

Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Engenharia Química
Área de Concentração
Ciência e Tecnologia dos Materiais

200207012



“Estudo da Processabilidade e da Caracterização do Poli (ácido 3-hidroxibutírico) - PHB Obtido a Partir de Cana – de – Açúcar”

Autor: Jeffer Fernandes do Nascimento

Orientadora: Prof^a Dr^a Lúcia Helena Innocentini Mei

Co-Orientador : Prof. Dr. José Augusto Marcondes Agnelli

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Engenharia Química como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Campinas – São Paulo

Agosto 2001

UNICAMP
 N.º CHAMADA:
 I/UNICAMP
 N17e
 V. 47709
 TUBO 837102
 PREC. 837102
 C. D. ☒
 PREC. R\$ 11,00
 DATA 08-02-02
 N.º GPO

(N17e)

CM0016351B-0

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
 BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA - BAE - UNICAMP

N17e

Nascimento, Jeffer Fernandes do

Estudo da processabilidade e da caracterização do poli (ácido 3-hidroxibutírico) – PHB obtido a partir de cana-de-açúcar / Jeffer Fernandes do Nascimento.-- Campinas, SP: [s.n.], 2001.

Orientadores: Lúcia Helena Innocentini Mei, José Augusto Marcondes Agnelli.

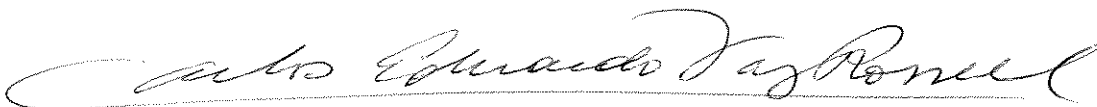
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química.

1. Polímeros. 2. Biopolímeros. 3. Biodegradação. 4. Plásticos – Extrusão. I. Mei, Lúcia Helena Innocentini. II. Agnelli, José Augusto Marcondes. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Química. IV. Título.

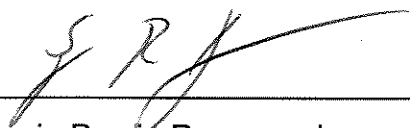
Dissertação de Mestrado defendida e aprovada em 30 de Agosto de 2001 pela
Banca Examinadora constituída pelos professores doutores:



Prof.^a Dr.^a Lúcia H. I. Mei
Orientadora
FEQ - Unicamp



Dr. Carlos Eduardo Vaz Rossell
Centro de Tecnologia Copersucar (CTC) – Cooperativa dos Produtores de Açúcar
e Alcool do Estado de São Paulo



Prof. Dr. Sergio Persio Ravagnani
FEQ - Unicamp

Esta versão corresponde à redação inicial da Dissertação de Mestrado em Engenharia Química defendida pelo Eng. Jeffer Fernandes do Nascimento e aprovada pela Comissão Julgadora em 30 de Agosto de 2001.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'L. Mei', is positioned above a horizontal line.

Profª Drª Lúcia H. I. Mei
Orientadora

Dedico este trabalho ao Zé Agnelli que com sua pureza de alma e dedicação a missão de Educar mostra o verdadeiro significado da palavra Professor.

Agradecimentos:

À minha Mãe e ao meu Pai que sempre me apoiaram em todos os momentos seja com seu carinho ou com suas orações.

À minha esposa Alida pelo carinho, afeto e compreensão durante todos estes anos. Ao meu filho Luca pelo sorriso sempre fácil e por sempre deletar “sem querer” textos que no fundo não estavam bons.

À Profa. Dra. Lúcia Mei pelo carinho e dedicação durante a orientação deste trabalho.

Ao Prof. Dr. José A. M. Agnelli pela dedicação ao resgate de um passado distante e também pela correção sempre atenciosa deste material.

Aos Professores do Departamento de Tecnologia de Polímeros pela atenciosa colaboração.

À Usina da Pedra – principalmente a Luís Roberto Kaysel Cruz que com sua visão empreendedora apoiou este trabalho apostando assim em um futuro melhor para este País. Sem esquecer dos meus parceiros: Naza, Álvaro, Sylvio, Fátima, Rosiane e os meninos da Planta Piloto.

À Copersucar pelo apoio na realização dos ensaios e pela bibliografia através de seus profissionais: Prof. Dr. Rossel, Nonato, Mantelatto e Penna.

RESUMO

O Poli (ácido 3- hidróxibutírico) ou PHB é um polímero ambientalmente biodegradável, da família dos polihidróxialcanoatos (PHAs), sintetizado e acumulado, como substância de reserva, por uma grande variedade de microorganismos. Pertence quimicamente à classe dos poliésteres de ácidos alcanóicos (PHA). Este polímero apresenta a particularidade de ser altamente biodegradável quando exposto a ambientes biologicamente ativos, o que o torna muito atraente como substituto de plásticos tradicionais em situações de descarte no meio ambiente.

A alternativa de produção biotecnológica deste produto, empregando recursos renováveis, é muito interessante principalmente em situações onde a matéria-prima para o processo fermentativo esteja disponível a um custo reduzido. Partindo-se de açúcar de cana, a síntese fermentativa de PHB, a extração e purificação com solventes naturais, a moldagem do produto final, o descarte, a compostagem e o retorno do composto ao campo representam um ciclo completo, permitindo classificar o PHB como produto natural, com característica única entre os termoplásticos.

Nesta Dissertação de Mestrado, estudou-se a caracterização e a processabilidade deste novo produto a partir da aditivação do polímero com um sistema de estabilização/plastificação de uso industrial. Particularmente, foram analisadas diferentes composições com diversas concentrações de plastificante (10% a 30%), buscando-se um balanço ótimo na correlação propriedades - processabilidade do novo material desenvolvido. Este balanço deveria ser obrigatoriamente melhorado em função das propriedades termomecânicas características do PHB que é um polímero de elevado grau de cristalinidade tendo conseqüentemente alta rigidez e baixa resistência ao impacto.

A caracterização envolveu desde técnicas de identificação de produto (FTIR) até Análises Estruturais (DSC). Estas análises preliminares embasaram a metodologia de mistura das diferentes composições para posterior processamento. A tecnologia de processamento envolveu diferentes aspectos como a definição das variáveis: tempos de mistura, perfil de rosca, perfil de pressões e perfil de velocidades durante a extrusão e injeção do produto.

Os resultados finais mostraram que o polímero PHB quando aditivado apresenta melhoras significativas tanto na processabilidade quanto nas propriedades de rigidez versus impacto, com conseqüente abertura de mercado para novas aplicações. Ressalta-se aqui que nossa contribuição se destaca por ser uma das únicas publicações na literatura científica existente até o momento.

ABSTRACT

Poly-(3-hydroxybutyrate)(PHB) is an environmental biodegradable polymer, from polyhydroxyalkanoates' family (PHAs). It is synthesized and accumulated as stored substances. Through a wide range of microorganisms. Chemically speaking, it belongs to aliphatic acids polyesters (PHA). This polymer is highly biodegradable when it is exposed to biological active environments, which make it very interesting as a substitute for traditional plastics when the disposable in environment is considered.

The alternative of biotechnological production of this product, using renewable resources is very interesting, specially in situations where the raw material for fermentative process is available for a low cost. From sugar cane, the fermentative synthesis of PHB, its extraction and purification with natural solvents, the final product's melting, its disposable, the composting until the return of the compost to the field, we have a complete cycle which allows us to classify PHB as a natural product, with a unique characteristic between thermoplastics.

In this dissertation, it was studied the characterization and processability of this new product from the polymer's aditivition with a stabilization / plastification system of industrial use. It was analyzed different compositions with different plasticizer's concentrations (from 10% to 30%). It was searched for the best property – processability correlation of the new material produced. This relation must be improved in function of the characteristic thermomechanics properties of PHB, which is a polymer with high crystallinity grade and consequently high hardness and low impact strength.

The characterization has involved techniques of product's identification (FTIR) and structural analysis (DSC). These first analyses were the base for the following material's processing. Processing technology involved different characteristics as the following variables definitions: mixture time, screw configuration, pressure configuration and speed configuration during product's extrusion and injection.

The final results have showed that the polymer PHB when it is aditivited presents improvements both in processability and in stiffness / impact properties. These results showed that it is possible new applications for this product. It is emphasized that our contribution is outstanding because it is one of the little scientific literature regard biodegradable polymers until now.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	ii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 – Histórico	3
2.1.1 – Polímeros Biodegradáveis	3
2.2 – Polihidroxialcanoatos – PHAs	4
2.2.1 – Propriedades Físicas de PHB e PHBV	8
2.2.1.1 – Estrutura Cristalina – Conformação de Estado Sólido de PHB e PHBV	8
2.2.1.2 – Massa Molar e Distribuição de Massa Molar	9
2.3 – Processo de Produção de Poli (ácido 3-hidroxi-butírico) – PHB	10
2.4 – Processo de Fermentação de Polihidroxialcanoatos – PHAs	13
2.5 – Processos de Extração/Purificação de Polihidroxialcanoatos – PHAs	14
2.5.1 – Extração por Solvente	14
2.5.2 – Digestão por Hipoclorito de Sódio	15
2.5.3 – Digestão Enzimática	16
2.6 – Processabilidade do Poli (ácido 3-hidroxi-butírico) – PHB	17
2.6.1 – Taxa de Cristalização	17
2.6.2 – Tempo de Residência e Temperatura	18
2.7 – Aplicações	19
2.8 – Aspectos Econômicos	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS	22
3.1 – Materiais e Aditivos	22
3.1.1 – Processo Fermentativo de Obtenção do PHB	23
3.1.2 – Processo de Extração/Purificação de PHB Segundo a Metodologia Copersucar	26
3.2 – Equipamentos	30
3.3 – Técnicas e Métodos	31
3.3.1 – Técnicas de Caracterização	31
3.3.1.1 – Propriedades Mecânicas	31
3.3.1.2 – Análises Térmicas	32
3.3.1.3 – Análises de Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	33
3.3.1.4 – Cromatografia por Permeação de Gel (GPC)	34
3.3.1.5 – Envelhecimento no Intemperismo Acelerado	35
3.3.1.6 – Análise de Umidade pelo método “Karl Fischer”	35
3.3.2 – Preparação das Formulações	36
3.3.3 – Preparação dos Corpos de Prova para os Ensaios de Tração	37

4.RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4.1 – Caracterização do Poli (ácido 3-hidroxibutírico) – PHB	39
4.2 – Propriedades Termomecânicas do Poli (ácido 3-hidroxibutírico) – PHB	45
4.2.1 – Propriedades Morfológicas do Poli (ácido 3-hidroxibutírico) – PHB	45
4.2.2 – Propriedades Mecânicas do Poli (ácido 3-hidroxibutírico) – PHB	50
4.3 – Processabilidade do Poli (ácido 3-hidroxibutírico) – PHB	52
5. CONCLUSÕES	54
6. SUGESTÕES PARA PRÓXIMOS TRABALHOS	55
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2.1: Fórmula estrutural geral dos polihidroxicanoatos - PHAs	6
FIGURA 2.2: Fórmula estrutural do (a) ácido 3-hidroxi-butírico e (b) poli (ácido hidroxi-butírico) – PHB	7
FIGURA 2.3: Processo de produção do poli (ácido 3-hidroxi-butírico) - PHB	12
FIGURA 3.1: Planta piloto da Usina da Pedra – Açúcar e Alcool	29
FIGURA 4.1: Espectros comparativos para o poli (ácido 3-hidroxi-butírico) – PHB	39
FIGURA 4.2: Espectros comparativos para o poli (ácido 3-hidroxi-butírico) – PHB processado	40
FIGURA 4.3: Curvas termogravimétricas para o poli (ácido 3-hidroxi-butírico) – PHB	42
FIGURA 4.4: Curvas de temperatura de fusão, temperatura de transição vítrea, e entalpia de fusão para o poli (ácido 3-hidroxi-butírico) – PHB virgem	46
FIGURA 4.5: Curvas de temperatura de fusão, temperatura de transição vítrea, e entalpia de fusão para o poli (ácido 3-hidroxi-butírico) – PHB virgem processado	46
FIGURA 4.6: Curvas de temperatura de fusão, temperatura de transição vítrea, e entalpia de fusão para o poli (ácido 3-hidroxi-butírico) – PHB com 10% de DOP	47
FIGURA 4.7: Curvas de temperatura de fusão, temperatura de transição vítrea, e entalpia de fusão para o poli (ácido 3-hidroxi-butírico) – PHB com 30% de DOP	47
FIGURA 4.8: Curvas de temperatura de fusão, temperatura de transição vítrea, e entalpia de fusão para o poli (ácido 3-hidroxi-butírico) – PHB com 10% de DOP envelhecido	48
FIGURA 4.9: Curvas de temperatura de fusão, temperatura de transição vítrea, e entalpia de fusão para o poli (ácido 3-hidroxi-butírico) – PHB com 30% de DOP envelhecido	48

LISTA DE TABELAS

TABELA 2.1: Propriedades de alguns PHAs, comparadas ao poli(óxido etileno) (PEO) e ao polipropileno (PP)	5
TABELA 3.1: Propriedades físico – químicas do poli (ácido 3-hidroxibutírico) – PHB obtido pela Copersucar	22
TABELA 3.2: Propriedades físico – químicas do DiOctil Ftalato (DOP)	22
TABELA 3.3: Propriedades físico – químicas do Irganox® B215	23
TABELA 3.4: Coeficientes técnicos do processo de biossíntese por fermentação aeróbica Copersucar – Usina da Pedra	27
TABELA 3.5: Descritivo do projeto para produção de PHB pela Copersucar – Usina da Pedra	28
TABELA 3.6: Condições de mistura das formulações utilizadas neste trabalho	35
TABELA 3.7: Formulações propostas para o estudo da processabilidade do poli (ácido 3-hidroxibutírico) – PHB	36
TABELA 3.8: Condições de processo propostas para estudo da processabilidade do poli (ácido 3-hidroxibutírico) - PHB	37
TABELA 4.1: Bandas características do poli (ácido 3-hidroxibutírico) - PHB	39
TABELA 4.2: Valores da massa molar média (Mw e Mn) para o poli (ácido hidroxibutírico) – PHB obtidas por GPC	40
TABELA 4.3: Porcentagens de resíduos para o poli (ácido-3-hidroxibutírico) - PHB	42
TABELA 4.4: Porcentagem de umidade para o poli (ácido 3-hidroxibutírico) – PHB	43
TABELA 4.5: Valores de densidade para o poli (ácido 3-hidroxibutírico) – PHB puro e aditivado	44
TABELA 4.6: Valores de Entalpia de fusão e temperatura de transição do poli (ácido-3-hidroxibutírico) – PHB virgem e suas formulações	45
TABELA 4.7: Valores de propriedades mecânicas do poli (ácido-3-hidroxibutírico) – PHB e suas formulações comparadas ao PP	50

1. INTRODUÇÃO

O Poli (ácido 3- hidroxibutírico) ou PHB é um polímero ambientalmente biodegradável, da família dos polihidroxialcanoatos (PHAs), sintetizado e acumulado, como substância de reserva, por uma grande variedade de microorganismos (BARHAM et al., 1984). Pertence quimicamente à classe dos poliésteres de ácidos alcanóicos (PHA), possuindo propriedades termoplásticas e características físicas e mecânicas semelhantes às do polipropileno (RAMSAY, 1999). Apresenta, porém, a particularidade de ser altamente biodegradável quando exposto a ambientes biologicamente ativos, o que o torna muito atraente como substituto de plásticos tradicionais em situações de descarte no meio ambiente (KRUPP e JEWELL, 1992).

Além do mercado associado a sua biodegradabilidade, o PHB tem um amplo mercado a ser explorado decorrente de sua biocompatibilidade, alta regularidade da cadeia polimérica linear e elevado peso molecular. Inúmeras aplicações industriais já propostas ou ainda em estudo indicam um futuro promissor para este material junto à engenharia de produtos e processos na área de materiais poliméricos (KEMMISH, 1999).

Apesar de diversos PHAs (Polihidroxialcanoatos), incluindo-se PHB, poderem ser sintetizados quimicamente, a alternativa de produção biotecnológica, empregando recursos renováveis, certamente se impõe, principalmente em situações onde a matéria-prima para o processo fermentativo esteja disponível a um custo reduzido. Partindo-se de açúcar de cana, a síntese fermentativa de PHB, a extração e purificação com solventes naturais, a moldagem do produto final, o descarte, a compostagem e o retorno do composto ao campo representam um ciclo completo, permitindo classificar o PHB como produto natural, com característica única entre os termoplásticos (NONATO e ROSSEL, 1999).

Em toda a América Latina, a Empresa pioneira na produção do homopolímero PHB e do copolímero Poli (ácido 3-hidroxibutírico-3-hidroxivalérico) -PHBV, também biodegradável, é a Copersucar (Cooperativa dos Produtores de Açúcar e Alcool do Estado de São Paulo), a qual desenvolveu em projeto conjunto

com o IPT (Instituto de Pesquisas Tecnológicas de São Paulo) para obter tais polímeros por fermentação bacteriana de *Alcaligenes eutrophus* (MORAES, 1999).

A competição destes plásticos com outras tecnologias presentes, tais como Incineração, Aterro Sanitário e Reciclagem é esperada se intensificar, muito embora se possa prever que todas estas tecnologias irão coexistir e contribuirão apreciavelmente para a diminuição do lixo plástico que é descartado no ambiente. Além disso, o conhecimento destas tecnologias também deverá auxiliar a introdução de novos conceitos de prevenção do acúmulo de lixo plástico, no sentido de racionalizar a produção numa tentativa de se manter a demanda sem prejuízo do meio ambiente. O papel dos polímeros ambientalmente degradáveis deverá ser de fundamental importância na substituição de polímeros convencionais em segmentos onde a reciclagem destes é difícil e a incineração inconveniente.

A produção e o consumo de todos materiais poliméricos tem certamente que encarar, mais dia ou menos dia, os regulamentos que regem o gerenciamento do lixo plástico primário e pós-consumo. Neste contexto, as formulações de materiais poliméricos ambientalmente degradáveis (PAD) irão constituir um passo importante entre as opções que existem para um crescimento sustentável do lixo plástico.

Neste contexto, o objetivo desta Dissertação de Mestrado foi focado na caracterização térmica e mecânica do PHB bem como no estudo detalhado das características de processabilidade do polímero, aditivado com sistemas de estabilização de uso industrial. Particularmente, foram analisadas diferentes concentrações de plastificante, buscando-se um balanço ótimo na relação Propriedade versus Processabilidade do novo material desenvolvido. Ressalta-se aqui que a nossa contribuição se destaca por ser a única na literatura científica existente até o momento.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2. 1 – Histórico

A expectativa de demanda dos materiais plásticos para o século 21 é a de que ocorra um aumento de produção da ordem de duas a três vezes a produção atual, como uma consequência do aumento do consumo de plásticos, principalmente no “primeiro mundo” onde o padrão de vida é bastante alto. Um exemplo disso vem dos dados de consumo de plásticos nos Estados que compõem o Golfo Árabe. Estes Estados produzem cerca de 2 milhões de toneladas /ano dos principais polímeros comerciais como o PEBD, PEAD, PVC, PP e PS; sendo o consumo de material plástico per capita da ordem de 40Kg/ano, com uma clara tendência em triplicar este valor em apenas 10 anos. Neste sentido, a preocupação mundial com o aumento do lixo plástico vem ganhando adeptos e, dentre as alternativas que surgem para solucionar o problema e aliviar as pressões dos órgãos ligados ao meio ambiente, o plástico biodegradável se destaca.

Dada a relevância dos polímeros ambientalmente biodegradáveis (PADs), e sua importância no contexto deste trabalho, será introduzido o conceito de plástico biodegradável, segundo algumas normas internacionais, e será realizada uma breve revisão da tecnologia envolvida na obtenção e utilização dos polihidróxialcanoatos - PHAs, com uma completa descrição das propriedades físico – químicas do material a ser desenvolvido: estabilizado, processado e caracterizado.

2.1.1 - Polímeros Biodegradáveis (DOY,1993)

Vários autores no mundo todo têm se ocupado em produzir definições para polímeros biodegradáveis. Algumas normas e propostas que resultaram destes estudos são:

ISO 472 : 1998 : Polímero biodegradável é um polímero designado para sofrer uma mudança significativa em sua estrutura química sob condições

ambientais específicas, resultando na perda de algumas propriedades que podem variar quando medidas por testes padrões apropriados ao polímero. A mudança na estrutura química resulta da ação de microorganismos que ocorrem naturalmente na natureza.

Proposta do sub-Comitê da ASTM D20:96 : Polímeros degradáveis são materiais poliméricos que sofrem cisão de ligação no esqueleto de um polímero através de forças químicas, biológicas e/ou físicas no ambiente a uma taxa a qual leva a fragmentação ou desintegração dos materiais.

Proposta da Sociedade Japonesa de Polímeros Biodegradáveis: Polímeros biodegradáveis são materiais poliméricos os quais são mudados para compostos de pesos moleculares mais baixos onde, no mínimo, uma etapa no processo de degradação ocorre via metabolismo na presença de organismos existentes na natureza.

DIN 103.2 (grupo de trabalho em polímeros biodegradáveis): biodegradação de um material polimérico é um processo que leva à mudança em sua estrutura química causada por atividade biológica resultando em produtos metabólicos finais de ocorrência natural. Um material polimérico é denominado biodegradável se todos seus componentes orgânicos sofrem uma biodegradação total.

2.2- Polihidróxialcanoatos – PHAs

De acordo com a definição do item anterior, os polihidróxialcanoatos ou PHAs são termoplásticos biodegradáveis. Além disso, eles são biocompatíveis e têm sido reconhecidos como substitutos potenciais dos termoplásticos derivados do petróleo (BYRON,1987; HOLMES,1985; HRABAK,1992).

Os PHAs são produzidos por um grande número de procariotos como fonte de reserva de carbono e energia (HAMMOND e LIGGAT, 1985; BRAUNEGG e LEFEVRE,1993; DOUDOROFF e STANIER,1959).

De grande relevância para o usuário de artigos feitos de PHB ou seus copolímeros Poli (ácido 3 –hidróxibutírico-co-hidróxivalérico) – PHBV, são as

taxas de degradação destes artigos sob várias condições ambientais. A biodegradação normalmente ocorre via ataque à superfície por bactérias, fungos e leveduras. O tempo real da degradação de polímeros biodegradáveis e, portanto, do PHB e PHBV, dependerá do ambiente envolvido, tanto quanto da espessura dos artigos (HOLMES, 1985 e GILMOURE et al, 1993).

Interessante notarmos que existem similaridades em suas propriedades físicas e mesmo em suas estruturas moleculares ao polipropileno isotático, um polímero sintético, como mostra a Tabela 2.1 a seguir (HAHN et al,1994; RAMSAY,1998):

TABELA 2.1 - Propriedades de alguns PHAs, comparadas ao Poli (óxido de etileno) (PEO) e ao Polipropileno (PP).

PROPRIEDADES	PP	PHB	P(HB-HV) 4 – 20%	PEO
Ponto fusão cristalino (° C)	176	175	157 – 102	61
Cristalinidade (%)	70	80	69 – 39	30
Massa Molar Ponderal Média (x 10 ⁻⁵) (Da)	2	5	6	5
Transição Vítrea Tg (° C)	-10	5 - 10	2 - 8	-35
Densidade (g/cm ³)	0,905	1,25	1,2	1,0
Tensão Ruptura (MPa)	38	40	36 – 22	6 – 10
Deformação na Ruptura (%)	400	6	8 – 10	300 – 450

O motivo que os coloca como potenciais substitutos biodegradáveis dos polímeros sintéticos se deve à sua completa biodegradabilidade em ambientes aeróbios e anaeróbios para produzir CO₂ / H₂O/ biomassa e CO₂ / H₂O/ CH₄/ biomassa, respectivamente, através de mineralização biológica natural, atendendo a dois dos 9 princípios básicos para uma “sociedade auto-suficiente” , ou seja:

- 1) Assegurar que o uso de matéria-prima renovável seja suficiente;
- 2) Minimizar os efeitos deletérios de matérias-primas não-renováveis.

Assim, nem a produção e nem o uso e a decomposição dos PHAs causarão um impacto negativo no meio ambiente, quando comparado a certos polímeros tradicionais. Como materiais termoplásticos, os PHAs podem ser injetados e extrudados e possuem uma larga faixa de aplicações potenciais em qualquer área onde a biodegradabilidade é a opção desejada. Assim, eles podem ser úteis na medicina, na agricultura, na área de embalagens para fármacos e alimentos, na área de cosméticos, além de outras.

Os PHAs representam uma faixa de polímeros com a seguinte fórmula estrutural geral (Figura 2.1):

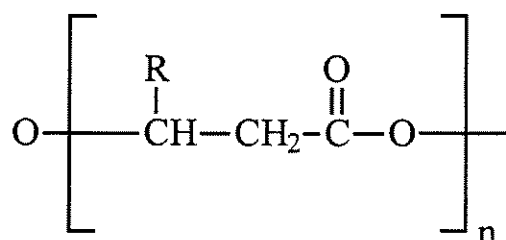


FIGURA 2.1 – Fórmula estrutural geral dos Polihidroxialcanoatos – PHAs

Como já citado anteriormente, um dos membros desta classe, o Poli (ácido 3-hidróxibutírico) ou PHB, foi mencionado na literatura de microbiologia no começo do século. Estudos detalhados foram relatados por Maurice Lemoigne, do Instituto Pasteur, em 1925 (LEMOIGNE, 1925). Ele observou grãos insolúveis inclusos no fluido citoplasmático de cultura de *Bacillus megaterium*, comuns para o caso de lipídeos, sendo que após várias caracterizações foi demonstrado se tratar de um poliéster tendo uma fórmula empírica ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_2$), conforme mostrado na Figura 2.1.

Embora PHB tenha sido primeiramente identificado desta maneira, trabalhos recentes têm mostrado que este material também pode estar presente nas células de maneira diferente à observada por Lemoigne; ou seja, na forma de curtas cadeias poliméricas (130-200 unidades repetitivas) as quais foram isoladas

de membranas bacterianas e também de uma grande variedade de plantas e tecidos animais (REUSCH et al., 1992).

Dentro da célula, o polímero atua como uma fonte de energia e de carbono, permanecendo no estado amorfo ou não-cristalino (BRADL et al., 1990). Entretanto, no processo de extração, a cristalização ocorre rapidamente levando a altos graus de cristalinidade, e portando de rigidez, o que tem dificultado bastante a utilização deste polímero devido à sua baixa resistência ao impacto (THEOBALDO et al., 1998).

Hoje já é bem conhecido que o PHB pode ser isolado de vários microorganismos, sendo o *Alcaligenes eutrophus* o mais importante deles. Sob condições ótimas, até 80% do peso celular seco pode ser acumulado como PHB (CORNIBERT e MARCHESSAULT, 1972).

Devido a sua origem natural, o PHB tem uma excepcional regularidade estereoquímica; suas cadeias são lineares com interações tipo van der Waals entre os oxigênios da carbonila e os grupos metila e interações por pontes de hidrogênio devido a presença de hidroxilas. Os centros quirais possuem apenas a configuração R, a qual implica que o polímero é completamente isotático e, portanto, altamente favorável à cristalização (OKAMURA e MARCHESSAULT, 1967).

As fórmulas estruturais do monômero ácido-3-hidróxibutírico e do polímero PHB estão ilustradas na Figura 2.2.

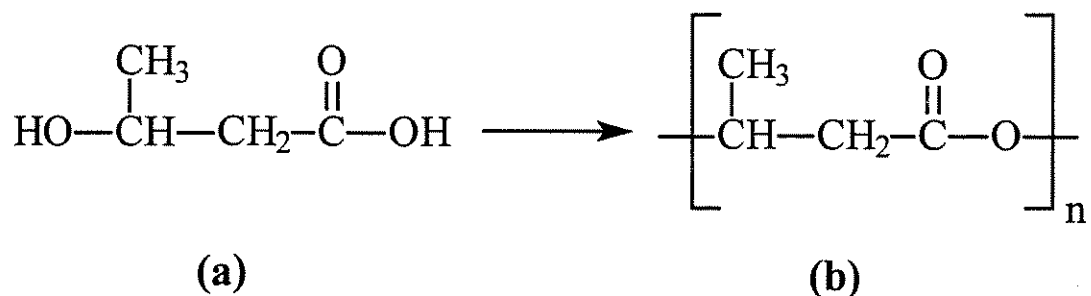


FIGURA 2.2 – Fórmula estrutural do (a) ácido 3-hidróxibutírico e (b) Poli (ácido 3-hidróxibutírico) – PHB.

2.2.1- Propriedades Físicas de PHB e PHBV

2.2.1.1– Estrutura Cristalina–Conformação de Estado Sólido de PHB e PHBV

No estado sólido o Poli (ácido 3-hidróxibutírico) - PHB é uma hélice compacta orientada para a direita onde duas unidades monoméricas completam um giro da hélice, (MARCHESSAULT et al.,1988). As forças básicas deste modelo conformacional são principalmente as interações de van der Waals entre o oxigênio das carbonilas e os grupos metila. Graças a estereorregularidade do PHB, o material é altamente cristalino, como já comentado anteriormente, sendo também opticamente ativo, com o carbono quiral sempre na configuração absoluta R, quando se trata do PHB biologicamente produzido.

A temperatura de fusão do PHB está ao redor de 177 °C (LUZIER,1992), muito próxima a do polipropileno, polímero com o qual o PHB apresenta muitas outras propriedades similares, embora o polímero biodegradável seja mais duro e quebradiço (KING,1982; HOLMES,1985).

O Poli (ácido 3 –hidróxibutírico-co-hidroxivalérico) – PHBV também apresenta uma conformação cristalina (MARCHESSAULT et al.,1988). As propriedades dos copolímeros de ácido 3 –hidróxibutírico-co-hidroxivalérico variam enormemente com a quantidade de ácido hidroxivalérico presente no copolímero. A temperatura de fusão do PHBV apresenta um valor mínimo ($\approx 80^{\circ}\text{C}$) em uma fração molar de 30 % de ácido hidroxivalérico (ponto pseudo-eutético). Abaixo desta quantidade de ácido hidroxivalérico o cristal de ácido hidroxibutírico é a única fase cristalina presente, enquanto acima de 30 % de ácido hidroxivalérico, unidades de ácido hidroxibutírico estão embebidas em uma matriz cristalina de ácido hidroxivalérico.

A distribuição destes dois monômeros é estatisticamente randômica (BLUHM et al.,1986). Em geral suas baixas cristalinidade e temperatura de transição vítrea conferem aos copolímeros de PHBV uma melhoria nas propriedades mecânicas, tais como a ductilidade e a resistência ao impacto, tornando-os materiais poliméricos mais interessantes do ponto de vista de aplicação e de produtos finais que o homopolímero PHB.

2.2.1.2– Massa Molar e Distribuição de Massa Molar

A distribuição de massa molar de um polímero é a medida da distribuição de suas massas molares individuais em torno da massa molar média. Esta propriedade é uma função básica do microorganismo produtor (bactéria) do polímero biodegradável bem como da estratégia de produção, ou seja, duração da fermentação, taxa de crescimento, concentração das fontes de carbono, etc. (ANDERSON e DAWES, 1990). A massa molar média tem mostrado variações que dependem muito do método de extração utilizado na obtenção do polímero.

O tratamento brando com hidróxido de amônia (NH_3) utilizado por Page e Cornish (PAGE e CORNISH, 1993) para extrair Poli (ácido 3-hidróxibutírico) - PHB de *A. vinelandii* levou a um polímero com uma alta massa molar da ordem de $1,7 \cdot 10^6$ a $2,0 \cdot 10^6$ Da, e baixa polidispersividade. Tal valor está dentro dos valores típicos de massa molecular, entre $2,0 \cdot 10^5$ e $2,0 \cdot 10^6$ Da, encontrados na literatura (ANDERSON e DAWES, 1990).

A empresa Zeneca considera uma massa molar de aproximadamente 600000 Da aceitável para aplicações de seu termoplástico BIOPOL® (LUZIER, 1992). Os graus de polimerização de alguns dos polímeros biodegradáveis recentemente descobertos, como o homopolímero de ácido hidroxivalérico com uma massa molar de 60000 Da produzido pelo grupo de pesquisa de Steibuchel (STEIBUCHEL et al., 1993), tem que ser trabalhados, no sentido de aumentá-los, antes de terem seu uso como polímero termoplástico implementado.

Mais recentemente, o grupo de Page (CHEN e PAGE, 1994) utilizou o mesmo substrato de *A. vinelandii* para produzir um Poli (ácido 3-hidróxibutírico) - PHB com massa molar da ordem de 4 milhões Da; sendo muito possivelmente o maior valor reportado na literatura até o momento. Estes autores estudaram os efeitos do substrato no grau de polimerização do polímero biodegradável final obtido.

Outras pesquisas, considerando a influência das condições do meio de cultura na massa molar dos PHAs, incluem trabalhos recentes de Anderson e

colaboradores (ANDERSON et al.,1992) que encontraram resultados de massa molar de PHB produzido por *R. eutropha* os quais indicam que geralmente a massa molecular não é afetada pela fonte de carbono escolhida nem pela sua concentração.

Outros pesquisadores (ASENJO et. al.,1995) estudaram o efeito da concentração de magnésio e fosfato na massa molar e sua distribuição de PHB produzido a partir de *R. eutropha* em diferentes condições de cultura. Estes pesquisadores mostraram que para manter níveis adequados de massas molares, bem como uma distribuição normal de massa molar, é necessário manter índices deficientes de nitrogênio na cultura; excessos de glicose devem ser evitados e concentrações de magnésio e fosfato mantidas em níveis os mais baixos possíveis. Estes autores também avaliaram os dados reportados (BALLARD et al.,1987; KAWAGUCHI e DOI,1992) sobre o decréscimo da massa molecular como função do tempo durante a fermentação da *R. eutropha* e outros microorganismos. Observaram que o decréscimo de massa molecular pode ser causado por um controle insuficiente destes parâmetros próximo do final dos meios de cultura.

2.3- Processo de Produção de Poli (ácido 3-hidróxibutírico) - PHB (NONATO e ROSSEL, 1999):

No Brasil, o PHB é produzido pela Copersucar, a única Empresa da América Latina que produz PHAs de fontes renováveis. O processo de produção do Poli (ácido 3-hidróxibutírico) - PHB constitui-se basicamente de duas etapas; uma **etapa fermentativa**, onde o microorganismo metaboliza o açúcar disponível no meio e acumula o PHB no interior da célula, como fonte de reserva; e uma **etapa posterior**, onde o polímero acumulado no interior da célula do microorganismo é extraído e purificado até a obtenção do produto final sólido e seco, pronto para ser utilizado em processos convencionais de transformação de termoplásticos.

O projeto desenvolvido pela Copersucar, em parceria com a Usina da Pedra – Açúcar e Alcool, permitiu utilizar o açúcar e/ou melaço como constituinte

básico do meio fermentativo; o óleo fusel (solvente orgânico – subproduto da fabricação do álcool) como sistema de extração do polímero sintetizado pelos microorganismos e permitiu também o aproveitamento do excedente de bagaço de cana-de-açúcar para a produção de energia (geração de vapor) para estes processos. Este desenho de projeto permitiu uma perfeita integração vertical com a máxima utilização de sub-produtos gerados na fabricação de açúcar e álcool, gerando processos que utilizam as chamadas **tecnologias limpas** e ecologicamente corretas.

O processo de produção do PHB (Tecnologia Copersucar) pode ser melhor visualizado através da Figura 2.3.

Dentre as várias etapas que compõem o processo de produção do PHB, destacam-se a etapa de fermentação, que determina a massa molecular final do polímero obtido, e a etapa de extração, onde muitas propriedades do produto final são obtidas. Esta última etapa é crítica para a processabilidade do material, uma vez que ela é responsável pelo grau de pureza do polímero obtido. Devido à sua importância, estas duas etapas serão descritas mais detalhadamente, pois muito do comportamento do polímero deve-se às características ou variáveis de processo adotadas.

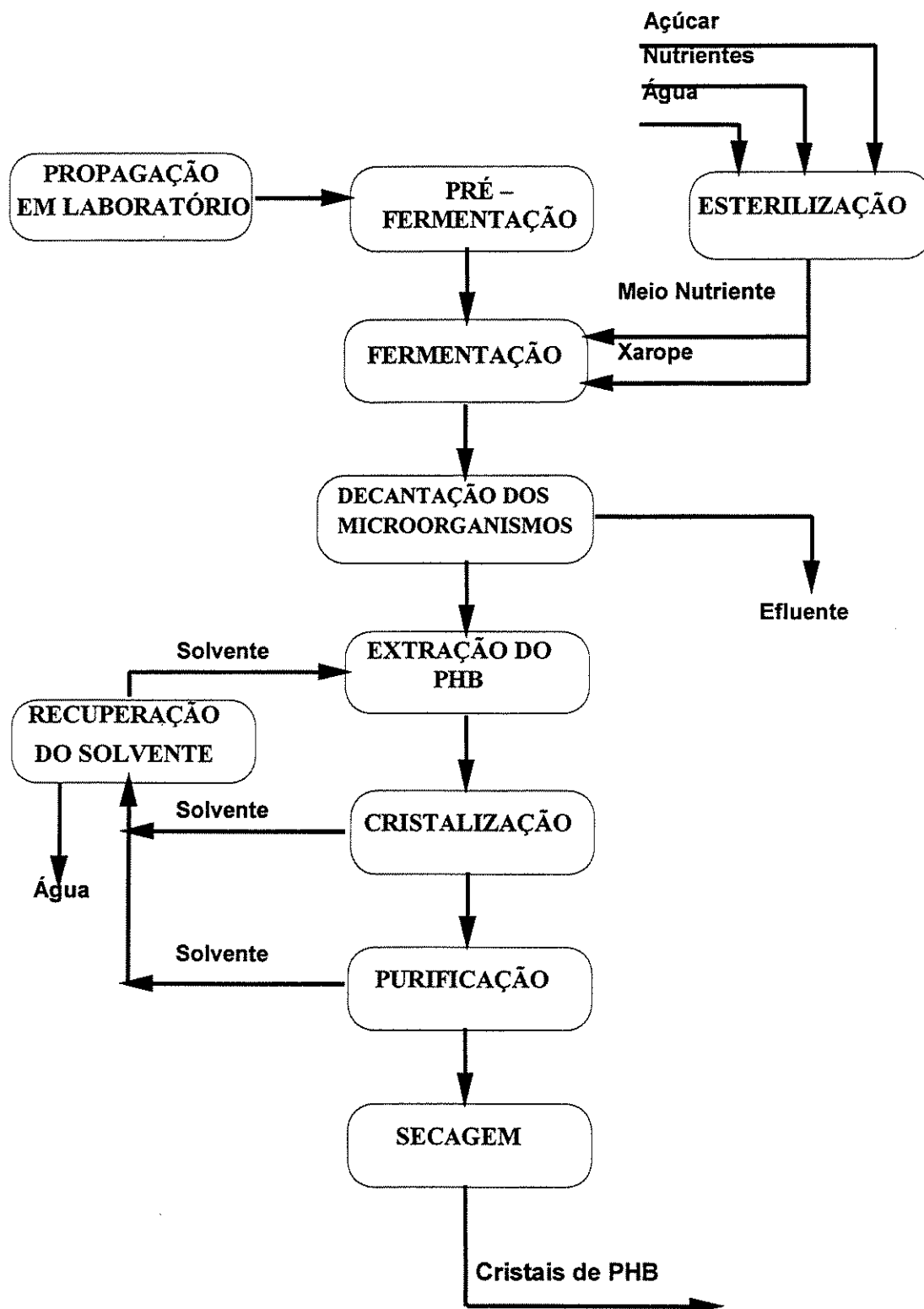


FIGURA 2.3 – Processo de Produção do Poli (ácido 3-hidróxibutírico) - PHB (NONATO e ROSSEL, 1999)

2.4 - Processo de Fermentação Polihidroxialcanoatos - PHAs (NONATO e ROSSEL, 1999)

Muitas espécies de bactérias aeróbicas e anaeróbicas, quando desenvolvidas sob condições limitadas de nutrientes, ou fator de crescimento como nitrogênio, fósforo ou ferro; e na presença de um suprimento rico em Carbono, acumulam PHAs como fonte de reserva de energia. O mais comum destes PHAs acumulados é o PHB, o qual se apresenta como corpos minúsculos normalmente esféricos, com um diâmetro de $\sim 0,5 \mu\text{m}$ (ELLAR et al., 1968), como já mostrado na Figura 1.

Em condições naturais, a quantidade de polímero acumulado pela célula raramente ultrapassa 30% de seu peso seco. Linhagens selecionadas, em condições especiais de fermentação, permitem elevar esta taxa a mais de 70% do peso seco da célula, facilitando o processo de purificação do polímero, posterior à fermentação.

O processo Copersucar (NONATO e ROSSEL, 1999) utiliza linhagens altamente eficientes no acúmulo de Poli (ácido-3-hidroxibutírico) - PHB, partindo de açúcar invertido. As linhagens, mantidas liofilizadas no banco de culturas do Centro de Tecnologia Copersucar (CTC), são reativadas e testadas periodicamente, com relação à sua pureza, sendo as mesmas fornecidas à Usina da Pedra na forma de tubos de cultura.

Dentre as linhagens disponíveis, é empregada a bactéria Gram negativa *Alcaligenes eutrophus*, em função de sua alta estabilidade e reprodutibilidade de características fermentativas, além de uma ótima performance em termos de rendimento e produtividade. Esta linhagem, no entanto, é incapaz de inverter sacarose, obrigando a inclusão de uma etapa de inversão do açúcar, durante o preparo do mosto. Mais detalhes sobre o processo de fermentação podem ser encontrados no capítulo de Materiais e Métodos deste trabalho.

2.5 - Processos de Extração/Purificação de Polihidroxialcanoatos – PHAs:

Três métodos são hoje conhecidos para extração de PHAs: extração por solvente; digestão química por hipoclorito de sódio e enzimólise seletiva. Em todos eles, a eficiência de extração é melhorada pela centrifugação do caldo fermentativo (a concentração de células é 50 g/l) para obter uma pasta concentrada a qual é usada como material de partida para o isolamento do polímero.

2.5.1 - Extração por Solvente:

Este método geralmente produz polímeros com alta massa molar. O PHA é extraído de uma pasta de células bacterianas, dissolvendo-as em algum solvente orgânico tal como clorofórmio (JÜTTNER et al,1975); cloreto de metileno (BAPTIST,1962); 1,2-dicloroetano (BARHAM e SELWOOD,1982) ou 1,1,2-tricloroetano (BARHAM e SELWOOD,1982).

A solução é filtrada para eliminar restos de células bacterianas e o PHB é então precipitado por resfriamento lento da solução ou pela adição de um não-solvente tal como metanol, éter dietílico ou hexano.

O PHB obtido desta maneira é um pó branco de alta massa molar e altamente cristalino, enquanto outros PHAs com menor taxa de cristalização formam filmes ou agregados os quais geralmente cristalizam com o tempo. O inconveniente deste método está no fato dele requerer grandes volumes de solventes e não solventes para extrair e precipitar o polímero. Assim, este procedimento como tal não é adequado para operações comerciais em grande escala, sendo apenas recomendado quando alta pureza do polímero é requerida. No entanto, este método foi o adotado pela Copersucar, na busca de um material polimérico com alto nível de pureza final, a qual implantou várias alterações no processo substituindo uma série de solventes orgânicos por água destilada. Estas modificações trouxeram implicações do ponto de vista ambiental (água destilada é um não-poluente) e também econômico, pois os custos envolvidos nesta etapa foram sensivelmente diminuídos. O processo adotado pela Copersucar para

extração e purificação do PHB encontra-se no capítulo de Materiais e Métodos, de uma forma detalhada.

2.5.2 - Digestão por Hipoclorito de Sódio:

Este método foi primeiramente usado por Williamson e Wilkinson (WILLIAMSON e WILKINSON,1958) para isolar grânulos de PHB de *Bacillus cereus*. As células bacterianas são tratadas por 30 a 60 minutos com uma solução de hipoclorito de sódio, a qual degrada e dissolve a parede celular e outros componentes diferentes de PHAs, deixando os grânulos de polímero intactos. O polímero pode então ser purificado por lavagem com éter dietílico ou metanol para remover os lipídeos. Entretanto, a alta alcalinidade do sistema pode causar a clivagem das cadeias poliméricas, afetando as propriedades de superfície e a massa molar dos polímeros.

Várias tentativas tem sido feitas para minimizar os danos no polímero, causados por este método de isolamento. Nuti (NUTTI et al.,1972) mostrou que a liofilização de células de *Azobacter chroococcum* antes de submetê-las ao tratamento com hipoclorito, baixaram sua atividade de despolimerase, impedindo uma queda do grau despolimerização. Ele também observou que tratando as células com ácido fenilacético após liofilização, estabilizou ainda mais a massa molar.

Controlando cuidadosamente o pH e o tempo de digestão, Berger e colaboradores (BERGER et al.,1989) foram capazes de isolar PHB de alta pureza (95%) com alta massa molar (600.000 Da). Também, o pré-tratamento com um surfactante, aumentou a pureza e a massa molar dos grânulos isolados (RAMSAY et al.,1989). Apesar destes avanços, alguns problemas com este método permanecem, ou seja, é difícil eliminar completamente os traços de hipoclorito de sódio do polímero, além do que este pode poluir o meio ambiente.

2.5.3 – Digestão Enzimática

O isolamento de PHAs por digestão enzimática foi desenvolvido em 1964 quando Merrick e Doudoroff (MERRICK e DOUDOROFF, 1964) usaram lisozimas e desoxirribonucleases para solubilizar os peptidoglicanos e ácidos nucleicos, respectivamente, de células de *B. cereus*. As paredes celulares enfraquecidas foram então rompidas por tratamento ultrasônico para liberar os grânulos de PHB em um meio de solução tamponada. Grãos assim isolados são ainda capazes de sofrer síntese e degradação enzimática das cadeias, muito similar ao que acontece *in vivo*. Foi mostrado que 98% dos grãos constituintes eram PHB e que os outros 2% remanescentes eram proteínas com traços de lipídeos (GRIEBEL et al., 1968).

O processo mais avançado de enzimólise seletiva foi aquele descrito por Holmes e colaboradores (HOLMES et al., 1985; HOLMES et al., 1980), o qual obtêm o maior nível de produção de biomassa com a maior % em peso de PHA por peso seco de biomassa (% PHA). Os componentes da digestão enzimática celular geralmente causam uma liberação rápida de ácidos nucleicos (DNA) no meio de suspensão, tornando a suspensão altamente viscosa e virtualmente impossível de ser tratada. Para evitar tal situação, um estágio de aquecimento é usado após a digestão enzimática para desnaturar e solubilizar o DNA.

Os produtos obtidos após isolamento por digestão enzimática geralmente contêm no mínimo 90% de PHA, 1 a 3% de peptidoglicanos e 6 a 7% de material protéico. O PHA isolado é ainda submetido a uma purificação extra por extração com solvente, como já descrito anteriormente, ou seco por ar quente, resultando em agregados de grãos de 0,2 a 0,5 μm de diâmetro.

2.6 - Processabilidade do Poli (ácido 3-hidróxibutírico) - PHB

Essencialmente, o PHB pode ser processado utilizando-se a maioria dos equipamentos de transformação de termoplásticos convencionais. Entretanto, como para a maioria dos polímeros termoplásticos, existem condições específicas que devem ser obedecidas (temperatura do molde, por exemplo) visando condições ótimas de processamento. Existem também algumas características fundamentais que devem ser observadas para um processamento adequado do material polimérico e que serão discutidas a seguir.

2.6.1 – Taxa de Cristalização

Enquanto a taxa de crescimento de esferulitos para o PHB pode ser comparada a polímeros termoplásticos como o polipropileno (PP), a densidade de nucleação é muito menor. Isto pode ser contornado, em determinados graus, pela adição de agentes nucleantes. Entretanto para alcançar tempos de ciclo ligeiramente superiores àqueles de materiais convencionais, é muito importante otimizar a temperatura de cristalização (T_c) do material. Se for considerada a variação da taxa de crescimento de esferulitos no material, bem como a densidade de nucleação com a temperatura, obtém-se uma temperatura de cristalização ótima em torno de 60 °C (BARHAM e ORGAN, 1991).

A taxa de crescimento de esferulitos também decresce rapidamente com o aumento da quantidade de ácido hidroxivalérico nos copolímeros de PHBV, tornando o controle da temperatura de cristalização muito mais importante nestes materiais. Uma consequência prática desta característica morfológica do material é que a temperatura de 60 °C é recomendada para a maioria dos processos de transformação utilizados (ICI, 1983). Em temperaturas menores que 60°C, o tempo de ciclo do material aumenta sensivelmente e parte do material ou peça produzida tende a permanecer presa ao molde.

Considerando-se a temperatura de transição vítrea (T_g) do PHB na ordem de 5 °C, é evidente que alguma cristalização pós-moldagem possa ocorrer à temperatura ambiente. A extensão deste efeito irá depender da porcentagem de cristalinidade obtida na peça moldada. Existe também uma pequena contribuição para o processo de envelhecimento/cristalização a partir do processo de relaxação do volume livre do material. Uma consequência da pós-cristalização é que a dureza e a resistência à tração podem aumentar, com consequente diminuição da tenacidade durante um curto período de tempo após moldagem. Entretanto, isso tende a decrescer com o tempo, tendo seu final completo após cerca de duas semanas, com o pico do processo ocorrendo poucas horas após o processo de moldagem (BARHAM e ORGAN, 1991).

2.6.2 – Tempo de Residência e Temperatura

A utilização do PHB é limitada pela alta temperatura de fusão do material, na ordem de 177 °C, a qual requer temperaturas de processamento de cerca de 190 °C. Sob estas condições, a massa molar do PHB diminui rapidamente devido à sua degradação, sendo então indicado o uso de copolímeros que apresentam uma estabilidade térmica bastante elevada permitindo a utilização de temperaturas de processamento menores (DOI et al., 1991).

Assim, é necessário diminuir ao máximo o tempo de residência e a temperatura de exposição do PHB, sendo recomendado menos que três minutos a 170 °C (ICI, 1984), para permitir a manutenção da massa molar média do material e consequentemente suas propriedades termomecânicas. Sob condições normais de processamento, a temperatura de exposição do material não deveria exceder 180 °C, sendo que uma otimização das propriedades é obtida quando a massa molar média é mantida na faixa de 400000 Da. Na prática é possível eliminar ou minimizar a degradação de um material durante o processamento, buscando-se um balanço perfeito entre as variáveis de processo envolvidas, ou seja, a temperatura, a pressão e as velocidades.

2.7 - Aplicações

Uma grande variedade de aplicações para os Polihidróxialcanoatos – PHAs pode ser facilmente visualizada, devido a ampla gama de propriedades intrínsecas destes materiais poliméricos. Embora inicialmente estes materiais tenham despertado interesse por serem fabricados a partir de fontes renováveis, o real interesse ocorreu em virtude da biodegradabilidade relacionada a estes polímeros. Esta característica permitiu uma redução de perdas, bem como um aumento do valor agregado destes produtos onde a degradação é característica funcional importante.

Uma das aplicações primárias de PHAs é como substitutos biodegradáveis de polímeros olefínicos em embalagens (frascos, tampas, rótulos) e componentes estruturais. O primeiro produto de PHAs comercialmente lançado, foi uma embalagem de xampu biodegradável obtida pelo processo de injeção-sopro pela WELLA AG – Alemanha (RAMSAY e RAMSAY,1990). Este polímero foi também utilizado para embalagem de óleo automotivo e aparelhos de barbear descartáveis (LUZIER, 1992). Tais aplicações de PHAs indicam um direcionamento do produto onde dificuldades de coleta seletiva (separação) para reciclagem estão presentes principalmente em produtos como filmes plásticos onde orgânicos/inorgânicos estão presentes.

As propriedades de barreira a gases dos PHAs podem levar a aplicações em embalagens alimentícias, como uma substituição do polietileno tereftalato (PET) em garrafas de bebidas carbonatadas. Estas propriedades de barreira também permitem a utilização de PHAs em embalagens de papel cartonado do tipo “longa vida” para o envase de produtos “hot fill” tipo sucos naturais, leite pasteurizado, bebidas isotônicas e etc. O polietileno de baixa densidade, PEBD, normalmente utilizado para o recobrimento dos papéis, não permite a degradação destes quando descartados, bem como dificulta a reciclagem da embalagem como um todo, uma vez que é praticamente impossível a separação de seus componentes (MARCHESSAULT et al.,1991).

Aplicações mais especializadas de PHAs incluem sistemas dosadores, onde a biodegradabilidade é requerida enquanto o artigo está em uso. Como a *Alcaligenes Eutrophus*, uma das bactérias utilizadas na fabricação de PHAs, habita diversos solos, estes materiais são bem vindos na agricultura onde a biodegradação do produto final, junto com a liberação controlada de uma substância, é desejada e certamente ocorrerá devido à presença no solo de bactérias, incluindo as produtoras de PHAs, que degradam enzimaticamente o PHA utilizado. Uma aplicação típica é a incorporação de nutrientes em pellets de PHAs, que podem ser aplicados ao solo para recuperação de áreas afetadas.

Os PHAs podem também ser utilizados internamente em seres humanos uma vez que o material polimérico é não-tóxico e compatível com tecidos vivos, e sua degradação leva ao ácido R – Beta – Hidróxibutírico, o qual é um metabólito presente nos mamíferos e encontrado na concentração de 3 – 10 mg/100 ml de sangue em adultos normais saudáveis (ICI,1992). O Poli (ácido 3-hidróxibutírico) - PHB, de baixo peso molar, foi detectado primeiramente ligado a albumina e também a lipoproteínas de baixa densidade em soro de sangue humano (REUSCH et al.,1992).

Para aplicações em sistemas de liberação controlada de fármacos em humanos e animais, os PHAs são utilizados como microcápsulas as quais são injetadas subcutaneamente como uma suspensão ou prensadas em pílulas e administradas por via oral.

Como material para uso médico, os PHAs apresentam como grande diferencial devido a sua total biocompatibilidade, com uma resposta extremamente suave à presença de corpos estranhos e uma taxa de biodegradação *in vivo* muito lenta. Aplicações típicas de PHAs em hospitais podem considerar sua utilização como: escovas cirúrgicas, tecidos cirúrgicos (cobertura de ferimentos) e como talco de lubrificação para luvas cirúrgicas (HOLMES,1985).

2.8 - Aspectos Econômicos

O principal fator limitante para uma maior aplicação do Poli (ácido 3-hidróxibutírico) - PHB, ainda é o custo associado ao produto. Em níveis de produção atuais (~1000 Tons/Ano) o preço internacional encontram-se na ordem de US\$ 20,0 / Kg, com projeção de queda de cerca US\$ 6,0 – 10,0 / Kg, quando novas plantas que estiverem sendo construídas entrarem em operação. Este custo é extremamente elevado quando comparado a poliolefinas convencionais (PP, PEAD, PEBD e etc) que estão na ordem de US\$ 1,5 / Kg.

Existem numerosos exemplos de materiais poliméricos que geraram avanços tecnológicos significativos aliados a economia de escala, levando a uma redução significativa no preço final do produto (King, 1992). Entretanto, com o custo atual, aplicações específicas de alto valor agregado de produto finais manufaturados em pequenas quantidades, tornam o material bastante atrativo. O custo de produção do PHB tem três componentes principais: materiais, principalmente a fonte de carbono para a alimentação dos microorganismos; o processo de fermentação, incluindo a extração e purificação do polímero, e o custo de capital (ativos fixos e variáveis).

Melhorias no processo de fermentação e na tecnologia associada a extração, bem como em economia de escala, têm auxiliado na competitividade do PHB, estando agora grande parte do custo associado ao processo de extração/separação do polímero. O processo de obtenção do PHB utilizando tecnologia Copersucar tem grande vantagem competitiva, uma vez que a fonte de carbono é verticalizada através da produção de açúcar e álcool. Os insumos energéticos (energia e vapor) são obtidos através da queima do bagaço da cana - de - açúcar em sistemas de caldeiras, permitindo um grande ganho em custos variáveis. O sistema de extração também utiliza um solvente fabricado pelo próprio produtor do PHB, gerando aqui mais um ganho competitivo.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 - Materiais e Aditivos

Neste trabalho utilizou-se um tipo de Poli (ácido 3-hidróxibutírico) – PHB, um aditivo plastificante Dioctil Ftalato (DOP) e um aditivo estabilizante de processo Irganox® B215, sendo que as especificações de algumas de suas propriedades estão apresentadas nas Tabelas 3.1, 3.2 e 3.3.

TABELA 3.1 - Propriedades Físico – Químicas do Poli (ácido 3-hidróxibutírico) - PHB purificado obtido pela Copersucar (NONATO e ROSSEL, 1999)

Propriedades	Valores
Massa molar (Da)	250000 a 600000
Densidade a 25 °C (g/cm ³)	1,2
Ponto de fusão (°C)	169 – 172
Temperatura de transição vítrea (°C)	1 – 5
Temperatura de decomposição (°C)	250
Cristalinidade (%)	70
Calor específico (J/kg.°C)	1,42

TABELA 3.2 - Propriedades Físico – Químicas do DiOctil Ftalato (DOP)

Propriedades	Valores
Índice de Refração a 25 °C	1,482 – 1,486
Densidade a 25 °C (g/cm ³)	0,980 – 0,986
Ponto de ebulição (°C)	370
Ponto de fulgor (°C)	216
Ponto de ignição (°C)	240
Viscosidade (cps)	80
Pressão de vapor (mbar)	< 1

TABELA 3.3 - Propriedades Físico – Químicas do Irganox® B215.

Propriedades	Valores
Massa Molar ponderal média (Da)	1178
Ponto de fusão (°C)	180 -185
Solubilidade em água (%)	0,01

3.1.1 - Processo fermentativo de obtenção do PHB

Sendo um processo fermentativo tipicamente de batelada alimentada, onde as células são destruídas para purificação do polímero, cada ciclo fermentativo é independente do outro, iniciando-se sempre a partir de um tubo de cultura.

A primeira etapa do processo consiste na reativação das células em meio nutriente complexo, feita em agitador de frascos. As células reativadas e em crescimento passam a um segundo meio, de composição mais próxima ao de fermentação, porém adaptado às condições de agitador de frascos (baixa concentração de açúcar em meio tamponado). As etapas seguintes visam aumentar o volume de inóculo, de maneira rápida e simples. Elas são realizadas em fermentadores com tamanhos sucessivamente maiores (cada um guarda uma relação de cerca de dez vezes o volume do anterior), todos utilizando o mesmo meio de fermentação.

Diversas formas de preparo e composição deste meio de fermentação foram avaliadas, partindo-se de mel e diversos tipos de açúcares. Esta avaliação indicou como melhor opção o uso de açúcar cristal, complementado com os nutrientes necessários, por facilitar e reduzir custos no processamento “down-stream” (extração e purificação) do polímero. Sendo uma matéria-prima extremamente pobre em termos de nutrientes, é necessária a adição de uma série de sais na composição do mosto (caldo de fermentação contendo açúcar).

Para o primeiro fermentador, o mosto é esterilizado em autoclave de laboratório, utilizando xarope 60 invertido como fonte de carbono. Adiciona-se

ainda uma solução de micronutrientes (sais de Fe, B, Mo, Ni, Cu, Mn, Co, Zn), magnésio e cálcio, fosfato de potássio/sódio como fonte de fósforo, e hidróxido de amônio como fonte de nitrogênio e controle de pH.

Esta primeira etapa de fermentação é conduzida a pH 6,5 e temperatura de 34 °C, durando cerca de 16 horas, levando a uma concentração celular próxima de 12 g/L (em base seca).

Para as etapas seguintes, a composição do mosto é a mesma, adaptada às exigências de processo para volumes maiores. Utiliza-se um esterilizador contínuo para a etapa de esterilização, onde eleva-se a temperatura do mosto a 130°C por 8 minutos, resfriando-se em seguida a 30°C.

Após a transferência do mosto aos fermentadores, previamente esterilizados, adiciona-se ácido fosfórico, que servirá como fonte de fósforo. Amônia gasosa substitui hidróxido de amônio como fonte de nitrogênio e controle de pH, em razão da facilidade de estocagem e adição, e por não alterar o volume do meio.

Tratando-se de uma fermentação aeróbica, onde a concentração de oxigênio no meio exerce grande influência nos parâmetros cinéticos, é necessário o controle de agitação/aeração, garantindo níveis satisfatórios de oxigênio dissolvido (medido On-line com eletrodo apropriado). As etapas subseqüentes de fermentação, conduzidas no mesmo pH e temperatura, duram cerca de 10 horas cada, produzindo a mesma concentração celular, até ser atingido o volume necessário para a etapa final, ou seja, a produção efetiva do polímero.

Para esta última etapa, o fermentador difere dos demais no sentido de ter que dispor de um volume útil bastante superior ao volume inoculado inicialmente. Isto ocorre porque, na primeira etapa de crescimento por batelada, a concentração celular atinge apenas cerca de 12 kg/m³. Esta concentração tem que ser bastante aumentada para melhor aproveitamento das instalações e facilitar o processamento "down-stream".

Desta forma, nas mesmas condições da etapa anterior, após cerca de 12 horas de fermentação, o AR (Açúcar Redutor) do mosto é esgotado, produzindo

uma concentração celular de 12 kg/m^3 . A partir deste ponto, xarope 60 invertido é adicionado continuamente, procurando-se manter o AR do meio entre 3 e 5 kg/m^3 .

Nesta etapa, o oxigênio dissolvido é mantido constante aumentando-se a aeração/agitação do fermentador, controladas por um sensor de oxigênio. Este processo continua até serem esgotados os nutrientes do meio, principalmente fósforo, numa etapa que dura cerca de 14 horas e eleva a concentração celular a $35 - 40 \text{ kg/m}^3$. Ao se esgotarem os nutrientes e na presença de açúcar, a bactéria pára de se multiplicar e entra na fase final de fermentação, o acúmulo de polímero.

Inicialmente, com apenas cerca de 20% de seu peso seco em PHB, a etapa de acúmulo eleva o teor de polímero intracelular do *Alcaligenes* a até 75%. A transição da fase de crescimento para a fase de acúmulo é facilmente acompanhada observando-se os parâmetros cinéticos da fermentação; num primeiro momento após o esgotamento de nutrientes, ocorre uma elevação espontânea de pH, que leva a uma parada completa da adição de amônia. Algumas horas mais tarde, a agitação/aeração começa a diminuir, em função da decrescente demanda de oxigênio. O AR do meio sobe, exigindo uma diminuição constante na vazão de alimentação de xarope. O aspecto da bactéria também muda, passando de bastonetes longos a bastonetes mais curtos, bastante arredondados e transparentes.

A fase de acúmulo dura cerca de 14 horas e eleva a concentração celular, de $35 - 40 \text{ kg/m}^3$, para 150 kg/m^3 . Durante esta fase, o fermentador atinge seu volume útil total, praticamente o dobro do volume inicial.

Terminada a fase de acúmulo, é necessária a rápida desativação do complexo enzimático celular, caso contrário, ao esgotar-se a fonte de carbono (parada na adição de xarope), a bactéria passa a consumir o polímero acumulado. Esta desativação é feita por um processo de pasteurização, elevando-se rapidamente a temperatura do meio fermentado a 80°C por 15 minutos.

A partir daí, o meio fermentado, contendo 150 kg/m^3 (base seca) de células inativadas, com cerca de 75% de polímero intracelular, pode ser conduzido às etapas de “down-stream” para extração e purificação.

3.1.2 - Processo de Extração/Purificação de PHB segundo a metodologia Copersucar

Na Copersucar, o material fermentado inativado contendo Poli (ácido 3-hidroxibutírico) - PHB é submetido a um tratamento químico, onde é diluído na proporção de 1 parte de fermentado para 2 partes de água, recebendo a adição de ácido fosfórico e, em seguida, hidróxido de cálcio. O material é então floculado mediante a adição de um polieletrólito aniônico, preferencialmente uma poliacrilamida, homogeneizado e encaminhado para um separador centrífugo tipo decantador. O lodo obtido é então alimentado num sistema de extração de múltiplo estágio em contra-corrente com o solvente retificado.

O sistema de extração, que opera à temperatura de 110 a 120 °C, é constituído de 3 reatores agitados, sendo o lodo alimentado no primeiro estágio, misturado ao extrato efluente do reator subsequente e ao vapor de solvente retificado.

O extrato bruto deve passar por um processo de remoção completa dos sólidos insolúveis, utilizando-se um filtro pré-cap, a temperaturas de extração. O material filtrado, isento de sólidos insolúveis, passa então por um processo de pré-resfriamento regenerativo até a faixa de 50 a 60 °C e é encaminhado para os cristalizadores. O processo de precipitação (“cristalização”) e crescimento do PHB se inicia com a introdução de uma quantidade de “sementes” (gêrmens de cristalização) seguido de um resfriamento programático. Completada a cristalização, o material contendo duas fases, uma sólida (PHB precipitado) e outra líquida (solvente) pode então ser separado por centrifugação em uma ou mais etapas.

O material em suspensão (“cristalizado”) passa por um processo de centrifugação num separador de pratos, obtendo-se um clarificado límpido (isento de sólidos) e uma pasta rica em PHB, caracterizada por conter de 3 a 5% (p/p) de PHB precipitado. Esta lama com alto teor de PHB é, novamente, filtrada em filtro tangencial de membrana para remoção adicional de solvente e finalmente encaminhada para a remoção do solvente residual.

O sistema de remoção de solvente da pasta de PHB trabalha num esquema de múltiplo estágio a vácuo e em contra corrente, sendo a pasta alimentada no primeiro estágio e água e vapor d’água alimentada no estágio de recuperação de solvente. No primeiro estágio, a pasta de PHB é agitada e granulada continuamente, concomitante com a remoção de solvente e injeção de vapor do estágio posterior. A suspensão de PHB e água é continuamente removida e bombeada até o segundo estágio, onde recebe a injeção de vapor do estágio posterior.

O processo se repete até o último estágio, que recebe a injeção de vapor d’água à pressão de 1,5 a 6 kgf/cm² e água potável. No último estágio, o material completamente granulado e com teor de solvente inferior a 7 ppm, é removido e encaminhado a uma peneira vibratória. Neste estágio, o PHB granulado é separado do líquido e enviado para secagem a vácuo.

O processo de biossíntese por fermentação aeróbica com extração e purificação do Poli (ácido 3-hidróxibutírico) - PHB por solvente, apresenta os seguintes coeficientes técnicos, contidos nas Tabelas 3.4 e 3.5.

TABELA 3.4 - Coeficientes técnicos do processo de biosíntese por fermentação aeróbica Copersucar – Usina da Pedra

Consumo de açúcar	3,0 kg/kg de PHB
Massa de microorganismos obtida	100 kg de biomassa seca/m ³ de vinho
Fração de plástico biodegradável	70% - 75%
Tempo de fermentação	45 horas
Rendimento na separação	Próximo de 95%
Consumo de energia	2,9 kwh/kg PHB
Consumo de vapor	40 kg/kg de PHB

Estes coeficientes técnicos referem-se a Unidade Piloto, construída na Usina da Pedra – Açúcar e Álcool, com tecnologia do Centro de Tecnologia da Copersucar (NONATO e ROSSEL, 1999) com o seguinte descritivo de projeto (Tabela 3.5):

TABELA 3.5 – Descritivo de Projeto para produção de PHB pela Copersucar – Usina da Pedra

Localização:	USINA DA PEDRA S/A - Serrana/SP
Investimentos:	
Capacidade:	30 - 60 toneladas/ano
Produtos:	Biopolímeros (PHB e PHBV)
Projeto:	Centro de Tecnologia Copersucar
Tecnologia:	Copersucar e IPT
Insumo básico:	Açúcar
Microorganismo:	Bactéria do gênero <i>Alcaligenes</i>
Processo:	Biosíntese do polímero por fermentação aeróbica. Extração e purificação do polímero por solvente.
Início de operação:	Setembro/1995

A seguir, na Figura 3.1 encontra-se uma foto que auxilia na visualização do projeto da Unidade Piloto da Usina da Pedra – Açúcar e Álcool.

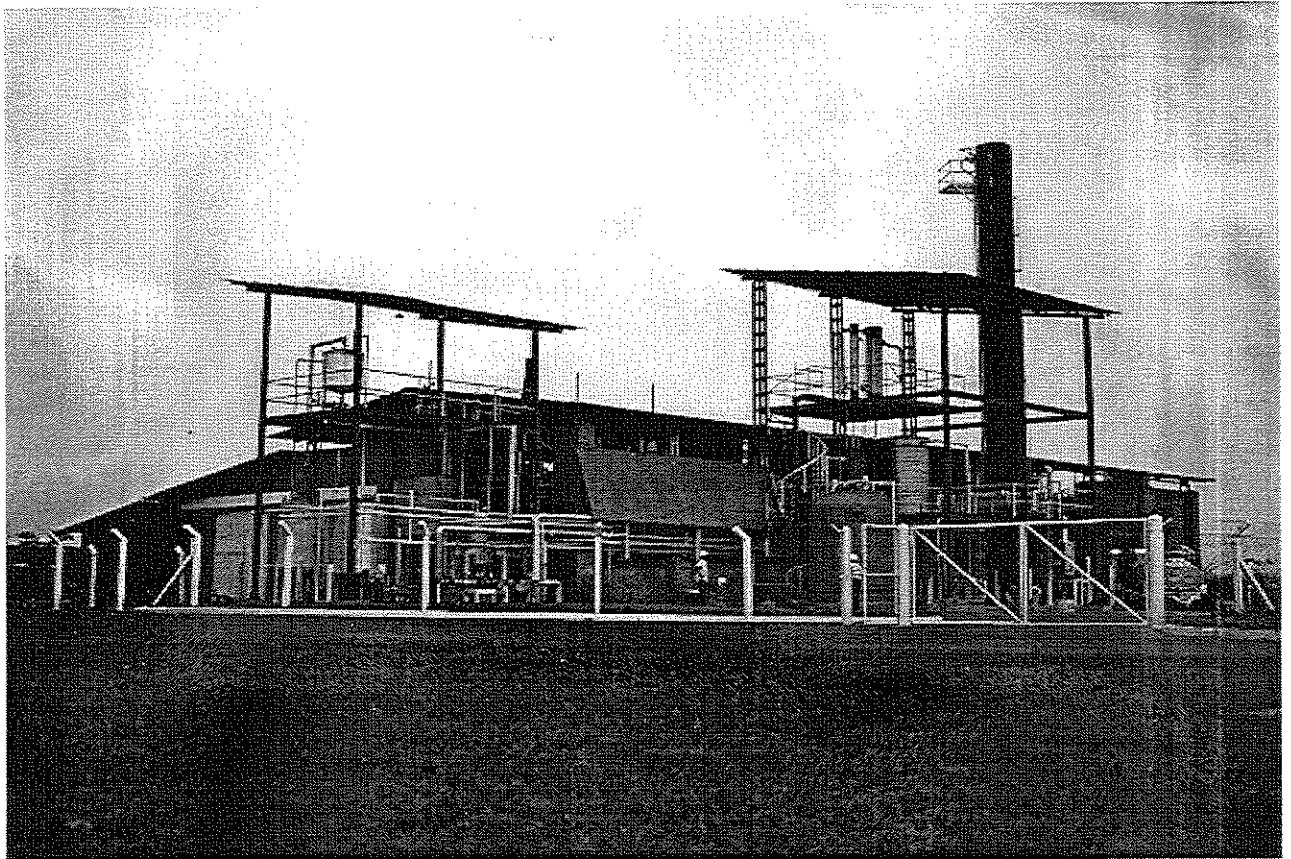


FIGURA 3.1 – Planta Piloto da Usina da Pedra – Açúcar e Álcool.



3.2 – Equipamentos

Os equipamentos utilizados, foram:

Extrusora: Miotto – MTR 80

Diâmetro de rosca: 60 mm

Relação L/D: 30:1

Taxa de compressão: 2,5:1

Zonas de aquecimento: 6

Tipo de rosca: Duplo estágio - Zona de degasagem

Injetora: Semeraro – PPSI 50/30

Capacidade de Injeção: 50 grs

Força de fechamento: 30 tons

Diâmetro de rosca: 25mm

Relação L/D: 17:1

Taxa de compressão: 1,8:1

Granulação: Via úmida – Água a temperatura ambiente (~25 °C)

Granuladora: Miotto – MTR 80

Carga: 50 kg/h com sistema de faca e contra – faca

Motor: 2 HP com sistema de 3 (três) fases

Estufa: Fabber Primar – 170

Tipo: Ar circulante

Balança Eletrônica: Instrumentos Científicos CG – Libor AEL 200

Calorímetro Exploratório Diferencial: TA Instruments – DSC V2.3C

Analizador Termogravimétrico: TA Instruments – TGA 51

Equipamento para Impacto Charpy: Zwick Instruments – 5101

Máquina de Ensaio Universal: Emic – DL 3000

Espectrômetro de Absorção no Infravermelho: Nicolet Magna – IR 550

3.3 – TÉCNICAS e MÉTODOS

3.3.1 – Técnicas de Caracterização

3.3.1.1 - Propriedades Mecânicas

As propriedades mecânicas compreendem a totalidade das propriedades que determinam a resposta dos materiais às influências mecânicas externas, sendo manifestadas pela capacidade destes materiais desenvolverem deformações reversíveis e irreversíveis, e resistirem à fratura. Essas características fundamentais dos materiais são geralmente avaliadas por meio de ensaios que indicam diversas dependências entre as propriedades de tensão e deformação. Os principais testes de avaliação de propriedades mecânicas são o teste de resistência ao impacto e teste de resistência a tração.

Teste de resistência ao impacto (Charpy) (ASTM-256): neste método, a principal medida obtida é a energia absorvida pelo material para fraturá-lo. Após quebrar o corpo de prova, o pêndulo sobe até uma altura que decresce à medida que a energia absorvida pela fratura aumenta. Esta energia, geralmente expressa em km. m é lida diretamente em um mostrador calibrado do equipamento do ensaio. No ensaio de resistência ao impacto tipo Charpy, o corpo de prova é apoiado em ambas às extremidades (posição horizontal), sendo quebrado por um golpe do martelo do pêndulo na parte média do mesmo, entre os suportes e diretamente oposto ao entalhe.

Os ensaios de impacto foram realizados em máquina de ensaios de impacto Izod com um pêndulo de 2,75 J, segundo a norma ASTM D-256.

Teste de resistência à tração (ASTM D-638): é utilizado para obter informações sobre a resistência de materiais e controle de qualidade. Neste ensaio, o corpo de prova é submetido a uma força de tração uniaxial crescente, enquanto são realizadas medidas simultâneas da deformação do corpo de prova. A resistência à tração é avaliada pela carga aplicada ao material por unidade de área. Através do ensaio de resistência à tração podem ser ainda obtidos valores do módulo elástico do material, deformação relativa e tensão na ruptura.

Os ensaios mecânicos de tração/ deformação foram realizados em Máquina universal de ensaios segundo Norma ASTM D-638 com uma distância entre garras (l_0) igual a 100 mm e com uma velocidade de 5mm/min.

3.3.1.2 - Análises Térmicas

As análises térmicas são de fundamental importância para a análise de propriedades físicas, como o ponto de fusão e temperatura de transição vítrea (através da calorimetria exploratória diferencial) ou para a previsão do comportamento termodegradativo do material (através da termogravimetria).

A calorimetria exploratória diferencial (DSC), é avaliada pelas normas ASTM D-3417 E ASTM D-4591 e detecta mudanças físicas ou químicas que são acompanhadas de ganho ou perda de calor, ou seja, a quantidade de calor envolvida na transformação. Quando as substâncias são aquecidas, várias transformações físicas ou químicas envolvendo absorção (processo endotérmico) ou liberação de calor (processo exotérmico) podem ocorrer. Os principais valores obtidos nesta técnica são a temperatura de transição vítrea (T_g), a temperatura de fusão cristalina (T_m), entalpia de fusão (ΔH_f) e o índice de cristalinidade do material.

Foram efetuadas análises de calorimetria exploratória diferencial tendo como referência o cadinho de alumínio aberto vazio, numa atmosfera parcial de argônio. Os ensaios foram realizados na faixa de temperatura de ambiente a 250 °C com taxa de aquecimento de 20 °C/min para todas as amostras.

A análise termogravimétrica (TGA) é utilizada para medir variações de massa de uma amostra, a qual pode resultar de uma transformação física (evaporação, condensação, sublimação, etc.) ou química (decomposição, oxidação, etc.) em função da temperatura ou do tempo. As áreas de aplicação incluem a análise de pureza de um material, teores de umidade, de voláteis e de resíduos, da composição de blendas, da eficiência de retardantes de chama e de anti-oxidantes.

Foi efetuada a análise termogravimétrica do poli-hidroxibutirato a fim de efetuar um acompanhamento da sua degradação térmica. Os ensaios com PHB puro foram realizados na faixa de temperatura de 0 a 600 °C com taxa de aquecimento de 20 °C/min.

3.2.1.3 - Análises de Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Compostos orgânicos podem absorver energia eletromagnética na região do infravermelho. A radiação infravermelha, porém, não tem energia suficiente para a excitação dos elétrons, mas somente para possibilitar que átomos ou grupos de átomos de compostos orgânicos vibrem mais rápido que as ligações covalentes que os conectam. Estas vibrações são quantizadas (possuem um valor definido de energia) e quando ocorrem, os compostos absorvem energia infravermelha em regiões particulares do espectro. O espectrômetro de infravermelho funciona de maneira que um feixe de radiação infravermelha passe através da amostra e seja constantemente comparado com um feixe de referência enquanto a frequência do feixe incidente varia. O espectrômetro apresenta os resultados na forma de um gráfico de absorção versus frequência ou comprimento de onda. No estudo de materiais poliméricos, a análise de FTIR é uma importante ferramenta para a determinação na mudança de grupos funcionais ocasionadas, por exemplo, devido à degradação ou reações químicas.

Foram inicialmente preparados filmes do PHB analisado, em prensa com aquecimento, numa espessura de aproximadamente 2 micra. Para o PHB puro não prensado, o filme foi preparado através da dissolução do material em clorofórmio e secagem à temperatura ambiente.

As análises em infravermelho foram realizadas em espectrômetro de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), com faixa de varredura de 4000 – 400 cm^{-1} , número de varreduras igual a 100, resolução 1,0 e intervalo de 0,5 cm^{-1} .

3.2.1.4 - Cromatografia por Permeação de Gel (GPC)

A cromatografia é uma técnica que permite separar, quantificar e identificar os componentes de uma mistura de compostos químicos. A mistura é distribuída entre duas fases, uma estacionária e outra móvel, de tal forma que cada um dos componentes da mistura é retido pela fase estacionária, resultando em migrações diferenciais destes componentes.

A cromatografia por permeação de gel (GPC) também pode ser chamada de cromatografia por exclusão de tamanho ou cromatografia por filtração de gel. Esta técnica possui muita aplicação para espécies de alta massa molar, como os materiais poliméricos. O empacotamento para o GPC consiste em partículas de sílica ou polímero (com aproximadamente 10 μm) que possuam uniformidade dos poros por onde o soluto e a fase móvel possam difundir. A velocidade de difusão da molécula é dependente do tempo de residência das moléculas dentro dos poros da fase estacionária empacotada, sendo tal tempo de residência dependente do tamanho das moléculas. Moléculas que possuam um tamanho maior que o tamanho dos poros da fase estacionária empacotada não atravessarão pelo interior desta sendo excluídas, ocasionando sua eluição primeiro. Moléculas que possuem um tamanho menor que o dos poros podem penetrar na fase estacionária, ficando retidas por um tempo maior, sendo eluídas mais tarde que as moléculas maiores. Entre os dois extremos, maior e menor partícula, existem partículas de tamanho intermediário que terão a sua eluição dependendo da penetração dentro dos poros da fase estacionária empacotada.

A cromatografia por permeação de gel foi realizada numa temperatura de 30°C, tendo como eluente o clorofórmio, num fluxo de 1ml/min com atenuação RI de 4 vezes. As colunas utilizadas foram do tipo Ultrastyrigel 10⁵ e 10⁶ angstroms com dimensões 7,8x300 mm enquanto o detector utilizado foi o de índice de refração.

3.2.1.5 – Envelhecimento no Intemperismo Acelerado

Após terem sido preparados, os corpos de prova foram avaliados quanto à resistência ao intemperismo acelerado.

Os corpos de prova, antes de serem envelhecidos, foram furados nas duas extremidades (furo com cerca de 2mm de diâmetro) pelos quais passou-se um fio metálico para fixação. Assim, vários corpos de prova foram fixados ao equipamento. Estes suportes foram suportados no anel superior do carrossel do equipamento do envelhecimento Atlas Weather-Ometer.

Utilizou-se uma lâmpada de arco – xenônio, a uma potência de 6500W. As condições de operação utilizadas foram as especificadas na norma ASTM D-2565. O equipamento operou com a simulação de chuva, o spray para simulação era ligado em intervalos regulares de cerca de duas horas, diminuindo assim a temperatura interna da câmara, que oscilou entre 30 e 50°C.

3.2.1.6 – Análise de Umidade por Método “Karl Fischer”

Para a realização deste ensaio, foi utilizado um equipamento para medidas de teor de umidade utilizando o método de Karl Fischer. Neste método a amostra é aquecida da temperatura ambiente até cerca de 200°C. As amostras são pesadas e colocadas em uma câmara de vácuo para aquecimento. Inicialmente é realizada uma purga do sistema com nitrogênio para que o ensaio seja realizado em ambiente inerte.

O equipamento apresenta os resultados em partes por milhão (ppm) de umidade em função do tempo de aquecimento da amostra. É realizada pelo software do equipamento uma conversão, sendo que, o resultado final é obtido em porcentagem de umidade da amostra ensaiada.

3.3.2 – Preparação das Formulações

Para o estudo da processabilidade do PHB, trabalhou-se com 03 (três) formulações deste novo material, descritas na Tabela 3.7. As quantidades dos aditivos que compõem o sistema de estabilização foram baseadas na experiência profissional anterior em tecnologia de transformação de materiais poliméricos. Buscou-se em dados ou informações sobre estes valores junto aos fabricantes destes aditivos e em pesquisas bibliográficas, sendo que nenhum valor foi encontrado em virtude da natureza distinta do material.

Para garantir uma boa mistura/dispersão, as formulações foram inicialmente homogeneizadas em um misturador planetário por 75 minutos a temperatura ambiente. Os componentes foram adicionados na seguinte seqüência e nos seguintes tempos:

Resina $\xrightarrow{15'}$ Estabilizante $\xrightarrow{60'}$ Plastificant

A mistura foi realizada em uma extrusora de rosca simples nas condições mostradas na Tabela 3.6.

TABELA 3.6 – Condições de mistura das formulações utilizadas neste trabalho

Variável	Valor
Diâmetro da rosca (mm)	60
Relação Comprimento/Diâmetro (L/D)	30:1
Taxa de compressão	2,5:1
Velocidade da rosca (rpm)	42
Perfil de Temperaturas (°C)	125 – 145
Tela de Filtragem 1 (mesh)	120
Tela de Filtragem 2 (mesh)	140
Velocidade do Granulador (rpm)	300

TABELA 3.7 - Formulações propostas para o estudo da processabilidade do Poli (ácido 3-hidróxibutírico) - PHB*

Componente	Formulação 01	Formulação 02	Formulação 03
PHB	100	100	100
DOP	-	10	30

* Todas as quantidades referem-se a PCR (partes por cem de resina).

3.3.3 – Preparação dos Corpos de Prova para os Ensaios Mecânicos.

As formulações a serem estudadas foram injetadas e preparadas na forma de corpos de prova, segundo a norma ASTM D – 638 para os ensaios de tração e ASTM D – 256 para os ensaios de impacto, nas condições propostas na Tabela 3.8.

TABELA 3.8 - Condições de processo propostas para o estudo da processabilidade do Poli (ácido 3-hidróxibutírico) - PHB

Variável	Formulação 01 Puro	Formulação 02 10 % DOP	Formulação 03 30 % DOP
Temperatura Alimentação (°C)	130	140	135
Temperatura Plastificação (°C)	130	135	130
Temperatura Bico (°C)	125	135	130
Pressão de Injeção 1 (bar)	150	165	155
Pressão de Injeção 2 (bar)	120	155	150
Contra-Pressão Dosagem (bar)	10	14	12
Tempo de Injeção (s)	3	3	4
Tempo de Resfriamento (s)	25	15	10

4.0 – RESULTADOS E DISCUSSÃO :

Como já visto anteriormente, este trabalho apresenta como objetivos básicos realizar a caracterização e estudar a processabilidade do Poli (ácido 3-hidroxibutírico) - PHB. A realização destes objetivos é fundamental para o entendimento do novo produto que está sendo desenvolvido no país. Esta caracterização envolve basicamente: a identificação do material; a determinação de sua massa molar média e de sua dispersão; a determinação de teores de umidade e a determinação da concentração de impurezas no produto; também envolve a determinação de suas propriedades térmicas e mecânicas.

Para estudar a processabilidade do novo produto, buscou-se basicamente trabalhar a aditivação do Poli (ácido 3-hidroxibutírico) – PHB utilizando-se um sistema de plastificação e estabilização térmica que propicia um adequado processamento do material. Para isso utilizou-se equipamentos convencionais de transformação de polímeros.

A maior contribuição deste trabalho foi determinar condições ótimas para a incorporação do sistema de plastificação/estabilização ao novo polímero, utilizando-se uma tecnologia já desenvolvida e implementada para polímeros convencionais. Neste caso o polímero Poli (cloreto de vinila) - PVC é um exemplo típico, de baixíssimo custo, fácil utilização e resultados finais muito satisfatórios.

Um dos limitantes para resultados mais apurados está no fato do produto utilizado aqui estar em fase de aprimoramento na Empresa produtora. Este “upgrade” nas propriedades termomecânicas e conseqüentemente nas características reológicas ou de processabilidade do produto será obtido através da introdução de uma série de modificações na Planta Piloto de produção do PHB, com melhorias sensíveis na obtenção (extração/purificação) do Poli (ácido 3-hidroxibutírico) – PHB visando diferentes aplicações em diferentes produtos e mercados.

A seguir inicia-se a apresentação dos resultados e a discussão dos mesmos, introduzindo as técnicas de identificação e caracterização do produto.

4.1 – Caracterização do Poli (ácido 3-hidróxibutírico) – PHB

A caracterização química do PHB foi feita através da Espectrometria no Infravermelho (IR), utilizando-se um Espectrômetro (Nicolet Magna IR 550), com a amostra sendo analisada por duas técnicas diferentes de obtenção de amostras, conforme especificado no item 3.3 – Técnicas e Métodos. Uma das técnicas consiste em gerar filmes diluídos em clorofórmio; a outra consiste na prensagem de material à quente, 140 – 150 °C, para obtenção de filmes.

Os principais picos dos espectros IR obtidos foram analisados e as bandas características do PHB estão sumarizadas na Tabela 4.1 que se segue, enquanto que os espectros comparativos para o poli (ácido 3-hidroxibutírico) prensado a quente e solubilizado encontram-se nas Figuras 4.1 e 4.2.

TABELA 4.1 – Bandas Características no Espectro de Infravermelho do Poli (ácido 3-hidroxibutírico) – PHB

Bandas Características	3570cm ⁻¹	1738cm ⁻¹	1590cm ⁻¹	1190-1160cm ⁻¹
Amostra Solubilizada	~3100cm ⁻¹	~1750 cm ⁻¹	~1500 cm ⁻¹	~1150 cm ⁻¹
Amostra Prensada a Quente	~3100 cm ⁻¹	~1750 cm ⁻¹	~1500 cm ⁻¹	~1150 cm ⁻¹
Atribuição dos Picos*	OH	C=O	C=C	C-O-C

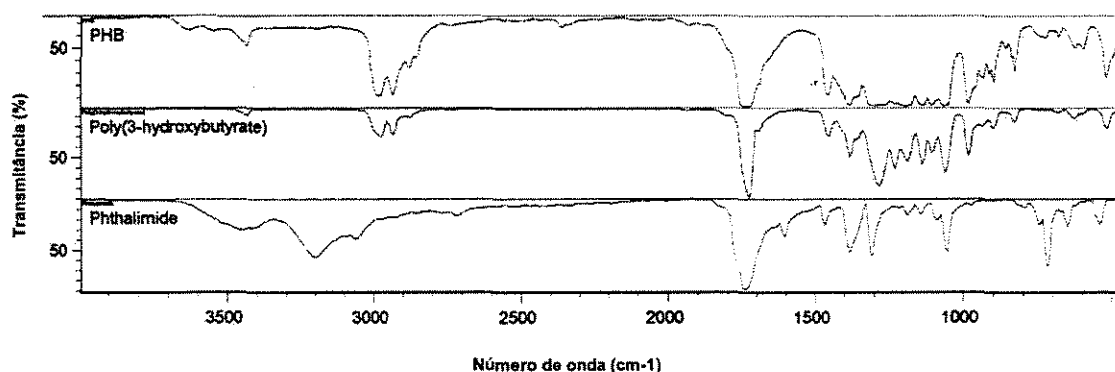


FIGURA 4.1 - Espectros Comparativos para o Poli (ácido 3-hidroxibutírico) Solubilizado.

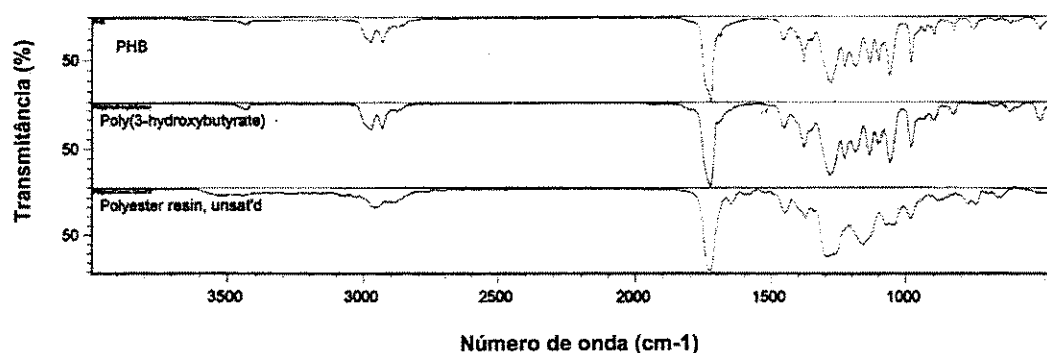


FIGURA 4.2 - Espectros Comparativos para o Poli (ácido 3-hidroxibutírico) Prensado a Quente.

Como um dos objetivos básicos deste trabalho foi o estudo da processabilidade do Poli (ácido 3-hidróxibutírico) – PHB, optou-se em seguida por uma caracterização da massa molar do mesmo, visto que a massa molar está intimamente relacionada com a processabilidade. Deste modo, a caracterização da mesma foi feita em Cromatografia de Permeação em Gel (GPC) como citado no item 3.3 – Técnicas e Métodos é mostrado na Tabela 4.2 que segue.

TABELA 4.2 – Valores de massa molar ($\overline{M}_n$ e $\overline{M}_w$) para o Poli (ácido 3-hidróxibutírico) – PHB não processado, obtidas pela técnica de GPC

	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média
Massa molar (Da)	220000	245000	232000	232300
Polidispersão ($\overline{M}_w / \overline{M}_n$)	2,02	2,46	2,28	2,25

Como é possível verificar na Tabela 4.2, observa-se uma elevada polidispersão, que é extremamente dependente de variáveis secundárias como a temperatura do ensaio, calibração da coluna, tomada do tempo de medida (passagem dos diferentes eluentes) dentre outras, que alteram sensivelmente os resultados obtidos, impedindo com isto uma boa reprodutibilidade de valores.

Os valores de massa molar da Tabela 4.2 são considerados baixos quando comparados a valores que normalmente podem ser obtidos para polímeros produzidos por processos petroquímicos convencionais – da ordem de 600000 Da. Estes resultados indicam que o polímero deverá ser processado a temperaturas relativamente baixas, tal como os polímeros convencionais, onde a degradação por cisalhamento e/ou calor deverá ser evitada para não permitir uma queda significativa na massa molar do polímero.

Esta massa molar está diretamente relacionada ao processo de extração do polímero, do interior do microorganismo responsável pela sua síntese, bem como a etapa de purificação do mesmo requer procedimentos operacionais que acarretam uma quebra e/ou cisão das cadeias poliméricas. Isto causa uma queda sensível na massa molar do polímero virgem, conforme discutido anteriormente no item 2.4 - Processo de Fermentação Polihidroxialcanoatos – PHAs.

Para a caracterização do grau de pureza do polímero, foi realizada uma análise termogravimétrica (TGA) do mesmo. Nesta técnica, a amostra é aquecida a temperaturas elevadas, da ordem de 600 °C, onde se observa a perda de massa em porcentagem com relação à massa inicial da amostra.

Esta análise foi muito importante para que se rastreasse possíveis impurezas que surgem durante o processo de extração do PHB do interior da bactéria/microorganismo, em que se utiliza uma série de reagentes e produtos, conforme descrito no item 3.1.1 – Processo fermentativo de obtenção do PHB. Tais impurezas são responsáveis por muitas propriedades finais dos produtos acabados, entre as quais destacam-se: coloração ou grau de transparência, odor e brilho.

Elas podem também contribuir para cisões de cadeias poliméricas, acarretando uma queda de propriedades termomecânicas de produtos acabados. Entretanto, os resultados de três amostras mostraram que, por se tratar de um material que foi obtido em Planta Piloto, o grau de pureza foi considerado satisfatório, conforme pode ser visualizado pela Tabela 4.3 e pela Figura 4.4.

TABELA 4.3 – Porcentagem de resíduos para o Poli (ácido 3-hidroxibutírico) – PHB

Porcentagem de resíduos (%)	Ensaio 1	Ensaio 2	Média
Pureza	98,79	99,45	99,12
Resíduos	1,16	0,55	0,85

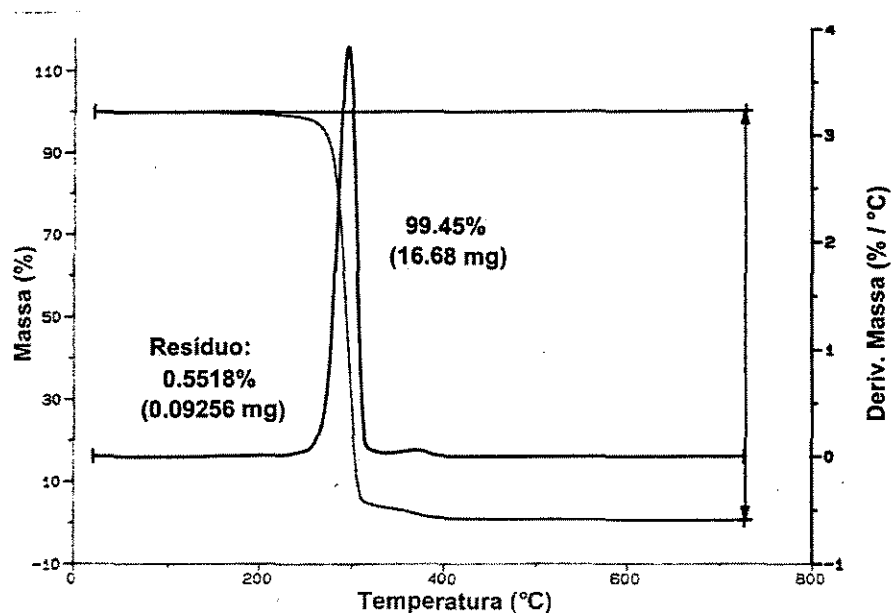


FIGURA 4.3 – Curvas Termogravimétricas para o Poli (ácido 3-hidroxibutírico) – PHB

Na figura 4.3 nota-se que o grau de pureza do polímero é bastante alto, principalmente em virtude do atual estágio do desenvolvimento tecnológico do polímero. O grau de resíduo pode estar associado aos produtos/subprodutos utilizados nas etapas de extração/purificação do material. Entretanto este resíduo pode estar modificando as características de coloração e odor do polímero processado que ainda não atingiu o estágio esperado para determinadas aplicações.

Para finalizar, foram realizados ensaios para determinação do Grau de Umidade da amostra enviada pela Empresa. Estes ensaios foram fundamentais pois esta propriedade é determinante quando se estuda o processamento de materiais poliméricos sensíveis à presença de água. Embora o PHB tenha um caráter hidrofóbico acentuado, é comum a presença de resíduos de umidade no material visto que o mesmo é obtido por extração/purificação através da lavagem do material em água e vapor d'água, com posterior filtração e secagem, conforme descrito na parte de Materiais e Métodos deste trabalho – nos itens 3.1.2 e 3.3.1.

Os resultados mostraram que a amostra enviada continha uma quantidade razoável de água residual em seu interior. Esta quantidade está descrita na Tabela 4.4.

TABELA 4.4 – Porcentagem de umidade para o Poli (ácido 3-hidroxibutírico) – PHB

Porcentagem de umidade	Ensaio 1	Ensaio 2	Média
Concentração (%)	0,8540	0,7882	0,8211
Medida (g)	2706,4	4065,5	3385,9

Este teste foi de grande utilidade visto que mostrou ser necessário submeter à amostra a um processo de secagem (estufa) para posterior processamento para evitar que a água residual diminuísse drasticamente a massa molar do polímero através da sua desesterificação em alta temperatura. Em função da quantidade de água residual encontrada, definiu-se um tempo de secagem apropriado, em torno de 4,0 horas a uma temperatura de cerca de 60°C, para que se retirasse a água do interior do material e ao mesmo tempo evitasse essa degradação térmica do polímero. Este tempo foi baseado na experiência profissional do autor, uma vez que não foram encontrados dados na literatura que indicassem um tempo ótimo de secagem para o PHB.

Como este novo produto deverá, num futuro próximo, competir mercadologicamente com os polímeros olefínicos convencionais, foram realizadas medidas de densidade para finalizar a primeira etapa de caracterização deste produto. Os valores obtidos encontram-se descritos na Tabela 4.5.

TABELA 4.5 – Valores de densidade para o Poli (ácido 3-hidróxibutírico) – PHB puro e aditivado

Propriedade	Puro	10 % DOP	30 % DOP
Densidade (g/cm ³)	1,195 ± 0,015	1,180 ± 0,008	1,164 ± 0,003

Estes resultados mostram muita coerência pois quanto maior a concentração de plastificante utilizado no PHB, menor será a possibilidade de ocorrer um arranjo ordenado e regular das cadeias, diminuindo assim a contribuição da fase cristalina do material. Como uma maior cristalinidade implica em maior densidade os resultados mostraram-se dentro do esperado, considerando-se esta propriedade em particular.

Do ponto de vista mercadológico, a adição do sistema de plastificação mostrou-se bastante interessante, considerando-se como fator principal à densidade do material utilizado, mas que também irá influenciar a processabilidade do produto agindo também como agente de fluxo. É oportuno lembrar aqui que o cliente final compra a resina polimérica por peso e vende seus produtos manufaturados por volume.

4.2 – Propriedades Termomecânicas do Poli (ácido 3-hidroxibutírico) – PHB

4.2.1 – Propriedades Morfológicas do Poli (ácido 3-hidroxibutírico) – PHB

A caracterização termomecânica do Poli (ácido 3-hidroxibutírico) – PHB foi realizada para definir-se ou determinar-se quais seriam os limites de utilização/aplicação do novo polímero. As propriedades termomecânicas desenvolvidas nesta dissertação foram: resistência à tração; resistência ao impacto Charpy (com entalhe) e resistência à tração após envelhecimento.

Todas elas foram ensaiadas segundo as Normas ASTM (American Society for Testing and Materials), conforme descrito na parte de Materiais e Métodos deste trabalho – item 3.3.1.

A partir de material virgem e aditivado, foram realizadas análises de calorimetria exploratória diferencial (DSC) para obtenção das temperaturas de transição térmica (T_g e T_m) bem como das entalpias de fusão (ΔH_f), registrados na Tabela 4.6 e na Figuras 4.4 – 4.9. Estas variáveis são extremamente importantes para explicar o comportamento térmico do material, bem como auxiliar na definição das concentrações ótimas para obtenção do equilíbrio Propriedades versus Aditivção.

TABELA 4.6 - Valores de Entalpia de Fusão e Temperaturas de Transição do Poli (ácido 3-hidroxibutírico) - PHB virgem e de suas formulações

Propriedades Morfológicas	Amostras					
	PHB Virgem	PHB Virgem Process.	PHB 10 % DOP	PHB 30 % DOP	PHB 10 % En.*	PHB 30 % En.*
Temperatura de Transição Vítrea - T_g (°C)	-2,1	-1,9	-10,9	-7,1	-0,4	-4,2
Temperatura de Fusão - T_m (°C)	143,5	160,6	165,4	159,6	164,9	162,9
Entalpia de Fusão ΔH_f (J/g)	54,1	61,7	60,5	61,4	50,2	54,8

* Material envelhecido por 500 horas conforme descrito no item 3.3.1.

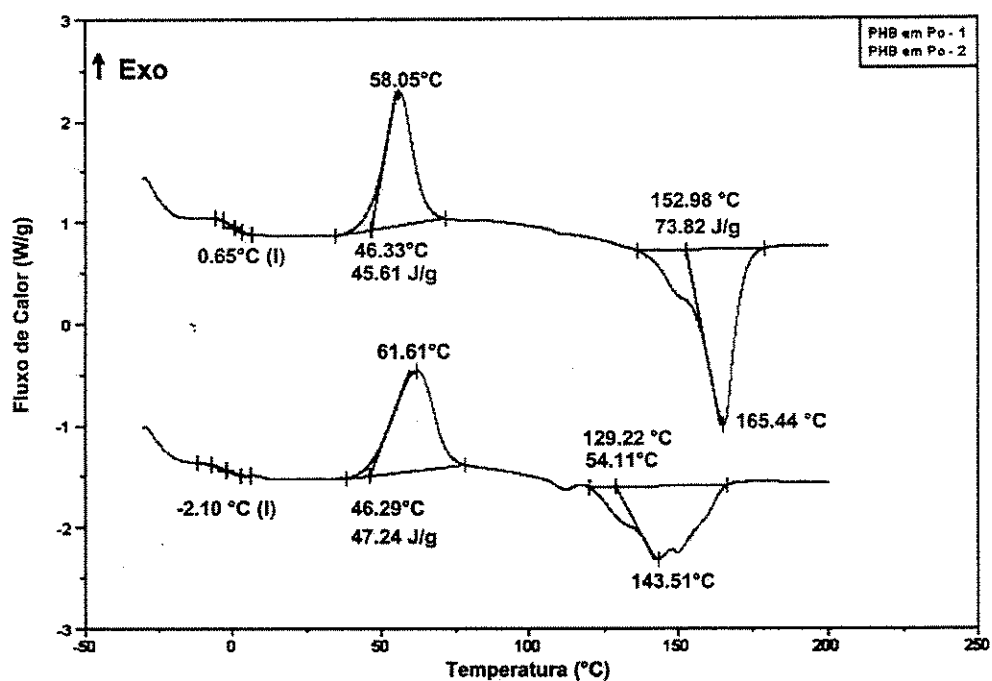


FIGURA 4.4 – Curvas de Temperatura de Fusão, Temperatura de Transição Vítreia e Entalpia de Fusão para o Poli (ácido 3-hidroxibutírico) - PHB Virgem.

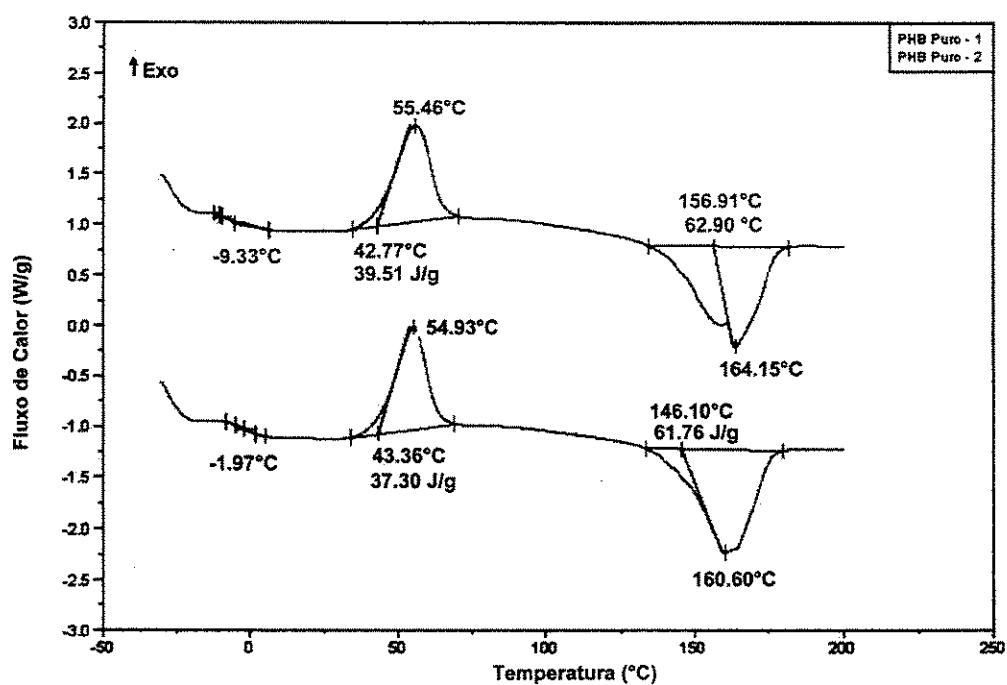


FIGURA 4.5: – Curvas de Temperatura de Fusão, Temperatura de Transição Vítreia e Entalpia de Fusão para o Poli (ácido 3-hidroxibutírico) - PHB Virgem Processado.

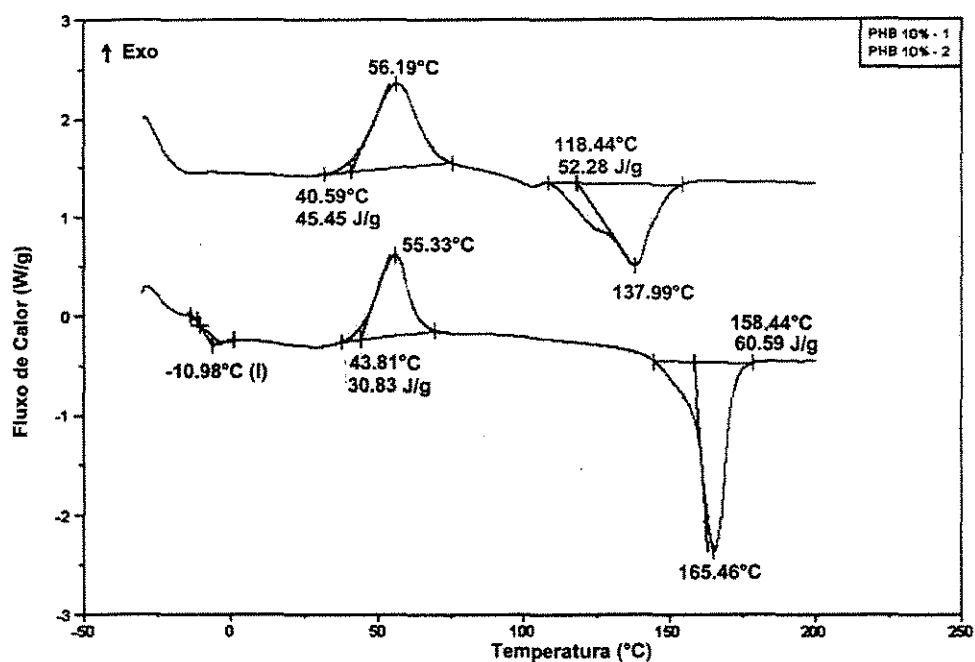


FIGURA 4.6: – Curvas de Temperatura de Fusão, Temperatura de Transição Vítrea e Entalpia de Fusão para o Poli (ácido 3-hidroxibutírico) - PHB com 10% de DOP.

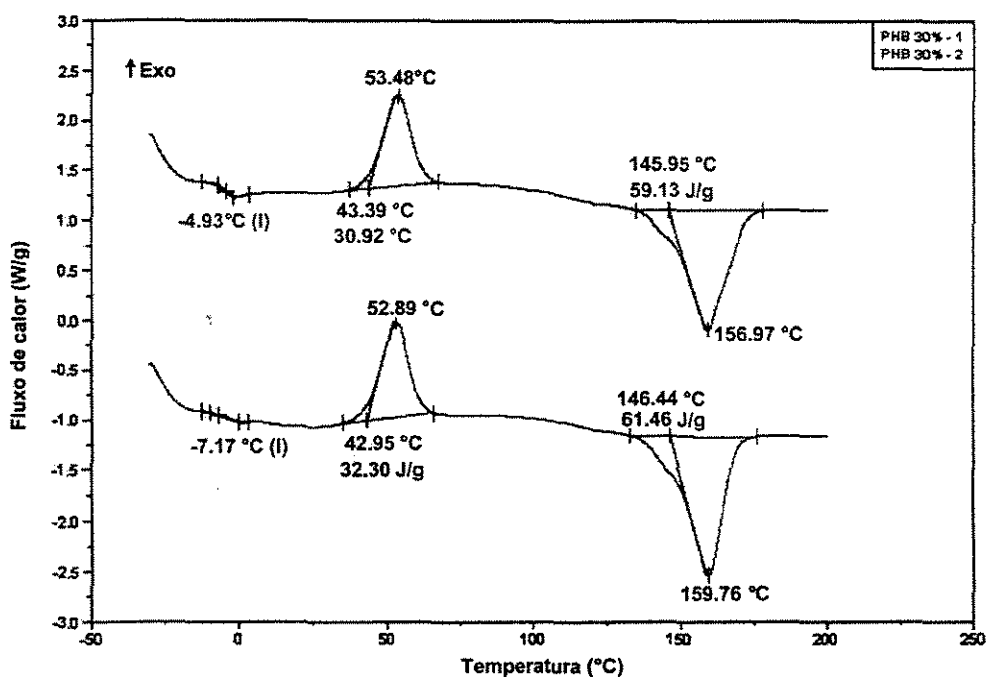


FIGURA 4.7: – Curvas de Temperatura de Fusão, Temperatura de Transição Vítrea e Entalpia de Fusão para o Poli (ácido 3-hidroxibutírico) - PHB com 30% de DOP.

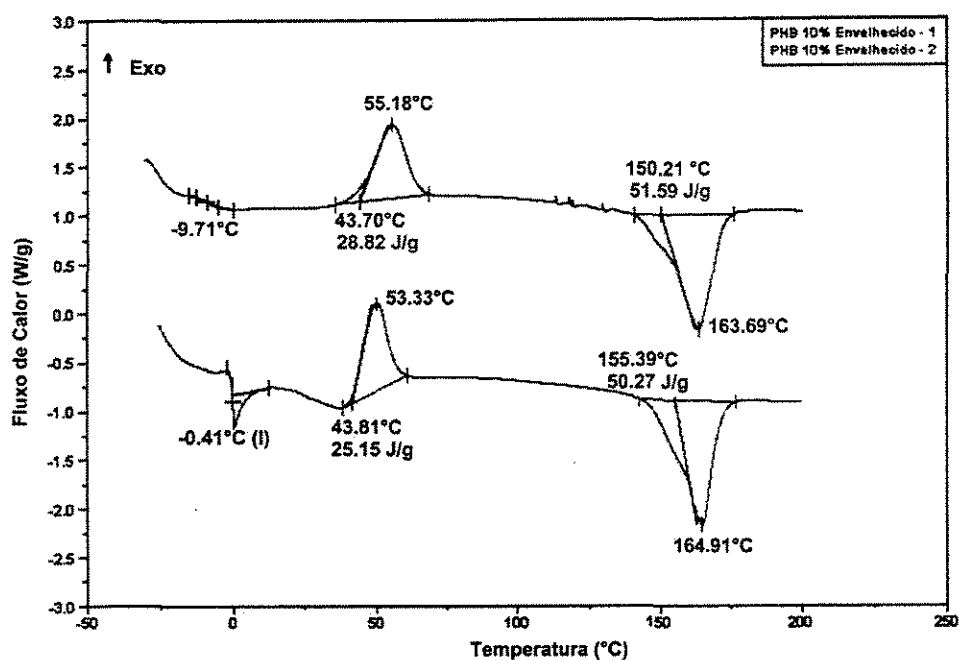


FIGURA 4.8: – Curvas de Temperatura de Fusão, Temperatura de Transição Vítrea e Entalpia de Fusão para o Poli (ácido 3-hidroxibutírico) - PHB com 10% de DOP Envelhecido.

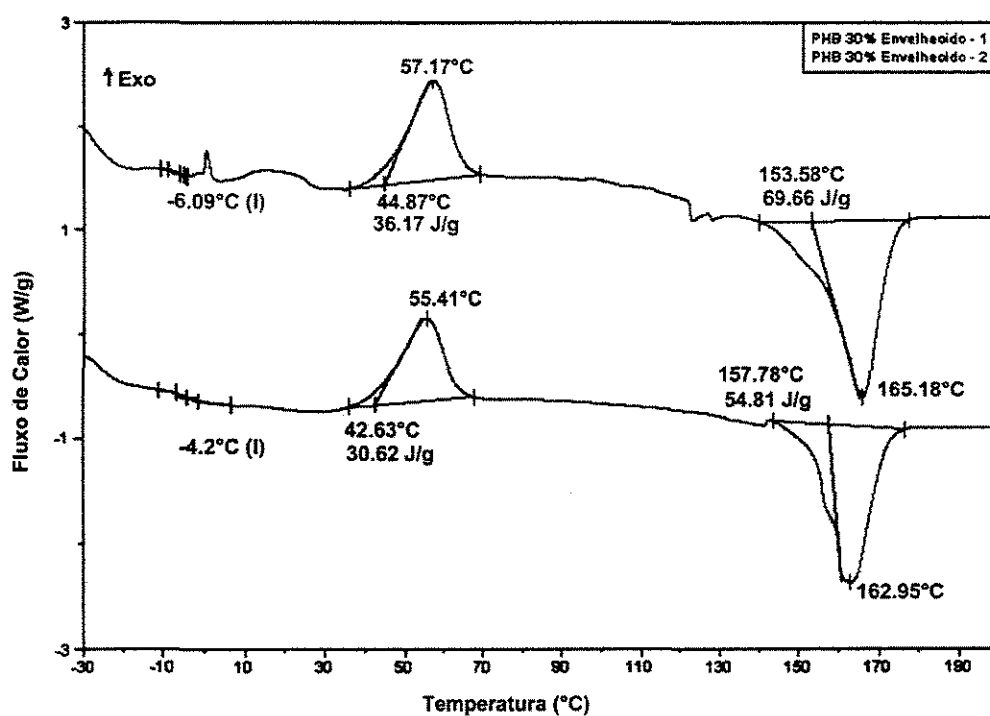


FIGURA 4.9: – Curvas de Temperatura de Fusão, Temperatura de Transição Vítrea e Entalpia de Fusão para o Poli (ácido 3-hidroxibutírico) - PHB com 30% de DOP Envelhecido.

Com relação aos dados fornecidos pelo produtor de PHB, nota-se bastante diferença com os dados obtidos neste trabalho, o que pode ser atribuído ao teor de impureza presente no material fornecido para esta pesquisa.

Considerando-se os resultados obtidos na Tabela 4.6 para a temperatura de transição vítrea (T_g), pode-se observar que foram obtidas variações significativas, principalmente quando se considera a aditivação do material com o sistema de plastificação. No caso do material não envelhecido, a eficiência do DOP foi maior como se pode notar pelos mais baixos valores de T_g em relação aos PHBs sem aditivação. Isto pode ser atribuído ao aumento do volume livre entre as cadeias do polímero devido à presença das moléculas do plastificante e conseqüente diminuição das temperaturas de transição vítrea. Entretanto, quando envelhecido, o material a 10% aumenta seu valor de T_g , sugerindo que a migração do DOP da fase amorfa para o meio ambiente ocorreu totalmente. No caso da concentração de 30% a migração teria ocorrido parcialmente, pois neste caso a T_g ainda se manteve mais baixa que a T_g do material sem plastificante.

Quanto a T_m , observa-se que após o processamento, o valor se eleva consideravelmente, o que pode ser visto como uma influência do processamento do material por extrusão ou injeção. Tal processamento estaria provocando um maior alinhamento das cadeias poliméricas, e portanto um aumento da fase cristalina do sistema, sobrepujando o efeito contrário provocado por impurezas orgânicas arrastadas no processo de extração do PHB. É interessante notar que o DOP não atuou efetivamente na fase cristalina como já esperado, visto que os plastificantes se alojam preferencialmente nas regiões amorfas dos polímeros cristalinos.

No caso das entalpias de fusão (ΔH_f) dos sistemas estudados, verificou-se que não houve praticamente alteração dos valores para os materiais aditivados com o sistema de plastificação em relação ao material virgem processado. Entretanto, os valores voltaram a cair com o envelhecimento, apresentando valores bem próximos ao valor do PHB virgem. Neste caso acredita-se que três fenômenos devem ter ocorrido. O primeiro teria a ver com a migração do plastificante do sistema, com um conseqüente aumento da cristalinidade e portanto de (ΔH_f). Entretanto, um segundo e terceiro fenômenos, ou seja, a

plastificação do sistema pela água oriunda do processo de envelhecimento e a degradação do polímero estariam atuando mais intensamente no sentido de baixar o teor de cristalinidade do sistema. Um balanço final resultaria no abaixamento de (ΔH_f), como foi observado.

4.2.2 – Propriedades Mecânicas do Poli (ácido 3-hidroxibutírico) – PHB

A caracterização das propriedades mecânicas dos materiais é extremamente importante porque praticamente todas as condições de serviço e a maioria das aplicações dos materiais poliméricos envolvem algum grau de carga ou solicitação mecânica. As propriedades mecânicas desenvolvidas neste trabalho foram: resistência à tração, resistência ao impacto e resistência à tração após envelhecimento. Todas elas foram ensaiadas segundo as Normas ASTM (American Society for Testing and Materials), conforme descrito na parte de Materiais e Métodos deste trabalho – item 3.3.1.

A seguir a Tabela 4.7 mostra as propriedades mecânicas medidas neste estudo.

TABELA 4.7 - Valores de Propriedades Mecânicas do Poli (ácido 3-hidroxibutírico) - PHB e suas Formulações comparadas ao PP

Propriedades Mecânicas	Amostras					
	PP * Inj.	PHB Virgem Inj.	PHB 10 % DOP	PHB 30 % DOP	PHB 10 % En.**	PHB 30 % En.**
Módulo de Elasticidade em Tração - (GPa)	1,30	2,48 ± 0,24	2,01 ± 0,16	1,26 ± 0,10	1,36 ± 0,10	1,12 ± 0,08
Resistência à Tração na Ruptura – (MPa)	32,0	29,58 ± 3,1	25,14 ± 2,2	14,05 ± 1,1	14,05 ± 1,0	11,83 ± 0,80
Alongamento em Ruptura na Tração – (%)	80 – 400	2,50 ± 0,20	2,80 ± 0,30	4,40 ± 0,44	2,95 ± 0,24	4,50 ± 0,41
Resistência ao Impacto Izod - (J/m)	25,0	22,2 ± 1,1	27,68 ± 1,3	30,63 ± 1,5		

* Dados para comparação de um tipo padrão de PP para o Processo de Injeção – Polibrasil Boletim Técnico – www.polibrasil.com.br.

* Material envelhecido por 500 horas conforme descrito no item 3.3.1.

Pela análise da Tabela 4.7 pode-se verificar que o módulo elástico para o PHB virgem foi superior àqueles das formulações aditivadas com os agentes plastificantes, o que já era esperado pois é fato bem conhecido que estes atuam no sentido de baixar a rigidez do sistema. Isto acontece porque os plastificantes se alojam entre as cadeias poliméricas e impedem que as mesmas se empacotem numa maneira ordenada, o que levaria a um maior grau de cristalinidade e portanto maior rigidez.

Quando se compara os valores de módulo elástico obtidos para as formulações de PHB, com o valor obtido para o polipropileno (PP), pode-se afirmar que este é muito mais rígido em função do seu alto grau de cristalinidade. Uma comparação do PHB aditivado com as amostras de PHB aditivado e envelhecido mostra coerência nos dados obtidos, pois as amostras envelhecidas foram provavelmente degradadas em função da exposição à luz e umidade, em temperatura ambiente, durante a realização do ensaio levando ao abaixamento dos valores de módulo elástico. Sugere-se que tal degradação ocorreu pela presença de água, a qual provocou a despolimerização das cadeias num nível muito significativo, contrabalançando com o fato de que com o envelhecimento também ocorre migração do plastificante, o que pode aumentar a cristalinidade do sistema e portanto sua rigidez.

Ao notar-se os valores para a resistência ao impacto, observa-se que o PHB virgem processado absorve menos energia de impacto que o PP, sugerindo que o conteúdo da fase amorfa deste último é bem maior que do PHB. Por outro lado, o PHB sem plastificante absorve menos energia de impacto quando comparado com aquelas formulações aditivadas com os agentes plastificantes. Isto porque estes aditivos levam a um aumento da fase amorfa do material que absorve e dissipa mais facilmente a energia associada a este ensaio.

4.3 – Processabilidade do Poli (ácido 3-hidroxibutírico) – PHB

A avaliação da processabilidade do material em função da incorporação dos aditivos que agiram como agentes de fluxo, foi realizada através das medidas de das propriedades mecânicas e também em função das propriedades morfológicas, para diferentes concentrações de plastificantes utilizadas.

Assim, com relação aos procedimentos operacionais para o processamento do Poli (ácido 3-hidroxibutírico) – PHB, pode-se observar que:

- 1) O polímero pode ser processado na maioria dos equipamentos convencionais de Extrusão e Injeção, não sendo necessária à inclusão de modificações especiais como roscas ou matrizes de “design” específico.
- 2) Para extrusão/injeção pode-se utilizar roscas típicas de poliolefinicos ($L/D = 20/1$), recomendando-se utilizar equipamentos com capacidade de injeção já adequadas à massa do componente injetado, reduzindo-se assim o tempo de exposição do material no estado fundido.
- 3) O PHB pode ser purgado após paradas prolongadas simplesmente utilizando-se polietileno de baixa densidade (PEBD) como material de purga. O material não deve ser exposto a temperaturas maiores que 160 – 170 °C por um período maior que 3 minutos pois nestas condições o material se degrada rapidamente. Aqui é recomendável não ultrapassar temperaturas da ordem de 140 – 150 °C.
- 4) A “janela de operação” ou processabilidade do polímero é relativamente estreita quando comparada a polímeros olefínicos. Isto exige controladores de processo, principalmente de temperatura, extremamente calibrados com as resistências não apresentando “picos” de temperatura que levariam à rápida degradação do material.
- 5) Uma boa maneira de se acompanhar se o polímero esta dentro de sua “janela de operação” ou processabilidade, é feita através da observação de suas características de superfície como rugosidade e brilho que neste material, avaliadas visualmente, foram muito particulares.

- 6) Caso disponha-se de equipamentos de multi-estágio de injeção recomenda-se um rápido preenchimento do molde utilizando-se altas pressões de injeção no início. Aqui deve-se observar que as pressões de injeção devem ser utilizadas de maneira a prevenir o aparecimento de defeitos como “rebarbas e enrugamento” pois o material apresenta quedas sensíveis de fluidez (Melt Flow Index – MFI) quando sujeito a altas taxas de cisalhamento.
- 7) O tempo de resfriamento adotado depende da espessura/formato/volume do componente injetado. Entretanto, observa-se que o material requer “tempos de ciclo” superior àqueles observados para os polímeros olefínicos.
- 8) Para minimizar os tempos de ciclo do PHB sugere-se um aquecimento do molde ao invés de trabalhar-se com moldes de água gelada na ordem de 5 °C, pois assim permite-se ao material uma maior taxa de cristalização com conseqüências diretas nas propriedades termomecânicas do componente injetado, bem como evita-se problemas de expulsão do componente injetado. Em virtude de não se ter um dispositivo para aquecimento do molde, trabalhou-se neste estudo com sistemas de água gelada com conseqüente “tempos de ciclo” elevados.
- 9) A temperatura para aquecimento do molde deve estar na ordem de 55 – 65 °C que é um valor cerca de 50 °C acima da temperatura de transição vítrea do polímero sendo um parâmetro normalmente utilizado para este tipo de procedimento em tecnologia de processamento de polímeros.
- 10) O PHB deve ser processado a temperaturas mais baixas possíveis reduzindo-se também os tempos de residência do material, pois este degrada-se facilmente principalmente em função da sua baixa massa molar.

5. CONCLUSÕES

Com base nos resultados e discussões apresentados anteriormente, as principais conclusões sobre este trabalho são as seguintes:

- O Poli (ácido 3-hidroxibutírico) – PHB é um polímero com características de produto e processo similares aos polímeros olefínicos, desde que os equipamentos de transformação utilizados tenham características de controle satisfatórias.
- O PHB apresentou resultados de propriedades mecânicas satisfatórias uma vez que é um produto ainda em desenvolvimento. Entretanto, para que estas propriedades sejam melhoradas é necessário que o produto tenha maiores massas molares, tal como seus concorrentes sintéticos existentes no mercado.
- Os aditivos utilizados favoreceram o processamento, pois permitiram uma menor exposição do material a altas temperaturas e taxas de cisalhamento.
- As análises térmicas mostraram-se um bom método de caracterização das variáveis térmicas que influenciam o processamento do polímero.
- A análise do teor de umidade foi muito útil porque mostrou a necessidade de uma pré-secagem do material antes de seu processamento.

6. SUGESTÕES PARA PRÓXIMOS TRABALHOS

Trabalhos posteriores poderiam buscar conhecimento dos seguintes pontos:

- Estudar a correlação entre processabilidade versus propriedades do PHB e de copolímeros PHB-HV.
- Estudar aspectos de biodegradabilidade do PHB com relação aos polímeros olefínicos e suas diferentes blendas poliméricas.
- Estudar uma maior variação da concentração de aditivos plastificantes observando-se aspectos de incorporação versus propriedades finais obtidas.
- Estudar o comportamento de outras categorias de plastificantes principalmente aquelas consideradas ambientalmente amigáveis.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ANDERSON, A. J. , WILLIAMS, D. R. , TAIDI, B. , DAWES, E. A. , EWING, D. F. Studies on copolyester synthesis by *Rhodococcus ruber* and factors influencing the molecular mass of polyhydroxybutyrate accumulated by *Methylobacterium extorquens* and *Alcaligenes eutrophus*. *FEMS Microbiology Review*, v.103, p.93-102, 1992.

ASENJO, J. A. , SCHMIDT, A. S. , ANDERSON, P. R. , ANDREWS, B. A. Effect of single nutrient limitation on poly- β -hydroxybutyrate molecular weight distribution in *Alcaligenes eutrophus*. *Biotechnology and Bioengineering*, v.46, p.497-502, 1995.

BALLARD, D. G. H. , HOLMES, P. A. , SENIOR, P. J. Formation of polymers of β -hydroxybutyric acid in bacterial cells and a comparison of the morphology of growth with the formation of polyethylene in the solid state. In: FONTANILLI, M., GUYOT, A. Recent Advances in Mechanistic and Synthetic Aspects of Polymerization. Lancaster: Reidel Publishing Co. vol.215, p. 293-314, 1987.

BAPTIST, J. N. US Patent Application 3 036 959, 1962.

BARHAM, A. , KELLER, L. , OTUN, P. A. M. Cryatallization and morphology of a bacterial thermoplastic: poly-3-hydroxybutyrate. *Journal of Material Science*, v.19, p.2781-2794, 1984.

BARHAM, P. J. , SELWOOD, A. US Patent Application 4 391 766, 1982.

BARHAM, P. J. , SELWOOD, A. European Patent Application EP 0 058 480, 1982.

BARHAM, P. J. , ORGAN, S. J. Nucleation, growth and morphology of poly (hydroxybutyrate) and its copolymers. *Journal of Material Science*, v.26, p.1368-1374, 1991.

BERGER, E. , RAMSAY, B. A. , RAMSAY, J. A. , CHAVARIE, C. E BRAUNEGG, G. PHB recovery by hipoclorite digestion of non-PHB biomass. *Biotechnology Techniques*, v.3, n.4, p.227, 1989.

BLUHUM, T. L. , HAMER, G. K. , MARCHESSAULT, R. H. , FYFE, C. A. , VEREGIN, R. P. Isodimorphism in bacterial poly(β -hydroxybutyrate-co- β -hydrxyvalerate). *Macromolecules*, v.19, p.2871-2876, 1986.

BRADL, H. , GROSS, R. A. , LENZ, R. W. , FULLER, R. C. Plastics from bacteria and for bacteria: Poly(-h ydroxyalkanoates) as natural, biocompatible polyesters. *Advances in Biochemical Engineering and Biotechnology*, v.41, p.78 – 93, 1990.

BRAUNEGG, G. , LEFEVRE, G. Modern developments in biodegradable polymers. *Industrial Chemistry*, v.42, p.313 – 322, 1993.

BYRON, D. Polymer synthesis by microorganisms: Technology and economics. *TIBTECH*, v.5, p.246-250, 1987.

CHEN, G. Q. , PAGE, W. J. The effect of substrate on the molecular weight of poly- β -hydroxybutyrate produced by *Azotobacter vinelandii* UWD. *Biotechnology Letters*, v.16, p.155-160, 1994.

CORNIBERT, J. , MARCHESSAULT, R. H. Physical Properties of poly- β -hydroxybutyrate. IV. Conformational analysis and crystalline structure. *Journal of Molecular Biology*, v.71, p.735-756, 1972.

DOI, Y. *et al.* Structural Effects on Biodegradation of Microbial and Synthetic Poly(hydroxyalkanoates). In SECOND INTERNATIONAL SCIENTIFIC WORKSHOP ON BIODEGRADABLE POLYMER AND PLASTICS, 1991, Montpellier, France. *Proceedings* .

DOUDOROFF, M. E STANIER, R.Y. Role of Poly-3-hydroxybutyric acid in assimilation of organic carbon in bacteria. *Nature*, v.183, p.1440 – 1442, 1959.

DOY, Y. Biodegradable Plastics and Polymers. In THIRD INTERNATIONAL SCIENTIFIC WORKSHOP ON BIODEGRADABLE PLASTICS AND POLYMERS, 1993, Osaka, Japan. *Proceedings*.

ELLAR, D. , LUNDGREN, D. G. , OKAMURA, K. , MARCHESSAULT, R. H. Morphology of poly- β -hydroxybutyrate granules. *Journal of Molecular Biology*, v.35, p.489-502, 1968.

GILMORE, D. F. , ANTOUN, S. , LENZ, R. W. , FULLER, R. C. Degradation of poly(β -polyhydroxyalkanoates) and polyolefin blends in a municipal waste water treatment facility. *Journal of Environmental Polymer Degradation*, v.1, p.269-274, 1993.

GRIEBEL, R. , SMITH, Z. , MERRICK, J. M. Metabolism of poly- β -hydroxybutyrate. I. Purification, composition, and properties of native poly- β -hydroxybutyrate granules from *Bacillus magterium*. *Biochemistry*, v.7, n.10, p.3676-3681, 1968.

HAHN, S. K. , CHANG, Y. K. , KIM, B. S. , CHANG, H. N. Optimization of Microbial Poly(3-hydroxybutyrate) Recovery Using Dispersions of Sodium Hypochlorite Solution and Chloroform. *Biotechnology and Bioengineering*, v.44, p.256 –261, 1994.

HAMMOND, T. , LIGGAT, J. J. Properties and applications of bacterially derived polyhydroxyalkanoates. In: SCOTT, G. , GILEAD, D. Degradable Polymers. London: Chapman & Hall, 1995, p.88-111.

HOLMES, P. A. , WRIGHT, L. F. , COLLINS, S. H. European Patent No 15, 123, 1980.

HOLMES, P. A. Application of PHB – a microbially produced biodegradable thermoplastic. *Physical Technology*, v.16, p.32 – 36, 1985.

HOLMES, P.A. British UK Patent Application GB 2 160 208, 1985.

HRABAK, O. Industrial production of poly- hydroxybutiric acid. *FEMS Microbiology Review*, v.103, p.251 – 256, 1992.

ICI. Biopol, the unique biodegradable thermoplastic from ICI. Promotional material, 1982.

JÜTTNER, R.-R. , LAFFERTY, R. M. , KNACKMUSS, H.-J. A simple method for the determination of poly- β -hydroxybutyric acid in microbial biomass. *European Journal of Applied Microbiology*, v.1, p.223-237, 1975.

KAWAGUCHI, Y. , DOI, Y. Kinetics and mechanisms of synthesis and degradation of poly(3-hydroxybutyrate) in *Alcaligenes eutrophud*. *Macromolecules*, v.25, p.2324-2329, 1992.

KEMMISH,D. The Processing of Poly-(3-Hydroxybutyrate-co-3-Hydroxyvalerate) – PHBV. Billigan: ICI Products & Fine Chemicals, Biopolymers Group, 1999.

KING, P. P. Biotechnology, an industrial view. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v.32, p.2-8, 1982.

KRUPP, L. R. , JEWELL, J. W. Biodegradability of Modified Plastic Films in Controlled Biological Enviroments *Environmental Science and Technology*, v.26, n.1, p.193 – 198, 1992.

LEMOIGNE, M. Études sur l'autolyse microbienne: origine de l'acide β -oxybutyrique formé par autolyse. *Ann. Inst. Pasteur*, v.39, p.144, 1925.

LUZIER, W. D. Materials derived from biomass/biodegradable materials. *Proc. Natl. Academy of Science*, USA 89, p.839-842, 1992.

MARCHESSAULT, R. H. , BLUHUM, T. L. , DESLANDES, Y. , HAMER, G. K. , ORTS, W. J. , SUNDARAJAN, P. R. , TAYLOR, M. G. , BLOEMBERGEN, S. , HOLDEN, D. A. Poly(β -hydroxyalkanoates): biorefinery polymers in search of applications. *Makromol. Chem. Macromol. Symp.*, v.19, p.235-254, 1988.

MARCHESSAULT, R. H. , LEPOUTRE, P. , WRIST, P. PCT International Application WO 91 13 207, 1991.

MERRICK, J. M. , DOUDOROFF, M. Depolymerization of poly- β -hydroxybutyrate by an intracellular enzyme system. *Journal of Bacteriology*, v.88, n.1, p.60-71, 1964.

MORAES, R. Biodegradável encontra nichos de comercialização. *Plástico Moderno*, agosto, p.36-40, 1999.

NONATO, R. , ROSSEL, C. Obtenção de Polímeros Biodegradáveis a partir de Fontes Renováveis: Cana de Açúcar. In WORKSHOP ON ENVIRONMENTALLY DEGRADABLE AND RECYCLABLE POLYMERS IN LATIN AMERICA, 1999, Campinas. *Proceedings...*

NUTI, M. P. , DE BERTOLDI, M. , LEPEDI, A. A. Influence of phenylacetic acid on poly- β -hydroxybutyrate (PHB) polymerization and cell elongation in *Azotobacter chroococcum* Beij. *Canadian Journal of Microbiology*, v.18, p.1257, 1972.

OKAMURA, K. , MARCHESSAULT, R. H. Conformation of Biopolymers 2. London: Academic Press, 1967.

PAGE, W. J. , CORNISH, A. Growth of *Azotobacter vinelandii* UWD in fish peptone medium and simplified extraction of poly- β -hydroxybutyrate. *Applied Environmental Microbiology*, v.55, p.1334-1339, 1993.

RAMSAY, B. Possibilities for Inexpensive Biodegradable Plastics: Polyhydroxyalkanoates (PHAs). In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON ENVIRONMENTALLY DEGRADABLE AND RECYCLABLE POLYMERS IN LATIN AMERICA, 1998, Campinas. *Proceedings*.

RAMSAY, J.A.; BERGER, E.; RAMSAY, B.A. E CHAVARIE, C. Recovery of poly-3-hydroxyalkanoic acid granules by a surfactant-hypochlorite treatment. *Biotechnology Techniques*, v.4, n.4, p.221-226, 1989.

RAMSAY, J. A. , RAMSAY, B. Les plastiques biodégradables *Interface*, v.1, p.11 – 15, 1990.

REUSCH, R. N. , SPARROW, W. , GARDINER, J. Biological complexes of poly- β -hydroxybutyrate. *FEMS Microbiological Review*, v.103, p.119 – 130, 1992.

STEINBÜCHEL, A. , DEBSI, E. M. , MARCHESSAULT, R. H. , TIMM, A. Synthesis and production of poly(3-hydroxyvaleric acid) homopolyester by *Chromobacterium violaceum*. *Applied Microbiology Biotechnology*, v.39, p.443-449, 1993.

THEOBALD, S. , ET-HADI, A. , PECHHOLD, W. Mechanical Properties of Poly(3-Hydroxybutyrate) in Relation to Its Crystalization Behaviour. In: SECOND INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NATURAL POLYMERS AND COMPOSITES – ISNAPOL/98, 1998. *Proceedings*.

WILLIANSO, D. H. , WILKINSON, J. F. The isolation and estimation of poly- β -hydroxybutyrate inclusions of *Bacillus* species. *Journal of General Microbiology*, v.19, p.198-209, 1958.