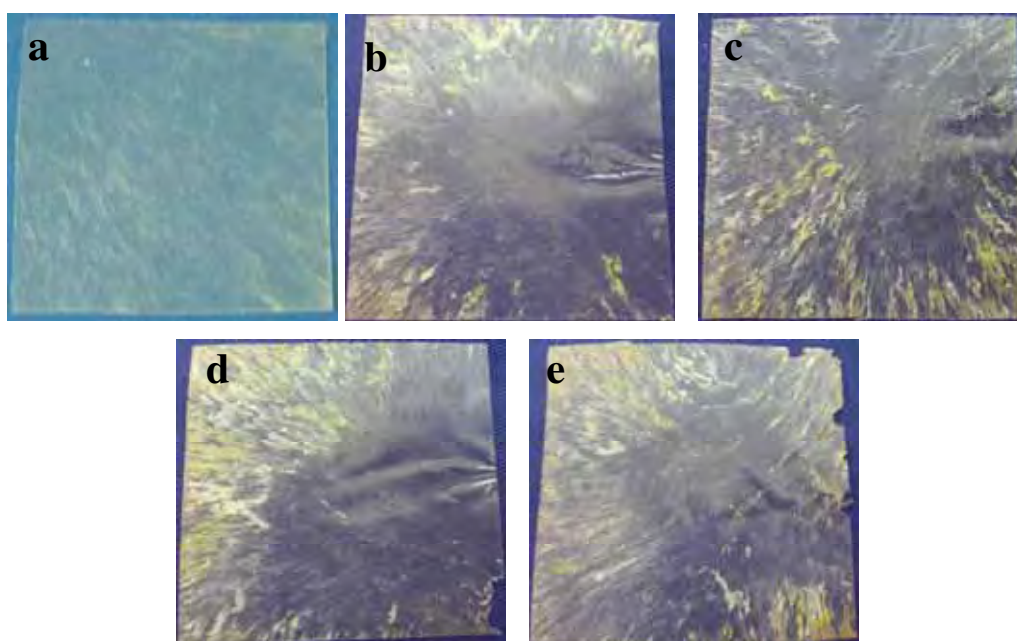
Trabalhos envolvendo uma variedade de processos de degradação molecular incluindo a fotodegradação do polipropileno, atribuem o aumento de cristalinidade ao fenômeno de quemi-cristalização (Craig et al., 2005; Obadal et al., 2005; Rabello & White, 1997). Segundo Maia e De Paoli (2000), quemi-cristalização é uma cristalização secundária, que ocorre durante a degradação, causada pela aproximação de cadeias de diferentes domínios. Com a irradiação de luz UV, observa-se o aumento da cristalinidade, que pode ser causado tanto por uma criação de novos cristalitos na fase amorfa, ou pela incorporação de moléculas em cristais pré-existentes – "quemi-cristalização" [Obadal et al., 2005; Rabello & White, 1997]. Pode-se supor que as cadeias moleculares menores com maior mobilidade podem ser incorporadas em regiões cristalinas já existentes (principalmente se a Tg do polímero for menor que a temperatura ambiente). Uma das conseqüências da quemi-cristalização é o aparecimento de fissuras causado pela contração das camadas superficiais (Craig et al., 2005; Obadal et al., 2005; Rabello & White, 1997).

A existência de uma interface (estrutura intermediária entre as lamelas da fase cristalina – ordenada e a fase amorfa – não ordenada), possibilita a ocorrência da ordenação das cadeias de PP, proposto por Rabello & White (1997). Neste caso, a adesão microbiana induz à alteração das cadeias de PP, após o tratamento microbiano em solo, considerando também a influencia da morfologia inicial dos filmes de polipropileno submetidos ao tratamento.

5.2.5. PP/PHB-V

5.2.5.1. Observação visual

As amostras da blenda de PP/PHB-V (4:1) foram fotografadas após o ensaio de biodegradação em solo, a análise visual está apresentada na Fotografia 08. Observamos que os filmes tratados no solo, apresentaram pigmentação amarela. A pigmentação ocorre de forma radial, sendo sempre mais intensa nas bordas dos filmes, sugerindo que a degradação segue a direção da cristalização radial do PHB-V.



Fotografia 08 – Filmes da blenda PP/PHB-V (4:1): (a) original; (b) 30 dias; (c) 60 dias; (d) 90 dias; (e) 120 dias após tratamento microbiano no solo.

5.2.5.2. FTIR

Foram realizadas as análises de FTIR para os filmes da blenda PP/PHB-V (4:1), os espectros estão apresentados na Figura 36 e as atribuições das respectivas bandas de absorção de FTIR estão apresentadas na Tabela 30. Os espectros foram normalizados em relação à banda de padrão interno, 2835 cm^{-1} .

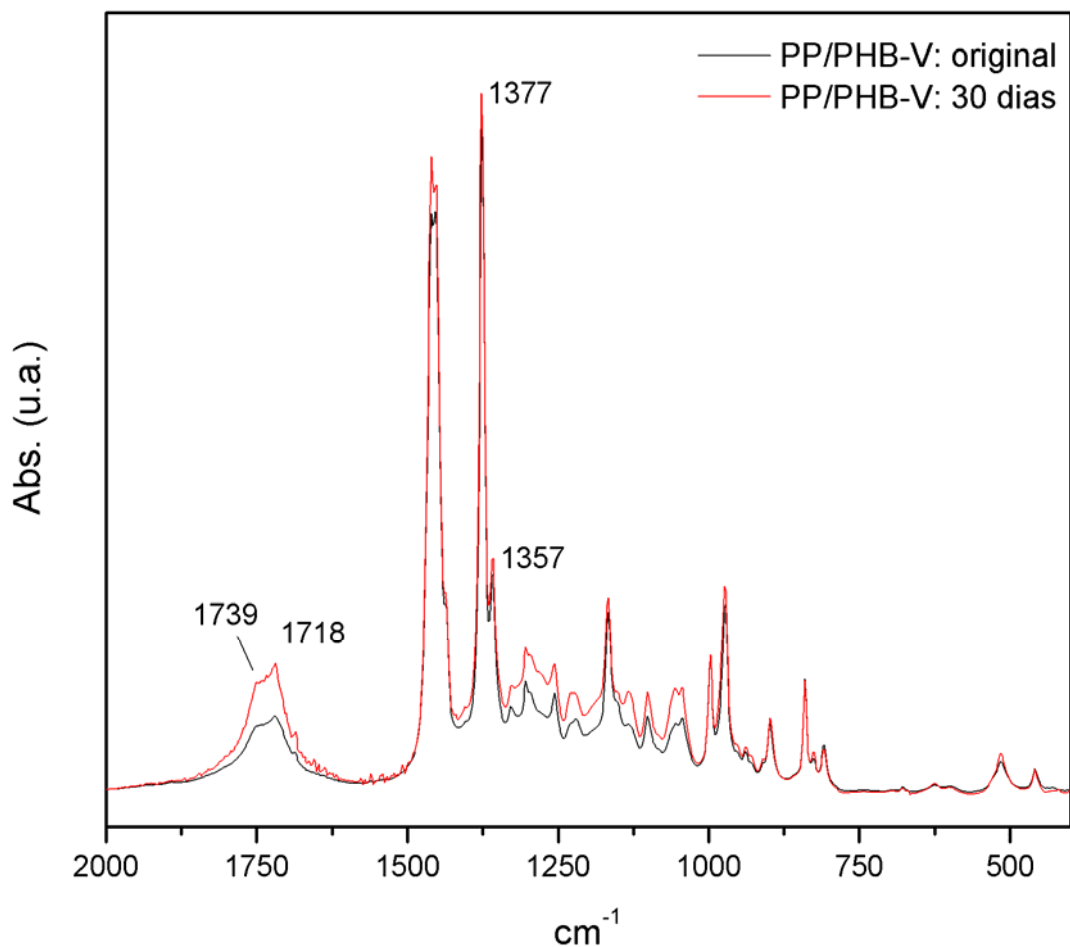


Figura 36 - Espectro FTIR dos filmes da blenda PP/PHB-V (4:1): original e biotratado em diferentes tempos

Tabela 30 - Atribuições das bandas de absorção de FTIR, para os filmes de PP / PHB-V (4:1)

λ (cm ⁻¹)	PHB-V	PP
972		C – C estiramento (a) CH ₂ / CH ₃ rocking
997		C – C estiramento (*) CH ₂ / CH ₃ rocking
1166		C – C estiramento (c)
1357		C – H (c)
1377		CH ₃ deformação angular simétrica
1454		CH ₃ deformação angular assimétrica
1718	C = O estiramento (c)	
1739	C = O	

(a) fase amorfa; (c) fase cristalina; (*) fase α cristalina

Na Tabela 31, estão apresentadas as relações de intensidade de absorção (I / I_0) dos filmes da blenda PP/PHB-V (4:1), utilizando-se como a banda de padrão interno (I_0), 2835 cm^{-1} (Apêndice E). Observamos que após 60 dias de experimento ocorreu um aumento de intensidade da banda em 1357 cm^{-1} (atribuída à vibração dos grupos C - H). Também ocorreram alterações na banda de carbonila a 1718 e 1739 cm^{-1} , tanto na fase cristalina como na amorfa, com aumento de intensidade, indicando alterações na fase de PHB-V da blenda.

Tabela 31 - Relação de intensidade de absorção no IR no filme de PP / PHB-V (4:1)

λ cm^{-1}	I / I_0 original	I / I_0 30 dias	I / I_0 60 dias	I / I_0 90 dias	I / I_0 120 dias
1357	0,32	0.33	0.71	0.82	0.86
1377	1.01	1.04	1.16	1.10	1.06
1454	0.88	0.90	0.97	0.98	0.98
1460	0.88	0.95	0.99	1.00	0.99
1718	0.10	0.18	0.63	0.77	0.82
1739	0.09	0.15	0.62	0.76	0.81

5.2.5.3. MEV

As microscopias eletrônicas dos filmes da blenda de PP/PHB-V estão apresentadas na Figura 37. Após a exposição destes ao tratamento microbiano no solo, observamos que as superfícies dos filmes apresentaram fissuras e erosão. É possível verificar o aparecimento de estruturas organizadas no filme retirado do solo, depois de 90 dias de tratamento microbiano.

As mudanças morfológicas ficam mais intensas com o aumento do tempo da biodegradação. A deterioração e/ou erosão da superfície da blenda PP/PHB-V (4:1) é maior após 120 dias, consequência do ataque microbiológico (biodegradação ocorrendo por camadas, na fase do PHB-V).

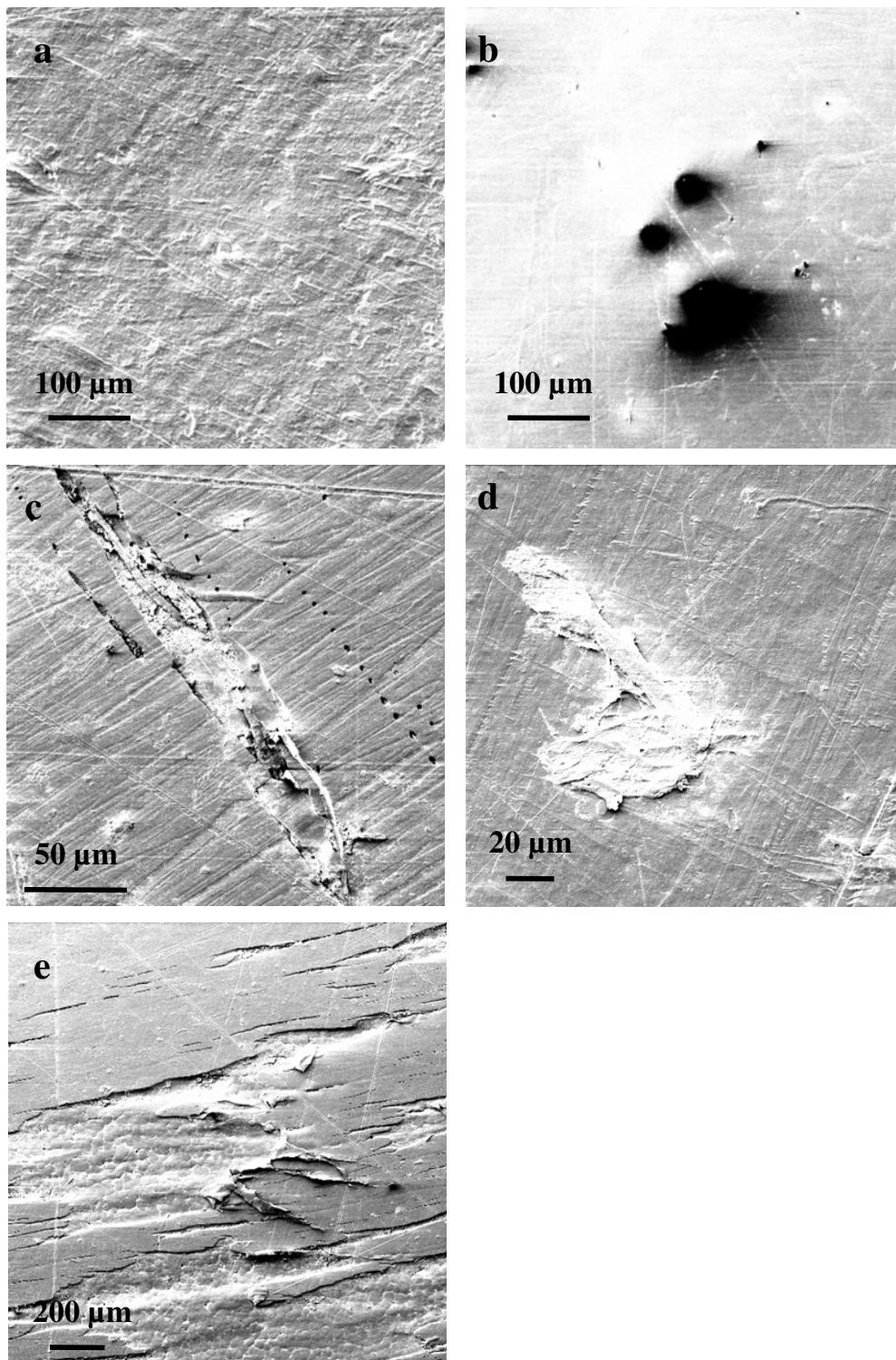


Figura 37 – MEV dos filmes da blenda PP/PHB-V (4:1) (a) original; (b) 30 dias; (c) 60 dias; (d) 90 dias; (e) 120 dias após tratamento microbiano em coluna de solo

5.2.5.4. Medidas de massa

As perdas de massa para os filmes da blenda PP/PHB-V (4:1) não foram significativas, após 120 dias de tratamento microbiano a perda de massa foi de aproximadamente 4%.

5.2.5.5. DSC

Na Figura 38 estão apresentados as curvas de DSC para os filmes da blenda de PP/PHB-V (4:1) original e biotratadas. No filme original verificamos a presença de um ombro a 155°C e um pico a 162°C, e após 60 dias de tratamento microbiano outro ombro em aproximadamente 147°C. Os picos em 155°C e 162°C correspondem às temperaturas de fusão do polipropileno. A temperatura de fusão (T_f) do PHB-V é 167°C (item 5.2.1.5), não foi possível sua visualização devido à proximidade da T_f do PP (162°C) e também à pequena quantidade do homopolímero (PHB-V) utilizado na blenda.

Na Tabela 32 estão as temperaturas e entalpias de fusão, e os graus de cristalinidade. Foi usada como referência a entalpia de fusão 209 J/g do PP (Costa et al, 2007) para o polímero hipoteticamente 100% cristalino.

O grau de cristalinidade e T_f para as blendas submetidas ao ensaio de biodegradação, não apresentaram mudanças significativas.

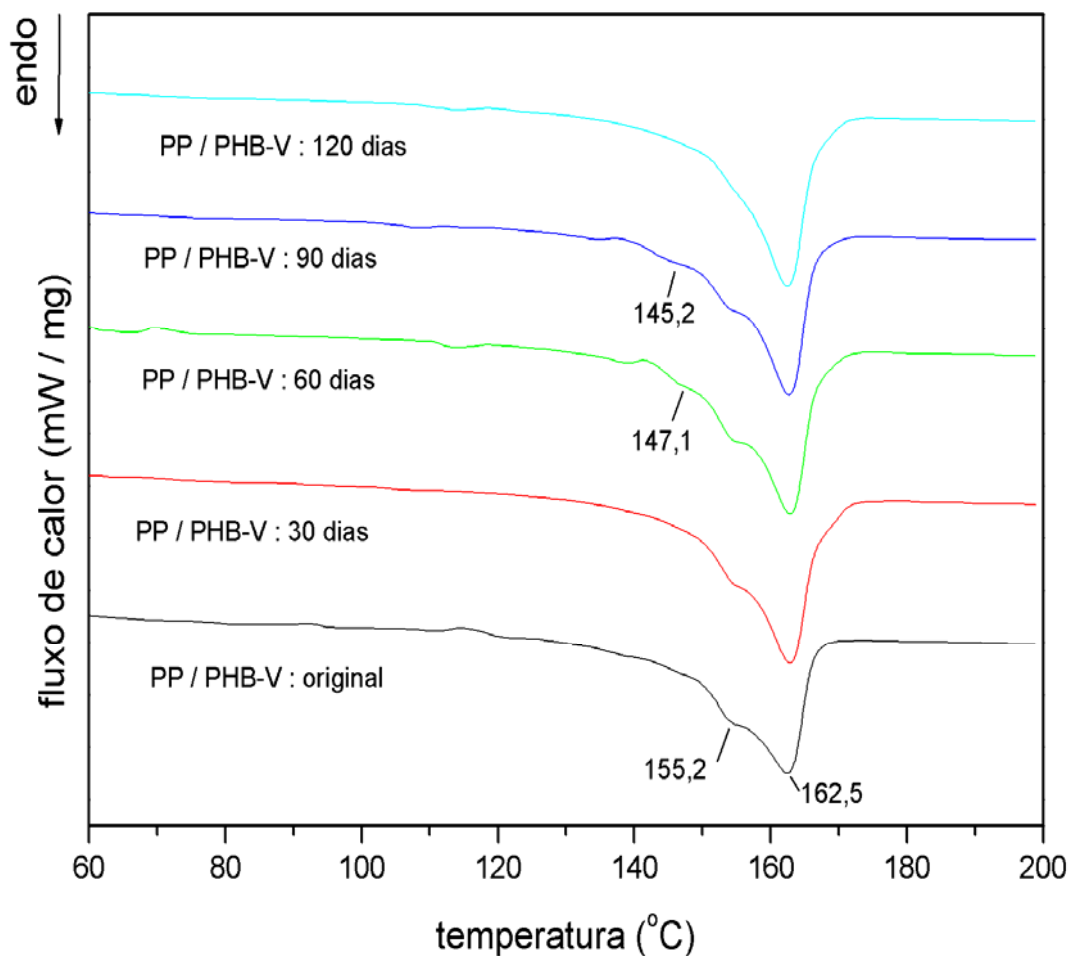


Figura 38 – Curvas de DSC dos filmes da blenda PP/PHB-V (4:1): original e biotratado em diferentes tempos.

Tabela 32 - Valores de temperatura de fusão (T_f); entalpias de fusão (ΔH_f) e grau de cristalinidade (X_C), para os filmes da blenda PP/PHB-V (4:1)

Tempo degradação dias	PP			PHB-V
	T_f °C	ΔH_f J/g	X_C %	T_f °C
0	162,5	89,8	43	155,2
30	162,9	98,3	47	155,8
60	162,8	88,8	43	155,4
90	162,7	88,8	43	154,6
120	162,5	92,9	45	154,2

De modo semelhante ao observado para PP, a derivada da curva calorimétrica, Apêndice E, apresenta os picos nas temperaturas aproximadamente em 165°C, 160°C e 152°C. Após os filmes serem submetidos ao tratamento microbiano, também aparece um pico em 170°C, atribuída à transição de fases do PP (cristalização secundária) (Maia & De Paoli, 2000).

5.2.5.6. TG

Na Figura 39 estão ilustradas as curvas de TG da blenda original e biotratadas. A degradação térmica da blenda ocorre em duas etapas, relativo a perda de massa de PHB-V e PP, respectivamente. A temperatura inicial da degradação térmica (T_{onset}) para o filme original da blenda é 273,4°C e 445,7°C (Tabela 33). Observamos uma diminuição de T_{onset} de 42°C e T_{pico} de 13°C para a fração de PP na blenda, após 120 dias de tratamento microbiano em solo. Os picos de temperatura máxima (T_{pico}) estão apresentados no Apêndice E.

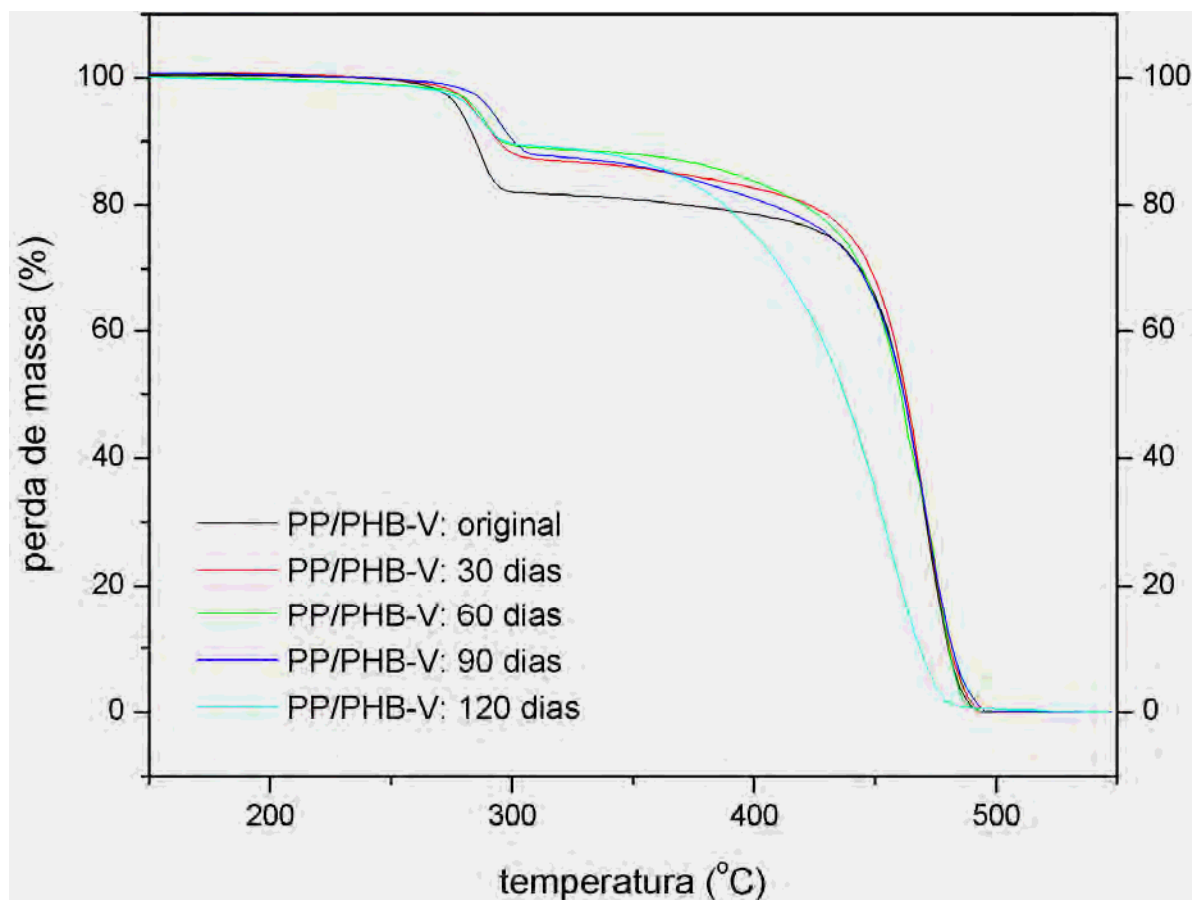


Figura 39 – Curvas de TG dos filmes da blenda PP/PHB-V (4:1): original e biotratado em diferentes tempos.

Tabela 33 - Valores das temperaturas de início (T_{onset}) e máxima velocidade (T_{pico}) para os filmes da blenda PP/PHB-V (4:1)

Tempo degradação dias	PP		PHB-V	
	T_{onset} °C	T_{pico} °C	T_{onset} °C	T_{pico} °C
0	445,7	470,1	273,4	287,6
30	444,6	470,5	275,5	285,5
60	438,5	476,1	278,2	288,6
90	443,5	472,6	284,3	295,1
120	403,3	456,7	275,5	286,7

Comparando-se as mudanças em temperaturas de decomposição ocorridas durante o período de biodegradação da blenda com cada homopolímero individualmente, observamos algumas diferenças. Para a fração de PHB-V na blenda, a temperatura inicial da degradação térmica (T_{onset}) e temperatura de máxima perda massa (T_{pico}) são respectivamente 15°C e 16°C menores comparada com o homopolímero puro e também na blenda com PCL ($T_{\text{onset}} = 288,7$ °C e $T_{\text{pico}} = 304,1$ °C, homopolímero).

Analisando a fração de PP na blenda com os valores obtidos para o homopolímero puro (item 5.2.4.6), observamos que T_{onset} e T_{pico} são aproximadamente 2°C maiores para os filmes originais. Já mencionado anteriormente, com o aumento do tempo de biodegradação (120 dias) a T_{onset} e T_{pico} diminuem para a fração de PP na blenda, respectivamente 44 °C e 16°C, comparadas com o homopolímero no mesmo período de biodegradação. No caso dos filmes de PP homopolímero (item 5.2.4.6), há uma maior estabilidade térmica após a biodegradação.

O tratamento microbiano tornou os filmes da blenda menos estáveis termicamente. Na blenda, pode ocorrer uma restrição da nucleação de PHB-V, devido à presença de PP e, a biodegradação acontece preferencialmente na fase de PHB-V. Este processo induz mudanças nas fases de PP próximas dos domínios de PHB-V (interfase – área onde há contato entre as fases de PP e PHB-V).

5.2.5.7. DRX

Na Figura 40 estão apresentados os difratogramas de raio-X para os filmes da blenda de PP/PHB-V (4:1). Os parâmetros de DRX estão apresentados na Tabela 34, para PP d(110) em $2\theta \sim 13,9^\circ$.

Observamos que o pico de reflexão em $2\theta \sim 16,7^\circ$ é referente à sobreposição dos planos da forma α (040) de PP e a (110) de PHB-V. Também observamos a associação dos picos em $2\theta \sim 13,3^\circ$ (PHB-V - 020) e $2\theta \sim 13,9^\circ$ (PP - α 110).

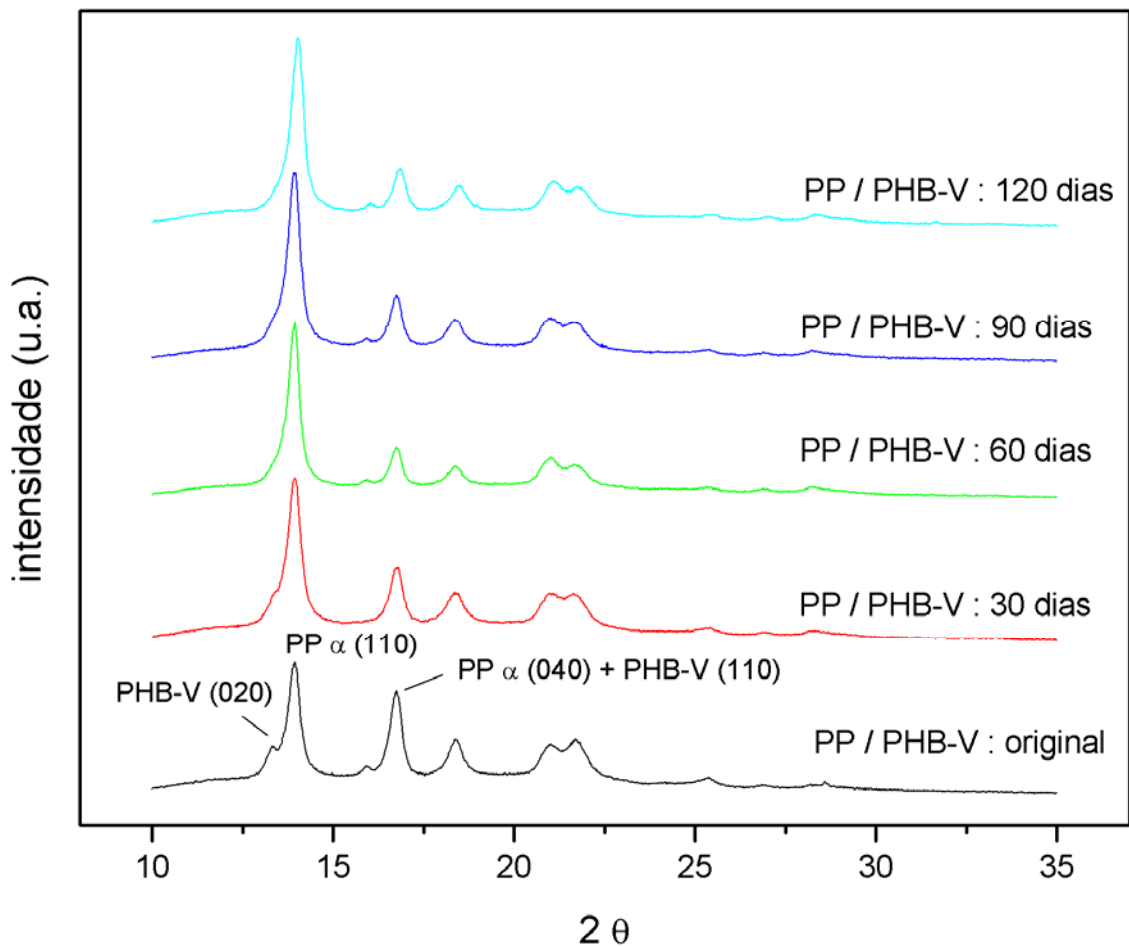


Figura 40 – DRX dos filmes da blenda PP/PHB-V (4:1): original e biotratado em diferentes tempos.

Tabela 34 - Valores de 2θ , largura à meia altura do pico (FWHM) e espaçamento (d) para os filmes de PP/PHB-V (4:1).

Tempo degradação dias	2θ (110)	FWHM	d nm
0	13,94	0,33	6,35
30	13,94	0,35	6,35
60	13,94	0,33	6,35
90	13,94	0,33	6,35
120	14,04	0,33	6,30

Os valores de espaçamento das lamelas, tomando como referencia o plano (110) de PP para a blenda, e os tamanhos médios dos cristalitos (0.42 nm) não mudaram com o tratamento microbiano.

Na Tabela 35 estão apresentados os graus de cristalinidade dos filmes de PP/PHB-V (4:1), após tratamento microbiano em solo. O cálculo foi realizado em relação ao pico cristalino, referente ao plano (110) de PP.

Tabela 35 – Grau de cristalinidade dos filmes de PP/PHB-V (4:1) por DRX

Tempo degradação dias	X_c %
0	59
30	60
60	50
90	64
120	58

Também não houve alteração da fração cristalina da blenda com relação ao tratamento microbiano, seguindo o mesmo comportamento da blenda de PCL/PHB-V (4:1). É importante ressaltar que os picos da fase de PP e PHB-V são próximos, o que dificulta a análise da porcentagem de cristalinidade por DRX.

Na blenda de PP/PHB-V (4:1) a deterioração superficial pelo ataque microbiano foi observado por MEV. Considerando os resultados a blenda de PP/PHB-V (4:1) o processo de biodegradação é semelhante à do PCL/PHB-V, prevalecendo a deterioração na fase de PHB-V (FTIR), que acontece na interfase entre os polímeros. Há indicações que ocorreram mudanças nos domínios de PP próximos aos domínios de PHB-V (interfase), com rearranjos das cadeias de PP (TG).

6. Síntese dos Resultados

Os processos de biodegradação e/ou biodeterioração foram observados nos diferentes filmes poliméricos utilizados neste estudo. Tais processos, em geral ocorreram via erosão superficial, sendo as camadas superficiais biodegradadas primeiramente. A morfologia (MEV) muda com o tempo de exposição dos filmes ao tratamento microbiano.

Todas as modificações sofridas pelos diferentes filmes polímeros foram atribuídas à ação das populações microbianas existentes no solo. A alta diversidade e a atividade microbiana, contribuíram para o processo de degradação, que é dependente das condições do solo e também das diferentes espécies de microrganismos. As condições ótimas para o desenvolvimento dos microrganismos, em 90 dias de experimento, contribuíram para aumentar o processo de biodegradação nos diferentes polímeros estudados.

A colonização microbiana sobre as superfícies poliméricas é um processo dinâmico e heterogêneo, em função da população microbiana presente no solo. A taxa de biodegradação é dependente da atividade enzimática, e de sítios acessíveis na superfície polimérica (regiões onde ocorre a adsorção das enzimas – áreas amorfas). A aderência e adaptação dos microrganismos aos materiais poliméricos são processos complexos que dependem de uma série de fatores relacionados tanto ao microrganismo, como às características físico-químicas de cada um dos polímeros.

O polímero biodegradável, PHB-V, foi o mais suscetível ao ataque microbiano, sendo completamente decomposto em 30 dias. Com relação às análises de perda de massa, o outro filme mais biodegradado em solo, foi a blenda de PCL/PHB-V (4:1), seguido dos filmes de PCL. Já os filmes da blenda de PP/PHB-V (4:1) e PP sofreram pequenas mudanças em relação à perda de massa.

Para os filmes de PHB-V a biodegradação ocorreu simultaneamente nas fases amorfa e cristalina, permanecendo o grau de cristalinidade do polímero inalterado.

A biodegradação dos filmes de PCL ocorreu preferencialmente na fase amorfa do polímero (FTIR), permanecendo a fração cristalina, onde as moléculas estão regularmente arranjadas nas lamelas, inalterada após o tratamento microbiano.

Os filmes de PP sofreram transformações morfológicas, ocorrendo uma transição das fases (α_1 e/ou β) do polímero (cristalização secundária), após o tratamento microbiano no solo (DSC, DRX), atribuídas principalmente à ação dos microrganismos.

Nas blendas de PCL/PHB-V (4:1) e PP/PHB-V (4:1), ocorreu a restrição da nucleação de PHB-V devido a presença de PCL e PP, respectivamente. A presença do polímero biodegradável (PHB-V), facilita a biodegradação, que se inicia por ele, e nas regiões de contato entre os polímeros (interfase). A biodegradação do PHB-V, nas blendas induziu ao rearranjo das cadeias poliméricas de PCL e PP.

7. Conclusões

- A biodegradação dos polímeros ocorre principalmente na superfície dos filmes como erosão superficial;
- O polímero biodegradável PHB-V é mais suscetível à ação microbiana, sofrendo erosão e hidrólise de grupos ésteres da cadeia. Sofre deterioração por camadas e degrada nas fases amorfa e cristalina;
- Os filmes de PCL sofrem biodegradação principalmente na fase amorfa e interfaces através de erosão superficial e hidrólise de grupos ésteres da cadeia;
- O ataque microbiano nos filmes de PP induz à transições de fases cristalinas do polímero;
- A biodegradação nas blendas ocorre na interfase (área de contato) entre os polímeros diferentes;
- A biodegradação do PHB-V na blenda com PCL induz a rearranjos da cadeia do PCL, sendo a fase amorfa de PCL também consumida.
- A biodegradação do PHB-V na blenda com PP também induz a rearranjos da cadeia do PP.
- A imiscibilidade dos polímeros biodegradável/sintético na blenda induz a biodegradação dos polímeros sintéticos.
- A futura aplicação deste tipo de material (blenda de polímeros biodegradável/sintético) está condicionada a futuros testes físico-químicos e mecânicos. Porém, a blenda de PP/PHB-V é promissora para o uso em embalagens plásticas, cuja decomposição do resíduo descartado é fundamental.

REFERÊNCIAS

ABOU-ZEID D.M.; MÜLLER R.J.; DECKWER W.D. Degradation of natural and synthetic polyesters under anaerobic conditions. **Journal of Biotechnology**, Inglaterra, v. 86, p. 113-126, 2001.

ABOU-ZEID D.M.; MÜLLER R.J.; DECKWER W.D. Biodegradation of aliphatic homopolyesters and aliphatic-aromatic copolyesters by anaerobic microorganisms. **Biomacromolecules**, Washington, v. 5, n. 5, p. 1687-1697, 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 15448-2**: Embalagens plásticas degradáveis e/ou de fontes renováveis Parte2: biodegradação e compostagem – requisitos e métodos de ensaio, Rio de Janeiro, 2008.

ALAMO, R.G. et al. A morphological study of a highly structurally regular isotactic poly(propylene) fraction. **Polymer**, Inglaterra, v. 40, p. 3933-3944, 1999.

AURIEMMA, F. et al. Structural disorder in the α form of isotactic polypropylene. **Macromolecules**, Washington, v. 33, p. 8764-8774, 2000.

ARCANA I.M. et al. Study on properties of polymer blends from polypropylene with polycaprolactone and their biodegradability. **Polymer Journal**, Tóquio, v. 39, n. 12, p. 1337-1344, 2007.

ARCANA I.M. et al. Synthesis of polyblends from polypropylene and poly(R,S)- β -hydroxybutyrate, and their characterization. **Polymer Internacional**, Hoboken, v. 55, p. 435-440, 2006.

AVELLA, M.; MARTUSCELLI, E.; RAIMO, M. Properties of blends and composites based on poly(3-hydroxy)butyrate (PHB) and poly(3-hydroxybutyrate-hydroxyvalerate) (PHBV) copolymers. **Journal Materials Science**, Nova York, v. 35, p. 523-545, 2002.

AVELLA, M.; et al. Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and wheat straw fibre composites: thermal, mechanical properties and biodegradation behaviour. **Journal of Materials Science**, Inglaterra, v. 35, p. 829-836, 2000.

ABIQUIM – Associação Brasileira da Indústria Química, Disponível em: <http://www.abiquim.org.br/resinastermoplasticas/>. Acesso em: 27 jan. 2009.

BARDI, M. A. G.; GUEDES, C. G. F.; ROSA D. S. **Propriedades mecânicas, térmicas, morfológicas e de biodegradação de blendas de polipropileno/amido plastificado com glicerina do biodiesel.** In: 18^o CBECiMat – Porto de Galinhas / PE – 24-28 nov. 2008.

BILLIANI J.; FLEISCHMANN E. Influence of injection rate and melt temperature on polypropylene during injection-molding without packing. **Polymer Degradation and Stability**, 28 (1): 67-75, 1990

BLASS, A. *Processamento de Polímeros*, Editora da UFSC, Florianópolis, 1988.

BLOEMBERGEN, S.; et al. Studies of composition and crystallinity of bacterial poly(β -hydroxybutyrate-co- β -hydroxyvalerate). **Macromolecules**, Washington, v.19, p. 2865-2871, 1986.

BLUHM, T.L.; et al. Isodimorphism in bacterial poly(β -hydroxybutyrate-co- β -hydroxyvalerate). **Macromolecules**, Washington, v. 19, p. 2871-2876, 1986.

BONELLI, C.M.C.; et al. Effect of recycled polypropylene on polypropylene/high-density polyethylene blends. **Journal of Applied Polymer Science**, Inglaterra, v. 80, n. 8, p. 1305-1311, 2001.

BRAUNEGG, G.; LEFEBVRE, G.; GENSER, K. F. Review article: Polyhydroxyalkanoates, biopolyesters from renewable resources: Physiological and engineering aspects. **Journal of Biotechnology**, Inglaterra, v. 65, p.127-61, 1998.

CACCIARI I. et al. Isotactic polypropylene biodegradation by a microbial community: physicochemical characterization of metabolites produced. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 59, n. 11, p. 3695-3700, 1993.

CAMPOS, A. **BLENDAS DE PVC/PCL FOTO/TERMO E BIOTRATADAS COM FUNGOS DE SOLO (*Phanerochaete chrysosporium* e *Aspergillus fumigatus*).** Dissertação (Microbiologia Aplicada) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2004.

CANETTI, M.; DE CHIRICO, A.; AUDISIO, G. Morphology, Crystallization and melting properties of isotactic polypropylene blended with lignin. **Journal of Applied Polymer Science**, Wiley InterScience, v. 91, p.1435-1442, 2004.

CANETTI M. et al. Thermal degradation behaviour of isotactic polypropylene blended with lignin. **Polymer Degradation and Stability**, Inglaterra, v. 91, p. 494-498, 2006.

CANEVAROLO, S.V. Chain scission distribution function for polypropylene degradation during multiple extrusions. **Polymer Degradation and Stability**, Inglaterra, v. 70, n. 1, p. 71-76, 2000.

CHEN, J-H. et al. Isothermal crystallization of isotactic polypropylene blended with low molecular weight atactic polypropylene. Part I. thermal properties and morphology development. **Polymer**, Inglaterra, v. 46, p. 5680-5688, 2005.

CHO, K.; et al. Real time in situ X-ray diffraction studies on the melting memory effect in the crystallization of β -isotactic polypropylene. **Polymer**, Inglaterra, v. 43, p. 1407-1416, 2002.

CHO, K. et al. Memory effect of locally ordered α -phase in the melting and phase transformation behavior of β -isotactic polypropylene. **Polymer**, Inglaterra, v. 44, p. 4053-4059, 2003.

CHUN, Y.S.; KIM, W.N. Thermal properties of poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) and poly(ϵ -caprolactone) blends. **Polymer**, Inglaterra, v. 41, p. 2305-2308, 2000.

COLEMAN, M.M.; ZARIAN, J. Fourier-transform infrared studies of polymer blends. II. Poly(ϵ -caprolactone)-poly(vinyl chloride) system. **Journal of Polymer Science: Polymer Physics**, v. 17, p. 837-850, 1979, apud ELZIEN, T.; et al. FTIR study of polycaprolactone chain organization at interfaces. **Journal of Colloid and Interface Science**, Inglaterra, v. 273, p. 381-387, 2004.

CETESB - Companhia de tecnologia e saneamento ambiental. **Solos: determinação da biodegradação de resíduos: método respirométrico de Bartha**: norma técnica L6.350. São Paulo, 1990.

CONTAT-RODRIGO, L.; RIBES-GREUS, A.; DÍAZ-CALLEJA, R. Characterization by thermal analysis of PP with enhanced biodegradability. **Journal of Applied Polymer Science**, Inglaterra, v. 82, p. 2174-2184, 2001.

CORRÊA, M.C.S.; et al. Surface composition and morphology of poly(3-hydroxybutyrate) exposed to biodegradation. **Polymer Testing**, Inglaterra, v. 27, p. 447-452, 2008.

COSTA, H. M. da; RAMOS, V.D.; OLIVEIRA, M.G. de. Degradation of polypropylene (PP) during multiple extrusions: thermal analysis, mechanical properties and analysis of variance. **Polymer Testing**, Inglaterra, v. 26, p. 676-684, 2007.

CRAIG, I.H.; WHITE, J.R.; KIN, P.C. Crystallization and chemi-crystallization of recycled photo-degraded polypropylene. **Polymer**, Inglaterra, v. 46, p. 505–512, 2005.

DROZDOV, A.D.; CHRISTIANSEN, J. de C. Effect of high-temperature annealing on the elastoplastic response of isotactic polypropylene in loading-unloading tests. **Journal of Applied Polymer Science**, Inglaterra, v. 90, p. 186-196, 2003.

ELDSÄTER C. et al. The biodegradation of amorphous and crystalline regions in film-blown poly(ϵ -caprolactone), **Polymer**, Inglaterra, v. 41, p. 1297-1304, 2000.

ELZIEN, T.; et al. FTIR study of polycaprolactone chain organization at interfaces. **Journal of Colloid and Interface Science**, Inglaterra, v. 273, p. 381-387, 2004.

ESPOSITO E.; AZEVEDO, J.L. **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**, Educs, Caxias do Sul, 2004.

ESTELLÉS J.M. et al. Physical characterization of polycaprolactone scaffolds. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, Inglaterra, v. 19, n.1, p. 189-195, 2008.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. - EMBRAPA Centro Nacional de Pesquisa de Solos Rio de Janeiro, RJ. **Manual de métodos de análise do solo**. Brasília, SPI, 1997.

FALCONE, D.M.B.; AGNELLI, J.A.M.; FARIA, L.I.L. Panorama setorial e perspectivas na área de polímeros biodegradáveis. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Carlos, v. 17, n. 1, p. 5-9, 2007.

FIALHO L. L.; et al. **Monitoramento Químico e Físico do Processo de Compostagem de Diferentes Resíduos Orgânicos**. Circular Técnica –EMBRAPA Instrumentação Agropecuária, São Carlos, 2005

FIEBIG, J.; et al. Ageing of polypropylene: processes and consequences. **Polymer Testing**, Inglaterra, v. 18, n. 4, p. 257-266, 1999.

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

FORMOLO M.C. et al. Poliidroxicanoatos: biopoliésteres produzidos a partir de fontes renováveis. **Revista Saúde e Ambiente**, Joinville, v. 4, n. 2, p. 14-21, 2003.

FREIRE, O. **Solos das regiões Tropicais**. FEPAF, Botucatu, 2006.

GALEGO, N.; et al. Characterization and application of poly(β -hydroxyalkanoates) family as composite biomaterials. **Polymer Testing**, Inglaterra, v. 19, p. 485–492, 2000.

GU, F.; et al. Second-order phase transition of high isotactic polypropylene at high temperature. **Polymer**, Inglaterra, v. 43, p. 1473 – 1481, 2002.

HEINZ S. **Microbial ecology organisms – habitats – activities**. Cambridge University Press, Grã-Bretanha, 1988.

HERZOG, K.; MÜLLER, R.-J.; DECKWER, W.-D. Mechanism and kinetics of the enzymatic hydrolysis of polyester nanoparticles by lipases. **Polymer Degradation and Stability**, Inglaterra, v. 91, p. 2486-2498, 2006.

HIKOSAKA, M. & SETO, T. The Order of the Molecular Chains in Isotactic Polypropylene Crystals. **Polymer Journal**, Tóquio, v. 5, n. 2, p. 111-127, 1973 apud AURIEMMA, F. et al. Structural disorder in the α form of isotactic polypropylene. **Macromolecules**, Washington, v. 33, p. 8764-8774, 2000.

HOCKING, P.J; et al. Enzymatic degradation of single crystals of bacterial and synthetic poly(β -hydroxybutyrate). **Macromolecules**, Washington, v. 29, p. 2472-2478, 1996.

IKEJIMA, T.; INOUE, Y. Crystallization behavior and environmental biodegradability of the blend films of poly(3-hydroxybutyric acid) with chitin and chitosan. **Carbohydrate Polymers**, Inglaterra, v. 41, p. 351-256, 2000.

ISHIGAKI T. et al. The degradability of biodegradable plastics in aerobic and anaerobic waste landfill model reactors. **Chemosphere**, Inglaterra, v. 54, p. 225-233, 2004.

JAHNEL M.C.; CARDOSO, E.J.B.N.; DIAS, C.T. S. Determinação do número mais provável de microrganismos do solo através do método de plaqueamento por gotas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa - MG, v. 23, n. 3, p. 553-559, 1999.

JAYASEKARA R. et al. Biodegradability of a selected range of polymers and polymer blends and standard methods for assessment of biodegradation. **Journal of Polymers and the Environment**, Nova York, v. 13, n. 3, p. 231-251, 2005.

JENKINS, M.J.; et al. Miscibility in blends of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and poly(ϵ -caprolactone) induced by melt blending in the presence of supercritical CO₂. **Polymer**, Inglaterra, v. 48, p. 6304-6310, 2007.

KANZIZ M. et al. Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy for monitoring and determining the degree of crystallization of polyhydroxyalkanoates (PHAs). **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 388, n. 5-6, p. 1207-1213, 2007.

KOENIG, J. L. **Spectroscopy of polymers**, New York, Elsevier, 1999.

KRZAN A. et al. Standardization and certification in the area of environmentally degradable plastics. **Polymer Degradation and Stability**, Inglaterra, v. 91, p. 2819-2833, 2006.

LA CARA F. et al. Biodegradation of poly- ϵ -caprolactone/poly- β -hydroxybutyrate blend. **Polymer Degradation and Stability**, Inglaterra, v. 79, p. 37-42, 2003.

LEFÈVRE C. et al. The interaction mechanism between microorganisms and substrate in the biodegradation of polycaprolactone, **Journal Applied Polymer Science**, Inglaterra, v. 83, p. 1334-1340, 2001.

LI, S-D; et al. Thermal degradation of Poly(3-hydroxybutyrate) and Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) as studied by TG, TG-FTIR, and Py-GC/MS. **Journal of Applied Polymer Science**, Wiley InterScience, v. 89, p. 1530-1536, 2003.

LOVERA, D.; et al. Crystallization, Morphology, and enzymatic degradation of polyhydroxybutyrate/polycaprolactone (PHB/PCL) blends. **Macromolecular Chemistry and Physics**, Weinheim, v. 208, p. 924-937, 2007.

LUO, S; NETRAVALI, A.N. A study of physical and mechanical properties of poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) during composting. **Polymer Degradation and Stability**, Inglaterra, v. 80, p. 59-66, 2003.

MACHADO, G.; et al. Crystalline properties and morphological changes in plastically deformed isotactic polypropylene evaluated by X-ray diffraction and transmission electron microscopy. **European Polymer Journal**, Inglaterra, v. 41, p. 129-138, 2005.

MADIGAN M.T.; MARTINKO J.M.; PARKER J. **Microbiologia de Brock**. 10 ed., Pearson Education do Brasil, São Paulo, 2004.

MAIA, D.R.J; DE PAOLI, M.A. Embranquecimento do polipropileno isotático injetado contendo TiO₂ como pigmento. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Carlos, v.10, n^o 4, p. 209-217, 2000.

MANO, E. B.; MENDES, L.C. **Introdução à Polímeros**. Edgard Blücher Ltda., São Paulo, 1999.

MANNA, A.; GIRI, P.; PAUL, A.K. Degradation of poly(3-hydroxybutyrate) by soil streptomycetes. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Holanda, v. 15, p. 705-709, 1999.

MARIANI, P.D.S.C.; et al. Mineralization of Poly(ϵ -caprolactone)/Adipate modified starch blend in agricultural soil. **Journal of Polymers and the Environment**, Nova York, v. 15, p. 19-24, 2007

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

MASSARDIER-NAGEOTTE V. et al. Aerobic and anaerobic biodegradability of polymer films and physico-chemical characterization, **Polymer Degradation and Stability**, Inglaterra, v. 91, p. 620-627, 2006.

MERGAERT J. et al. Microbial degradation of Poly(3-hydroxybutyrate) and Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) in soils. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 59, n.10, p. 3233-3238, 1993.

MITOMO, H.; MORISHITA, N.; DOI, Y. Structural changes of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) fractioned with acetone-water solution. **Polymer**, Inglaterra, v. 36, n.13, p. 2573-2578, 1995.

MOCHIZUKI, M.; HIRAMI, M. Structural effects on the biodegradation of aliphatic polyesters. **Polymers for Advanced Technologies**, Inglaterra, v. 8, p. 203-209, 1997.

MORANCHO J.M. et al. Calorimetric and thermogravimetric studies of UV-irradiated polypropylene/starch – based materials aged in soil. **Polymer Degradation and Stability**, Inglaterra, v. 91, p. 44 – 51, 2006.

MUELLER, R.-J. Biological degradation of synthetic polyesters – Enzymes as potencial catalysts for polyester recycling. **Process Biochemistry**, Inglaterra, v. 41, p. 2124-2128, 2006.

NAIKI, M.; et al. Crystal ordering of α phase isotactic polypropylene. **Polymer**, Inglaterra, v. 42, p. 5471-5477, 2000.

NAKAMURA, K. et al., Temperature dependence of crystal growth rate for α and β forms of isotactic polypropylene. **Polymer Journal**, Tóquio, v. 40, n. 9; p. 915-922, 2008.

OBADAL, M.; et al.; Structure evolution of α - and β -polypropylenes upon UV irradiation: A multiscale comparison. **Polymer Degradation and Stability**, Inglaterra, v. 88, p. 532-539, 2005.

ODA, Y.; et al. Microbial degradation of poly(3-hydroxybutyrate) and polycaprolactone by filamentous fungi. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, Japão, v. 80, n. 3, p. 265-269, 1995.

PALMISANO A.C; PETTIGREW C.A. Biodegradability of plastics. **BioScience**, Washington, v. 42, n.9, p. 680-685, 1992.

PANDEY J. K.; SINGH R.P. UV-Irradiated biodegradability of ethylene-propylene copolymers, LDPE, and I-PP in composting and culture environments. **Biomacromolecules**, Washington, v. 2, p. 880-885, 2001.

PARTHASARTHY, G.; SEVEGNEY, M.; KANNAN, R.M. Rheoptical Fourier Transform infrared spectroscopy of the deformation behavior in quenched and slow-cooled isotactic polypropylene films. **Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics**, Nova York, v. 40, p. 2539-2551, 2002.

PEREIRA M.G.; et al. Organic carbon determination in histosols and soil horizons with high organic matter content from Brazil. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 63, n. 2, p. 187-193, 2006.

QIU, J. et al. Deformation-induced highly oriented and stable mesomorphic phase in quenched isotactic polypropylene. **Polymer**, Inglaterra, v. 48, p. 6934-6947, 2007.

QIU, Z.; et al. Miscibility and crystallization behavior of biodegradable blends of two aliphatic polyesters. Poly(3-hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) and poly(ϵ -caprolactone). **Polymer**, Inglaterra, v. 46, p. 11814-11819, 2005.

RABELLO, M.S.; WHITE, J.R. Crystallization and melting behaviour of photodegraded polypropylene – I. Chemi-crystallization. **Polymer**, Inglaterra, v. 26, p. 6379-6387, 1997.

RAMIS X.; et al. Thermal degradation of polypropylene/starch-based materials with enhanced biodegradability. **Polymer Degradation and Stability**, Inglaterra, v. 86, p. 483-491, 2004.

RAY, S.S.; et al. New polylactide-layered silicate nanocomposites. 2. Concurrent improvements of material properties, biodegradability and melt rheology. **Polymer**, Inglaterra, v. 44, p. 857–866, 2003.

REDDY C.S.K.; GHAI G.; KALIA V.C. Polyhydroxyalkanoates: an overview. **Bioresource Technology**, Inglaterra, v. 87, p. 137-146, 2003.

REDDY, N; NAMA, D.; YANG, Y. Polylactic acid/polypropylene polyblend fibers for better resistance to degradation. **Polymer Degradation and Stability**, Inglaterra, v.93, p. 233-241, 2008.

ROSA D.S. et al. The use of roughness for evaluating the biodegradation of poly- β -(hydroxybutyrate) and poly- β -(hydroxybutyrate-co- β -valerate). **Polymer Testing**, Inglaterra, v. 23, p. 3-8, 2003.

ROSA, D.S.; et al. Biodegradability of thermally aged PHB, PHB-V, and PCL in soil compostage. **Journal of Polymers and the Environment**, Nova York, v.12, n. 4, p. 239-245, 2004.

ROSA, D. S.; PANTANO FILHO, R. **Biodegradação: um ensaio com polímeros**, Ed. Moara, Itatiba, 2003.

SANG, B.I.; et al. Fungal contribution to in situ biodegradation of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) film in soil. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Heidelberg, v. 58, p. 241–247, 2002.

SANYAL, P.; SAMADDAR, P.; PAUL, A.K. Degradation of poly(3-hydroxybutyrate) and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by some soil *Aspergillus* spp.. **Journal of Polymers and the Environment**, Nova York, v. 14, p. 257-263, 2006.

SHAH A.A. et al. Biological degradation of plastics: a comprehensive review. **Biotechnology advances**, Inglaterra, v. 26, p. 246-265, 2008.

SIVALINGAM, G.; CHATTOPADHYAY, S.; MADRAS, G. Enzymatic degradation of poly(ϵ -caprolactone), poly(vinyl acetate) and their blends by lipases. **Chemical Engineering Science**, Inglaterra, v. 58, p. 2911 – 2919, 2003.

SONG C. et al. The biodegradation of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHB/V) and PHB/V-degrading microorganisms in soil. **Polymers for Advanced Technologies**, Hoboken, v. 14, p. 184-188, 2003.

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

SUDESH K.; DOI Y. Molecular design and biosynthesis of biodegradable polyesters. **Polymers for advanced technologies**, Hoboken, v. 11, p. 865-872, 2000.

TIMMINS, M. R.; et al. Effect of tacticity on enzymatic degradability of poly(β -hydroxybutyrate). **Macromolecular Chemistry and Physics**, Weinheim, v.197, p.1193-1215, 1996.

TOKIWA, Y.; CALABIA, B.P. Degradation of microbial polyesters. **Biotechnology Letters**, Holanda, v. 26, p. 1181-1189, 2004.

TOKIWA, Y.; CALABIA, B.P. Biodegradability and biodegradation of polyesters. **Journal of Polymer and the Environment**, Holanda, v. 15, n. 4, p. 259-267, 2007.

TSUJI, H.; SUZURYOSHI, K. Environmental degradation of biodegradable polyesters 1. Poly(ϵ -caprolactone), poly[(R)-3-hydroxybutyrate], and poly(L-lactide) films in controlled static seawater. **Polymer Degradation and Stability**, Inglaterra, v. 75, p. 347-355, 2002.

VIDAURRE, A.; et al. Influence of Enzymatic Degradation on Physical Properties of Poly(ϵ -caprolactone) Films and Sponges. **Macromolecular Symposia**, Weinheim, v. 269, p. 38–46, 2008.

VOGELSANGER, N.; et al. Blendas biodegradáveis de poli(3-hidroxibutirato)/poli(ϵ -caprolactona): obtenção e estudo de miscibilidade. **Materials Research**, São Carlos, v.6, n.3, p. 359-365.

XU, J.; et al. In situ FTIR study on melting and crystallization of polyhydroxyalkanoates. **Polymer**, Inglaterra, v. 43, p. 6893-6899, 2002.

YOSHIE, N.; SAITO, M.; INOUE Y. Structural transition of lamella crystals in a isomorphous copolymer, Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate). **Macromolecules**, Washington, v. 34, p. 8953-8960, 2001.

YUAN, Q.; JIANG, W.; AN, L. Study of β - α recrystallization of the polypropylene. **Colloid & Polymer Science**, Heidelberg, v. 282, p. 1236-1241, 2004.

ZAGAR E. et al. Sequence distribution in microbial poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) co-polyesters determined by NMR and MS. **Biomacromolecules**, Washington, v. 7, n. 7, p. 2210-2216, 2006.

ZHU, X.; et al. Crystallization behavior of partially melting isotactic polypropylene. **Polymer**, Inglaterra, v. 42, p. 9217-9222, 2001.

ZIA, Q.; et al. Morphology, reorganization and stability of mesomorphic nanocrystals in isotactic polypropylene, **Polymer**, Inglaterra, v. 47, p. 8163-8172, 2006.

ZILLI, J.E.; et al. Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v.20, n. 3, p. 391-411, 2003.

APÊNDICE

Apêndice A – PHB-V

FTIR

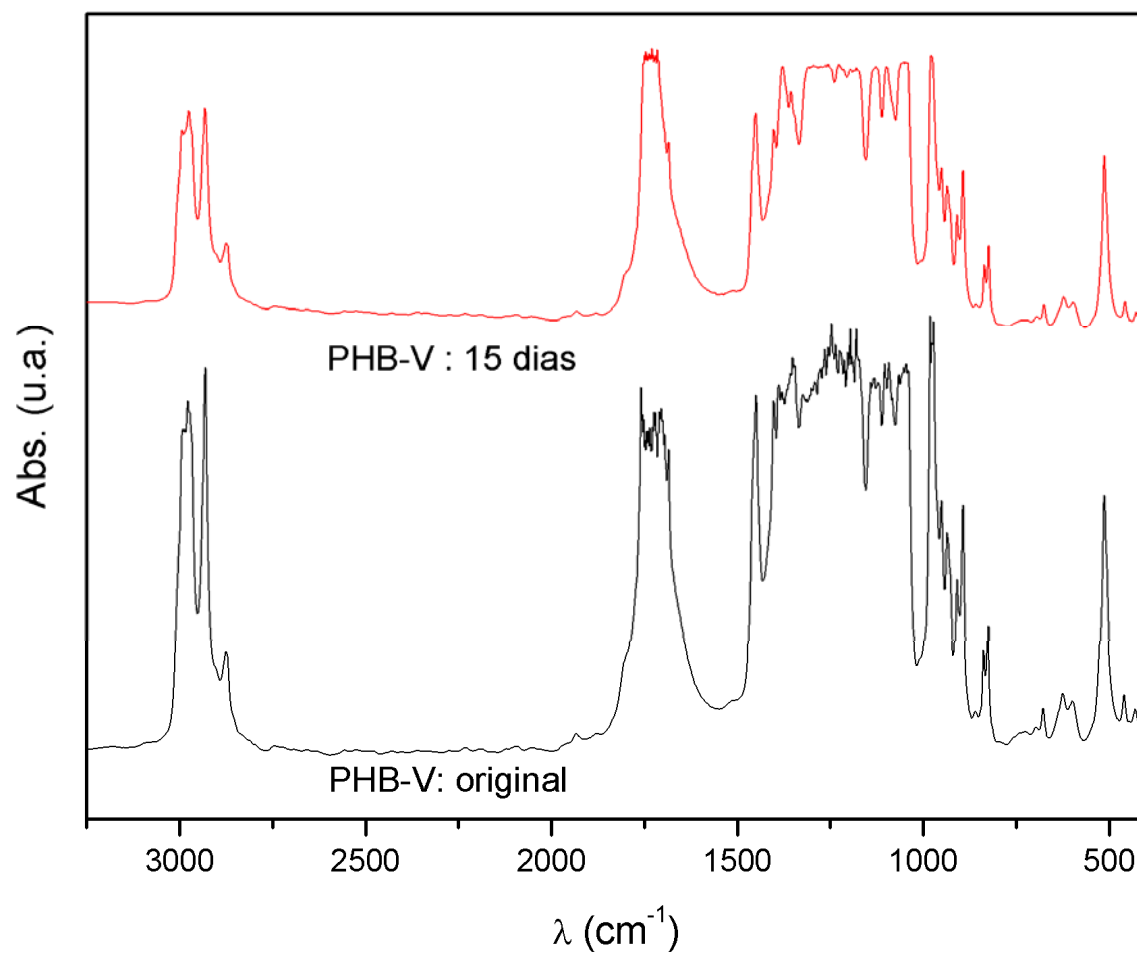


Figura A1 - Espectro FTIR: PHB-V original e biotratado em solo.

DSC / DDSC

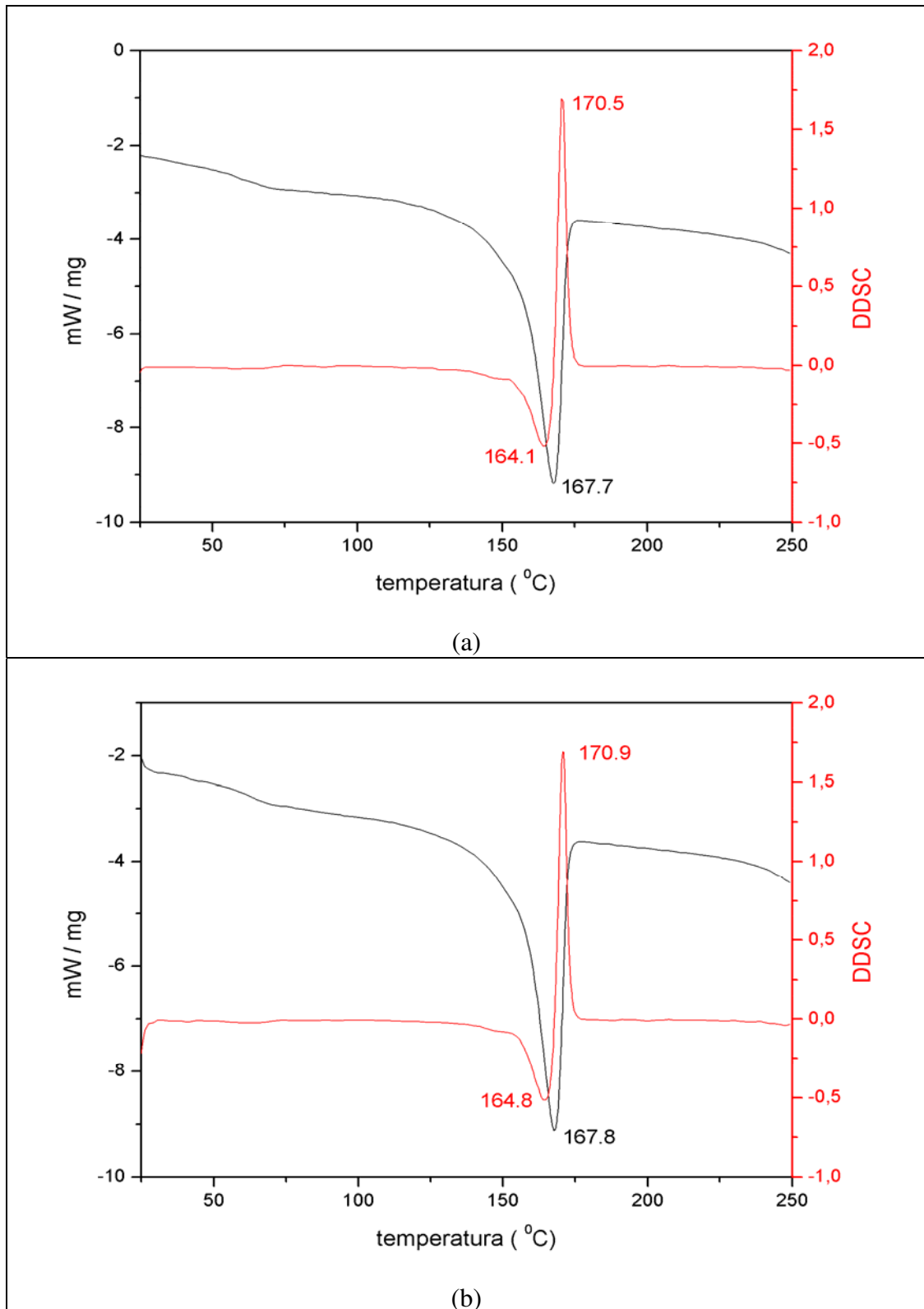


Figura A2 – DSC e DDSC: (a) PHB-V: original; (b) biotratado 15 dias.

TG / DTG

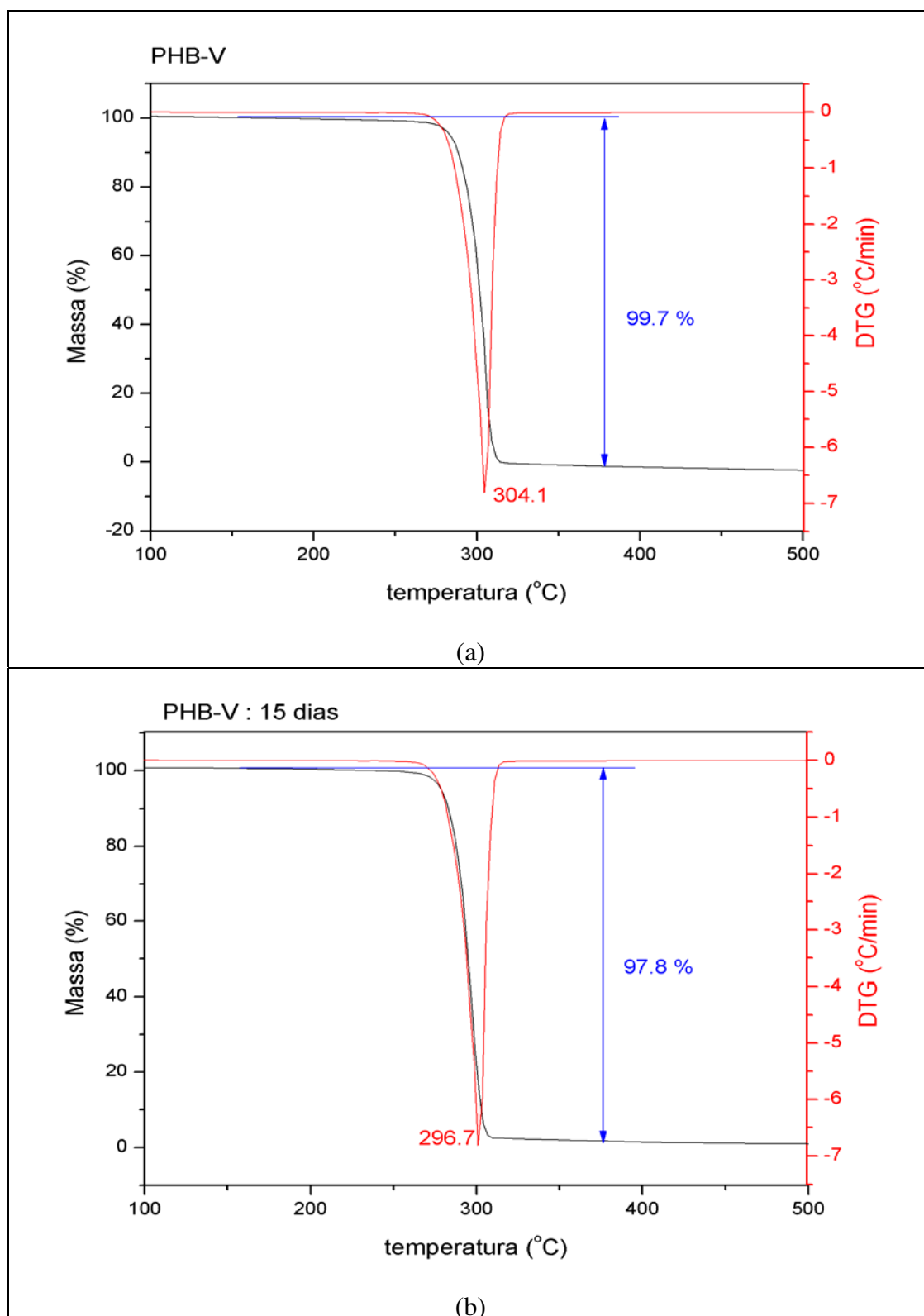


Figura A3 – TG e DTG: (a) PHB-V: original; (b) PHB-V: biotratado 15 dias.

Apêndice B - PCL

FTIR

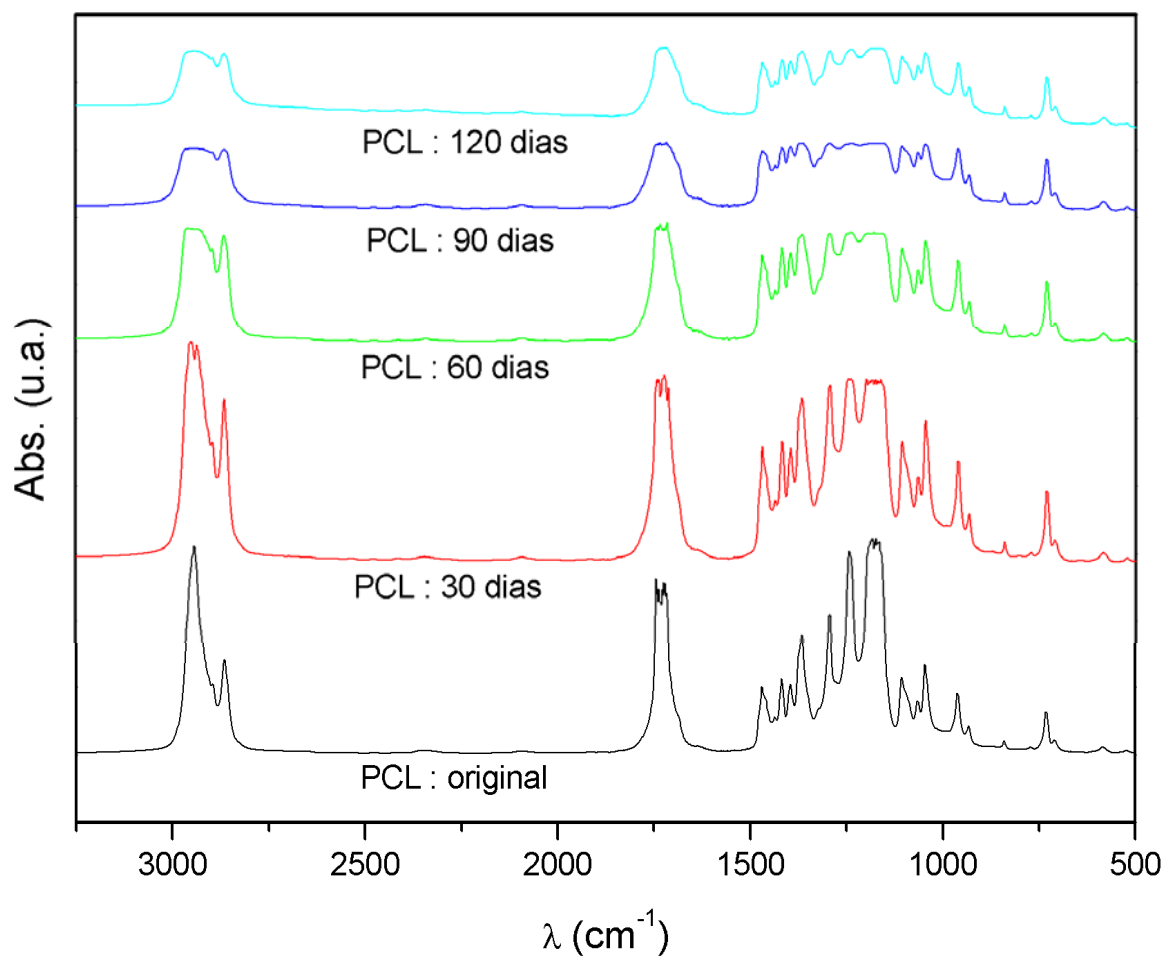


Figura B1 - Espectro FTIR: PCL original e biotratado em solo.

DSC / DDSC

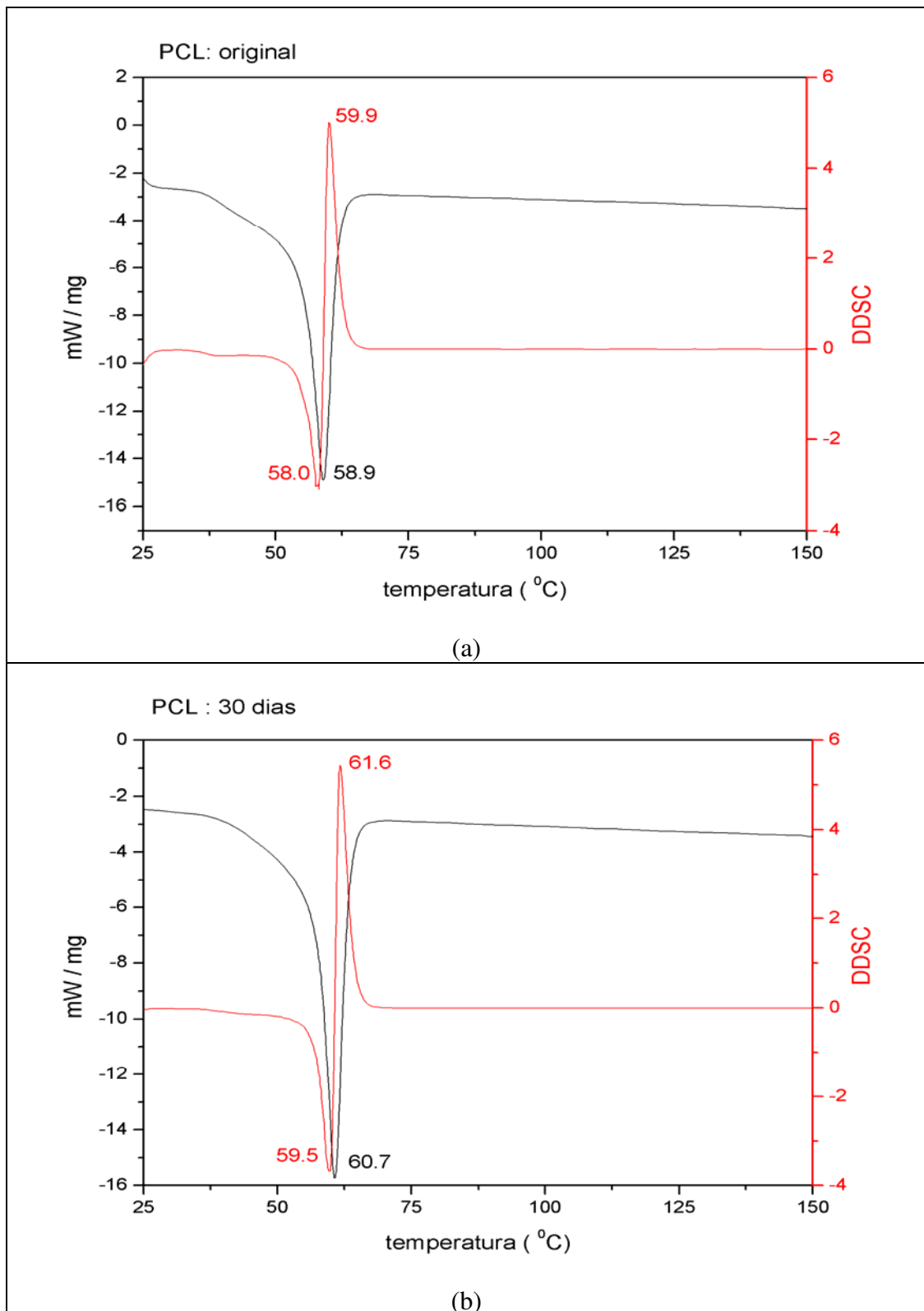


Figura B2 – DSC e DDSC: (a) PCL: original; (b) PCL: biotratado 30 dias;

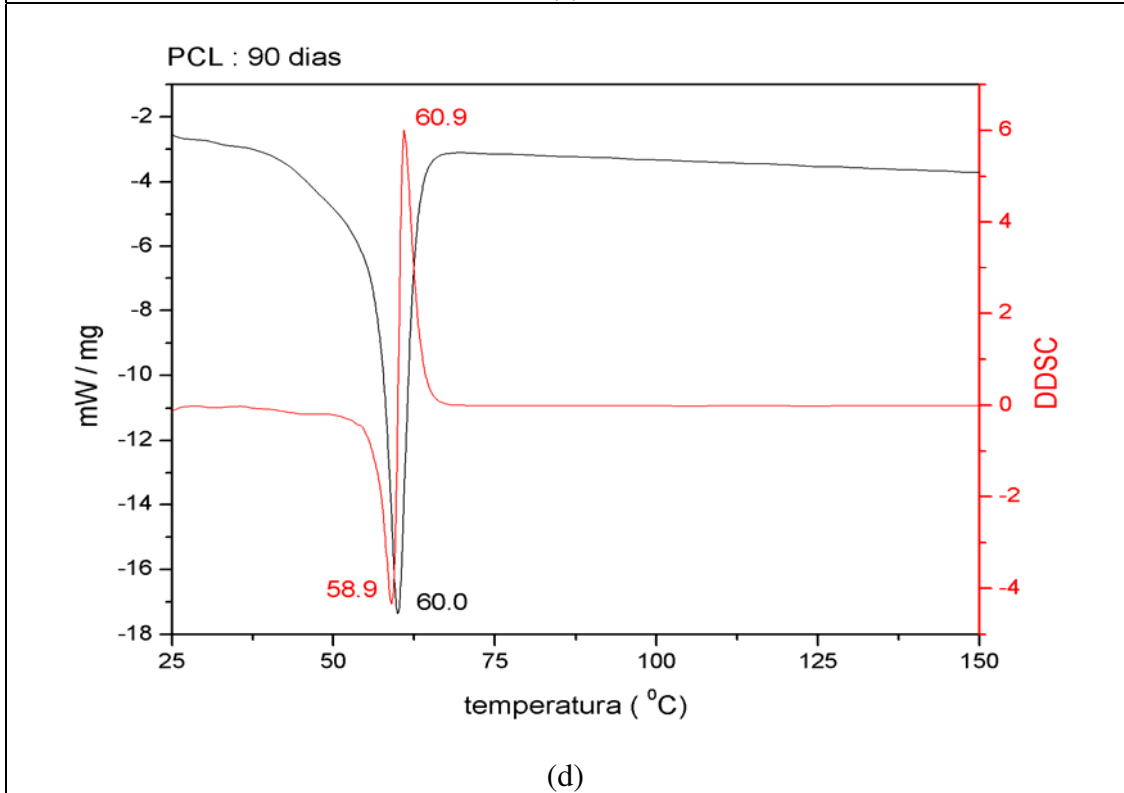
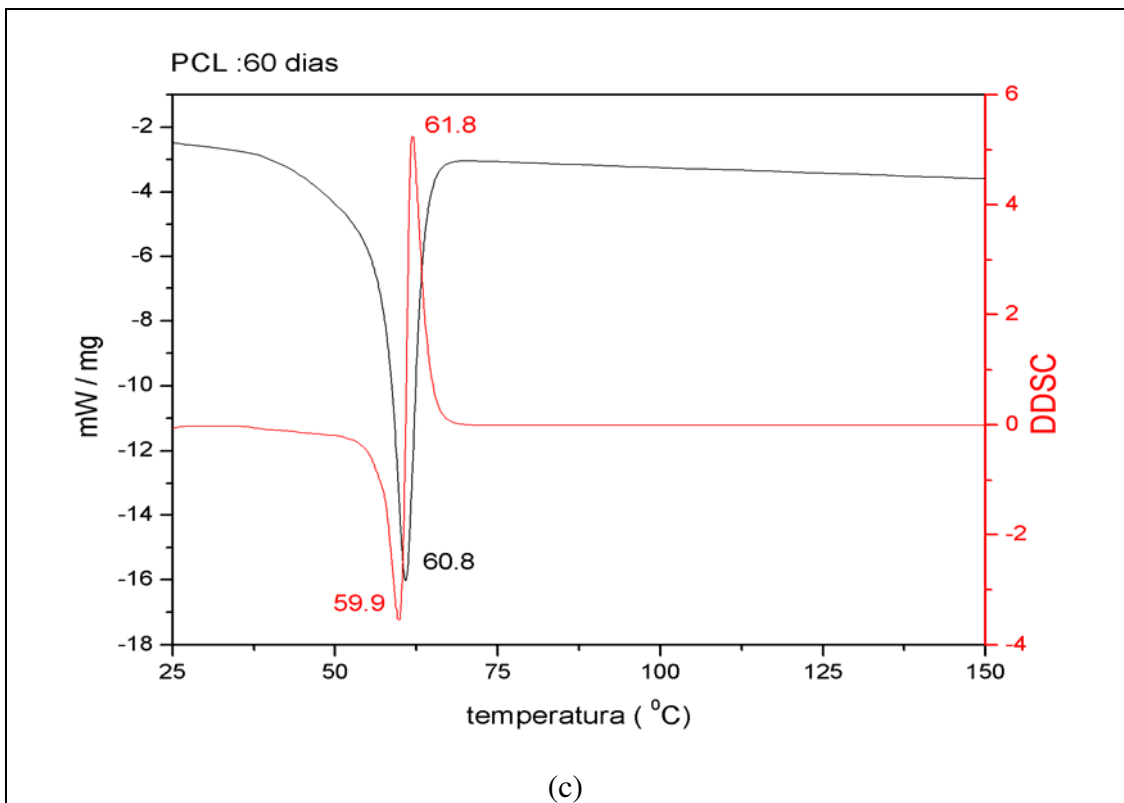


Figura B2 – DSC e DDSC: (c) PCL: biotratado 60 dias; (d) PCL: biotratado 90 dias;

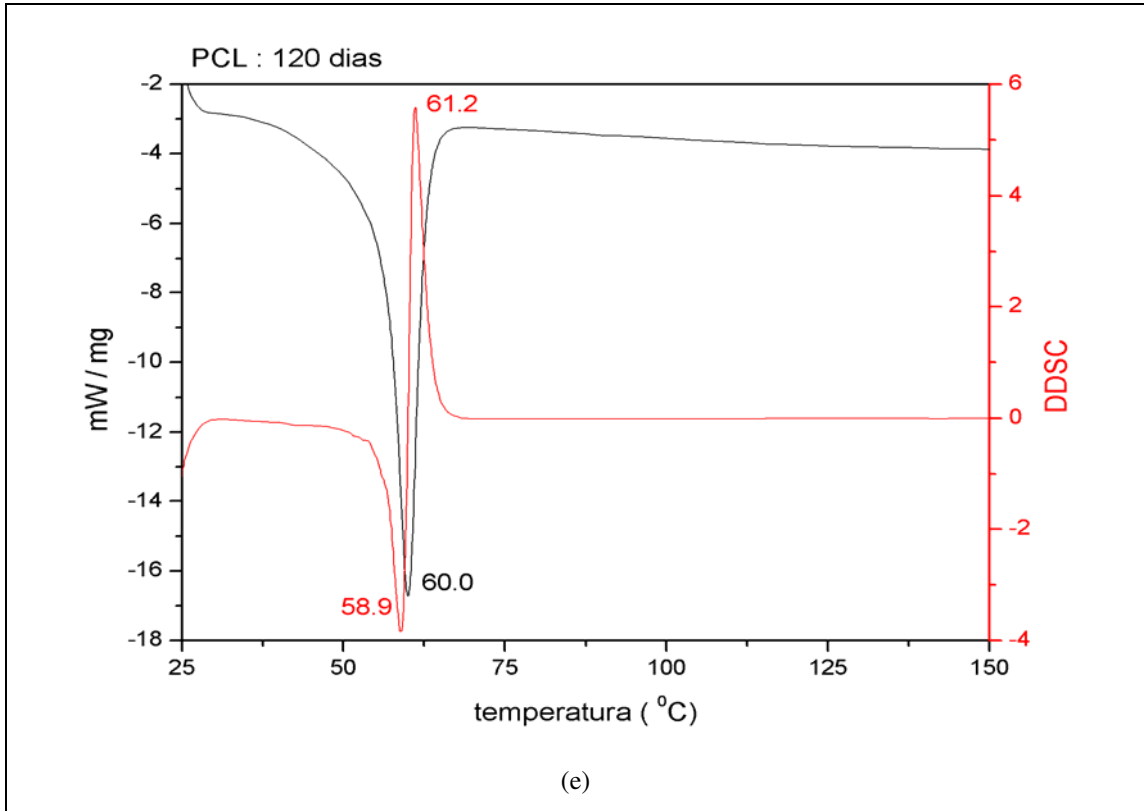


Figura B2 – DSC e DDSC: (e) PCL: biotratado 120 dias.

TG / DTG

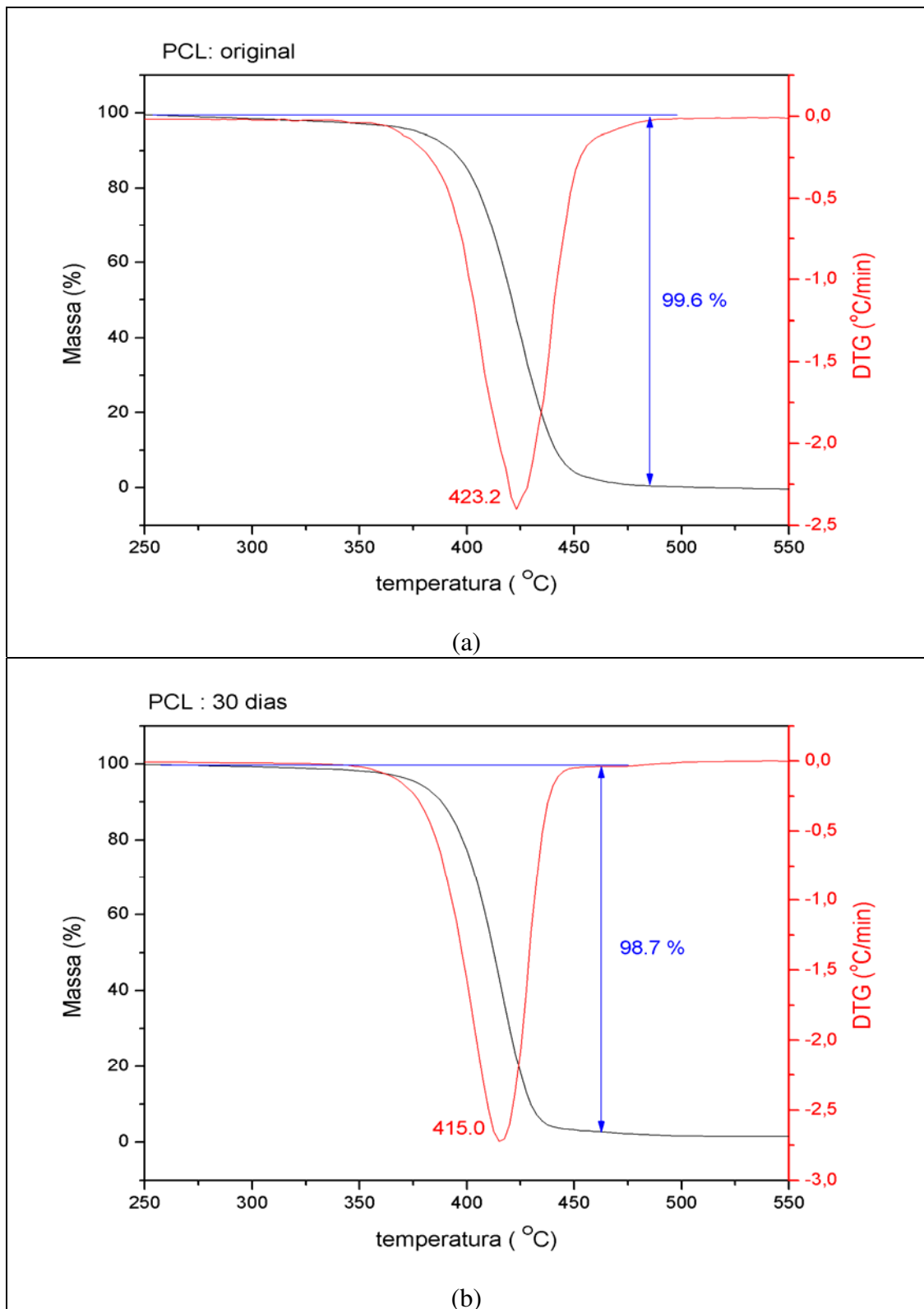


Figura B3 – TG e DTG: (a) PCL: original; (b) PCL: biotratado 30 dias;

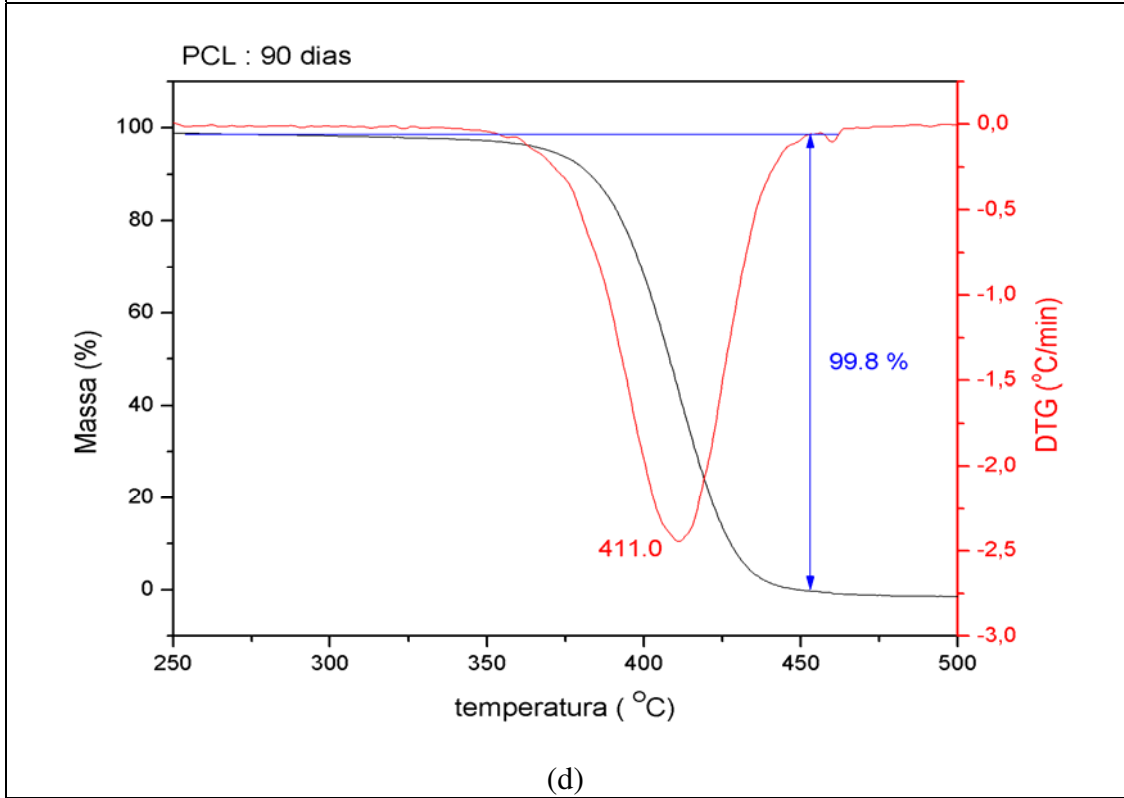
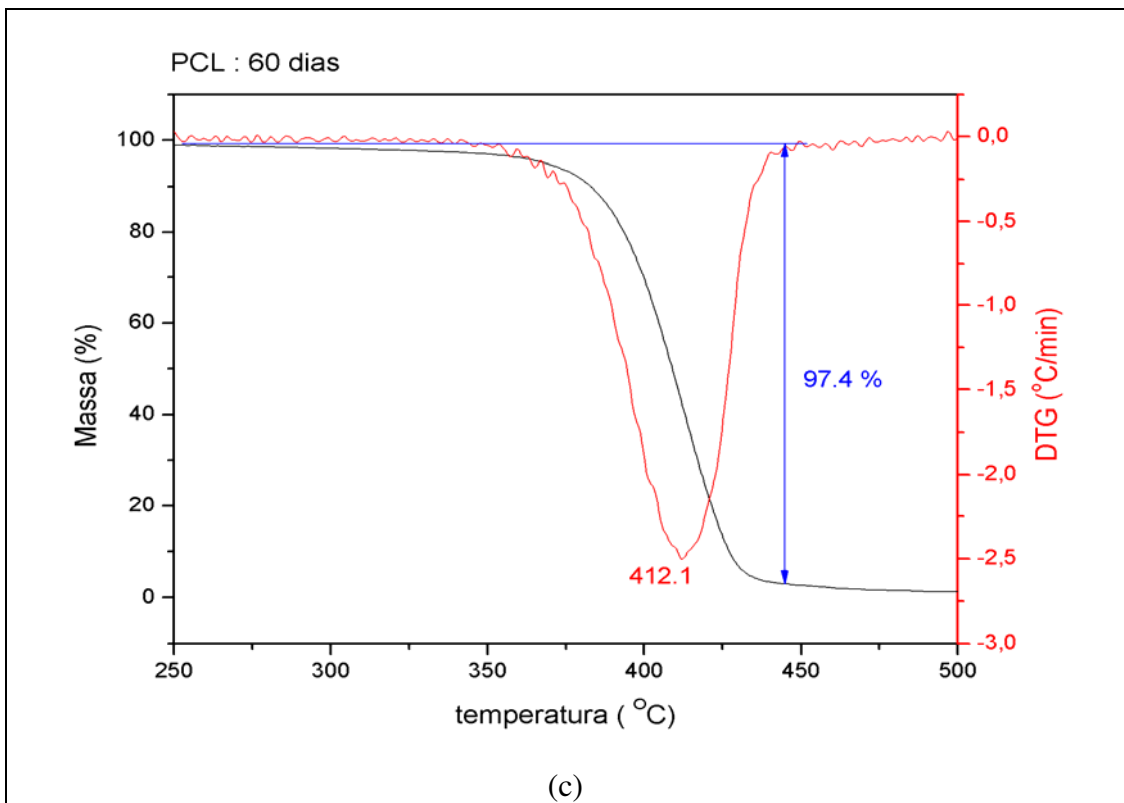


Figura B3 – TG e DTG: (c) PCL: biotratado 60 dias; (d) PCL: biotratado 90 dias;

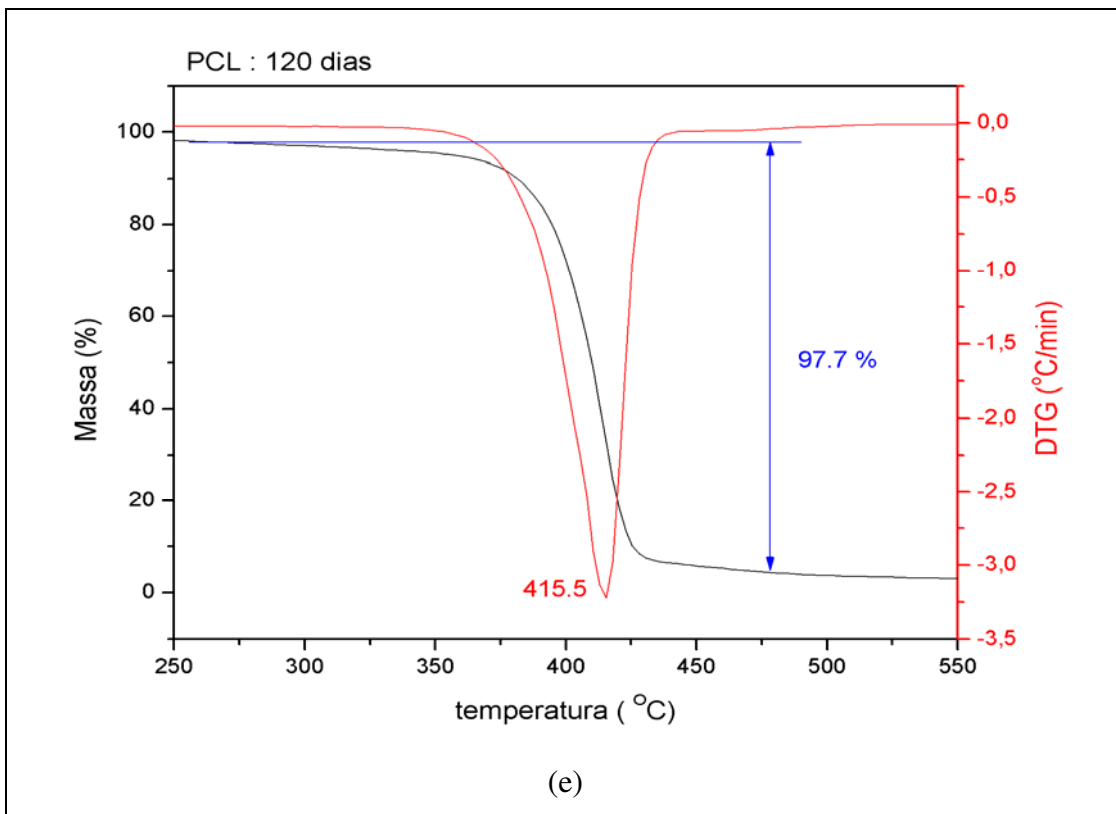


Figura B3 – TG e DTG: (e) PCL: biotratado 120 dias.

Apêndice C – PCL/PHB-V (4:1)

FTIR

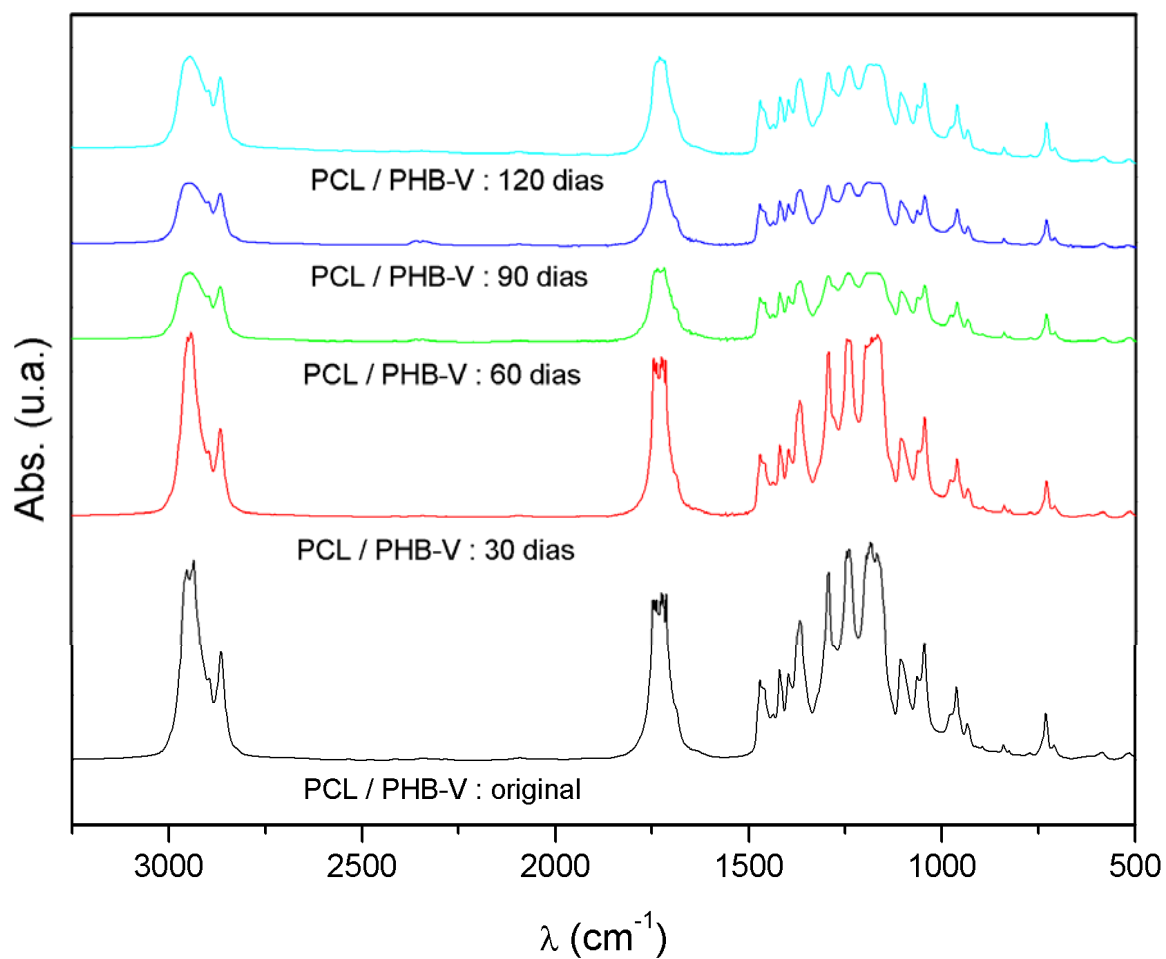


Figura C1 - FTIR: PCL / PHB-V (4:1) original e biotratado em solo.

DSC / DDSC

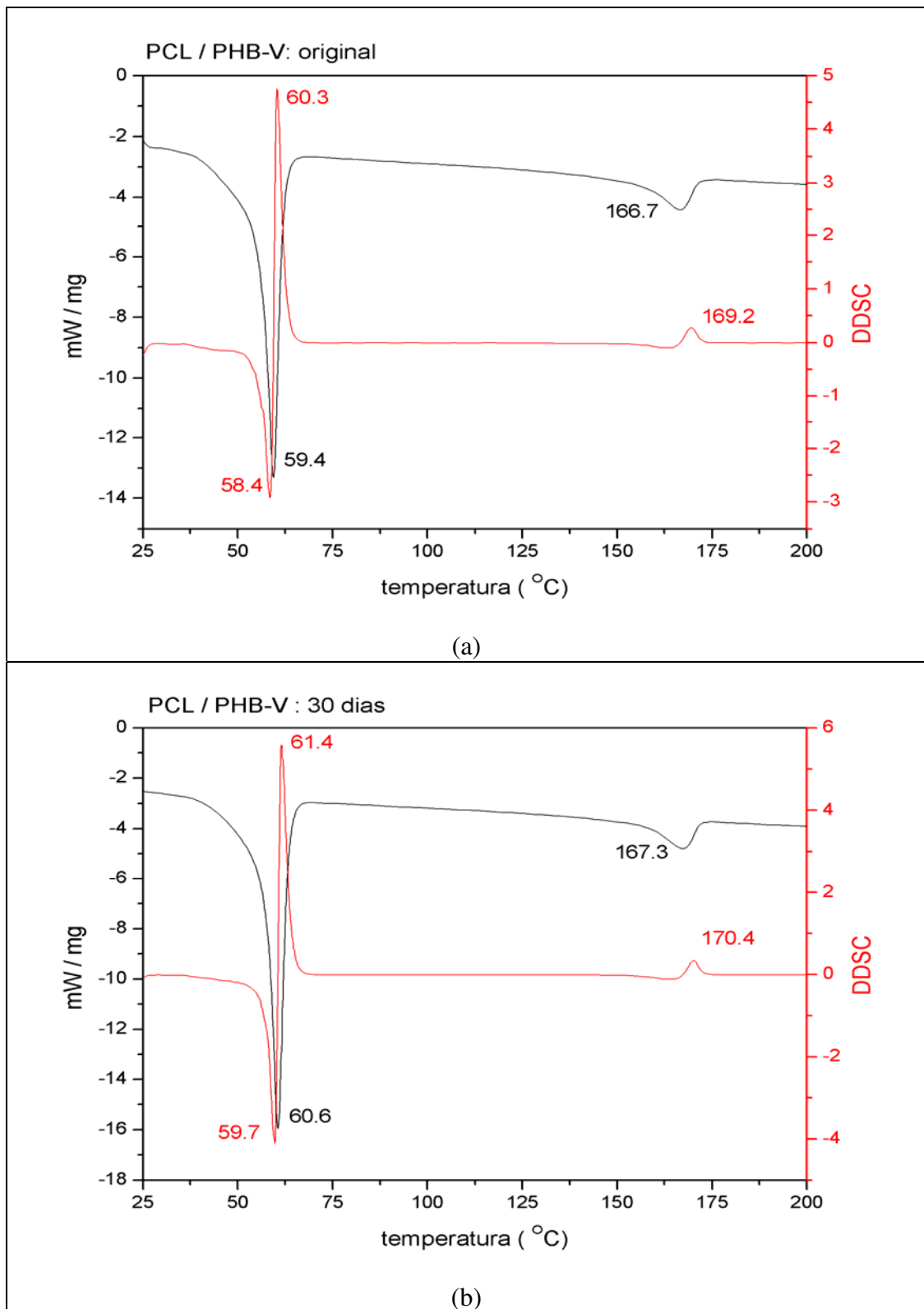


Figura C2 – DSC e DDSC: (a) PCL/PHB-V (4:1): original; (b) PCL/PHB-V (4:1): biotratado 30 dias;

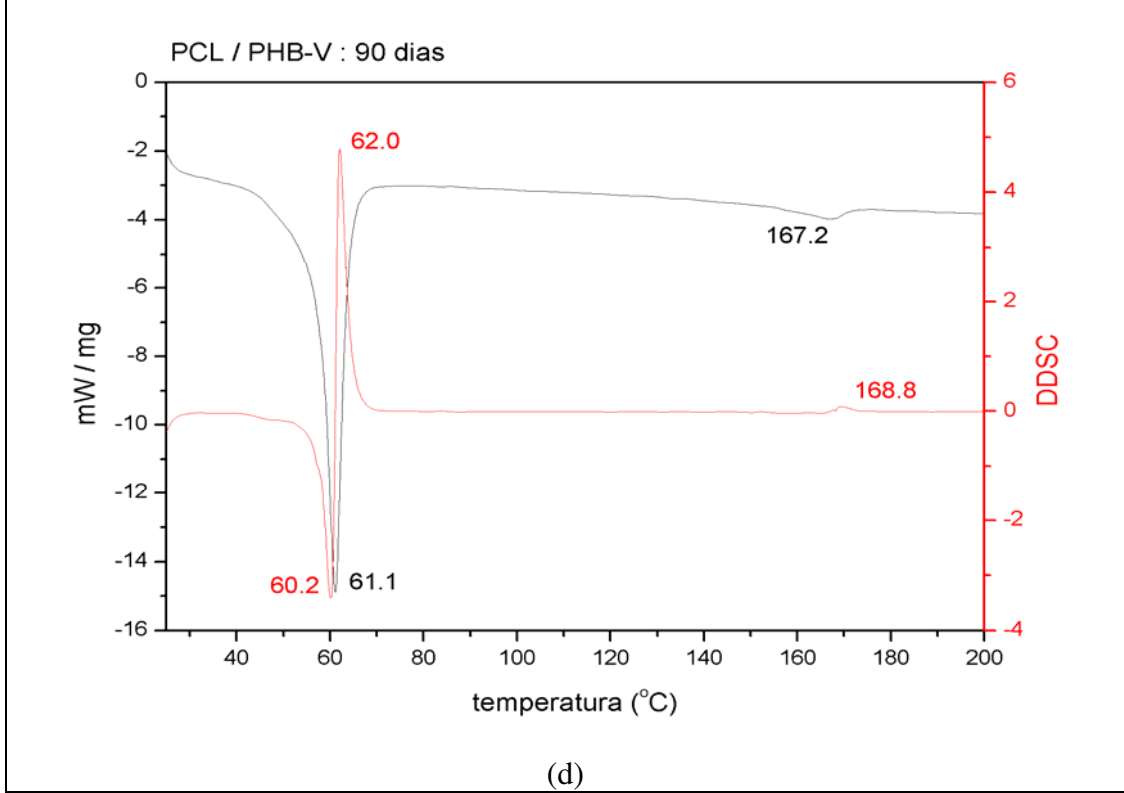
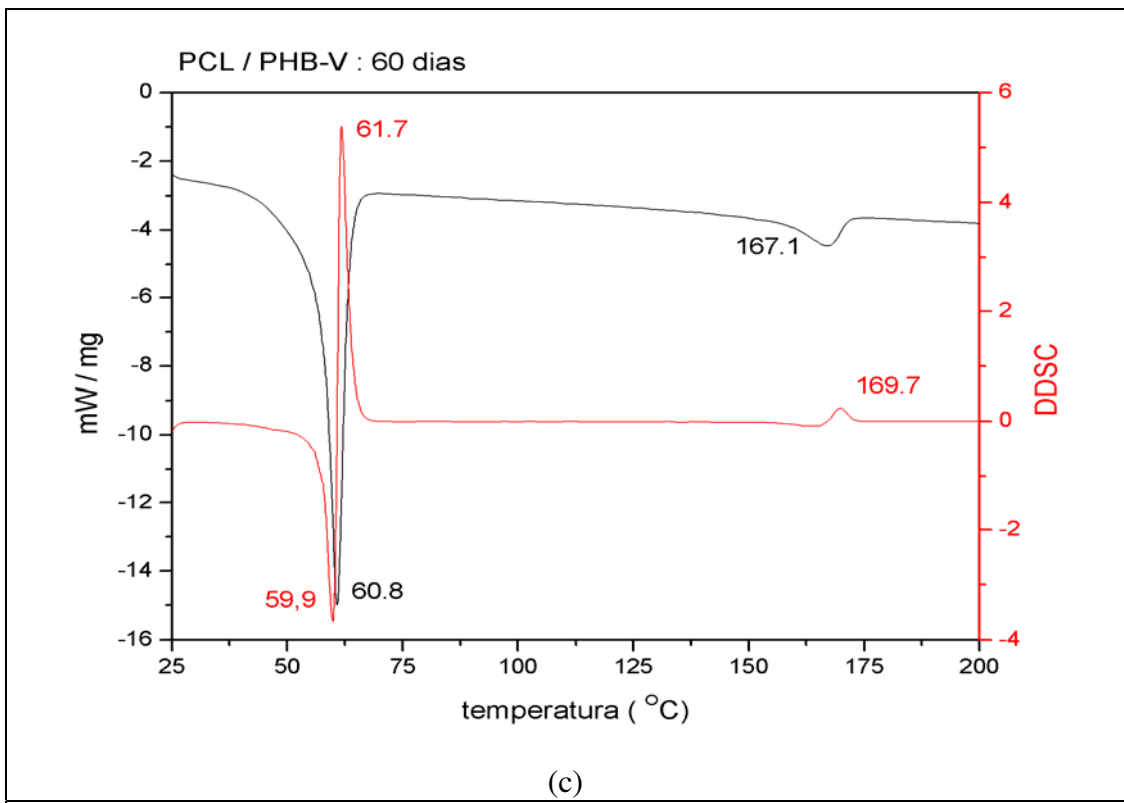


Figura C2 – DSC e DDSC: (c) PCL/PHB-V (4:1): biotratado 60 dias; (d) PCL/PHB-V (4:1): biotratado 90 dias;

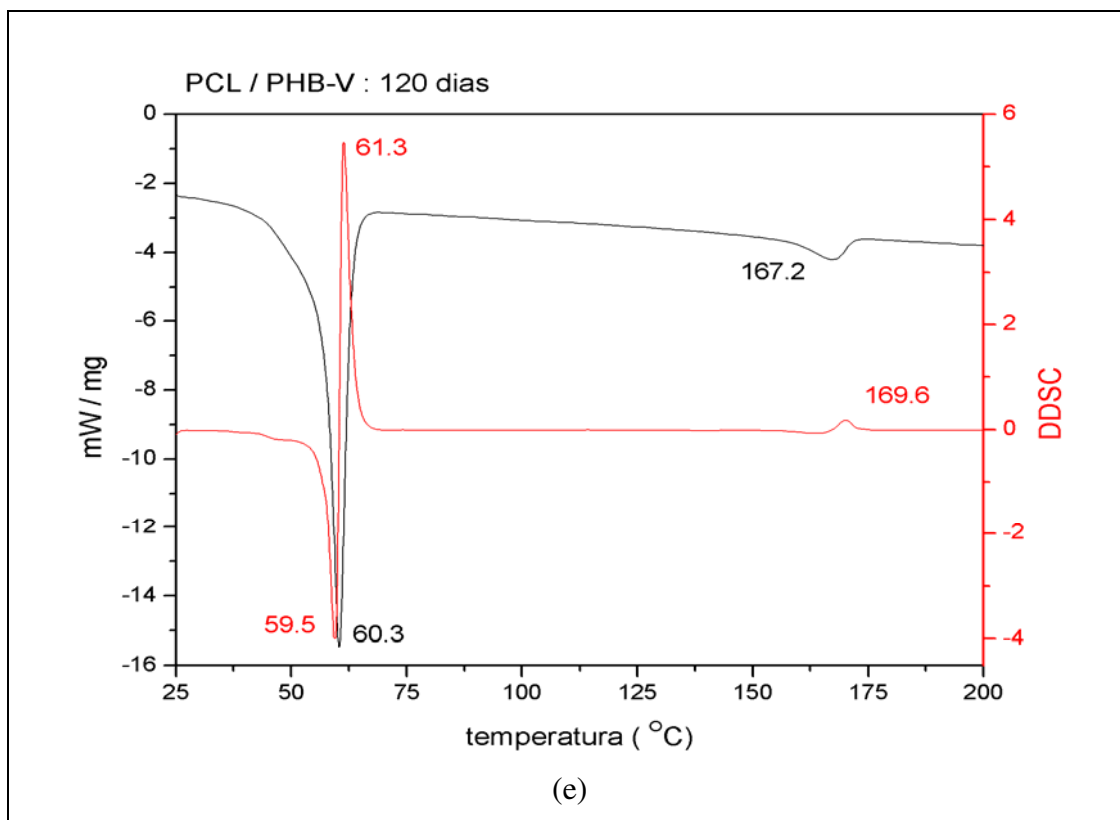


Figura C2 – DSC e DDSC: (e) PCL/PHB-V (4:1): biotratado 120 dias.

TG / DTG

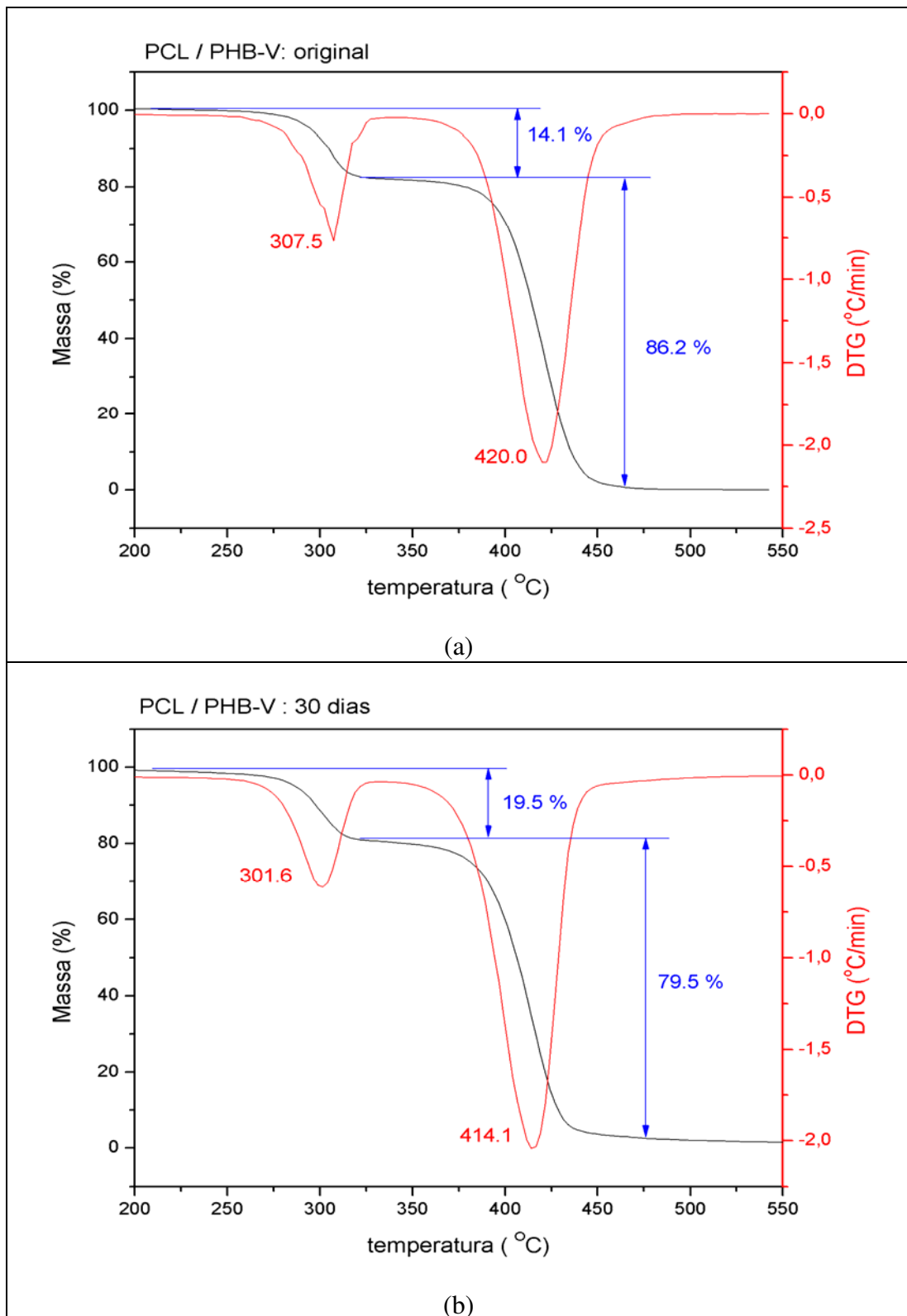


Figura C3 – TG e DTG: (a) PCL/PHB-V (4:1): original; (b) PCL/PHB-V (4:1): biotratado 30 dias;

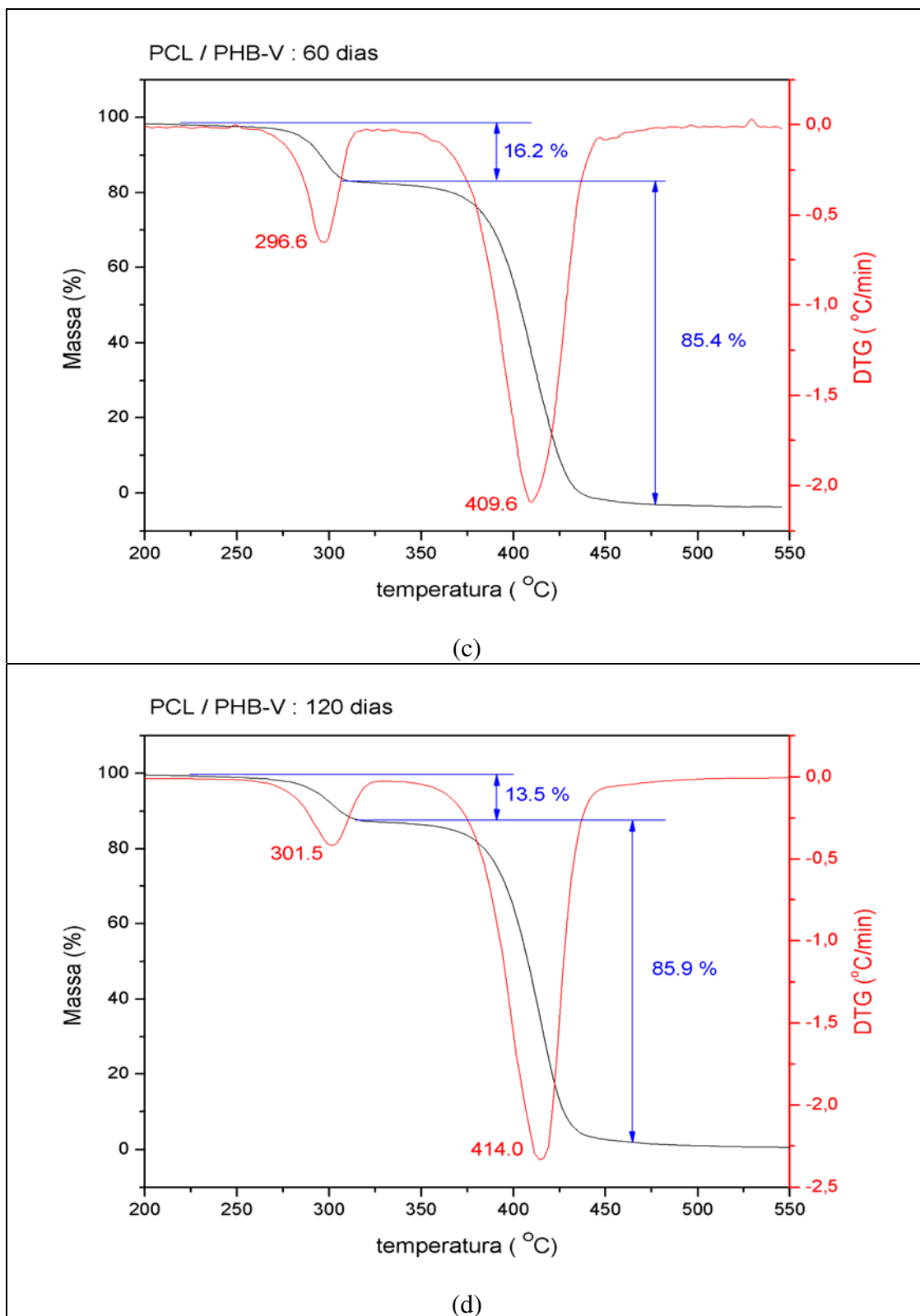


Figura C3 – TG e DTG: (c) PCL/PHB-V (4:1): biotratado 60 dias; (d) PCL/PHB-V (4:1): biotratado 120 dias.

Apêndice D – PP

FTIR

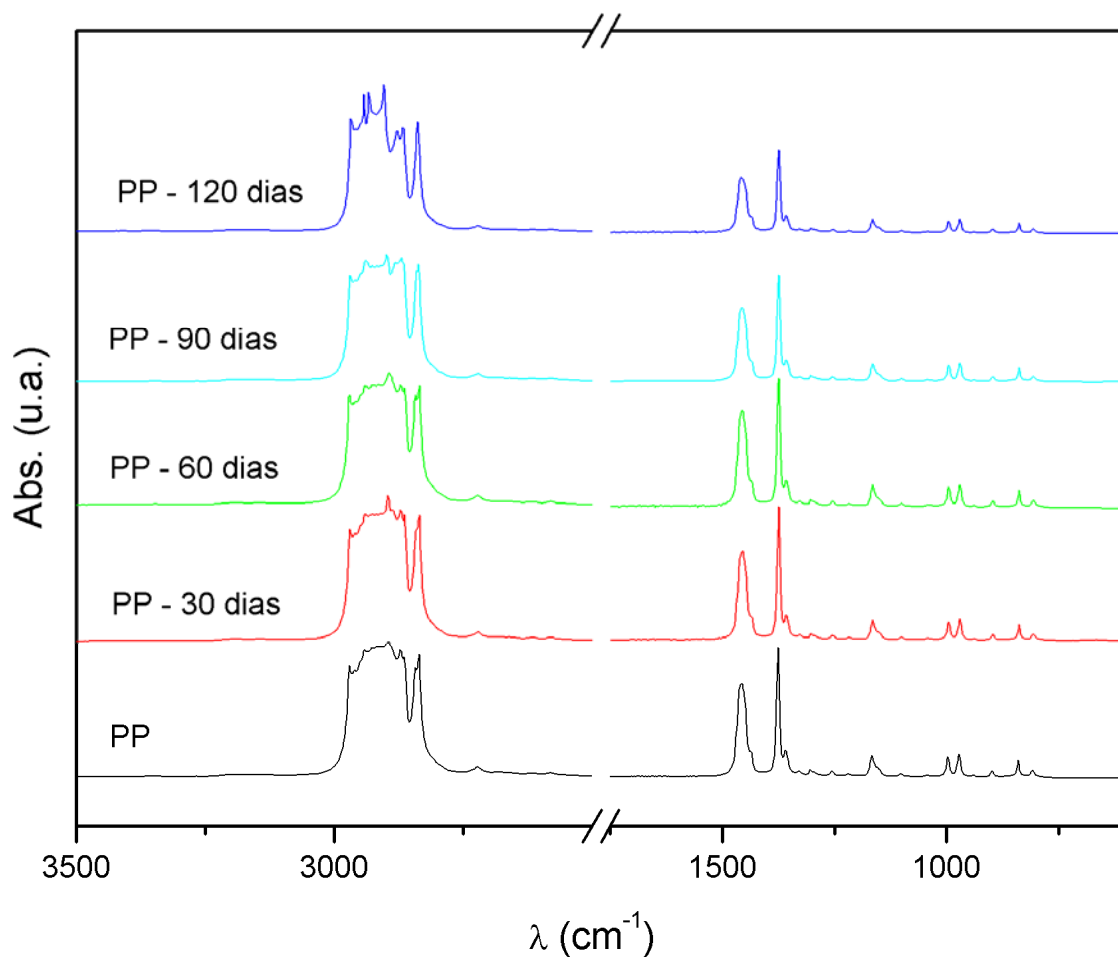


Figura D1 - Espectro de FTIR: PP original e biotratado em solo

DSC / DDSC

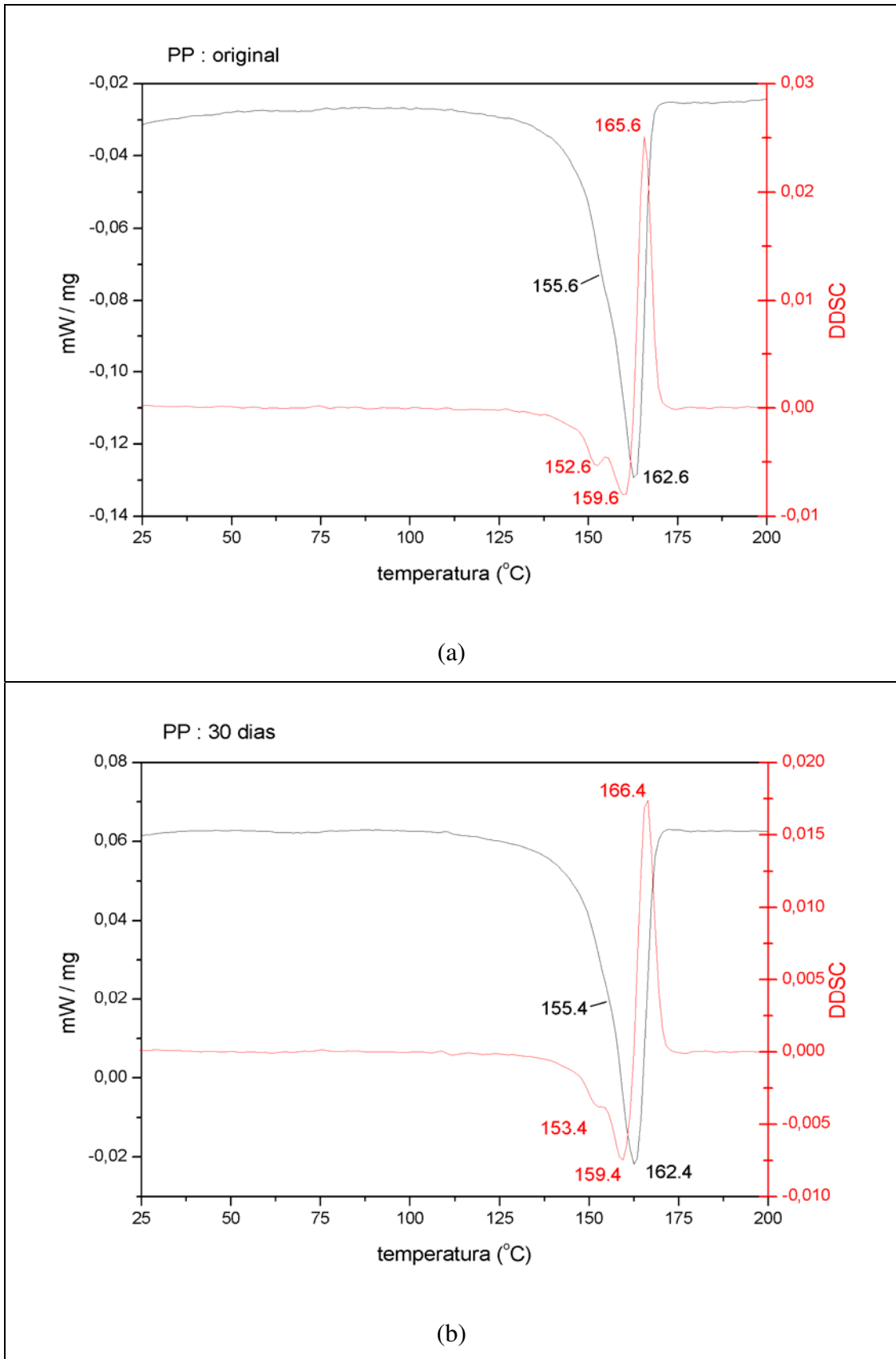


Figura D2 – DSC e DDSC: (a) PP: original; (b) PP: biotratado 30 dias;

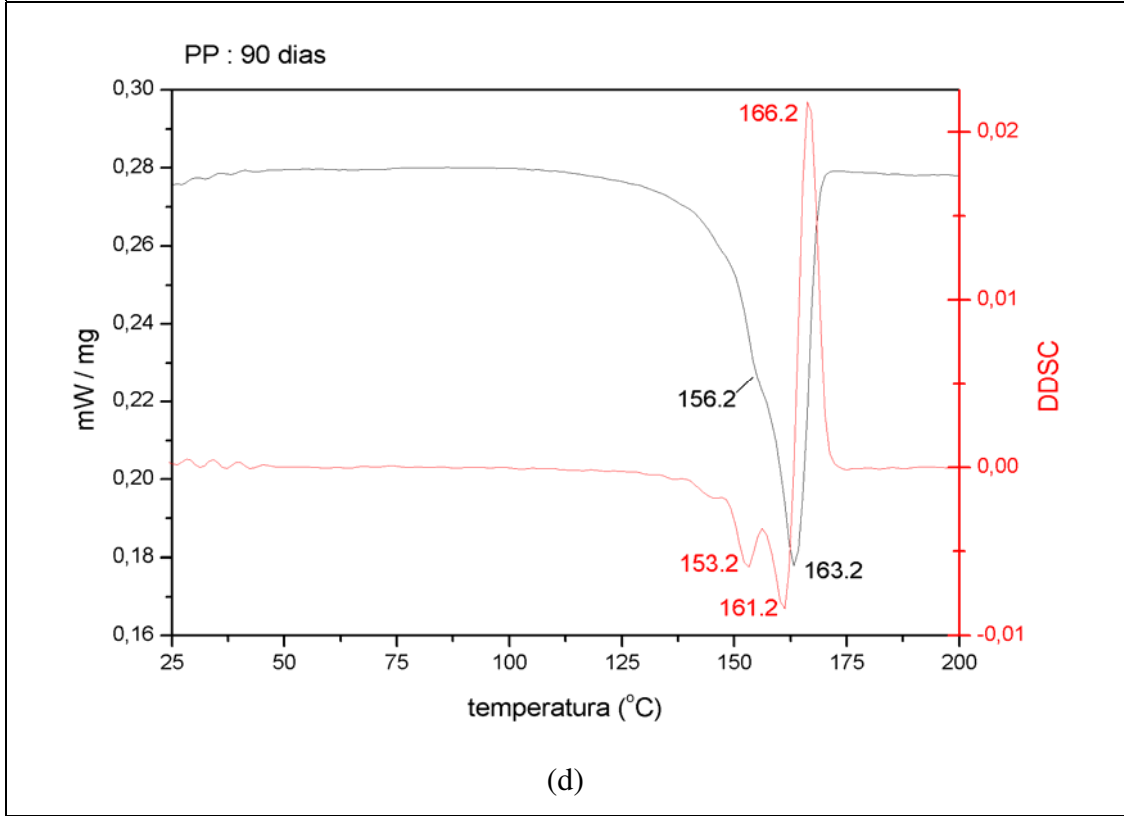
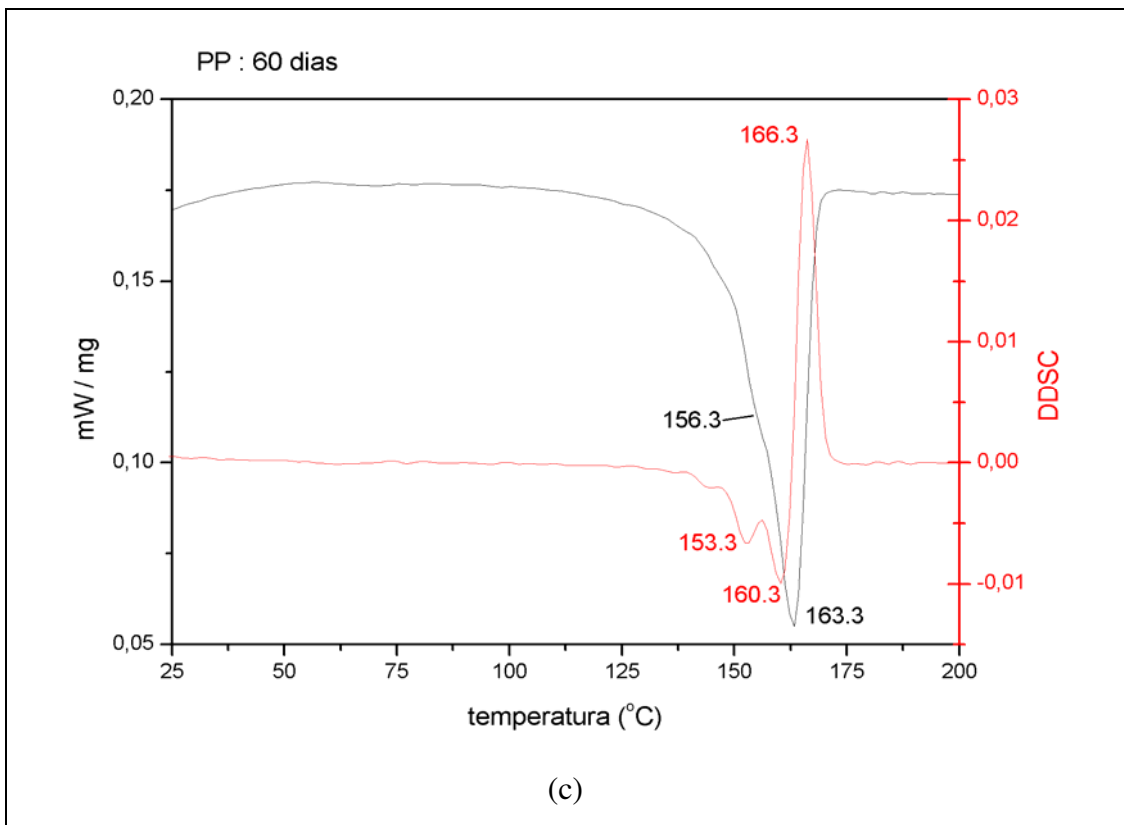


Figura D2 – DSC e DDSC: (c) PP: biotratado 60 dias; (d) PP: biotratado 90 dias;

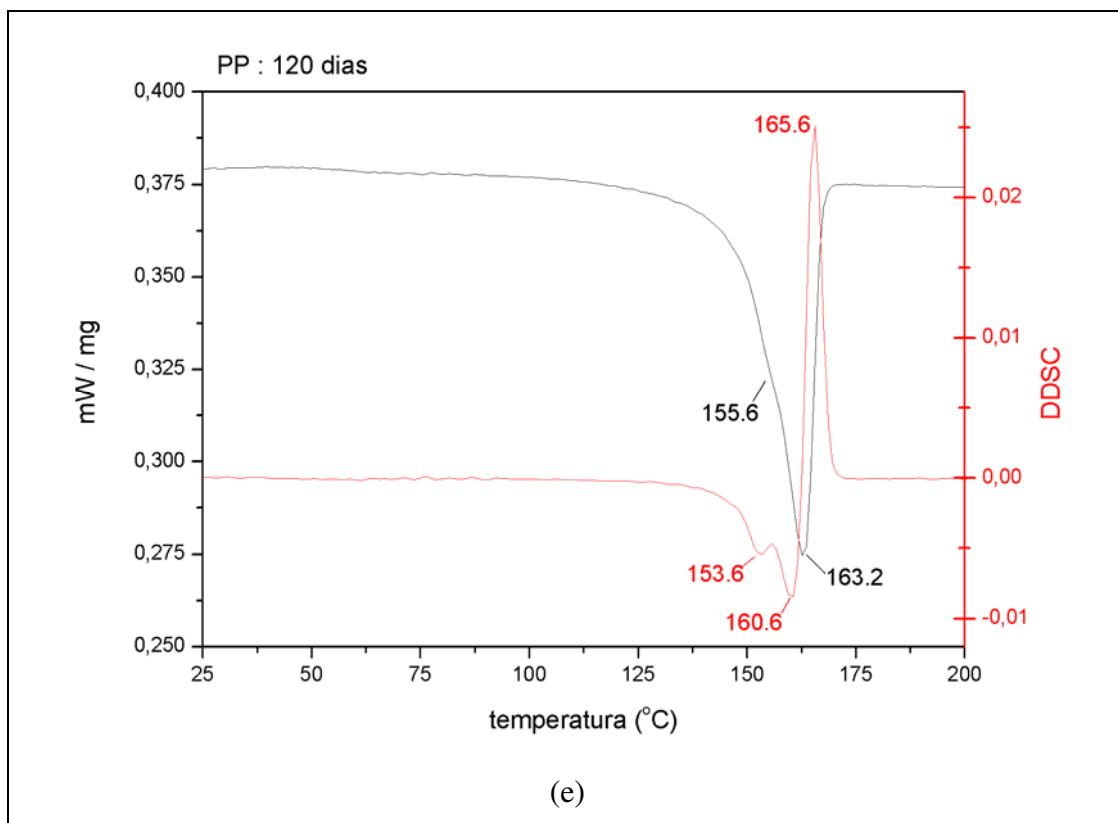


Figura D2 – DSC e DDSC: (e) PP: biotratado 120 dias.

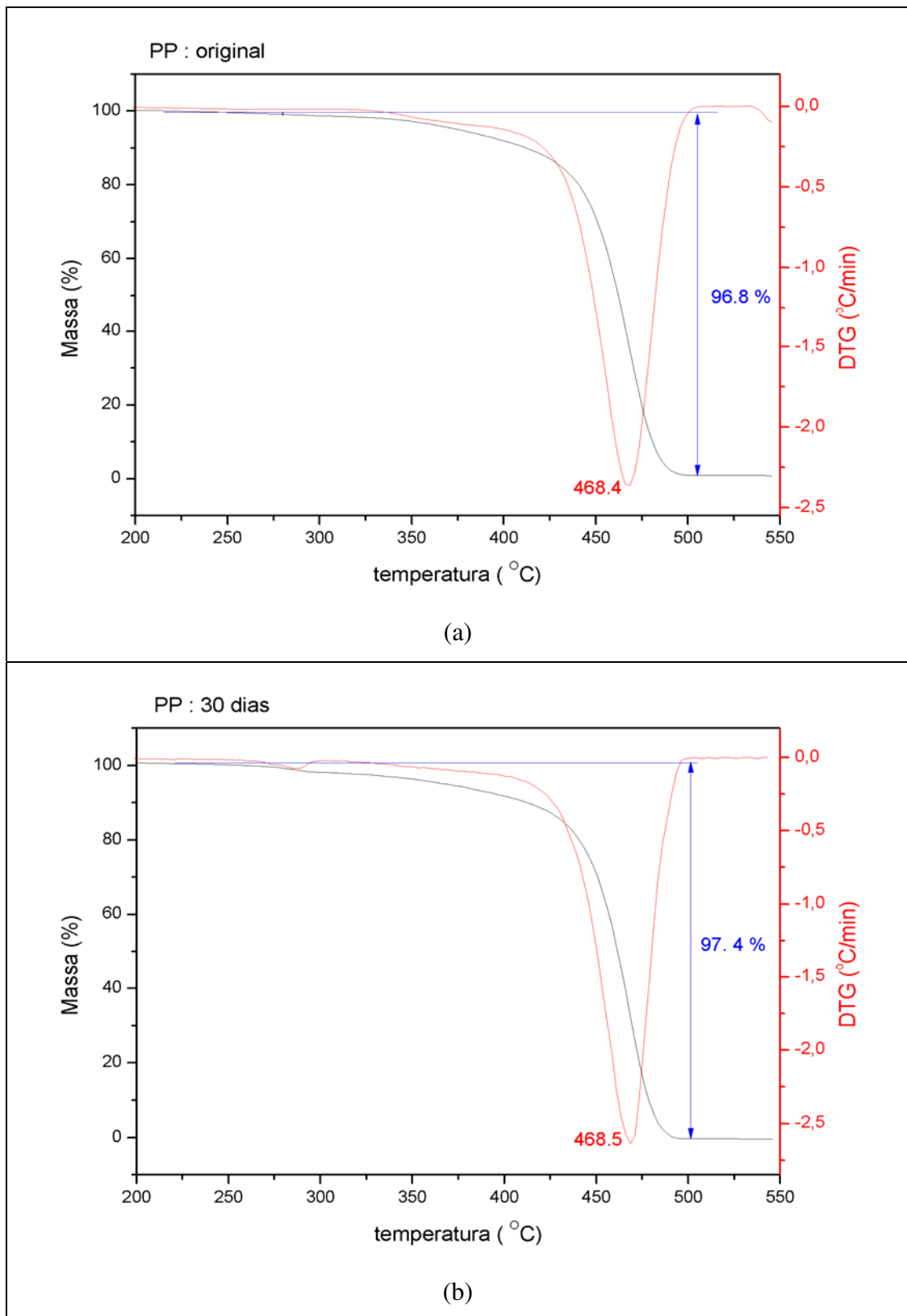


Figura D3 – TG e DTG: (a) PP: original; (b) PP: biotratado 30 dias;

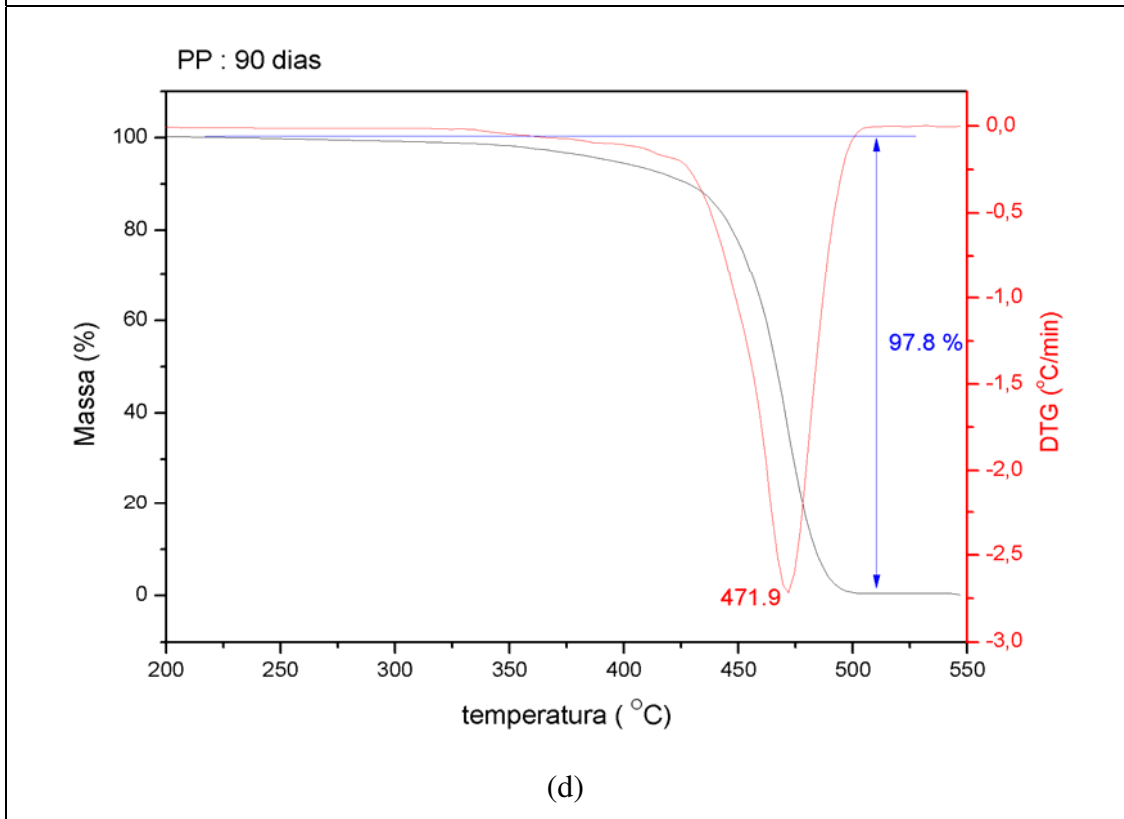
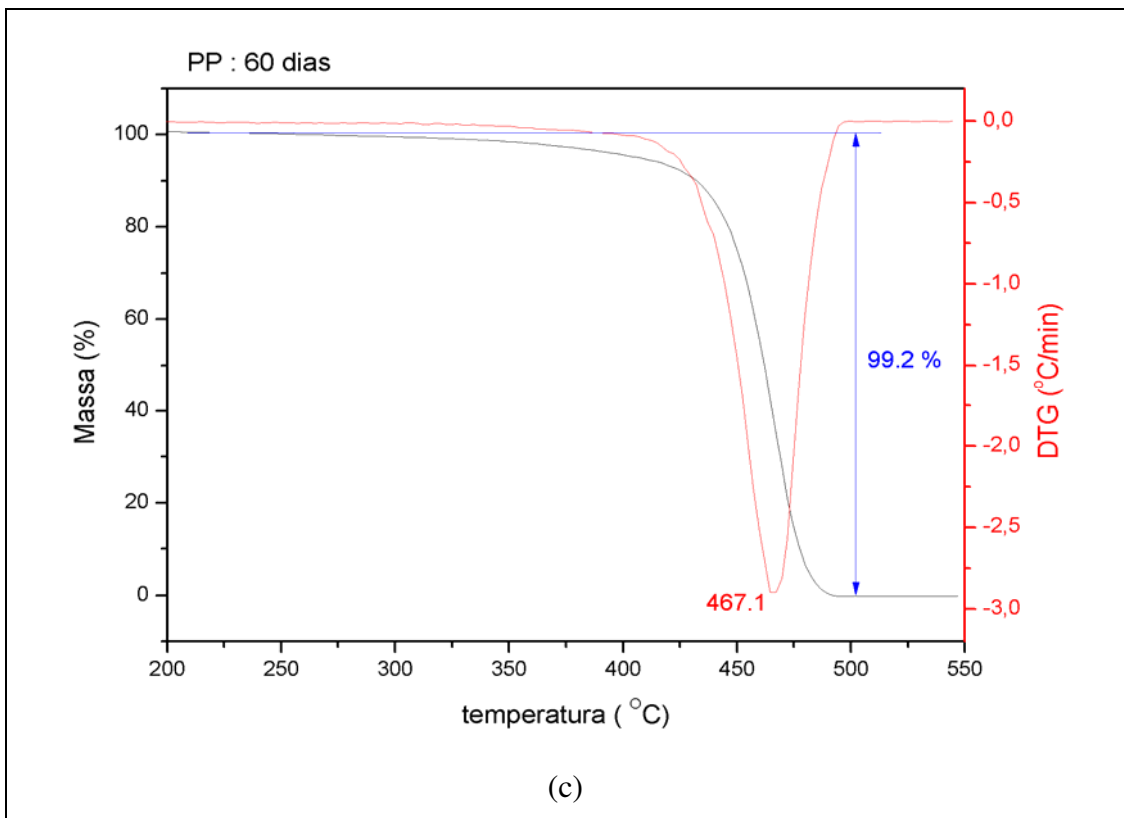


Figura D3 – TG e DTG: (c) PP: biotratado 60 dias; (d) PP: biotratado 90 dias;

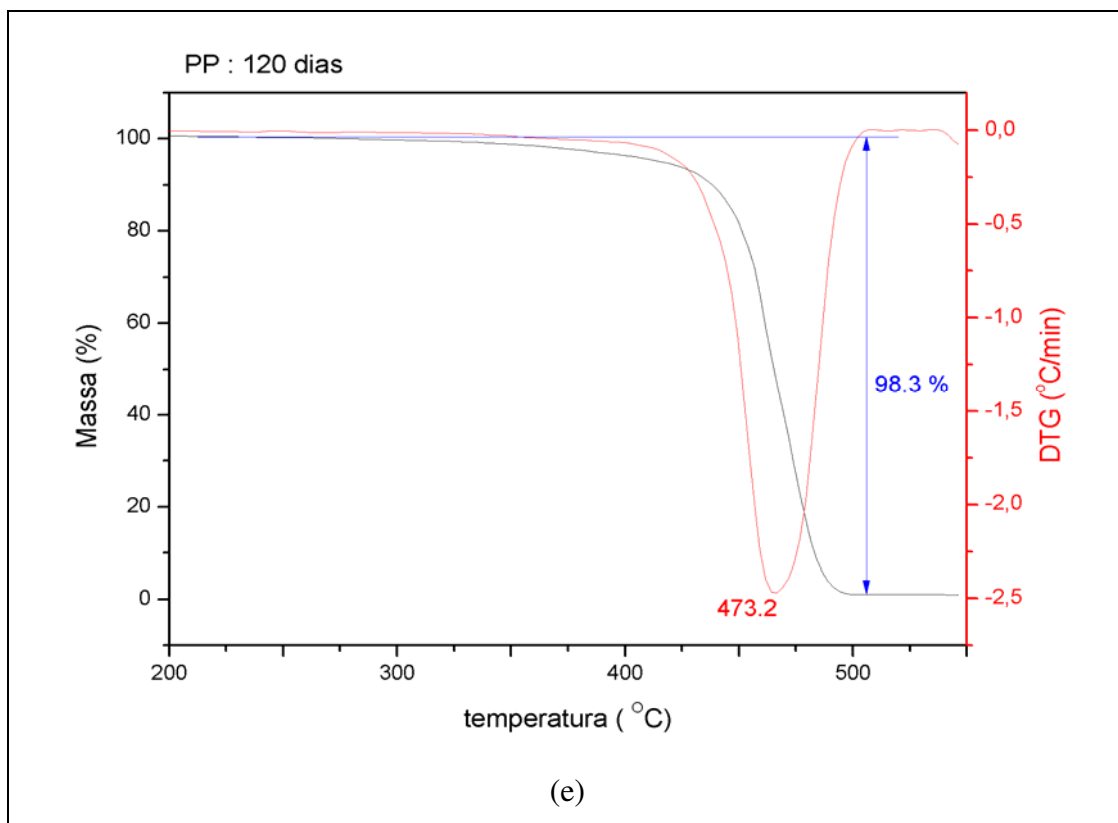


Figura D3 – TG e DTG: (e) PP: bitratado 120 dias.

Apêndice E – PP/PHB-V (4:1)

FTIR

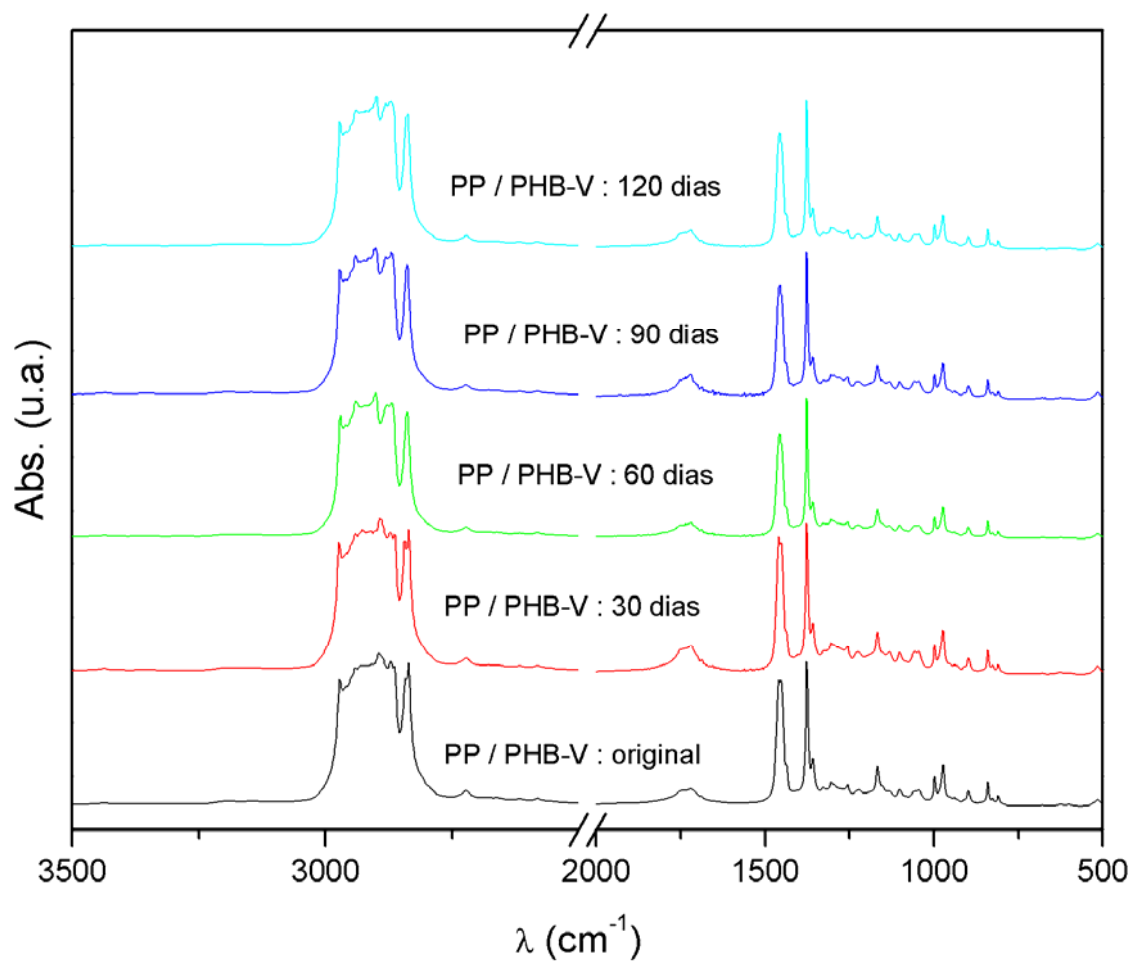


Figura E1 - Espectro de FTIR: PP/PHB-V (4:1) original e biotratado em solo

DSC / DDSC

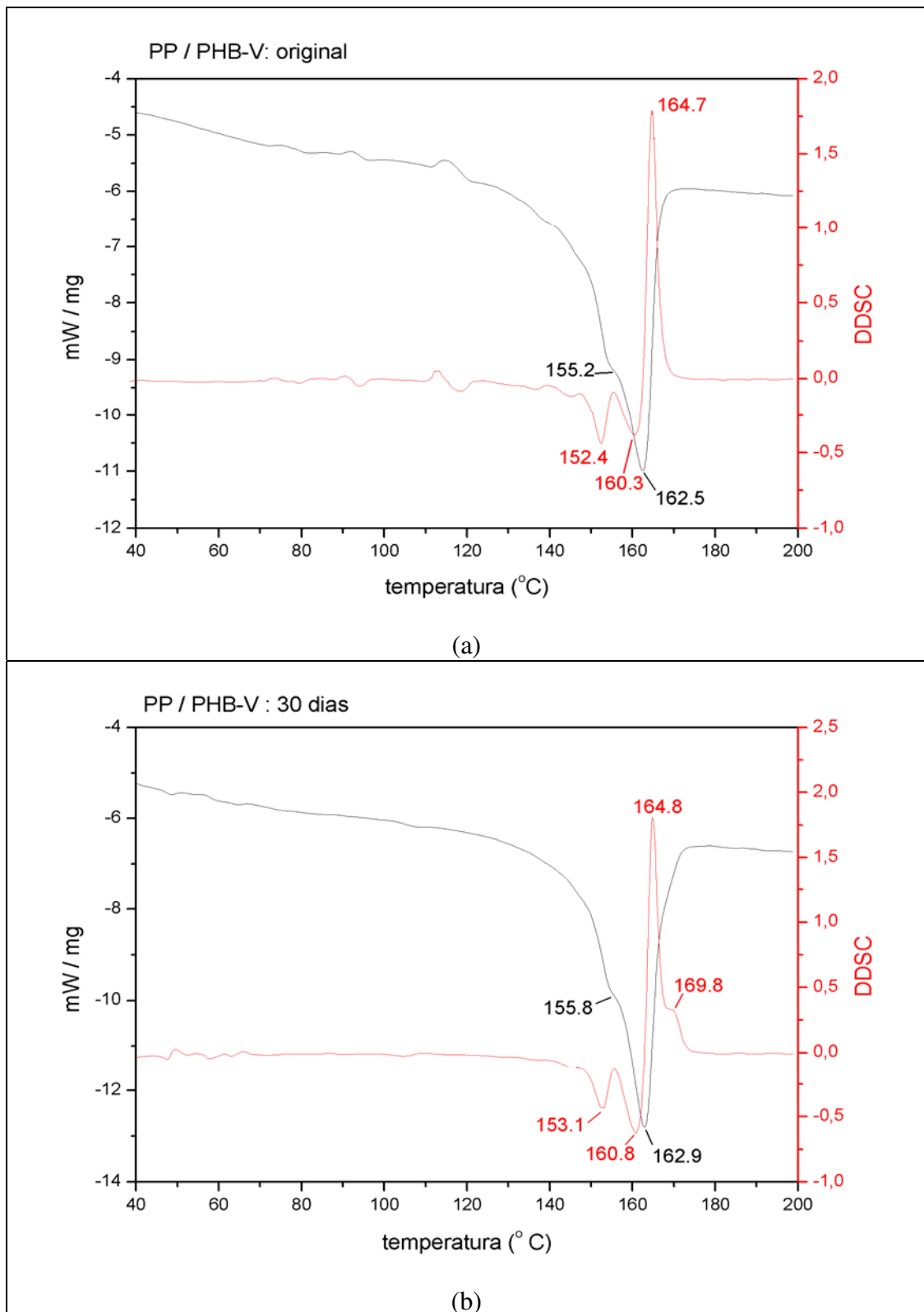


Figura E2 – DSC e DDSC: (a) PP/PHB-V (4:1): original; (b) PP/PHB-V (4:1): biotratado 30 dias;

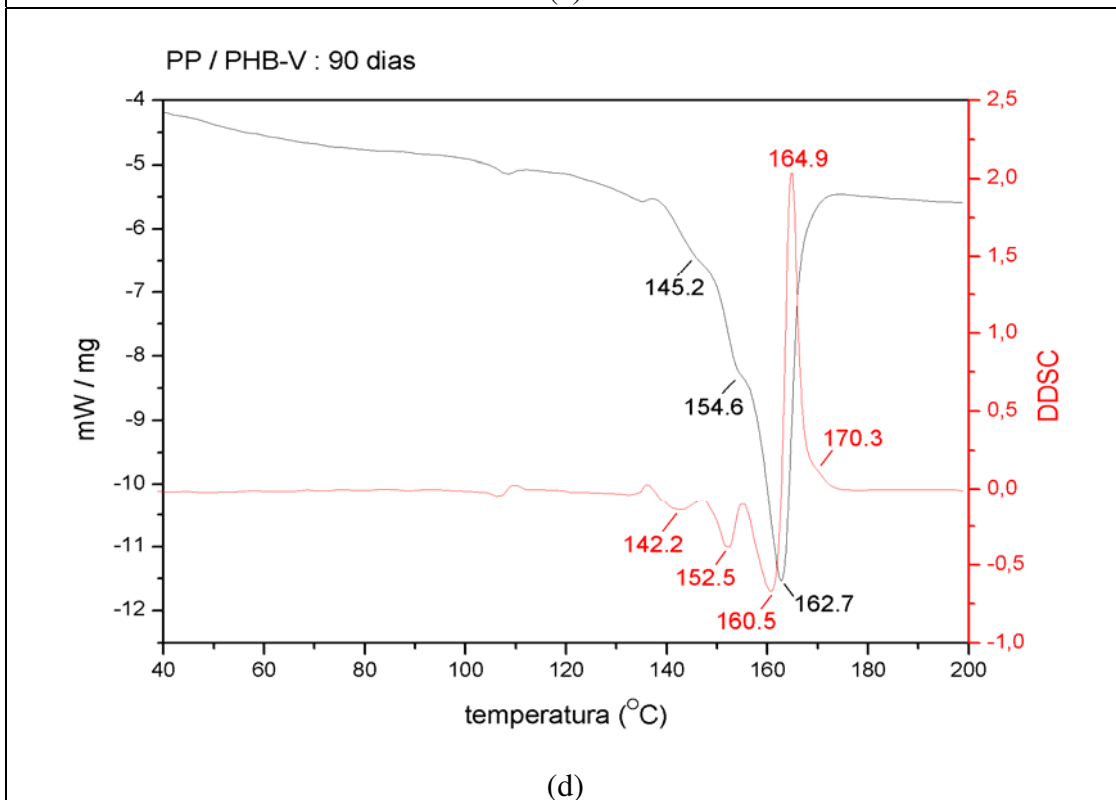
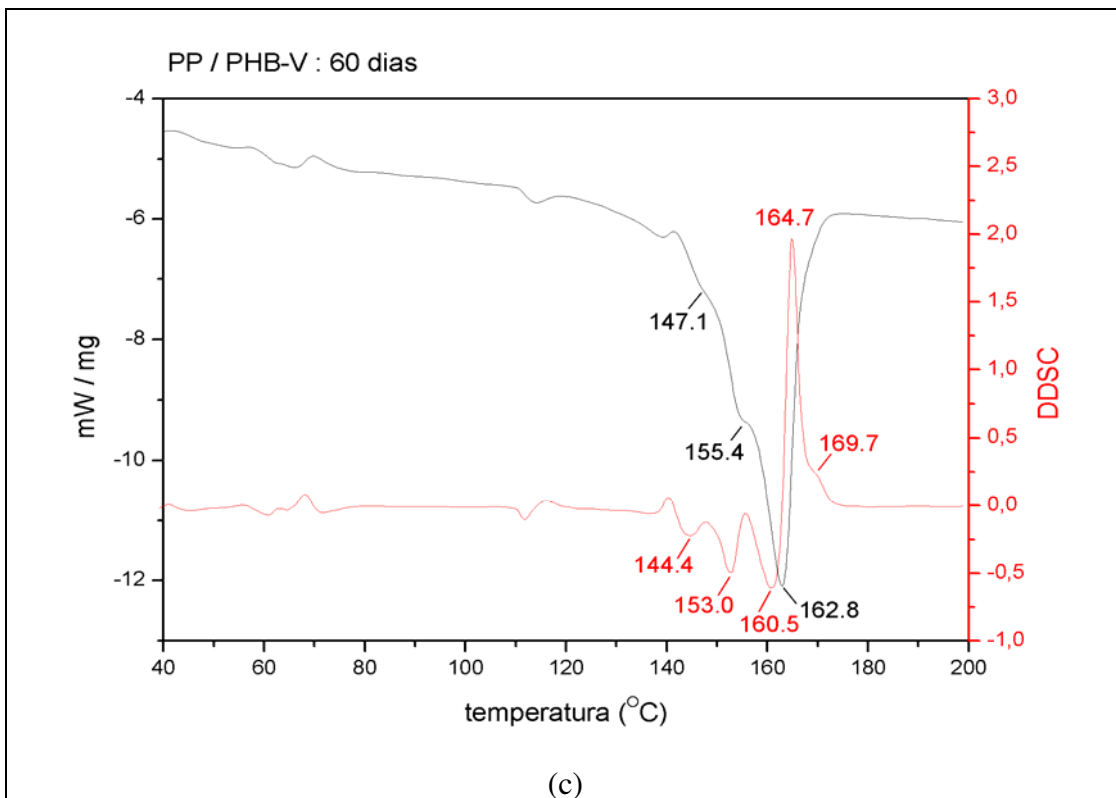


Figura E2 – DSC e DDSC: (c) PP/PHB-V (4:1): biotratado 60 dias; (d) PP/PHB-V (4:1): biotratado 90 dias;

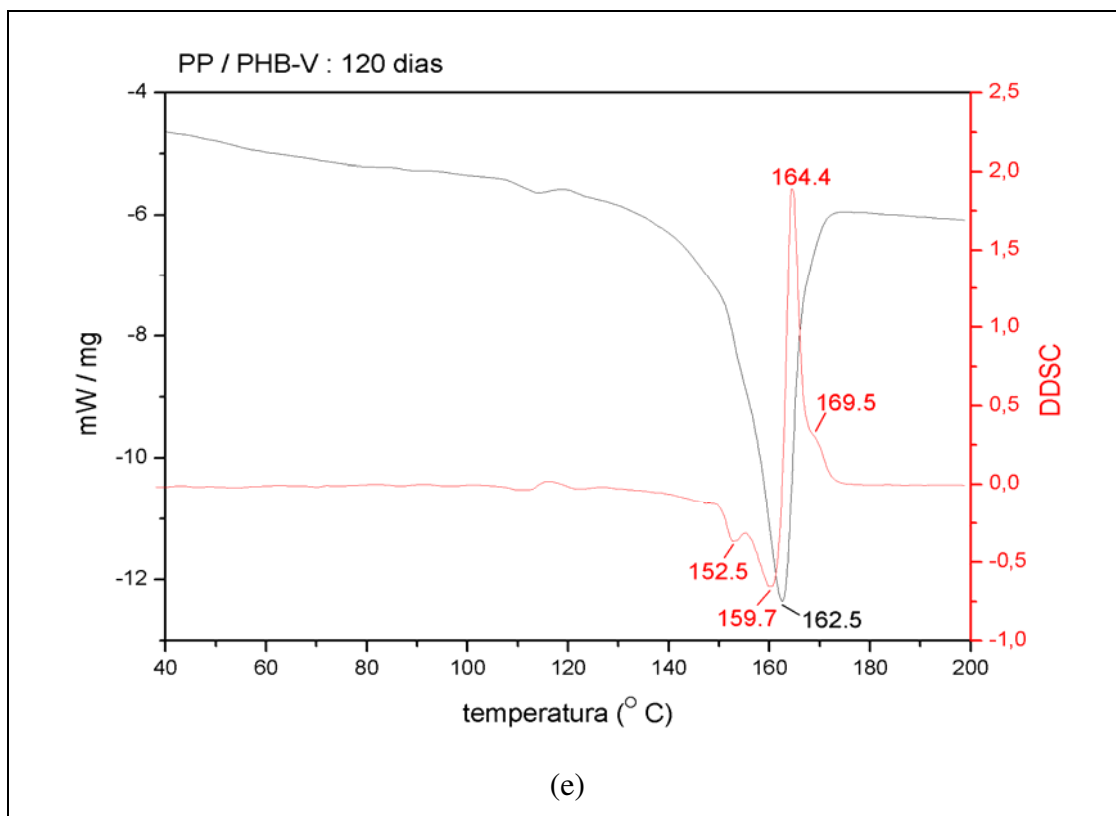


Figura E2 – DSC e DDSC: (e) PP/PHB-V (4:1): biotratado 120 dias.

TG / DTG

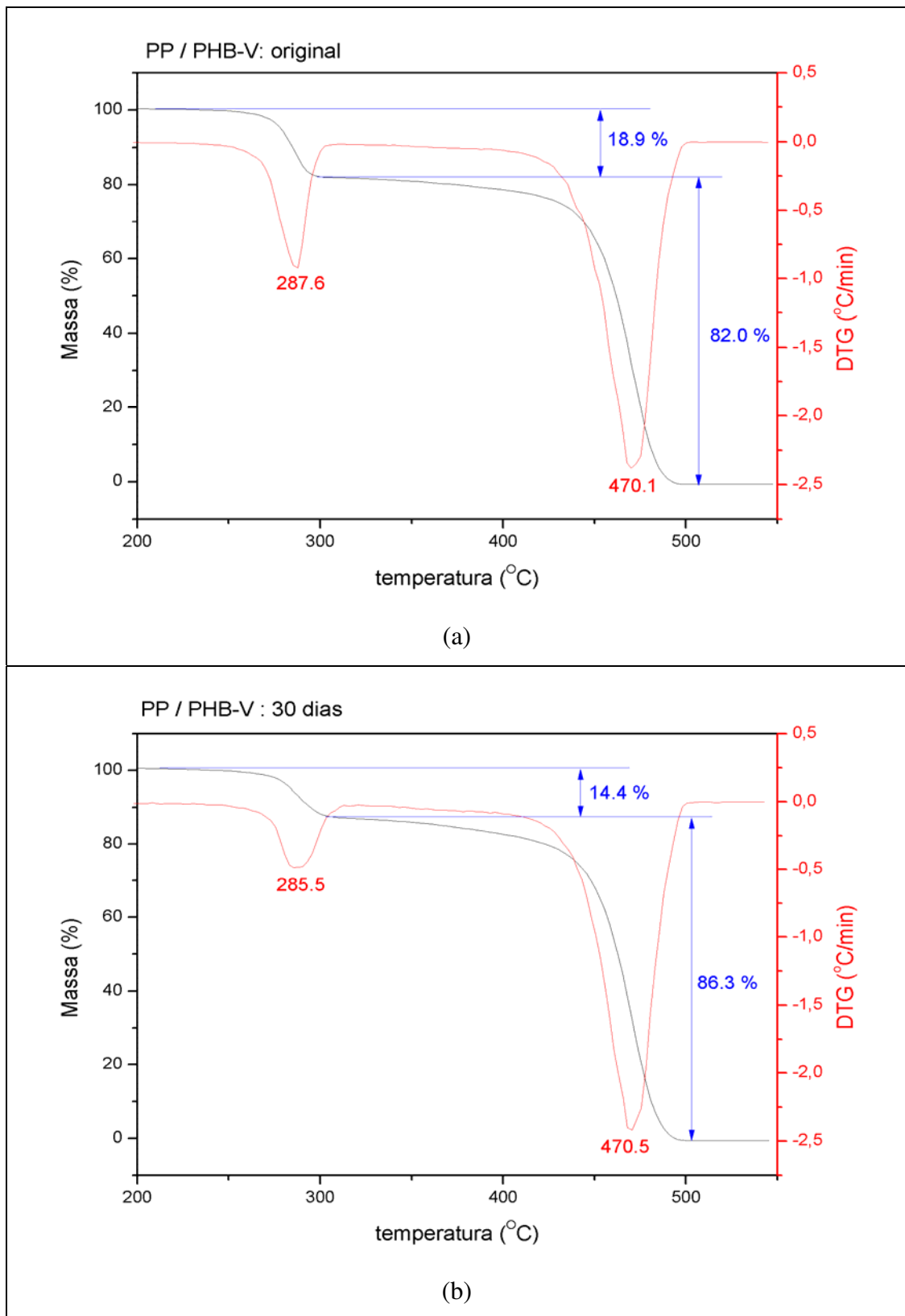


Figura E3 – TG e DTG: (a) PP/PHB-V (4:1): original; (b) PP/PHB-V (4:1): biotratado 30 dias;

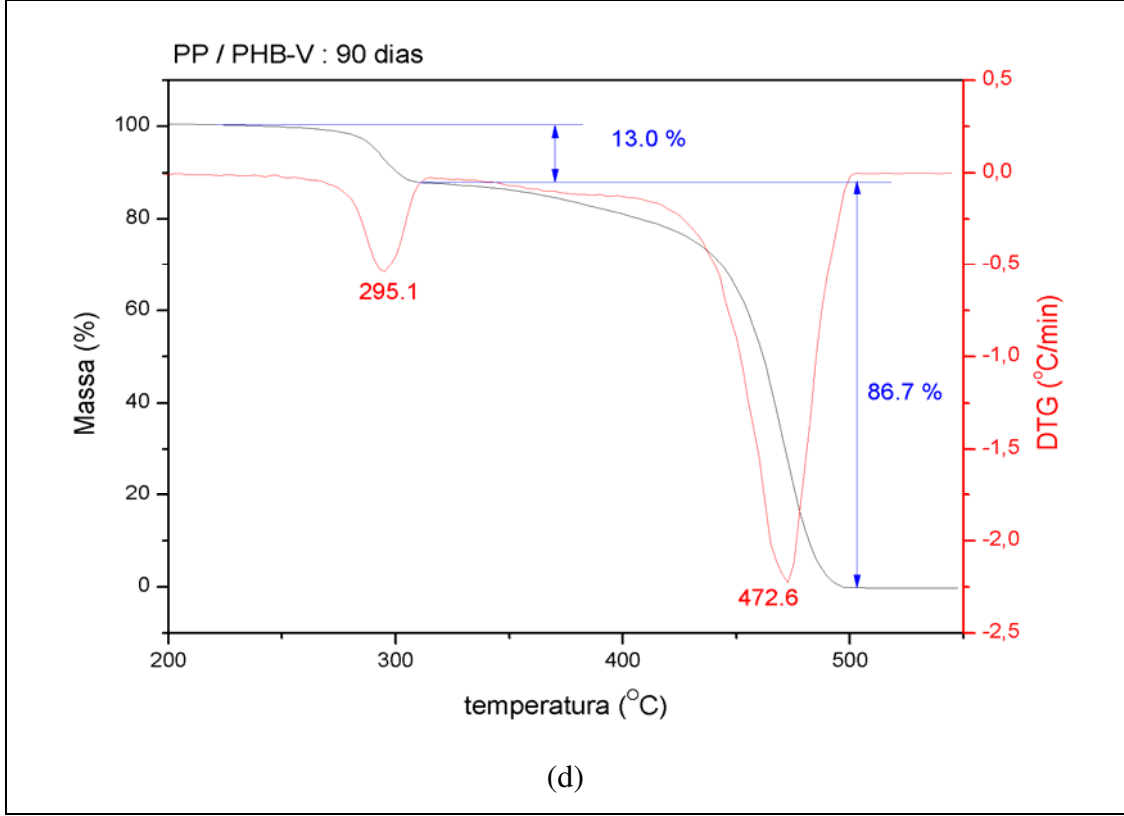
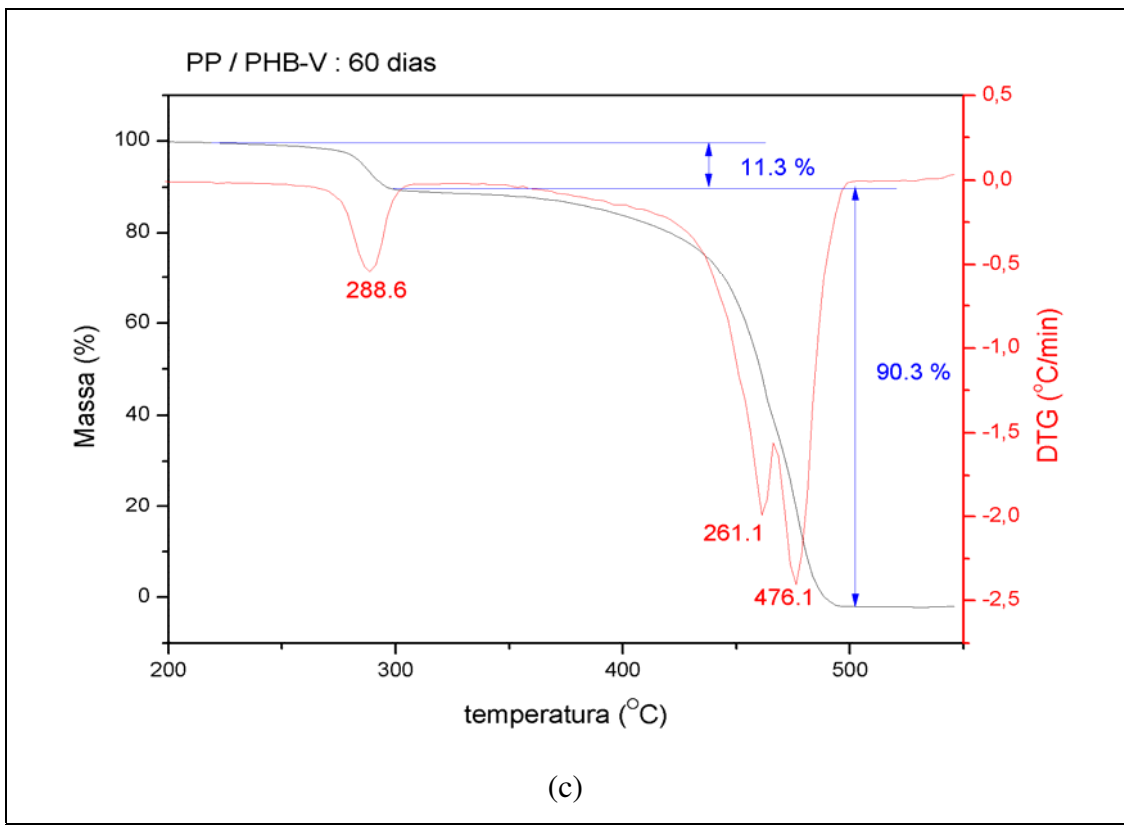


Figura E3 – TG e DTG: (c) PP/PHB-V (4:1): biotratado 60 dias; (d) PP/PHB-V (4:1): biotratado 90 dias;

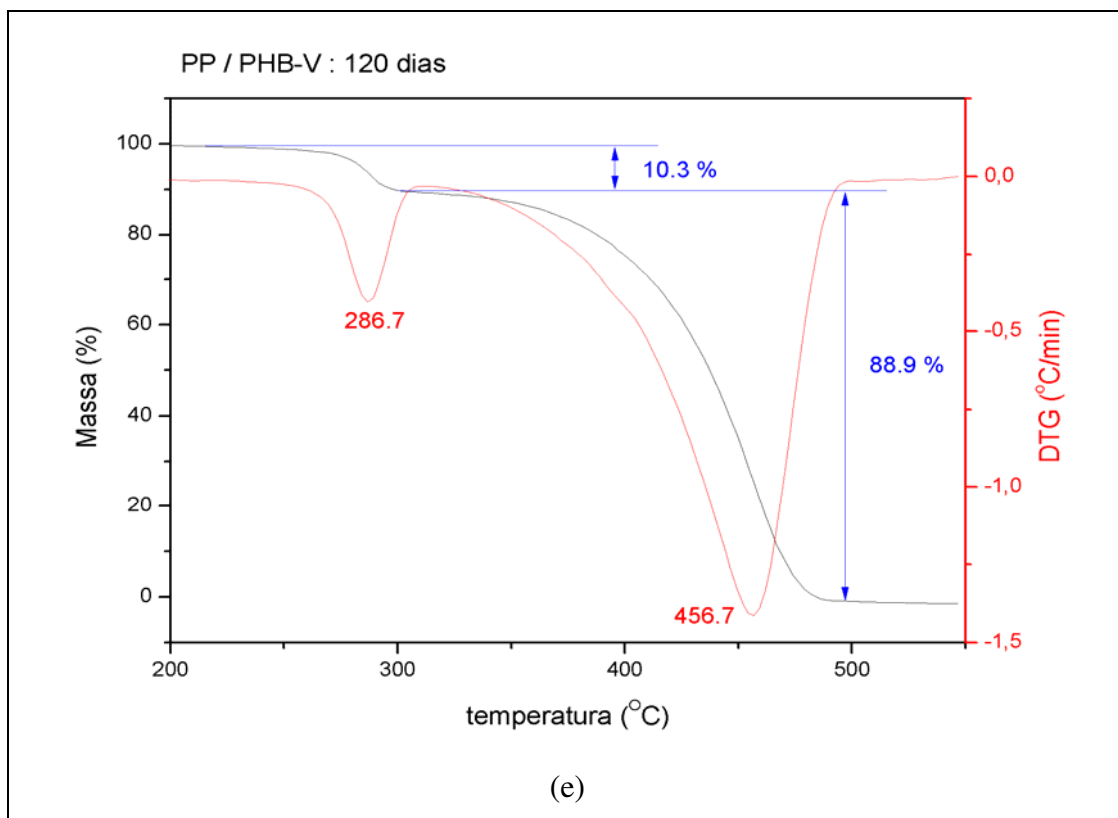


Figura E3 – TG e DTG: (e) PP/PHB-V (4:1): biotratado 120 dias.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)