



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO:

Ciências e Tecnologia de Materiais (ACCTM)

Título da Tese: “OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DE BIODEGRADAÇÃO DE BLENDS DE POLI(3-HIDROXIBUTIRATO-co-VALERATO)/(PHBV) COM LIGNINA DE BAGAÇO DE CANA DE AÇÚCAR”.

Autor: FRANCISCO ADÃO DE CAMARGO

Orientador (a): Prof^a Dra. LÚCIA HELENA INNOCENTINI MEI

Co-Orientador (a): Prof. Dr. Nelson Eduardo Duran Caballero

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

**Campinas - São Paulo
12 de dezembro de 2003**

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

C14o Camargo, Francisco Adão de
Obtenção, caracterização e estudo de biodegradação de
blendas de poli(3-hidroxi-butirato-co-valerato)/(PHBV)
com lignina de bagaço de cana de açúcar / Francisco Adão
de Camargo. --Campinas, SP: [s.n.], 2003.

Orientadores: Mei, Lúcia Helena Innocentini e Nelson
Eduardo Duran Caballero.

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

1. Lignina Biodegradação. 2. Polímeros. 3.
Macromoléculas. 4. Bagaço de cana. I. Mei, Lúcia Helena
Innocentini. II. Duran Caballero, Nelson Eduardo. III.
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Engenharia Química. VI. Título.

Dissertação de Mestrado defendida por Francisco Adão de Camargo e aprovada em 12 de Dezembro de 2003 pela banca examinadora constituída pelos doutores:

Prof^a. Dra. – Lucia Helena Innocentini-Mei (Orientadora)

FEQ – UNICAMP

Prof^a. Dra. Elisa Esposito (titular)

UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES

Prof^a. Dr^a. Joceli Maria Giacomini Angelini (titular)

CPD – TELEBRÁS

Aos meus pais, Maria e Lazaro (In Memoriam).

Aos meus irmãos, Lídia, Lauro, Mário, Helena, Elenice, Isabel e Lourdes

Aos meus filhos; Vinícius e Vitor.

À Elisabete, a companheira, pelo incentivo.

E as meninas Mariana e Raquel

Aos meus amigos que estiveram comigo no
início desta jornada, Eugênio, Jacy, Marquinhos,
Waldir, Michelle, Pedro e Mário Biazzi

Recomeçar

(Carlos Drummond de Andrade)

Não importa onde você parou,
em que momento da vida você cansou,
o que importa é que sempre é possível
e necessário "Recomeçar".

Recomeçar é dar uma nova
chance a si mesmo.
É renovar as esperanças na vida
e o mais importante:
acreditar em você de novo.

Sofreu muito nesse período?
Foi aprendizado.

Chorou muito?
Foi limpeza da alma.

Ficou com raiva das pessoas?
Foi para perdoá-las um dia.

Sentiu-se só por diversas vezes?
É por que fechaste a porta até para os anjos.

Acreditou que tudo estava perdido?
Era o início da tua melhora.

Pois é !
Agora é hora de iniciar,
de pensar na luz,
de encontrar prazer nas coisas simples de novo.

Que tal um novo emprego?
Uma nova profissão?
Um corte de cabelo arrojado, diferente?
Um novo curso,
ou aquele velho desejo de aprender a pintar,
desenhar,
dominar o computador,
ou qualquer outra coisa?

Olha quanto desafio.
Quanta coisa nova nesse mundão
de meu Deus te esperando.

Tá se sentindo sozinho ?
Besteira !
Tem tanta gente que você afastou
com o seu "período de isolamento",
tem tanta gente esperando apenas um
sorriso teu para "chegar" perto de você.

Quando nos trancamos na tristeza nem
nós mesmos nos suportamos.
Ficamos horríveis.
O mal humor vai comendo nosso fígado,
até a boca ficar amarga.

Recomeçar !
Hoje é um bom dia para começar
novos desafios.

Onde você quer chegar?
Ir alto.
Sonhe alto,
queira o melhor do melhor,
queira coisas boas para a vida.
pensamentos assim trazem para nós
aquilo que desejamos.

Se pensarmos pequeno,
coisas pequenas teremos.

Já se desejarmos fortemente o melhor
e principalmente lutarmos pelo melhor,
o melhor vai se instalar na nossa vida.

E é hoje o dia da Faxina Mental.

Joga fora tudo que te prende ao passado,
ao mundinho de coisas tristes,
fotos,
peças de roupa,
papel de bala,
ingressos de cinema,
bilhetes de viagens,
e toda aquela tranqueira que guardamos
quando nos julgamos apaixonados.
Jogue tudo fora.
Mas, principalmente,
esvazie seu coração.
Fique pronto para a vida,
para um novo amor.

Lembre-se somos apaixonáveis,
somos sempre capazes de amar
muitas e muitas vezes.
Afinal de contas,
nós somos o "Amor".

"Porque sou do tamanho daquilo que vejo,
e não do tamanho da minha altura."

AGRADECIMENTOS

A Prof.^a Dra Lucia Helena Innocentini Mei e ao Prof. Dr. Nelson Durán, pela orientação, amizade e incentivo.

A todos amigos de laboratório da Química-Biológica do IQ; Rose, Sandrinha, Natália, Renato, Cida, Márcia, Edna, Marcelo, Lívia, Kelly, Raquel, Juliano, Camila, Jai, Pricyla, Pricila e Ana Olívia, pelo ambiente de trabalho e pelo companheirismo.

A Ana Paula a amiga, colega e colaboradora, que participou no dia a dia do avanço da tese.

A todos funcionários do IQ(UNICAMP), em especial a Tina, Vanda, Cida, Maria do Carmo, Ilza, Paulo, Paula e a Cláudia.

A Simone (estagiária-IQ) do laboratório Polímeros Condutores e Reciclagem.

Aos amigos e colegas, Edgar, Cícero, Andrey, Ricardo, Renato, Ricardo...

A todos estagiários e aqui representados por: Érica, Andréia, José, Letícia, Denis, Luciana e Edivania.

Aos Funcionários e alunos da FEQ (UNICAMP).

Aos amigos e colegas da DEBIQ-FAENQUIL.

A todos Professores do Ensino Médio, estes heróis anônimos e em particular; À Bete, Lilian, Rosângela, Lenira, Janete, Maria, Helo, Lucilene, Andrea, Karen, Edson, Hipólito, Teresa, Marcia, Rose, Demércio, Lúcia, Maura, Mario, Hélcio, Nilda, etc....

E todos aqueles ligados ao ensino representados pelos funcionários da EEPSG BA; Carmen, Salete, Josefa, Ivone, Cristina, etc...

CURRICULUM VITAE

Francisco Adão de Camargo

Brasileira

Rua: Barão do Rio Branco, 223, Ap.117

Rg: 7.725.870

Tel: (0xx-11) 4527-1626

E-mail: camargo@iqm.unicamp.br

13201-670 Jundiaí S.P

I. FORMAÇÃO ACADÊMICA

I.1 Curso Superior

Universidade Estadual Campinas (UNICAMP):

Licenciatura e Bacharel em Química

I.2 Pós-Graduação – Mestrado (UNICAMP)

Mestrado em Engenharia Química (ACCTP – DTP)

(defendida em – 12/12/2003)

I.3 Pós-Graduação – Doutorado (UNICAMP)

Doutorado em Engenharia Química (ACCTP – DTP)

(em andamento – início em 03/2004)

II EXPERIÊNCIA DE TRABALHO

II.1 Técnico em Química (Unicamp – início - 1985 até hoje)

CLE -Matricula: 062227 - Função: Químico

Depto/Setor: IQ – Físico Química – Lab. De Química-Biológica - Ramal: 83042

III. EXPERIÊNCIA PROFISSIONAL – UNICAMP ENSINO E PESQUISA (IQ)

III.1. UNICAMP – IQ – Bolsa de Trabalho SAE - Campinas - SP (01/03/79 - 28/06/1985)

III.2. UNICAMP-IQ (1981 a 1983)-Iniciação Científica (CNPq)- Proj.: "Estudo de Reações de Substituição Nucleofílica Aromática de Compostos Contendo a Ligação Dupla C=N-".

III.3. FUNCAMP -Auxiliar de Química - Campinas SP (13/11/1980 - 13/07/1982) - Projeto HIDROCON-Obtenção de Etanol por Hidrólise Ácida Via Processo contínuo.Desenvolvimento de Técnicas de Análises.Participação na Construção e na Operação da planta Piloto.

III.4. CODETEC - Coordenação de Desenvolvimento Tecnológico - (13/07/1982 - 02/02/83) - Experiência Adquirida: Participação no Projeto HIDROCON (cont.)

IV. EXPERIÊNCIA PROFISSIONAL – Ensino Médio – Professor de Química

IV.1. EEPS Prof.^a Altina J. de Oliveira-Mairinque-SP - (1977-1978)

IV.2. Colégio Objetivo Campinas - (Cambui) SP – 1980.

IV.3. Educap-Sociedade de Educação e Cultura Ltda.- Campinas-SP (1981)

IV.4. EEPSG Bento Quirino - Campinas (Cambui) SP (01/04/1984 - 27/11/1984).

IV.5. EEPSG Dr. José Romário Pereira - Jundiaí - SP - (1990 a 1996)

IV.6. EEPSG Paulo Mendes Silva - Jundiaí - SP - (1996, 1997, 2004)

IV.7. EEPSG Coronel Siqueira de Moraes - Jundiaí - SP - (1992,1997,2001)

IV.8. EEPSG Prof.^a Benedita Arruda - Jundiaí - SP - (1998 a 2003)

V. CURSOS E PARTICIPAÇÃO EM CONGRESSOS-Brasil

V.1. Desenhista Mecânico-Senai - São Paulo-SP(1975)

V.2. "Curso de Aperfeiçoamento em Ecotoxicologia Médica" Faculdade de Ciências Médicas-UNICAMP e Soc. Bras. de Ecol. Campinas - SP (17 a 14/07/1980)

V.3. "Uso Acoplado de Cromatografia Gasosa e Espectroscopia de Massa" - Sociedade Brasileira de Química (SBQ)- Campinas - SP (06 a 14/07/1982)

V.4. "Topics in Chemical Education" - Sociedade Brasileira de Química (SBQ) Campinas - SP (06 a 14/07/1982)

V.5. "3^o Jornada Brasileira de Ecologia Humana" - Faculdade de Ciências Médicas-UNICAMP e Soc. Bras. de Ecol. UNICAMP - CNPq - SBE - Campinas-SP (1982)

V.6. "I^o Encontro Interno Estudantil de Pesquisa"–UNICAMP - IQ - Campinas - SP (1983)

V.7. "Treinamento para prof^o de Química do 2^o Grau e Ciências 1^o Grau"-Faculdade de Educação – UNICAMP - Campinas - SP (1983)

V.8. "2^o Simpósio Brasileiro de Química Teórica"- Inst. de Química - UNICAMP e SBQ Campinas - SP (1983)

V.9. "Química de Fronteiras" - IQ - UNICAMP e SBQ- Campinas - SP (1984)

V.10."3^o Encontro Nacional de Química Analítica"-IQ - UNICAMP e SBQ- Campinas - SP (1985)

V.11. Workshop : "Progressos Recentes em RMN Orgânica" - IQ - UNICAMP e SBQ Campinas - SP (1986)

V.12. "Microcomputador para executivos"-Centro de Computação–Unicamp-SP (1986)

V.13. "Princípios Básicos de Func. de Bombas de Linhas de Vácuo" IQ - UNICAMP e SBQ - Campinas - SP (1986)

V.14. "III^o Simpósio Nacional de Química Inorgânica"- IQ-SBQ e Unicamp-SP (1986)

V.15. "Curso de Análises de Aminoácidos"-Indústria Labor MIM e IQ–Unicamp-SP (1987)

V.16. "Instalação e Treinamento na operação do Analizador de Aminoácidos"-Dep. De Química - Fundação Universidade Estadual de Maringá - Maringá - Paraná (1987)

V.17. "Debates sobre Pesquisa em Ensino de Química" UNICAMP-Campinas (1987)

V.18. "Encontro de Química Ambiental: Diagnóstico e Perspectivas para a Próxima Década" IQ – UNICAMP – (1990).

V.19 "Princípio das Boas Práticas de Laboratório-BPL"-IQ- UNICAMP–Campinas -(1995)

V.20 "Curso de Fotografia" Casa da Cultura – Pref. Do Município de Jundiaí – 1995

V.21. "I^a Reunião Nacional de Microbiologia Aplicada ao Meio Ambiente" -IQ-Unicamp Campinas - SP (1996)

V.22. "PREVENÇÃO DE ACIDENTES PARA MEMBROS DE CIPA" - CDRH - Centro de Desenvolvimento de Recursos Humanos- IQ - UNICAMP - Campinas - SP (1996)

V.23. "3^o Minisimpósio de Novas Tecnologias em Química e Biotecnologia De Materiais Renováveis".IQ - UNICAMP - Campinas - SP (1997).

V.24. "Armazenagem de Produtos Químicos" - Comissão de Segurança do Instituto de Química - IQ – UNICAMP – Campinas – SP – (1999).

V.25. "Tratamento e descarte de resíduos"- Comissão de Segurança do Instituto de Química - IQ – UNICAMP – Campinas – SP – (1999).

V.26. "Tecnologia Enzimática: Lacase – Origem, Propriedades, Produção e Aplicações" Prof^a Líliliana Gianfreda (Univ. Nápoles – Itália). IQ – UNICAMP – Campinas–SP–(2000).

V.27. I Simpósio de Profissionais do Ensino de Química-I SIMPEQ–IQ–Unicamp- (2001)

V.28. "Capacitação para o uso de Softwares Educacionais dos PEB II das Escolas com Salas Ambiente de Informática – Oficina: Conhecimentos Básicos de Informática na Educação". Secretaria de Estado da Educação – Jundiaí – (2001).

V.29. II Simpósio de Profissionais do Ensino de Química-II SIMPEQ–IQ–Unicamp-(2002)

V.30. "Capacitação para o uso de Softwares Educacionais-Ensino Médio: Desvendando a natureza: Tudo o que você queria saber e não teve coragem de perguntar". Secretaria de Estado da Educação –CENP – DOE 18.12.2002 - Jundiaí – (2002).

V.31. III Simpósio de Profissionais do Ensino de Química-(SIMPEQ)-IQ–Unicamp-(2003)

V.32. "2^a Reunião da Rede de Nanobiotecnologia"-Unicamp-Campinas – SP (2003)

VI. TRABALHOS PUBLICADOS - CONGRESSOS NACIONAIS

VI.1 **Camargo, F., A ., Nascimento, M., G., e Miller, J.;** "Efeitos da função C=N- sobre reações de SnAr no dois anéis do Sistema ArCH=NAr"., III^o Encontro Regional de Química-Ribeirão Preto (1981)

VI.2 **Camargo, F., A ., Nascimento, M., G., Moran, P., J., e Miller, J.,"**Comparação das reatividades de Benzelidenanilinas Substituídas no anel Benzal, em reações com Dietilfosfito". Belém do Para – PA, Ciência e Cultura, v.35, Supl.,396 (1983)

VI.3 Moran, P., J., **Camargo**, F., A., Brenelli, E., C., S., Título : "Reatividade da Hidrazina e Hidroxilamina em reações SnAr Com 2- e 4-cloro 1-Alquilpiridínios". Ciência e Cultura, Fortaleza - Ceará – CE, v.41, pág. 428 (1989)

VI.4 **Camargo**, F., A., Moran, P., J., S., "Parâmetros cinéticos das reações SnAr de Hidroxilamina e Trifluoretilamina com os cátions 2- e 4- cloro 1- metilpiridínicos". SBQ-14^a Reunião anual da SBQ-Caxambu-MG (1994)

VI.5 **Camargo**, F., A., Marcucci, M., C.; "Identification of some Propolis Constituents: Aminoacids". Reunião anual da SBBq - XXIII^o pág. 191 Caxambu-MG (1994)

VI.6 Rodrigo Piola; **Camargo**, F. A.; Moraes, S. G., e Durán N.; "Aplicação da fotocatalise heterogênea na descontaminação de solos". I Encontro sobre aplicações Ambientais de Processos Oxidativos Avançados. Águas de São Pedro, SP–Brasil, (2001)

VI.7 **Camargo**, F. A.; Lemes, A. P., Moraes, S. G.; Mei, L.I. and Durán, N.; "Biodegradation of blend synthesized from natural polymer"; 5^o Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática-Enzitec - Brasília – DF – Brasil, (2002)

VI.8 **Camargo**, F. A. e Rampini, E. A.; "Utilizando a informática como ferramenta para o ensino de química". II Simpósio de Profissionais do Ensino de Química -II SIMPEQ – IQ – Unicamp - Campinas – SP – Brasil (2002)

VI.9 **Camargo**, F. A., Rampini, E. A. e Baradel, L. P. G.: "AVALIAÇÃO INTEGRADA; UMA METODOLOGIA PREPARATÓRIA" II Simpósio de Profissionais do Ensino de Química II - SIMPEQ – IQ – Unicamp - Campinas – SP – Brasil (2002)

VII TRABALHOS PUBLICADOS - CONGRESSOS INTERNACIONAIS

VII.1 **Camargo**, F. A., Lemes, A. P., Moraes, S. G., Mei, L. I. and Durán, N; "Characterization and biodegradation of blend synthesized from natural polymers". Fourth International Symposium on Natural Polymers and Composites-ISNAPOL 2002 São Pedro, SP, Brasil – Págs. 51-56 (2002)

VII.2 Lemes, A. P., **Camargo**, F. A., De Azevedo, M. M. M., Moraes, S. G., Inocentini-Mei, L. H., and Durán, N.; "Biodegradation of PHBV by White-rot Fungi *T. versicolor* and *P.chryso sporium*: the Influency of Enzymes". Enzymes in the environment activity ecology and applications. -Praha, Czech Republic.pág.83 (2003)

VIII TRABALHOS PUBLICADOS - REVISTAS NACIONAIS

VIII.1 Durán, N., Rodrigues, J., Campos, V., Ferraz, A., Reyes, J., Amaya-Farfan, J., Espósito, E., **Camargo**, F. A., Baeza, J., Freer, Juanita and Urizar, S., "Single Cell Protein Quality Produced from Lignocellulosic Materials by the *Ascomycete Chrysonillia Sitophila* (TFB-4127441 Strain). Review Microbiol., São Paulo, v.25(1), p.31-6, (1994)

VIII.2 Durán, N., Reyes, J., L., Amaya-Farfan, J., Espósito, E., **Camargo**, F. A., Baeza, J., Freer, J., Urizar, S., Rodrigues, J., Campos, V., and Ferraz, A., "Lignocellulosic Materials: A Binational Projection in Single Cell Protein Production". Boletim Micológico v.10 (1-2), p.59-62 (1995)

IX TRABALHOS PUBLICADOS - REVISTAS INTERNACIONAIS

IX.1 Marcucci, M., C., **Camargo**, F. A., & Lopes, C., M., A., "Identification of Amino-Acids in Brazilian Propolis". Zeitschrift fur Naturforschung. v.51(1/2),11-14 (1996).

IX.2 Justo, G. Z.; **Camargo**, F. A.; Haun, M; Faljoni-Alário, A.; and Durán, N.;; Sensitized Photooxygenation and Peroxidase-Catalyzed Inactivation of Xantine Oxidase– Evidence of Cysteine Damage by Singlet Oxygen". Physiol. Chem. Phys. & Med. NMR v.32;145-154 (2000).

ÍNDICE GERAL

CURRICULUM VITAE.....	vii
ÍNDICE GERAL.....	xiii
RESUMO.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	xviii
ÍNDICE DE EQUAÇÕES.....	xx
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xxi
ÍNDICE DE TABELAS.....	xxv

Capítulo I

I.1 – Introdução.....	1
-----------------------	---

Capítulo II

II.1 - Revisão da Literatura.....	3
II.1.1 – Polímeros Biodegradáveis.....	6
II.1.2 – PHA`s.....	8
II.1.3 – Lignina.....	11
II.1.4 – Mistura de Polímeros.....	15
II.1.5 – Compatibilidade	16
II.1.6 – Miscibilidade.....	18
II.1.7 – Plastificante.....	20
II.1.8 – Blendas Poliméricas.....	21
II.1.8.1 – Aspectos Gerais.....	21
II.1.8.2 – Termodinâmica e Miscibilidade.....	22
II.1.8.3 – Compatibilidade.....	22
II.1.8.4 – Métodos de obtenção de Blendas Poliméricas.....	23
II.1.8.4.a) – Blendas em solução.....	23
II.1.8.4.b) – Mistura Mecânica.....	24
II.1.8.4.c) – Mistura Reativa.....	24
II.1.8.4.d) – Mistura de Látex.....	25
II.1.8.4.e) – Polimerização in situ.....	25
II.1.8.5 – Morfologia de Blendas Poliméricas.....	25
II.1.8.6 – Aplicações Gerais de Blendas Poliméricas.....	28
II.1.8.6.a) – Aplicações Automotivas.....	28

II.1.8.6.b) – Mercado de Embalagens.....	29
II.1.8.6.c) – Aplicações Elétricas e Eletrônicas.....	29
II.1.8.6.d) – Setor de Eletrodomésticos.....	30
II.1.8.6.e) – Mercado de Construção Civil.....	30
II.1.9-Biodegradação por fungos e enzimas.....	31
II.1.9.1 – Biodegradação.....	31
II.1.9.2 – Fungos Basidiomicetos.....	32
II.1.9.3 – Enzimas que degradam a lignina.....	33
II.1.9.3.i) – Lignina Peroxidase.....	34
II.1.9.3.ii) – Lacase.....	34
II.1.9.3.iii) – Manganês Peroxidase.....	35
II.1.9.3.iv) – Outras enzimas.....	35

Capítulo III

III.1 - Objetivos.....	36
III.2 - Objetivos Específicos.....	36

Capítulo IV

IV - Materiais e Métodos.....	37
IV.1 – Obtenção das Blendas Poliméricas de Lignina/PHBV.....	37
IV.2 – Espectroscopia de Infravermelho.....	38
IV.3 – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN-H).....	39
IV.4 – Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	39
IV.5 – Análise Termogravimétrica (TGA).....	39
IV.6 – Análise Mecânico Dinâmica (DMA).....	40
IV.7 – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	40
IV.8 – Análise Elementar.....	41
IV.9 – Densidade Sólido.....	41
IV.10 – Ensaio Mecânicos.....	41
IV.11 – Ensaio de Biodegradação.....	42
IV.11.1) – Atividade Enzimática	42

IV.11.1.a) – Lacase.....	42
IV.11.1.b) – Lignina Peroxidase.....	42
IV.11.2) - Microrganismos.....	43
a) Cultivo do <i>T. versicolor</i> (CCT 4521).....	43
b) Cultivo do <i>P. chrysosporium</i> (ATCC 24725).....	43
IV.11.3) – Testes em Meio Líquido.....	44

Capítulo V

V – Resultados e Discussões.....	45
V.1 – Obtenção da Blenda.....	45
V.1.1 – Discussão Parcial Obtenção da Blenda.....	45
V.2 – Caracterização do Material.....	46
V.2.1 – Espectroscopia de Infravermelho (IV).....	46
V.2.2 – Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	48
V.2.3 – Análise Termogravimétrica (TGA).....	51
V.2.4 – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN- ¹ H).....	52
V.2.5 – Análise Mecânico Dinâmico (DMA).....	55
V.2.6 – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	58
V.2.7 – Ensaio Mecânicos.....	62
V.2.8 – Análise Elementar das Blendas, Lignina e PHBV.....	64
V.2.9 – Densidade de Sólido (g/L ou g/cm ³).....	65
V.2.10 – Discussão Parcial da Caracterização.....	66
V.3 – Ensaio de Biodegradação.....	67
V.3.1 – Ensaio realizados com <i>T. versicolor</i>	67
V.3.2 – Ensaio realizados com <i>P. chrysosporium</i>	73
V.3.3 – Discussão Parcial do Estudo de Biodegradação.....	75

Capítulo VI

VI – Conclusões e Sugestões para os Próximos Trabalhos.....	76
---	----

Capítulo VII

VII – Referências Bibliográficas.....	79
---------------------------------------	----

RESUMO

A enorme quantidade de plásticos sintéticos, anualmente descartada, torna difícil prever um futuro da Humanidade sem uma política global para diminuir o impacto deste tipo de lixo no meio ambiente. Dessa maneira, muitos grupos de pesquisa têm buscado soluções que garantam um desenvolvimento sustentável, onde o Homem e o meio possam conviver sem causar prejuízos entre si. Com este princípio, buscamos neste trabalho o desenvolvimento de blendas biodegradáveis de polímeros naturais, com potencial para substituir alguns dos plásticos convencionais, contribuindo para o binômio produção versus preservação ambiental.

Uma biomolécula natural utilizada foi a Lignina, uma macromolécula do bagaço de cana de açúcar, disponível em grande quantidade nos países tropicais como o Brasil. O outro componente da blenda, o copolímero de poli(hidroxi-butirato-co-hidroxi-valerato) ou PHBV, é um termoplástico natural, biodegradável e biocompatível.

Blendas de Lignina: PHBV foram processadas num misturador Haake, e preparadas em várias porcentagens (m/m); isto é: (20:80)%, (40:60)%, (50:50)%, (60:40)%, (80:20)% e (0:100) %, respectivamente. A porcentagem (50:50)% foi escolhida para os estudos de propriedades mecânicas por apresentar boas características de resistência, sendo processada no misturador Haake, extrusora monorosca e injetada para a confecção dos corpos de prova. Foi estudada a biodegradação das amostras, em meio líquido e sólido, por ação dos fungos *Trametes versicolor* e *Phanerochaete chrysosporium*.

A caracterização da Blenda 50:50% foi feita por infravermelho com transformada de Fourier(FT-IV); Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC); Análise Dinâmico Mecânica (DMA); Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV); Análise Elementar e Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN- H).

Através dos resultados pode-se constatar que o material obtido foi susceptível à biodegradação com *Trametes versicolor* e *Phanerochaete chrysosporium* e apresenta um bom potencial pela rigidez apresentada para utilização na área de Engenharia, especificamente na área de ciências de materiais .

ABSTRACT

The great amount of synthetic polymers discharged every year in the urban solid waste is growing fast and makes difficult to see the future without a global politics to solve this environmental problem. In this way, many groups of researchers are studying solutions that may guarantee a sustainable development, where Man and Environment can live in a good balance. With this principle, the aim of this work was the development of biodegradable blends, using two natural polymers, with potencial to substitute some of those conventional polymers, contributing to the balance Production *versus* Environment.

In this work, we used a natural biomolecule called Lignin, a macromolecule from sugar-cane bagasse that is abundant in tropical countries like Brazil. The other component of the blend was a copolymer of poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) or PHBV, a natural biodegradable polyester, from polyhydroxyalkanoates' family (PHAs).

Blends of Lignin:PHBV were processed in a mechanical mixer and prepared in several percentages (w/w) : (20:80)%, (40:60)%, (50:50)%; (60:40)%; (80:20)% e (0:100)%, respectively. The blend corresponding to (50:50)% was chosen for the studies of mechanical properties for presenting appropriate characteristics for the study, than the other mixtures, being processed in a single screw extruder and injected to obtain ASTM (D 638) specimens for mechanical tests.

The samples biodegradation was studied in liquid and solid medium, in the action of *Trametes versicolor* and *Phanerochaete chrysosporium*, a kind of fungi.

The blend (50%:50%) characterization was done by Infrared spectroscopy (FT-IR), Differential Scanning Calorimetric (DSC), Mechanical Dynamic Analysis (DMA); Scanning Electron Microscopy (SEM), Nuclear Magnetic Resonance of Proton (H-NMR,) elementary analysis and Thermogravimetry.

Through the results it may be seen that the material obtained is susceptible to biodegradation by *Trametes versicolor* and *Phanerochaete chrysosporium*, a kind of white-rot fungi, and it presents a good potential for application in the engineering field.

Keywords: Natural Polymers, Lignin/PHB Blend, Biodegradation

ABREVIACÕES

- ΔG_m – Energia Livre molar de mistura
- ΔH_m – Entalpia de mistura
- (Lig/PHBV)% - Porcentagens de Lignina/PHBV
- (m/m)% - Porcentagens massa/massa ou (w/w)% – Porcentagens weight/weight
- ΔS_m – Entropia de mistura
- 3HB – 3-Hidroxi-butirato
- 3HV – 3-Hidroxi-valerato
- AB – Butadieno-Acrilonitrila
- ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas
- ABS – Estireno-Butadieno-Acrilonitrila
- ABTS – 2,2' – Azino-bis (3-ethylben – Thiazoline – 6 – sulfonic Acid)
- ASTM – American Standard Testing Materials
- ATCC – American Type Culture Collection
- CAB – Polibutirato de acetato de celulose
- CCT – Coleção de Culturas Tropical
- CHN – Análise Elementar (Carbono Hidrogênio e Nitrogênio)
- DIN – German National Standards
- DMA ou DMTA – Análise Dinâmica Mecânica
- DSC – Calorimetria Diferencial Exploratória
- FTIV ou FTIR – Infravermelho com transformada de Fourier
- GBR ou GBR-S – Government Rubber (Styrene)
- HA ou HAs – Hidroxialcanoato (s)
- HIPS – Poliestireno de alto impacto
- HV – Hidroxivalerato
- IPN's – Redes interpenetrantes
- ISSO – International Standard of Services Organization
- LiP – Lignina Peroxidase
- MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura
- Mn - Peso Molecular
- MnP – Manganês Peroxidase

- NADPH – Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
- NBR – Borracha Butadieno Acrilonitrila ou Borracha Butadieno Nitrila
- Nc – número de compatibilidade
- NG – Nucleação e crescimento
- Noryl - blenda de poliestireno de alto impacto (HIPS) e poli(óxido de 2,6-dimetil-1,4-fenileno (PPO) –nome comercial da GE - Noryl
- PADs ou PAD's - Polímeros Ambientalmente Degradáveis
- PBT – Politereftalato de butileno
- PC – Policarbonato
- PCL – Policaprolactona
- PE – Polietileno
- PEO – Poli(óxido de etileno)
- PET – Polietileno tereftalato
- PGA – Poli(ácido glicólico)
- PHA's ou PHAs – PoliHidroxiAlcanoatos
- PHB ou P(3HB) – Poli(3-HidroxiButirato)
- PHBV ou P(3HB-3HV) ou P(HB-co-HV)– Poli(3-HidroxiButirato-co-3-Valerato)
- PLA – Poli(ácido láctico)
- PP – Polipropileno
- PPO – Poli(óxido de 2,6-dimetil-1,4-fenileno)
- PVA – Poli(álcool vinílico)
- PVC – Policloreto de vinila
- RMN-¹H – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
- SAN – Estireno-Acrilonitrila
- SBR ou Buna-S – Borracha estireno butadieno
- SD – decomposição espinodal
- Tan δ (Tan Delta) Temperatura de Transição Vítre (T_g) (DMA)
- T_c – Temperatura de cristalização
- T_g – Temperatura de Transição vítrea
- T_m ou T_f – Temperatura de fusão
- UV – Ultravioleta

ÍNDICE DE EQUAÇÕES:

Capítulo II

Equação II.1.....	pág. 5
Equação II.2.....	pág. 5
Equação II.3.....	pág. 16
Equação II.4.....	pág. 22
Equação II.5.....	pág. 22
Equação II.6.....	pág. 22

Capítulo V

Equação V.1.....	pág. 54
-------------------------	----------------

ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo I

Figura I.1 - Vista de um aterro na cidade de São Paulo..... pág. 2

Figura I.2 - O desenvolvimento científico e tecnológico dos Biopolímeros PHAs através do século XX..... pág. 10

Capítulo II

Figura II.1 – Estereoisômeros do PHB.....pág.11

Figura II.2 – Principais tipos de ligações entre unidades fenilpropanóides na molécula de Lignina.....pág.12

Figura II.3 – Principais unidades aromáticas presentes na Lignina.....pág.12

Figura II.4 – Modelo da estrutura de um fragmento de Lignina.....pág.13

Figura II.5 – Porcentagem de Lignina nas Folhosas.....pág.14

Figura II.6 – Representação esquemática de um sistema de duas fases, que ilustra a definição de um sistema compatível, incompatível e semicompatível usando DMA.....pág.17

Figura II.7 – Diagrama de Fases para um sistema binário.....pág.26

Figura II.8 – Diagrama de Fases para um sistema ternário demonstrando as curvas binodal e spinodal e o ponto crítico.....pág.27

Capítulo IV

Figura IV.1 – PHBV in natura.....pág.37

Figura IV.2 – Lignina de bagaço de cana.....pág.37

Figura IV.3 – Rosca da Extrusora.....pág.38

Figura IV.4 – Corpo de prova para determinar propriedades mecânicas...pág.41

Capítulo V

Figura V.1 – Espectro de absorção no Infravermelho: (a) PHBV; (b) Lignina e (c) Blenda.....pág.47

Figura V.2 – Análises de DSC: (a) Lignina; (b) PHBV e (c) Blenda.....pág.49

Figura V.3 – Análises de DSC das blendas e PHBV processado.....pág.50

Figura V.4 – Análises de TGA: (a) Lignina; (b) PHBV e (c) Blenda.....pág.51

Figura V.5 – Análises de TGA das blendas produzidas e do PHBV Processado.....pág.52

Figura V.6 – Estrutura do copolímero poli(3-hidroxi-butirato-co-hidroxi-valerato), PHBV.....pág.53

Figura V.7 – Estrutura do homopolímero de poli(3-hidroxi-butirato), PHB.....pág.53

Figura V.8 – Espectro de RMN-¹H do PHBV (Copersucar).....pág.53

Figura V.9 – Espectro de RMN-¹H do PHBV (Aldrich).....pág.54

Figura V.10 - Módulo de armazenamento e tan δpág.55

Figura V.11 – Estados de transição de um polímero.....	pág.56
Figura V.12 – DMA módulo de estocagem.....	pág.56
Figura V.13 – Tan δ (delta) do PHBV Virgem.....	pág.57
Figura V.14 – Tan δ (delta) da PHBV Processado.....	pág.57
Figura V.15 – Tan δ (delta) da Blenda Lignina/PHBV	pág.58
Figura V.16 - Microscopia obtida da superfície dos materiais processados em Haake, com aumento de 500x: (A) blenda 50% LIG/PHBV; (B) PHBV; (C) blenda 20% LIG/PHBV; (D) blenda 40% LIG/PHBV; (E) 60% LIG/PHBV; (F) 80% LIG/PHBV.....	págs.59
Figura V.17 - Microscopia de criofatura da blenda 50% LIG/PHBV, processadas no Haake, com aumento de: (A) 1000x; (B) 750x; (C) 100x; e (D) 150x.....	pág.60
Figura V.18 - Microscopia de criofatura da blenda 50% LIG/PHBV, processadao Haake, com aumento de: (A) 200x; (B) 1000x; (C) 5000x.	pág.61
Figura V.19 – Curvas de tração e Flexão da blenda 50% LIG/PHB, PHBV (processado e in natura).....	pág.62
Figura V.20 - Aparelho EMIC, para ensaio de Tração e Flexão. Foto do experimento em andamento.....	pág.63

Figura V.21 - (A) Teste por ensaio de biodegradação em meio líquido realizado para o PHBV processado em Haake, utilizando o *Trametes versicolor*, (B) Amostra liofilizada de PHBV processado em Haake..... pág.68

Figura V.22 - (A) Teste por ensaio de biodegradação em meio líquido realizado para a blenda 60% LIG/PHBV, processada em Haake, utilizando o *Trametes versicolor*; (B) Amostra liofilizada da blenda 20% LIG/PHBV, processada em Haake.....pág.68

Figura V.23 - Microscopias obtidas para a blenda 40% LIG/PHBV, processada em Haake, submetida ao teste de biodegradação com aumento de: (A) 1000x; (B)1000x; (C) 500x.....pág.69

Figura V.24 - Microscopias obtidas para o PHBV processado em Haake, submetido ao teste de biodegradação, com aumento de: (A) 50x; (B) 1000x; e (C) 2000x.....pág.70

Figura V.25 - Estrutura esquemática da Enzima Lacase.....pág.72

Figura V. 26 - Crescimento do *Trametes versicolor* em meio sólido com proporções crescentes de blenda.....pág.73

Figura V.27 - Microscopia da criofratura da blenda 50% LIG/PHBV, processada em Haake, submetida ao teste de biodegradação com o *Phanerochaete chrysosporium*, com aumento de 200x; (B)1000x.....pág.74

Figura V.28 - Microscopia da criofratura do PHBV processado em Haake, submetido ao teste de biodegradação com o *Phanerochaete chrysosporium*, com aumento de: (A) 1500x; (B) 50x.....pág.74

ÍNDICE DE TABELAS

Capítulo I

Tabela I.1 Tempo de decomposição de diversos materiais descartados no lixo.....	pág. 2
--	---------------

Capítulo V

Tabela V.1 - Tg das amostras determinadas por DSC.....	pág.50
---	---------------

Tabela V.2 - Tg das amostras determinadas por DMA.....	pág.58
---	---------------

Tabela V.3 – Resultados obtidos nos testes de Tração.....	pág. 63
--	----------------

Tabela V.4 - Resultados obtidos nos testes de Flexão.....	pág. 64
--	----------------

Tabela V.5 – Análise Elementar.....	pág. 65
--	----------------

Tabela V.6 – Densidade de sólido.....	pág. 66
--	----------------

Tabela V.7 – Atividades enzimáticas medidas para as blendas contendo 20, 50 e 80% de Lignina em massa.....	pág. 71
---	----------------

Tabela V.8 – Atividades enzimáticas medidas para o PHBV processado e para as blendas Contendo 40 e 60% em massa de lignina.....	pág. 71
--	----------------

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, tem crescido o interesse pelo destino dos polímeros sintéticos que se acumulam nos aterros dos grandes centros urbanos, despertando a consciência dos cidadãos para uma tomada de atitude, para que estes aterros não agridam o meio ambiente e que, ao mesmo tempo, não impeçam o crescimento econômico.

Esta pesquisa foi direcionada particularmente para o desenvolvimento de novos materiais, combinando polímeros naturais do próprio país, os quais pudessem ser degradados sem agredir o ciclo de vida do meio. Em adição, investigou-se a miscibilidade/compatibilidade da mistura destes polímeros, poli(3-hidroxi-butirato-co-3-hidroxi-valerato) - PHBV e lignina de bagaço de cana, e a biodegradação desta blenda com os fungos *Trametes versicolor* e *Phanerochaete chrysosporium*.

Este campo de pesquisa é necessário devido ao aumento da produção de polímeros, por volta de 78 milhões de toneladas por ano, sendo que a metade desta produção vai para os depósitos de lixo e aterros, como material de pós-consumo. Como estes materiais apresentam boas propriedades como estabilidade estrutural, resistência química e baixa massa específica, e não são degradados facilmente, permanecem nestes aterros e depósitos por muitas décadas (Sepúlveda, 1999). Com um período de vida no meio ambiente bastante longo, mostrado na tabela 1 (Site USP, 2000), uma das alternativas para resolver o acúmulo de lixo plástico é através da produção de polímeros ambientalmente degradáveis (PADs), com propriedades semelhantes aos convencionais. Entretanto, o preço atual destes materiais limita a aplicação somente na medicina e a sínteses de compostos quirais. (Dufresne e col., 2003). Os PADs, quando descartados, devem sofrer biodegradação no meio ambiente, onde inúmeros microrganismos naturais habitam. Neste processo biológico, microrganismos degradam compostos orgânicos a substâncias mais simples para obter alimento e energia para o seu crescimento. Substâncias mais simples são então produzidas e inseridas nos ciclos naturais do carbono, nitrogênio e enxofre (Verhoogt, 1994).

A obtenção de blendas biodegradáveis de polímeros naturais é um campo fértil e pouco explorado. Portanto, neste momento, o presente trabalho surge como uma das

soluções viáveis e possíveis para o controle do balanço produção *versus* meio ambiente, junto com outras atividades que possam diminuir a grande quantidade de polímeros e poluentes da biosfera terrestre. Outro lado positivo desta proposta é o fato do Brasil possuir as matérias primas necessárias, dispensando importações. As possíveis aplicações tecnológicas destes materiais serão investigadas, principalmente na área de engenharia.

Tabela I.1. Tempo de decomposição de diversos materiais descartados no Lixo (Site USP, 2000).

TEMPO DE DECOMPOSIÇÃO DO LIXO
• Papel: 2 a 4 semanas
• Tecido de algodão: 1 a 5 meses
• Corda: 3 a 4 meses
• Meia de lã: 1 ano
• Vara de bambu: 1 a 3 anos
• Goma de mascar: 5 anos
• Estaca de madeira pintada: 13 anos
• Lata de conserva: 100 anos
• Plástico: 450 anos
• Lata de alumínio: 500 anos
• Vidros e pneus: tempo indeterminado



Figura I.1. Vista de um aterro na cidade de São Paulo.

CAPÍTULO II

REVISÃO DA LITERATURA

Existe uma aprovação quase que unânime sobre a utilização dos polímeros no dia-a-dia, em substituição a outros materiais mais densos, caros e difíceis de processar. À medida que os polímeros vão se tornando cada vez mais competitivos em preço e qualidade, há uma tendência geral em aumentar seu consumo. Em contrapartida, o lixo plástico urbano também aumenta, trazendo dificuldades de gerenciamento da falta de espaço e do meio ambiente.

Polímeros convencionais foram concebidos para ter uma vida útil bastante longa, tal como os outros materiais, sendo isso uma condição bastante forte para a colocação destes materiais no mercado. Assim, eles não devem sofrer degradação, pois muitos deles são utilizados em aplicações importantes a longos prazos e em grandes quantidades, como por exemplo, o policarbonato (PC), o policloreto de vinila (PVC), entre outros. Entretanto, em alguns nichos de aplicação, os polímeros têm uma vida útil relativamente curta, como na área de embalagens, agrícola e médica, dentre outras, onde o polietileno (PE), o poli(tereftalato de etileno) (PET) e o polipropileno (PP), por exemplo, são bons representantes. Como estes polímeros sintéticos não são degradados facilmente, depois de completado os seus ciclos de vida úteis, eles vão povoar os aterros e lixões a céu aberto, contribuindo para a poluição ambiental e todo problema decorrente dela.

Reciclar tem sido uma das melhores saídas para resolver, ao menos parcialmente, o problema do gerenciamento do lixo urbano, trazendo inclusive alguns benefícios como a criação de Cooperativas de catadores de lixo recicláveis, as quais oferecem oportunidade de emprego às camadas mais carentes da população. Ao mesmo tempo, aproveita-se o grande valor agregado do plástico reciclável pós-consumo. Entretanto, apesar de atrativa, o custo da reciclagem pode ser muito alto para a maioria dos países, por isso muitos deles não reciclam os seus polímeros. Além disso, nem todos os polímeros são recicláveis por causa da queda de suas propriedades quando comparadas à resina virgem. Isso leva à adoção de outras saídas, preferencialmente usando-se os recursos próprios disponíveis em cada país. Dentre estas saídas, a produção de polímeros ambientalmente degradáveis (PADs), tem

sido bastante investigada por diversos países, incluindo o Brasil, onde a produção de polímeros naturais é abundante, como o amido, as várias fibras utilizadas para reforço de compósitos, a celulose e a quitosana, dentre outros. Quando devidamente formulados estes polímeros são capazes de fornecer um material com resistência termo-mecânica semelhante, e em alguns casos, até superior aos materiais poliméricos comumente utilizados na área de engenharia, sem contar o fato de muitos apresentarem boa compatibilidade com o organismo humano.

As boas propriedades desejáveis de um dispositivo polimérico biodegradável podem ser alcançadas sintetizando-se ou criando-se novas formulações, tal como os polímeros convencionais, criados para ter uma longa vida útil. Mas diferentemente destes, os PADs são susceptíveis à biodegradação após sua vida útil, a qual pode durar por longos períodos em ambientes apropriados. Deve-se esclarecer aqui que o termo polímero degradável se refere aos materiais poliméricos que se desintegram sob condições ambientais apropriadas, em um determinado período de tempo (Narayan, 1990).

A degradação de polímeros expostos ao ambiente pode acontecer por uma das rotas abaixo, ou uma combinação delas (Wool, 1994):

a) **Biodegradação ou Degradação microbiana:** ocorre através de enzimas, produzidas por microrganismos, que degradam o polímero em meio aeróbio ou anaeróbio. Se a remoção do polímero do ambiente for completa, sem gerar resíduos tóxicos, ele será considerado 100% biodegradável (Narayan, 1998).

b) **Fotodegradação:** acontece através da incidência de luz UV do Sol, no material. Este tipo de degradação é bem entendida e muitos plásticos de commodities contêm aditivos para preveni-la. A fotodegradabilidade pode ser aumentada pela incorporação de grupos fotoativos na cadeia polimérica (vinil cetonas e monóxido de carbono), ou por aditivos fotoativos. A fotodegradação tem por bem facilitar a biodegradação por incentivar a formação de grupos oxigenados e reduzir a massa molar das cadeias a pequenos fragmentos que podem ser posteriormente biodegradados pelos microrganismos presentes no meio.

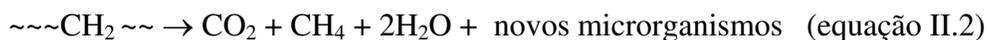
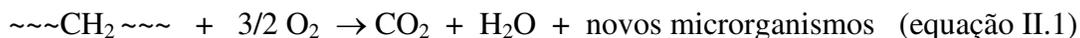
c) **Erosão ou desgaste ambiental:** pode ser promovido pelas variáveis climáticas como: correntes de vento; chuvas, solicitação mecânica e temperatura. Também pode ocorrer por ação de alguns invertebrados e insetos, tais como caracóis e lesmas que povoam nossos

jardins. A biodegradação posterior destes fragmentos será muito importante para a sua incorporação no ciclo de vida natural.

d) **Degradação química:** ataque do polímero por aditivos presentes na sua formulação, como os antioxidantes que promovem reações que levam à deterioração do material. Em tais casos, oxidação de duplas ligações catalisadas, presentes em ácidos graxos insaturados, óleos e borrachas de baixa massa molecular, produzem peróxidos os quais se decompõem em radicais altamente reativos. Estes atacam as cadeias e produzem fragmentos menores, que posteriormente poderão sofrer biodegradação em ambiente adequado.

De modo geral, qualquer uma das rotas de degradação acima descritas, ou uma combinação destas, pode ocorrer e contribuir para a degradação de um polímero.

Dentre as várias definições propostas para os polímeros biodegradáveis (Chandra, 1998 e Narayan, 2002), existe um consenso sobre o fato de que estes polímeros, quando biodegradados, devem ser convertidos a compostos orgânicos mais simples, por via aeróbia ou anaeróbia, mineralizados e reinseridos aos ciclos elementares tais como o do Carbono, do Nitrogênio e do Enxofre. Segue um esquema genérico abaixo de reações aeróbias (equação 1) e anaeróbias (equação 2), respectivamente, de uma cadeia polimérica (Bajpai, 2001):



Um número de protocolos padrões tem sido proposto para definir plásticos biodegradáveis e são apresentados a seguir:

ISO 472: 1988 – Um plástico agüenta uma mudança significativa na estrutura química sobre condições específicas no ambiente resultando na perda de algumas de suas propriedades que poderiam variar; como medida pelo teste de apropriados métodos padrão para o plástico e aplicação no período de tempo que determinou a sua classificação. A mudança na estrutura química resulta na ação naturalmente efetuada por microrganismos.

ASTM sub-committee D20.96 propôs que: Plásticos degradáveis são materiais plásticos que agüentam quebra da ligação na estrutura do polímero através de reações químicas, biológicas e/ou forças físicas no ambiente e a uma velocidade que origine fragmentos ou a desintegração dos plásticos.

A SOCIEDADE JAPONESA DE PLÁSTICOS - Propôs que: plástico biodegradável são materiais poliméricos que mudam para baixo massa molar onde pelo menos um passo no processo de degradação é a metabolização na presença de organismos naturais.

DIN 103.2 Um grupo trabalhando com polímeros biodegradáveis – Biodegradação de um material plástico é um processo que se conduz naturalmente, produzindo metabólitos e produtos. A definição geral de biodegradação é um processo no qual os microrganismos através de suas enzimas utilizam uma substância como fonte de alimento, modificando a sua forma original. Sob condições apropriadas da mistura, temperatura, e a disponibilidade de oxigênio, a biodegradação é relativamente um processo rápida. A biodegradação para períodos limitados é razoavelmente rápido, para que haja uma assimilação completa e o desaparecimento de toda matéria não tóxica ou resíduo perigoso no meio ambiente.

Polímeros biodegradáveis são úteis para várias aplicações: na medicina, agricultura, obtenção de drogas e empacotamentos de alimentos (Chandra, 1998).

II.1.1 POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS

Os polímeros biodegradáveis podem ser classificados em duas categorias, de acordo com a sua fonte de obtenção; ou seja, rotas sintéticas ou naturais, incluindo plantas e microrganismos. A primeira consiste de polímeros sintéticos obtidos em laboratório pelo homem, onde grupos susceptíveis ao ataque enzimático são previamente programados para fazer parte de sua estrutura, como no caso dos poliésteres alifáticos. Estes são facilmente biodegradados e vários exemplos já são conhecidos e utilizados, tais como o poli-ácido glicólico (PGA), o poli-ácido láctico (PLA), copolímeros do PLA/PGA e a policaprolactona (PCL). Outros polímeros sintéticos também conhecidos como susceptíveis à biodegradação são o poli-álcool vinílico (PVA) e o poli-óxido de etileno (PEO) (Verhoogt, 1994).

A segunda rota de obtenção de polímeros biodegradáveis é a natural, onde estão contidos alguns microrganismos e plantas. Dentre as plantas podemos citar a celulose e o amido que existem em grande abundância na Terra e são bem conhecidos pelo homem. Entretanto, outras fontes naturais, como os microrganismos, têm se revelado promissoras. Neste caso, algumas bactérias têm se destacado na produção de alguns polímeros biodegradáveis, onde a família dos poli-hidroxi-alcanoatos (PHAs) tem merecido bastante atenção no mundo todo. Vale comentar que o Brasil é o único produtor de PHB e PHBV da América Latina.

Dentre os membros da família dos PHAs, destacam-se o poli(3-hidroxi-butirato) - (PHB) e o copolímero poli(3-hidroxi-butirato-co-3-hidroxi-valerato) PHBV, sendo este último comercializado com o nome de Biopol (Verhoogt, 1994).

Os copolímeros de PHBV são termoplásticos semicristalinos, com pontos de fusão menores que seu homopolímero, dependendo da quantidade de HV, podendo chegar a temperaturas tão baixas como a 80°C (Pouton e Akhtar, 1996; Yoshie e col., 2001).

PHBV é usado para encapsular fármacos e as características do copolímero PHBV variam de acordo com o grau de composição do mesmo. Um exemplo disso é o aumento progressivo nas velocidades de liberação de fármacos com o aumento da quantidade de HV na matriz (Akhtar e col., 1991). Devido a estas e a outras características, e o conhecimento que se tem destes copolímeros obtidos diretamente de bactérias (El-Hadi e col., 2002), o PHBV mostra-se interessante para o estudo da obtenção de blendas para as mais diversas aplicações.

A biodegradação de polímeros ocorre geralmente por hidrólise e oxidação. Vários fatores como a presença na cadeia principal de determinados grupos funcionais, ligações hidrolisáveis e/ou oxidáveis, natureza dos substituintes, estereoconfiguração, grau de hidrofobicidade ou hidrofiliidade, e flexibilidades conformacional influenciam a biodegradabilidade dos polímeros (Huang e col., 1995).

É importante chamar a atenção sobre o processamento de polímeros naturais, tais como celulose e amido. Como a celulose possui uma alta somatória de energia de interação, por pontes de hidrogênio entre as cadeias, ela não dissolve em solventes comuns e degrada antes de sofrer a fusão como outros termoplásticos convencionais. Assim, ela deve passar por modificação estrutural, como a introdução de grupos laterais na cadeia, de modo a

diminuir esta alta energia de interação e ser processada. Exemplos disso são os ésteres de celulose, que podem ser processados como um polímero termoplástico, uma vez que a temperatura de fusão foi reduzida significativamente abaixo do ponto de degradação devido a introdução dos grupos ésteres na cadeia (Sealey e col., 1996). Semelhante à celulose, o amido deve ser modificado antes de ser processado, porém deve-se ter cuidado para que sua modificação não coloque em risco seu grau de biodegradação (Maddever, 1990).

Apesar das dificuldades em se trabalhar com alguns polímeros naturais, outros como os poli (hidroxi-alcanoatos) (PHA's), podem ser processados tal como os termoplásticos convencionais como PP, por exemplo, podendo ser aditivados adequadamente, fundidos e moldados (Gilmore e col., 1990). Entretanto, para se chegar a um produto satisfatório do ponto de vista de boas propriedades termomecânicas, para aplicação em engenharia, ou boas propriedades para utilização na área da saúde, são necessárias muitas pesquisas para se chegar à formulação que satisfaça os requisitos necessários. De qualquer modo, a morfologia, que é fortemente influenciada pela natureza química dos polímeros e pelo modo que os mesmos são processados, sempre será um parâmetro muito importante porque afeta as propriedades destes, principalmente a degradação (Jarret e col., 1981). Na literatura encontram-se trabalhos mostrando que regiões amorfas são preferencialmente degradadas, devido a sua maior área de superfície comparada ao esferulitos que compreendem as regiões cristalinas (Canetti e col., 1999). Diferença de morfologia, por exemplo, foi observada no caso dos polímeros cristalinos da família dos poli(alfa-hidroxi ácidos); variando a razão para o estereoisomero D ou L – lactídeo, o poli(ácido láctico) se apresentou semicristalino ou completamente amorfo (Christel e col., 1982).

II.1.2 PHA's

Os polihidroxicanoatos (PHAs), já citados anteriormente, são poliésteres biodegradáveis produzidos por diversas bactérias como material de reserva, na forma de grânulos intracelulares. É um material termoplástico que em contraste com os polímeros sintéticos, tem a vantagem fundamental de ser renovável e não são dependentes de petróleo. (Dufresne e col., 2003).

A primeira observação de polihidroxicanoatos, da qual se tem conhecimento, foi no início do século XX (Meyer, 1903). Estes apareceram acumulados em bactérias *Azotobacter chroococcum*, na forma de inclusões lipídicas solúveis em clorofórmio (Stapp, 1924). Só mais tarde, a composição química dessas inclusões foi determinada (Lemoigne, 1926) e identificada como P(3HB) - poli(3-ácido hidroxibutírico). Até o final dos anos 50 já tinham sido acumulados conhecimentos suficientes destas inclusões, as quais permitiram sugerir que o P(3HB) era estocado intracelularmente como reserva de carbono e energia (Williamson e Wilkinson, 1958; Macrae e Wilkinson, 1958). Na seqüência desses estudos, que se intensificaram para o entendimento das funções do P(3HB) no metabolismo das células produtoras, foi publicada a primeira revisão científica sobre esse biopolímero, comparando a sua função à da gordura nos seres humanos (Dawes e Senior, 1973). Até aquele momento, P(3HB) era o único membro conhecido da família dos polihidroxicanoatos, cuja unidade monomérica hidroxicanoatos (HA) tinha sido identificada.

Em 1974, foi publicada a identificação de outras unidades HA (Wallen e Rohwedder, 1974), dentre elas, a unidade 3HV (3-hidroxi-valerato). Cerca de uma década depois, outras 11 unidades monoméricas já haviam sido identificadas (Findlay e White, 1983).

A identificação de outras unidades HA, sintetizadas por bactérias, teve um forte impacto nas pesquisas científicas e também despertou grande interesse comercial. Enquanto o P(3HB) era um material pouco flexível com aplicações limitadas para um termoplástico biodegradável, a incorporação de uma segunda unidade HA, o 3HV, podia representar uma significativa mudança de suas propriedades de uso. Esse marco representou o início do segundo estágio do desenvolvimento científico e tecnológico do uso dos PHAS (Figura I.2). Foi aí que se deu a primeira produção industrial do co-polímero P(3HB-3HV), embora a primeira patente com PHAs já tivesse sido concedida em 1962 (Baptist JN., Patente US 3044942).

Nesse segundo estágio, a pesquisa científica foi mundialmente orientada em busca da identificação e caracterização de toda unidade monomérica HA, que pudesse ser potencialmente sintetizada por microrganismos. Esses esforços resultaram na identificação de muitas outras unidades monoméricas HAs, até o final dos anos 80 (Kunioka e col., 1988; Doi e col., 1987). Os estudos científicos prosseguiram e, até o ano 2000, já se tinha notícia

de cerca de 125 unidades monoméricas HAs (Rhem e Steinbüchel, 1999). Foi em função desse avanço na identificação de unidades HAs, que o nome mais genérico "polihidroxicanoatos" ou PHAs foi designado para essa categoria de biopolímeros.

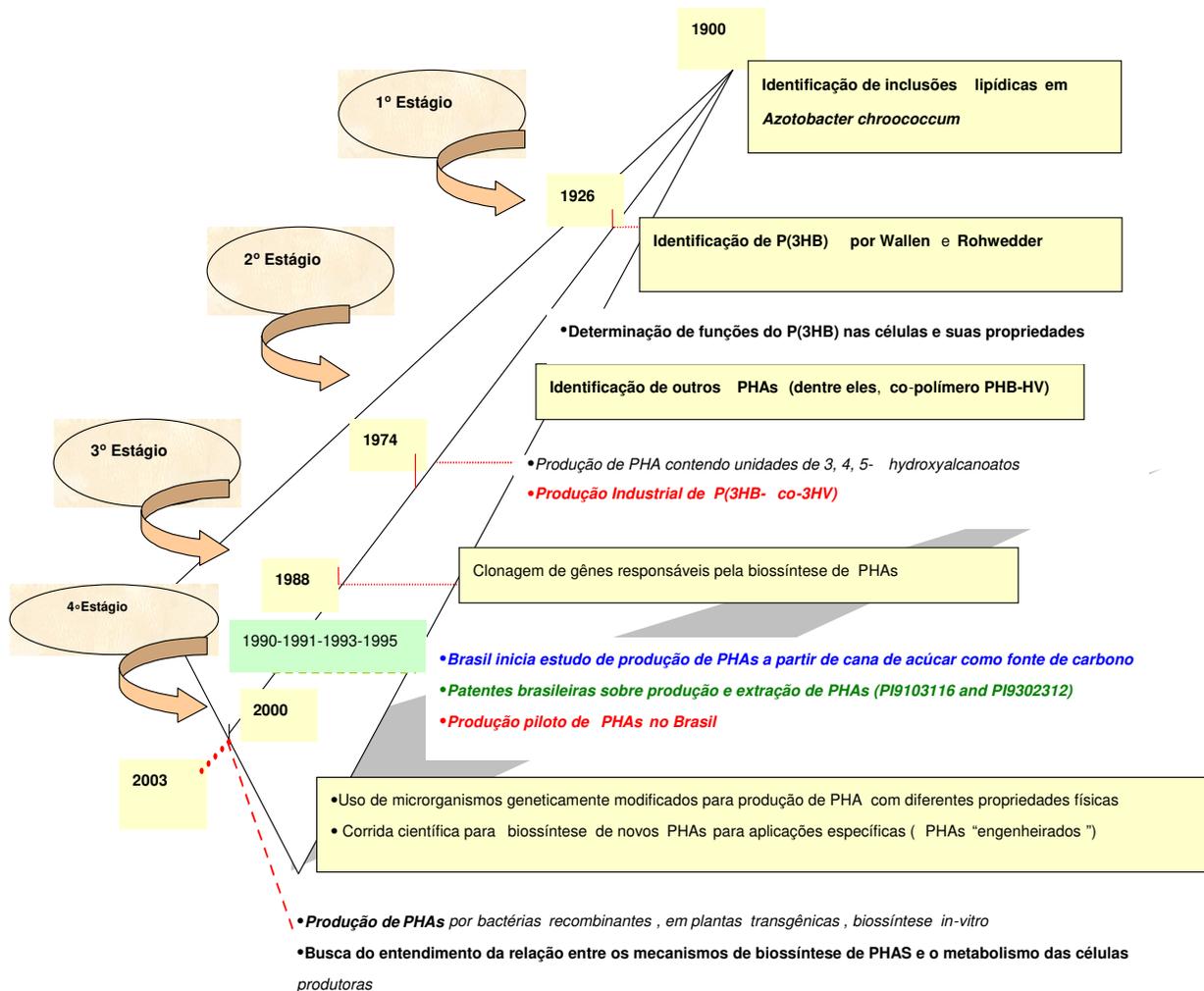


Figura I.2 - O desenvolvimento científico e tecnológico dos Biopolímeros PHAs através do século XX (Sudesh et al., 2000)

O terceiro estágio do desenvolvimento científico dos PHAs, foi marcado por estudos de clonagem e de caracterização de genes responsáveis pela biossíntese desses poliésteres. O início da revolução da Biologia Molecular, nos anos 70, forneceu as novas ferramentas

para a pesquisa molecular, que foram usadas com sucesso para decifrar informações genéticas e melhorar o entendimento dos princípios envolvidos na biossíntese das enzimas envolvidas na reação de polimerização. Desde então, a clonagem genética tem sido explorada, e genes responsáveis pela biossíntese de PHAs têm sido transferidos em plantas transgênicas que possam produzir PHAs (Poirier e col., 1992).

Atualmente, o interesse pelos PHAs é evidente devido ao seu potencial de aplicações em medicina (liberação controlada de drogas – nanotecnologia); entretanto, alguns cuidados já estão sendo tomados devido a estudos feitos com PHB (Figura II.1), onde o enantiômero S-(PHB) apresentou um efeito teratogênico em embriões de ratos (Seebach e col., 1999).

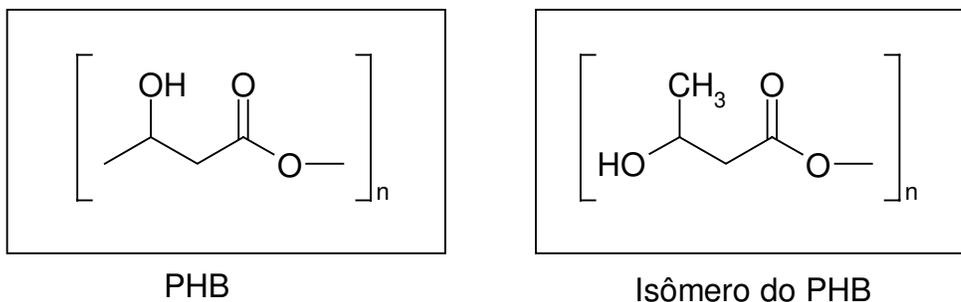


Figura II.1 – Estereoisômeros PHB

II.1.3 LIGNINA

O termo lignina foi introduzido em 1838 por Anselme Payen para designar o resíduo solúvel obtido no tratamento da madeira por ácido nítrico concentrando, ficando por um longo tempo a constituição química deste resíduo na obscuridade. Peter Klason em 1917, propôs que a lignina poderia ser classificada como uma substância macromolecular

constituída de unidades do álcool coniferílico, mantidas juntas através de ligações do tipo éter.

Em 1940, estudos baseados em reações clássicas da química orgânica, levaram a concluir que, de uma forma geral, a lignina era constituída de unidades fenilpropanóides (Figura II.2) unidas por ligações éter e carbono. Em 1954, Lange propõe que as principais unidades aromáticas presentes na estrutura da lignina eram a *p*-hidroxifenila, guaiacila e siringila (Figura II.3).

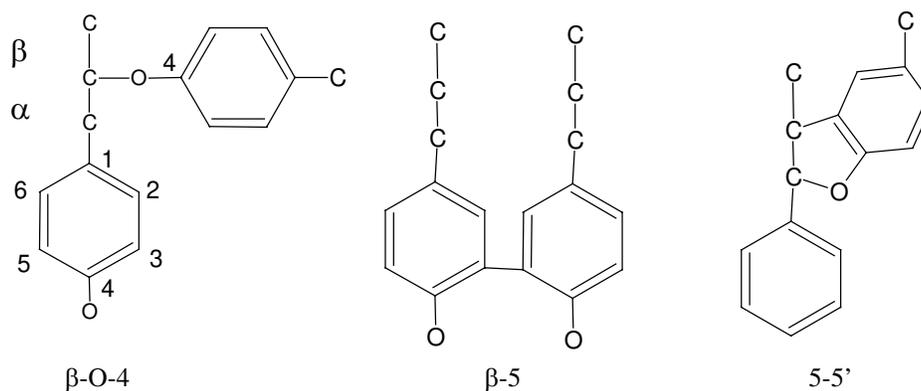


Figura II.2 - Principais tipos de ligações entre unidades fenilpropanóides presentes na molécula de lignina.

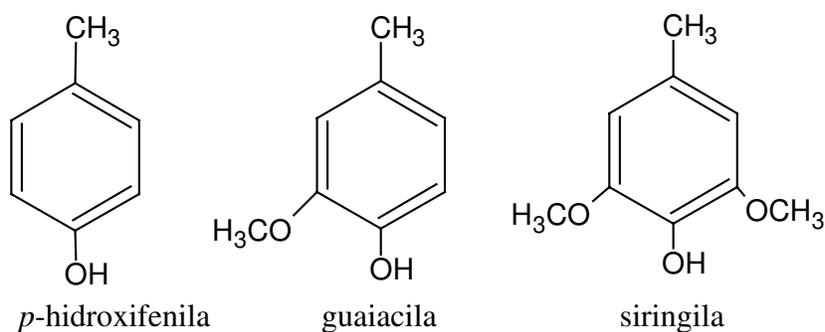
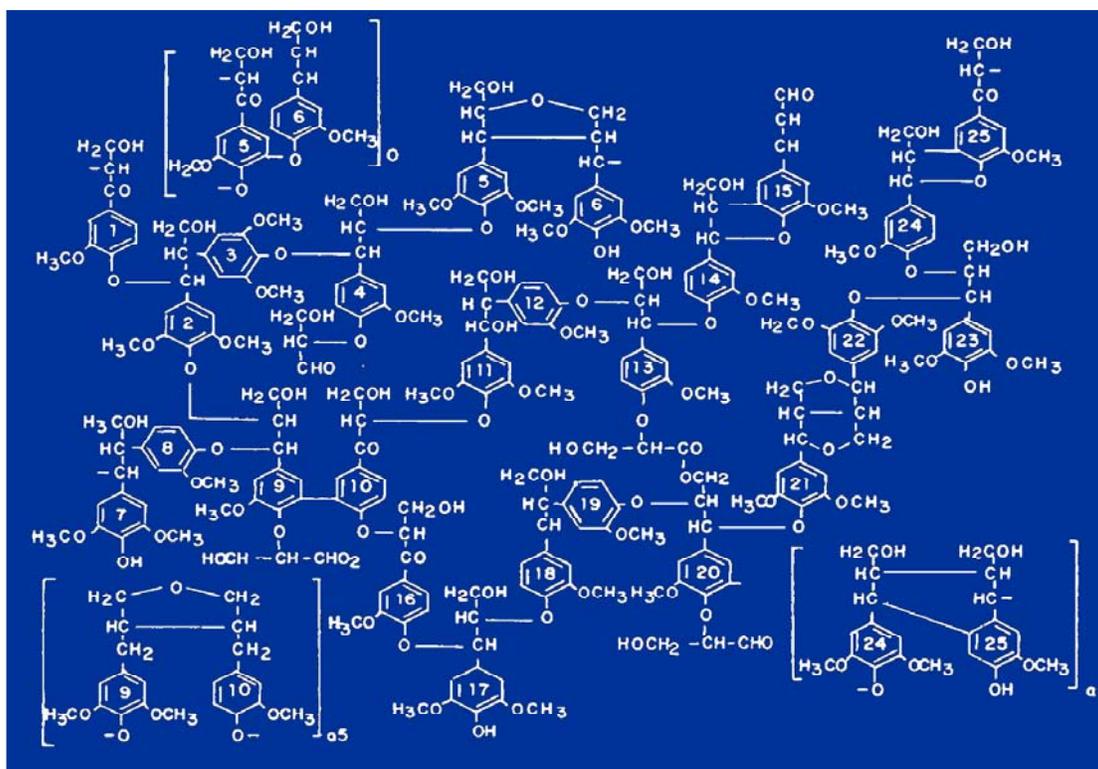


Figura II.3. Principais unidades aromáticas presentes na lignina.

A primeira fórmula química para o sistema macromolecular foi proposta por Freudenberg em 1968 e confirmada posteriormente por outros pesquisadores (Santos,

2001). Atualmente, é aceito que a estrutura da lignina é uma macromolécula presente na madeira na forma de uma rede polimérica tridimensional não cristalina (Figura II.4).

Portanto, a lignina é uma macromolécula (na literatura pode-se encontrar como polímero) natural aromática e amorfa, e muito abundante no globo terrestre. Ela é obtida praticamente de todos tipos de madeira e outros recursos naturais (Corradini e col., 1999; Rohella e col., 1996), e sua quantidade pode variar de 15 a 30% do peso (Figura II.5), dependendo da espécie vegetal (Piló-Veloso e col.,1993). É obtida mundialmente em larga escala e baixo custo, como subproduto da polpação industrial da madeira para obtenção de



papel.

Figura II.4 – Modelo da estrutura de um fragmento de Lignina.

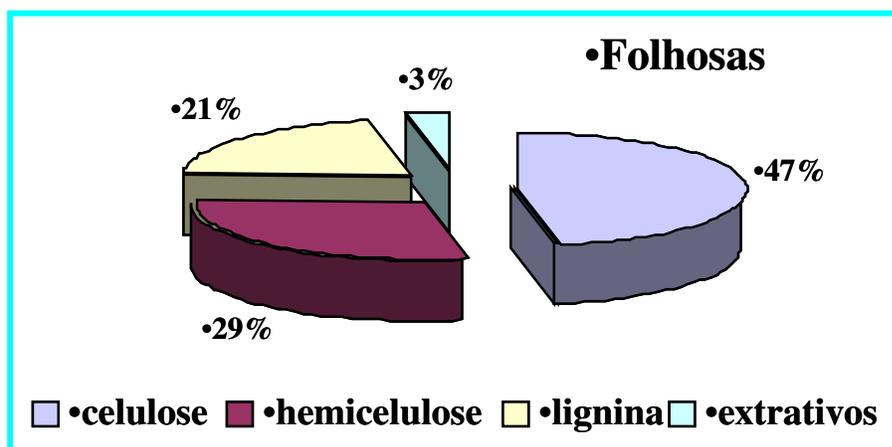


Figura II.5 – Porcentagem de lignina nas Folhosas

A lignina é separada convencionalmente da celulose, através de soluções de bases fortes ou ácidos fortes, por vapor a alta pressão, e tratada a seguir por extração com solvente. A lignina não modificada não é solúvel em água, e têm características de termoplástico fundido (Benar e col., 1999; Corradini e col., 1999; Kosiková e col., 2000; Nada e col., 1998; Piló-Veloso e col., 1993; Rohella e col., 1996), sendo aproveitada, principalmente, como fonte de energia pela queima (Corradini e col., 1999; Piló-Veloso e col., 1993). No entanto, muitos esforços têm sido realizados com o objetivo de se utilizar os resíduos de lignina, como material para indústrias químicas (Rohella e col., 1996). Como consequência, a lignina e seus derivados têm sido usados na produção de resinas fenólicas (Alexy e col., 2000; Benar e col., 1999; Rohella e col., 1996); adesivos (Rohella e col., 1996); estabilizante para plásticos e borrachas (Alexy e col., 2000); compatibilizante em compósitos (Rozman e col., 2000); agente de superfície ativa (Kosiková e col., 2000) e suprimento animal (El-Gammal e col., 1998).

Devido às funções de proteção e de cimentação nos vegetais, às propriedades estruturais e macromoleculares, ao baixo custo e disponibilidade, a lignina torna-se um componente atrativo em blendas poliméricas. Estudos de blendas contendo lignina, ou derivados, têm mostrado que, em muitos casos, as propriedades mecânicas e térmicas de materiais poliméricos são melhoradas com a adição da mesma (Corradini e col., 1999).

Semelhante aos termoplásticos derivados de celulose-éster, foi adotada também a esterificação da lignina, para a obtenção de um polímero termoplástico. A esterificação da

lignina tornou-se útil ao dar novas características, ou seja, tornar o material mais flexível e mais solúvel (Lewis e Brauns, 1947).

A esterificação da lignina ramificada aumenta a sua solubilidade, e promove uma redução nas temperaturas de transição vítrea (T_g) e de fusão (T_m), melhorando a propriedades dos ésteres de lignina (lignina mais hidrofílica) quanto a decomposição térmica, em relação à lignina não modificada (Glasser e Jain, 1993).

A lignina e seus derivados são biodegradáveis, e podem ser utilizados efetivamente em combinação com outros polímeros biodegradáveis. Um alto grau de mistura de fases foi demonstrado para as fibras contínuas, preparadas da solução anisotrópica de polibutirato de acetato celulose (CAB) e lignina. Análise Mecânica Dinâmica destas ligninas, demonstraram que $\tan \delta_1 = T_{g1}$ do polímero e $\tan \delta_2 = T_{g2}$ do polímero 2), a relação dos módulos de perda e armazenamento, pode-se determinar a miscibilidade e compatibilidade da blenda de lignina e seus derivados com outros polímeros biodegradáveis, e com estes dados pode-se determinar a incorporação de lignina em um polímero como o CAB (Dave e Glasser, 1997).

O uso da lignina, como um modificador de alguns biopolímeros e na recuperação da biomassa, pode certamente ser vantajoso na prática. Nos dias atuais, a lignina tem demonstrado que pode ter aplicações mais nobres, como exemplo a da lignina F que inibe a proliferação de células cancerígenas bucal em seres humanos ao serem tratados por um produto extraído por ebulição (chá) de lignina F (Jiang e col., 2001).

II.1.4 MISTURA DE POLÍMEROS

A pesquisa contínua para obtenção de novos materiais, através de modificações de polímeros já conhecidos ou da mistura de polímeros, tem mostrado novas direções para a produção de materiais economicamente viáveis e que tenham propriedades desejáveis.

O fenômeno de misturar materiais tem sido conhecido pelo gênero humano desde idades pré-históricas, quando ligas de novos metais deram origem a outros materiais como o bronze. Assim, dois ou mais polímeros podem ser misturados para resultar produtos com propriedades desejáveis, porém a idealidade raramente é atingida devido a alguns problemas inerentes e fundamentais. A maioria dos pares de polímeros que entram na mistura, não são termodinamicamente miscíveis e, assim, existem duas fases distintas na

mistura final. Isso cria uma interface que pode conduzir a um baixo desempenho do sistema resultante. Por exemplo, uma alta tensão interfacial e pobre adesão entre as duas fases numa mistura, pode levar ao abaixamento do grau de dispersão e a separação total durante o processamento ou o uso. Essa baixa adesão também é responsável por propriedades mecânicas fracas devido à pobre transferência de energia entre as fases, além de impedir a formação de estruturas definidas morfologicamente (Paul, 1978).

Sistemas poliméricos de multicomponentes podem ser divididos em: a) mistura de polímeros (Blendas), b) copolímeros e c) compósitos. Este trabalho se dedicou à mistura de polímeros ambientalmente degradáveis (EcoBlendas), sistemas em que os polímeros são misturados mecanicamente, sem interações químicas efetivas, como ocorre com copolímeros. Porém, uma melhor dispersão pode ser esperada em copolímeros (em bloco) do que num sistema de mistura que tem os mesmos pares do polímero. Mesmo assim, foi observado que quase todos copolímeros exibem também algum grau de separação de fase (Kollinsky, 1971 e Hashimoto e col., 1987).

II.1.5 - COMPATIBILIDADE

Compatibilidade é comumente usada para descrever uma mistura completa em nível molecular. Porém, quando temos macromoléculas ou polímeros, as dimensões moleculares são bem maiores e o termo "compatibilidade" deve ser usado com cautela. Por definição, muitos sistemas poliméricos heterogêneos podem ser definidos como compatíveis, embora eles mostrem um certo grau de separação de fases e transições vítreas bem distintas (T_g).

A compatibilidade, ou homogeneidade de uma mistura de polímeros, pode somente ser definida em função das dimensões moleculares da separação de fases, que geralmente podem ser caracterizadas por diferentes técnicas de medida como, Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC), Análise Mecânico Dinâmico (DMA), Análise Termogravimétrica (TGA), Ressonância Magnética Nuclear (RMN), dentre outras. Conseqüentemente, compatibilidade é tratada como um termo relativo e pode ser definida por um número de compatibilidade, denominado N_C , definido por (Kaplan, 1976):

$$N_C = \frac{\text{Tamanho da sonda experimental}}{\text{Tamanho do domínio de Fases}} \quad (\text{equação II.3})$$

O tamanho da sonda experimental pode ser a escala de resolução de um instrumento técnico. O tamanho do domínio é a dimensão dispersa na fase de uma blenda.

Assim:

- i) quando $N_c \rightarrow \infty$ (sistema é compatível)
- ii) quando $N_c \rightarrow 1$ (sistema é semicompatível)
- iii) quando $N_c \rightarrow 0$ (sistema é incompatível)

Na figura II.6, tem-se uma representação esquemática de um sistema de duas fases, que ilustra a definição de um sistema compatível, incompatível e semicompatível usando DMA.

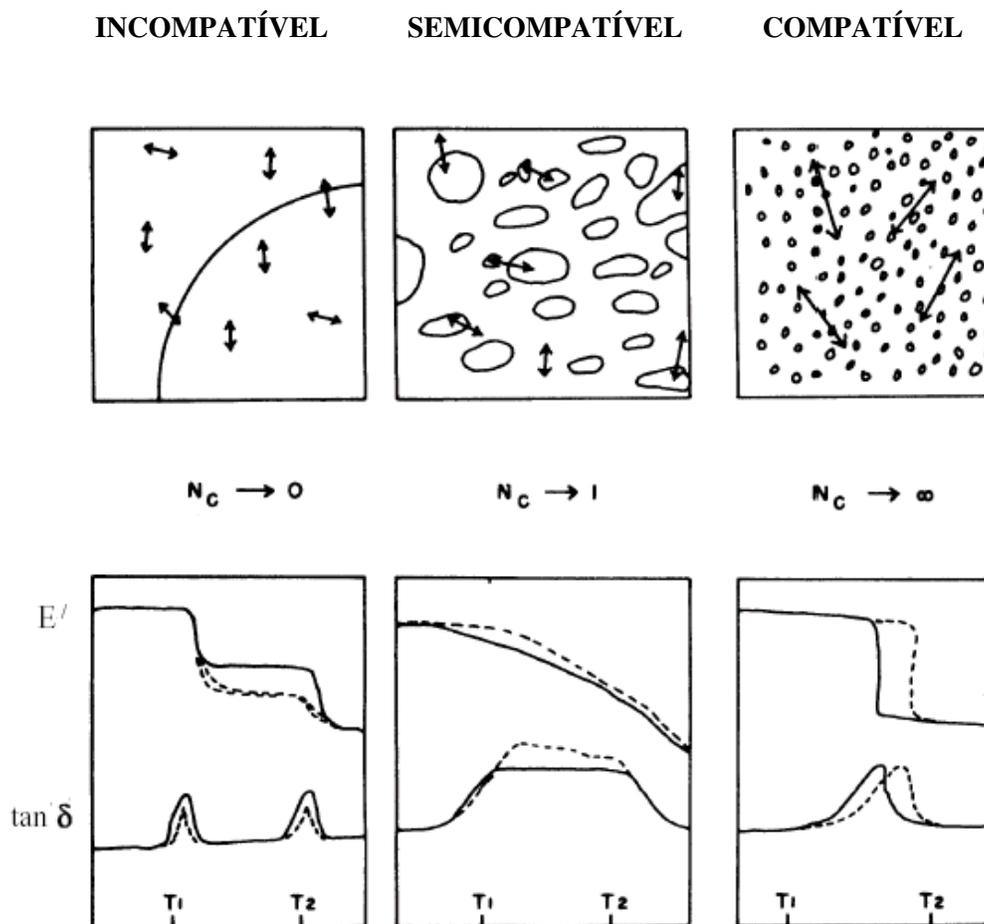


Figura II.6 – É um sistema de duas fases.

Quando N_c chega a zero, a dimensão de cada fase existente, num sistema bifásico, é muito maior que o tamanho da sonda do instrumento e, assim, este pode detectar duas transições que correspondem a cada fase. Em outras palavras, duas T_g 's distintas serão observadas.

Para o caso compatível (N_c chega a ∞), o tamanho de sonda é muito maior que as dimensões de fase e, assim, o instrumento não pode detectar flutuações pequenas na composição. Com isso, apenas uma única T_g média, correspondendo aos dois componentes, será medida.

Para o caso semicompatível, um grande efeito é observado e a curva de $\tan \delta$ tem uma larga faixa de temperaturas, desde a mais baixa até a mais alta, correspondentes às transições associadas a cada componente. Assim, o registro de uma única ou de duas transições, no DMA, dá uma indicação das dimensões moleculares ou número das fases presentes no sistema. A dimensão (domínio) que corresponde na análise dinâmico-mecânica (DMA) é aproximadamente 15 nm (Kaplan, 1976). A técnica de RMN pode detectar outras flutuações na composição ou na variação dimensional que chega a 2,5-5 nm (Masson e Manley, 1992).

II.1.6 MISCIBILIDADE

Na literatura tecnológica o termo "miscibilidade" é usado para definir a interação entre pares de polímeros, em nível molecular. Portanto, miscibilidade não é sinônimo de compatibilidade. Compatibilidade é usada para caracterizar a facilidade relativa de obtenção ou o desempenho do dois polímeros em uma mistura. Os componentes da blenda podem ter uma segregação de fases, podem não ser miscíveis sobre o ponto de vista termodinâmico, mas se houver propriedades desejáveis na blenda ela é considerada compatível (Paul, 1978).

Um aspecto determinante das propriedades das blendas é a miscibilidade. As blendas são definidas em duas classes distintas: *blendas miscíveis*, quando apresentam homogeneidade em escala molecular, associada a valores negativos de energia livre de mistura, ΔG_m , e *blendas imiscíveis*, quando o material apresenta duas ou mais fases apresentando valores positivos de ΔG_m (Ultracki, 1998). Uma outra classificação é a baseada na transição vítrea das blendas e tempos de relaxações. Considera que além dos

casos descritos anteriormente, a situação onde existem estruturas com duas ou mais fases, sendo cada uma delas constituída de uma mistura miscível com concentração distinta e finita de cada componente. Este tipo de mistura é classificado como parcialmente miscível (Olabisi, 1979). É um quarto tipo de estrutura multifásica, em que se observa somente uma transição vítrea, porém, ocorrendo em uma faixa de temperatura mais ampla que aquelas observadas em sistemas de uma única fase. Este comportamento é atribuído à presença de microheterogeneidades, ou seja, à presença de diferentes microambientes com dimensões da ordem de poucos segmentos de cadeia.

As propriedades das blendas são diretamente afetadas pela miscibilidade. A mistura entre macromoléculas resulta em baixa variação de entropia, por isso, para que haja miscibilidade, o fator entálpico deve ser favorecido, ou seja, é necessária a existência de interações específicas tais como: ligações de hidrogênio, interações entre íon-dipolo, dipolo-dipolo ou elétrons π . Entretanto, estas interações ocorrem em apenas alguns sistemas, de maneira que a maior parte destas blendas é imiscível (Koning, 1998 e Utracki, 1990).

Os tipos de morfologia que geralmente são encontradas em blendas imiscíveis são: (a) dispersão de um polímero em uma matriz polimérica e (b) morfologia de duas fases co-contínuas. O tipo de morfologia que será favorecido depende da natureza dos componentes da blenda, e muitas vezes da forma de obtenção. Em misturas mecânicas, a razão de viscosidade dos polímeros na temperatura de processamento e da composição da blenda, assim como cisalhamento e fluxo determinam a morfologia da mistura (Utracki, 1990).

As blendas imiscíveis apresentam uma alta tensão interfacial que, juntamente com a alta viscosidade dos polímeros, dificulta a dispersão de uma fase na outra durante o processo da mistura, favorecendo a coalescência. A baixa estabilidade deste sistema também permite que a coalescência se acentue ao submeter o material a algum processo posterior, como a moldagem, ou mesmo com o tempo de uso. Outra característica de blendas imiscíveis é a baixa adesão entre as fases. Quando um material é submetido a um esforço mecânico, a transferência de tensão de uma fase para outra ocorre na interface. Se a interação entre as fases for baixa, nesta região ocorrerá um acúmulo de tensões quando o material for solicitado mecanicamente, o que acabará originando uma fratura (Utracki, 1990 e Olabisi, 1979). Entretanto, as blendas imiscíveis podem adquirir boas propriedades

mecânicas se a interface for modificada pela ação de agentes que sejam capazes de reduzir a tensão interfacial, promover a dispersão, aumentar a adesão interfacial e estabilizar a fase dispersa contra a coalescência. Estes agentes, chamados de compatibilizantes, podem ser adicionados como um terceiro componente ou gerados *in situ*. As blendas que adquirem as propriedades desejadas e resistem à coalescência após a mistura são chamadas de compatíveis, o que não significa que sejam miscíveis do ponto de vista termodinâmico (Paul e Newman, 1978 e Folkes, 1993).

II.1.7 PLASTIFICANTE

Um plastificante pode ser definido como uma substância química que reduz a dureza de uma resina termoplástica amorfa no estado vítreo (Hammer, 1978). O princípio fundamental de ação de um plastificante é o de interagir com as cadeias do polímero, no nível molecular, para acelerar a resposta viscoelástica do mesmo. Com isso, a mobilidade molecular da cadeia do polímero aumenta, diminuindo sua temperatura de transição vítrea (Tg) e influenciando sua processabilidade.

Segundo Hammer (1978), as condições requeridas de um plastificante para uma formulação polimérica são:

- a) Ser compatível com o polímero, em escala molecular, para atuar como plastificante;
- b) Ter uma Tg suficientemente baixa, de forma a diminuir eficazmente a Tg do polímero;
- c) Ter peso molecular suficientemente alto para justificar o termo, "polimérico" versus oligomérico (aproximadamente $M_n = 5000$). Isto implica a permanência requerida, que relata uma baixa pressão de vapor e uma baixa velocidade de difusão, do plastificante no polímero. São as condições exigidas, no sentido restrito do termo; polímero com uma Tg baixa pode ser um polímero plastificante de um polímero com uma Tg mais alta num sistema de mistura polimérica compatível. Se o polímero a ser plastificado é semicristalino, um plastificante poderia diminuir a temperatura de fusão e também reduzir o grau de cristalinidade na maioria dos casos (quando o plastificante atua como um agente nucleante não é considerado). O plastificante forma uma blenda compatível com o polímero na fase amorfa e uma pequena quantidade vai para a fase cristalina. Assim, duas fases do sistema são obtidas depois da adição de um aditivo compatível, uma fase sendo composto do polímero puro cristalino e a outra sendo uma blenda amorfa compatível. Apesar de que o

sistema de mistura tem duas fases separadas que variam em composição, pode ser chamado “compatível” desde que a blenda fundida forme uma massa homogênea a temperaturas acima do ponto de fusão do polímero cristalino. Porém, se a cristalinidade é bem desenvolvida, é difícil de achar um plastificante suficientemente compatível com (solúvel em) o polímero para ter um efeito significativo em suas propriedades. A eficiência de um plastificante pode ser avaliada através de vários parâmetros semi-empíricos como razão de diluição, viscosidade na solução de diluição do polímero no plastificante, depressão na temperatura de transição vítrea, viscosidade de fusão do polímero no plastificante, propriedades elétricas ou mecânicas, o tamanho molecular ou forma do próprio plastificante (Billmeyer, 1994).

II.1.8 BLENDA POLIMÉRICAS

II.1.8.1 - Aspectos Gerais

O estudo e a obtenção de blendas poliméricas é uma saída para a modificação das propriedades de materiais poliméricos. As blendas de polímeros miscíveis são materiais que podem apresentar propriedades mecânicas melhores que as de cada um dos polímeros componentes isolados. Entretanto, as blendas com muito baixa miscibilidade apresentam separação de fases, e neste caso, as suas propriedades vão depender das propriedades de cada fase. A primeira blenda patenteada de que se tem conhecimento foi a blenda de borracha natural misturada com guta-percha em 1846. As blendas obtidas de termoplásticos sintéticos que iniciaram a busca de novos materiais pode ter iniciado com a mistura do policloreto de vinila (PVC), que já era conhecido desde 1872, mas a descoberta da sua plastificação com a borracha estireno butadieno (SBR ou Buna-S) na Inglaterra e Government Rubber-S (GBR) nos USA, foi patenteada em 1933. E com a descoberta de um polímero plastificante semi-solúvel, o NBR, tornou-se possível a formulação de uma blenda estável e o efeito do baixo peso molecular do GRS no PVC foi notado, criando a primeira blenda de um polímero termoplástico e patenteada em 1942, iniciando-se assim uma geração e desenvolvimento de blendas com melhores propriedades de impacto (Utracki, 1989). No início da década de 60, os polímeros de engenharia foram explorados

como resinas básicas para o desenvolvimento de blendas; estes novos materiais ofereciam uma melhoria na resistência mecânica a altas temperaturas, em comparação com as primeiras blendas (Ulmann's^a, 1986).

II.1.8.2 Termodinâmica e Miscibilidade

A miscibilidade é um fator relevante na preparação de blendas e há uma dependência relevante das variáveis como, temperatura, pressão, massa molar, estrutura molecular, dentre outras. Ela pode ser avaliada, para uma mistura qualquer, pela energia livre molar de mistura de Gibbs (ΔG_m), que está relacionada com a entalpia de mistura (ΔH_m) e com a entropia de mistura (ΔS_m) do sistema (equação II.4):

$$\Delta G_M = \Delta H_M - T\Delta S_M \quad (\text{equação II.4})$$

Uma definição simplificada de blendas poliméricas, adotada no dia-a-dia, compreende uma mistura de pelo menos dois polímeros, ou copolímeros. Entretanto, quando o fator miscibilidade é importante, define-se :

a) Blendas poliméricas miscíveis: misturas homogêneas de polímeros, onde a variação de entalpia < 0 favorece a miscibilidade e contribui para uma significativa diminuição da energia livre de Gibbs para a mistura (equação II.5):

$$\Delta G_M \cong \Delta H_M \leq 0 \quad (\text{equação II.5})$$

O poli (óxido fenileno) e o poliestireno exemplificam este tipo de blenda.

b) Blendas poliméricas imiscíveis: neste caso a variação de entalpia > 0 não favorece a mistura (equação II.6): $\Delta G_M \cong \Delta H_M \geq 0$ (equação II.6)

Como exemplo de blenda imiscível temos o acetato de celulose e poliestireno.

II.1.8.3 - Compatibilidade

O termo de compatibilidade recebe várias interpretações na literatura. Alguns autores definem polímeros compatíveis como sendo aqueles que não exibem uma significativa separação de fases quando misturados, formando blendas. Outros, que compatibilidade

ocorre quando, a mistura de dois polímeros atinge determinadas propriedades físicas desejadas. Assim, a blenda é compatível desde que atinja uma propriedade útil na prática, caso contrário tem-se uma blenda incompatível.

Desta maneira, quando dois polímeros são misturados, seja qual for o método de mistura, o resultado mais comum é a obtenção de um sistema heterogêneo, ou seja, eles tendem a ser imiscíveis. No entanto, a imiscibilidade é um fator esperado e muitas vezes é até desejado.

Compatibilidade pode indicar que a mistura de polímeros tem uma melhoria das propriedades físicas, em comparação aos polímeros de partida. Exemplo: Blendas de polietileno e poliestireno compatibilizadas com a adição de copolímeros dibloco de butadieno-estireno (Utracki, 1989).

II.1.8.4 - Métodos de obtenção de Blendas Poliméricas

Segundo Utracki (1989), há uma variedade de técnicas experimentais que podem ser utilizadas para a preparação e caracterização de blendas poliméricas. As técnicas mais usadas na preparação de blendas, são as indicadas abaixo. Sendo que os itens a e b são os mais usados:

- a) Dissolução dos polímeros em um solvente apropriado, formando filmes por evaporação do solvente (Casting);
- b) Mistura mecânica através da fusão dos polímeros e posterior prensagem.
- c) Polimerização interfacial
- d) Mistura de látex
- e) Outros

II.1.8.4.a) Blendas em solução:

O método de formação de filmes de blendas, por evaporação do solvente ("casting") pode levar à obtenção de filmes densos ou ainda porosos.

Quando uma solução polimérica é espalhada sobre uma superfície plana, e é permitida a evaporação total do solvente, um filme denso e homogêneo se forma. Se a mesma camada de solução é introduzida em um banho de não solvente, um filme poroso é obtido. Este tipo de preparação de filme é denominado "inversão de fases".

Algumas variações da técnica de inversão de fases são utilizadas na prática (Encyclopedia, 1988 e Lonsdale, 1982). Variações na composição da solução polimérica e do banho de imersão, bem como alterações de temperatura podem levar à formação de filmes com morfologias diferenciadas. Esta versatilidade faz do método de inversão de fases um dos mais utilizados na preparação de membranas porosas (Stropnik e col., 1996 e Ullman's^b, 1986).

Os primeiros polímeros utilizados na fabricação de filmes porosos na forma de membranas foram a celuloses e seus derivados (Sirkar e col., 1978), pela sua disponibilidade e conhecida capacidade de formar filmes. Atualmente é possível preparar filmes porosos a partir de muitos polímeros, como por exemplo siliconas, polissulfatos, poliidmidas, dentre outros (Ullmann's^b, 1986).

II.1.8.4.b) Mistura Mecânica:

Esta técnica consiste na mistura de polímeros através da fusão dos mesmos. O principal método de produção destas blendas utiliza extrusoras e misturadores do tipo Banbury. A tecnologia envolvida aqui se baseia na termodinâmica e nas condições reológicas do sistema durante o processo de fusão e mistura. Além disso, a morfologia da blenda, a qual dependerá sobretudo do grau de mistura e da taxa de resfriamento, é de extrema importância, pois apresenta influência direta nas propriedades finais do material obtido. Um exemplo de blenda muito conhecido é: de poliestireno/polietileno de baixa densidade.

II.1.8.4.c) Mistura Reativa:

Este tipo de mistura é conhecido como extrusão reativa, e envolve a introdução de grupos reativos em um polímero, com o intuito de aumentar a miscibilidade dos

componentes. As reações químicas mais comumente usadas são aquelas que ocorrem entre ácidos carboxílicos ou anidridos com aminas e grupos epóxi, ou ainda entre aminas e grupos epóxi. Um exemplo de aplicação desta técnica é encontrado na manufatura de blendas imiscíveis de poli (éter fenileno) e poliamida, com adição de anidrido maleico (Utracki, 1989).

II.1.8.4.d) Mistura de látex:

Consiste na mistura de dispersões aquosas de dois polímeros ou mais. Em termos de morfologia, o tamanho dos domínios é restrito ao tamanho das partículas de látex. Um exemplo é a reação entre SAN (estireno-acrilonitrila) e AB (butadieno-acrilonitrila) na formação do copolímero ABS (estireno-butadieno-acrilonitrila) (Utracki, 1989).

II.1.8.4.e) Polimerização *in situ*:

A polimerização *in situ* envolve soluções ou géis de polímeros em monômeros os quais são subseqüentemente polimerizados. A polimerização *in situ* de estireno, que permite a formação de poliestireno de alto impacto (HIPS), é considerada a mais importante em termos industriais. As redes interpenetrantes (IPN`s) também são resultados da polimerização *in situ* (Ullmann's, 1986). O princípio da formação das IPN`s é baseado na combinação de dois polímeros, onde um deles é sintetizado ou reticulado na presença do outro (Utracki, 1989).

II.1.8.5 Morfologia de Blendas Poliméricas:

O grau e o tipo de interação entre dois polímeros são os principais fatores que determinam a morfologia resultante numa blenda. A morfologia de sistemas binários, completamente imiscíveis, pode resultar em um sistema de duas fases, onde uma delas estará dispersa na outra, denominada matriz. Uma outra possibilidade morfológica consiste em uma rede co-contínua e interpenetrante formada por ambos polímeros.

A influência da temperatura no comportamento termodinâmico da blenda polimérica também é importante, pois ela determina o comportamento de separação de fases e a morfologia. Uma blenda homogênea, quando resfriada ou aquecida, pode ser analisada através de uma curva binodal, onde, ocorre uma separação de fases de acordo com dois mecanismos distintos: nucleação e crescimento (nucleation and growth – NG) ou decomposição spinodal (spinodal decomposition SD). Tais mecanismos dependem da temperatura final e da localização desta entre as curvas binodal e spinodal ou inteiramente dentro da curva spinodal (Nunes e Inoue, 1996).

Uma solução inicialmente estável, quando levada a uma condição metaestável, entre as curvas binodal e spinodal, sofre uma separação de fases pelo mecanismo de nucleação e crescimento (NG). Para iniciar a separação de fases é necessário uma energia de ativação para a formação de pequenos domínios (núcleos). A partir desta etapa, a separação de fase contínua com o aumento do diâmetro dos núcleos sem que a sua composição seja alterada. Neste caso, durante todo o processo de separação a morfologia observada é do tipo matriz-domínios dispersos.

Na figura II.7 e II.8 são representados os diagramas de fase para um sistema binário e ternário.

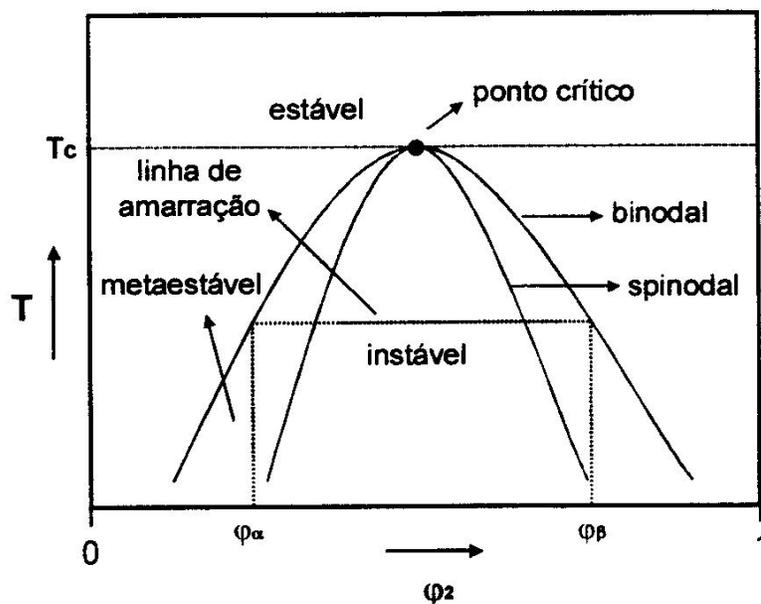


Figura II.7 Diagrama de fases para um sistema binário

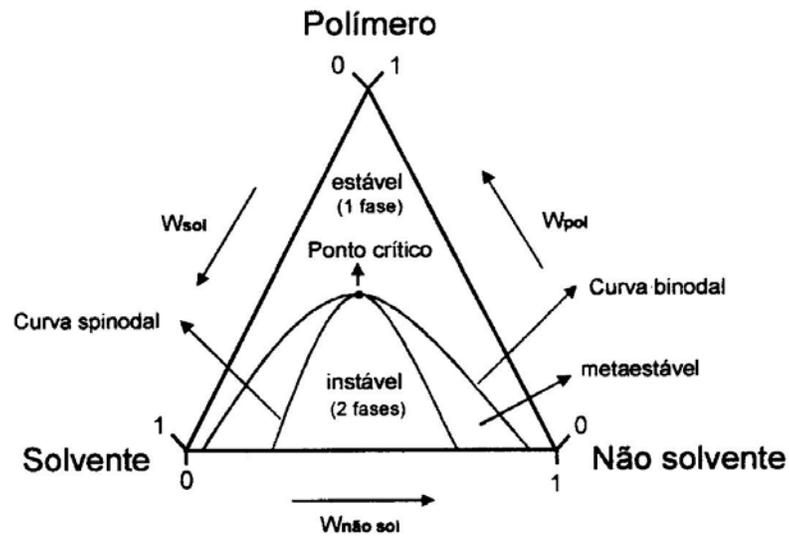


Figura II.8: Diagrama de fases para um sistema ternário demonstrando as curvas binodal e spinodal e o ponto crítico.

Quando a solução da blenda, inicialmente estável é conduzida rapidamente para uma condição instável (abaixo da curva spinodal), ocorre a separação de fases pelo mecanismo de decomposição spinodal (SD). Este mecanismo difere daquele de nucleação e crescimento apenas nos primeiros estágios. No mecanismo de NG, a composição dos domínios é constante e somente o tamanho dos núcleos muda com o tempo. Já no mecanismo de SD observam-se três estágios de separação. Ao analisarmos a solução, no início ocorrem flutuações na amplitude do comprimento de onda com o aumento da concentração. Em um estágio intermediário, tanto a amplitude do comprimento de onda como a concentração vai aumentando com o tempo; a partir deste ponto pode ocorrer a coalescência das fases. A morfologia observada para o sistema no estágio inicial é de duas fases contínuas e entrelaçadas. Num estágio mais avançado, a morfologia pode evoluir, por coalescência, para o tipo matriz-domínios dispersos (Utracki, 1989)

A morfologia obtida para polímeros após um processo de fusão, que pode ser realizado em extrusora ou em misturadores do tipo Banbury, depende da tensão interfacial entre as fases, da viscosidade e da elasticidade dos componentes. O componente com viscosidade mais baixa tende a encapsular o componente mais viscoso (ou mais elástico) assumindo assim, a fase contínua. O tamanho da fase dispersa é governado pela tensão

interfacial e pelas características reológicas dos componentes. A forma dispersa pode variar de esferas até fibrilas, dependendo do processamento aplicado.

Freqüentemente existe uma situação intermediária onde uma fase co-contínua ou mesmo uma rede interpenetrante pode ser originada através do controle da composição, da reologia e das condições de processamento. Portanto, a morfologia obtida durante o processamento é uma estrutura dinâmica que pode estar sujeita a mudanças, originando sistemas que buscam um equilíbrio.

II.1.8.6 Aplicações gerais de blendas poliméricas:

O fator que determina se uma blenda polimérica específica é apropriada para uma dada aplicação é o perfil de necessidade. A necessidade e a especificação de um material são geralmente determinadas por normas padrões (ex.: ASTM, DIN, ABNT) dentro de um segmento industrial. Estas normas padrões são controlados por requisitos obtidos por ensaios ou medições padronizadas e variam em diferentes países e segmentos industriais.

As principais áreas de aplicação para blendas poliméricas são: o mercado automotivo, seguido da indústria de embalagem, eletro-eletrônicos e eletrodomésticos. Os segmentos industriais de menor aplicação são: o mercado de construção civil e a indústria aeroespacial.

II.1.8.6.a) Aplicações automotivas:

Diferentes áreas de aplicação das blendas poliméricas podem ser identificadas no setor automotivo. Alguns exemplos podem ser citados:

- Revestimento de rodas: são utilizadas blendas que possuem uma boa estabilidade dimensional e que são capazes de resistir as temperaturas elevadas causadas pela frenagem do veículo. Ex: Noryl ® da GE; poliestireno de alto impacto (HIPS) e poli(óxido de 2,6-dimetil-1,4-fenileno) (PPO) (Site GE).
- Sistemas de iluminação: requerem materiais refletivos com elevada estabilidade dimensionais e boas propriedades mecânicas. Além disso, o material refletivo deve apresentar resistência à temperatura. Ex: Blenda CYCOLOY® (GE) é um

termoplástico amorfo resultante da mistura de ABS (acrilonitrila-butadieno-estireno) e PC (policarbonato) (Site GE).

- Partes estruturais: este caso demanda um material com alta resistência ao impacto, resistências elétrica e química. As resinas puras de Xylex ® (GE) são fabricadas usando um tecnologia de blendas que combinam as melhores propriedades do policarbonato com um novo tipo de poliéster alifático (Site GE).
- Tanque de combustível: local que utiliza polímeros com propriedades de barreira, além da elevada resistência química. Um exemplo é a blenda de polietileno e poliamida que apresenta uma morfologia especial na forma de camadas, assegurando a impenetrabilidade.
- Partes internas e externas de automóveis (por exemplo; painéis, laterais internas das portas, para-choques), materiais resistentes ao calor e a luz solar. Exemplo; CYCOLOY® (GE) é um termoplástico amorfo resultante da mistura de ABS (acrilonitrila-butadieno-estireno) e PC (policarbonato) e A resina XENOY® (GE) é um termoplástico resultante da mistura entre policarbonato e um poliéster termoplástico (PBT ou PET), desenvolvido para atender aos novos conceitos de combinação de propriedades exigidos pela indústria automobilística mundial para fabricação de peças internas e externas, tais como: painéis de instrumentos, pára-choques (sem reforço metálico), spoilers, painéis laterais externos, ponteiros de pára-choques, e outros (Site GE).

II.1.8.6.b) Mercado de embalagens

A necessidade básica para materiais utilizados em embalagens é a característica de barreira para água, oxigênio e o dióxido de carbono. A permeabilidade é geralmente satisfeita utilizando-se sistemas nos quais os polímeros são alternados em multicamadas.

II.1.8.6.c) Aplicações elétricas e eletrônicas:

A necessidade predominante para este tipo de mercado consiste na obtenção de blendas com elevada resistência à temperatura e resistência química, além da estabilidade

dimensional. Materiais com aquecimento elevado também são desejados para a montagem de circuitos, nos quais os termoplásticos são combinados com metais. Além disso, estes materiais devem resistir a banhos químicos, soldas, ou até mesmo a laser. Ex: NORYL PPX® (GE); blenda de poli(óxido de 2,6-dimetil-1,4-fenileno) (PPO) e Polipropileno (PP) (Site GE).

II.1.8.6.d) Setor de eletrodomésticos:

As necessidades básicas para esta área são: resistência à umidade e temperatura, além da inércia química. Neste caso, as propriedades elétricas também são levadas em consideração. Blenda Noryl® da GE tem muitas aplicações no setor de eletrodomésticos e é formada pelos polímeros; poliestireno de alto impacto (HIPS) e poli(óxido de 2,6-dimetil-1,4-fenileno) (PPO) (Site GE).

II.1.8.6.e) Mercado de construção-civil:

Neste mercado, as aplicações variam de país para país. Porém, a maior desvantagem dos plásticos nesta área é a sua flamabilidade intrínseca, resultando de sua natureza orgânica. Para reduzir o risco do fogo, apenas uma pequena quantidade de materiais confeccionados de plásticos tem sido utilizada em áreas consideradas de baixo risco, como por exemplo, sinalizações em estrada.

No caso de tubulações, o material utilizado precisa apresentar uma vida útil longa e prevenir a migração de compostos de baixa massa molar para o seu interior (Ullmann`s, 1986). Um exemplo é a resina ENDURAN® [Politereftalato de butileno (PBT) reforçada com carga mineral] um termoplástico de engenharia semi-cristalino, que tem como característica um bom balanço de propriedades mecânicas, térmicas e elétricas, ampla resistência química, baixa absorção de umidade e excelente estabilidade dimensional (Site GE).

II.1.9 BIODEGRADAÇÃO POR FUNGOS E ENZIMAS:

II.1.9.1 BIODEGRADAÇÃO

Vários microrganismos, como bactérias e fungos, são capazes de atacar e degradar a madeira, em ecossistemas terrestres naturais, porém sem dúvida alguma, fungos superiores, especialmente os da classe Basidiomycetes, são os mais eficientes degradadores (Blanchete, 1991 e Eriksson, 1990).

Os fungos basidiomicetos são geralmente classificados com base nas diferenças dos respectivos padrões de degradação da madeira que apresentam, levando-se em consideração características macroscópicas da degradação. Assim, podem ser divididos em fungos de degradação clara (ou branca) (White-rot), degradação marrom (Brown-rot) e degradação macia (soft-rot) (Blanchete, 1991 e Hataka, 1994).

Fungos de degradação clara preferencialmente colonizam madeiras da subdivisão *Angiospermas* (folhosas, madeira dura) e degradam os três componentes principais, celulose, hemicelulose e lignina, deixando a região da madeira degradada com uma coloração clara. No entanto, existem variações dentre as espécies degradadoras de podridão branca (ou clara) que são providos de sistema enzimático que os tornam capazes de utilizar fontes complexas de carbono, sendo os mais eficientes na degradação da lignina, quebrando-a em moléculas menores até CO₂ e H₂O, deixando a celulose praticamente intacta (Kirk, Farrel, 1987; Hatakka, 1994, Tuor, 1995).

Fungos de degradação parda em geral colonizam madeiras da subdivisão *Gymnospermae* (coníferas, madeira dura) e preferencialmente degradam os polissacarídeos; celulose e hemicelulose, deixando não degradada parte da lignina inicialmente existente, a qual é então responsável pela coloração observada nas regiões da madeira degradadas pelo fungo.

Dentre os componentes da madeira, a lignina é o que apresenta maior resistência à biodegradação. Neste contexto, a biodegradação de lignina é um dos mais importantes fatores determinantes da degradação da madeira e conseqüentemente do ciclo de carbono na biosfera.

Lignina, diferentemente de processos hidrolíticos, comuns aos demais biopolímeros de ocorrência natural na madeira, sofre degradação através de reações oxidativas, envolvendo diretamente O₂ molecular ou peróxidos como H₂O₂, gerando assim compostos de baixo peso molecular, solúveis em meio aquoso. Tal característica se deve ao fato de que as ligações, entre as várias unidades recorrentes formadoras de lignina, não são hidrolizáveis (Fengel, 1989 e Higuchi, 1990).

Os estudos atualmente evidenciam que a eficiência de degradação da madeira por fungos depende das suas capacidades de produzir enzimas celuloligninolíticas extracelulares, as quais são responsáveis diretamente pela disponibilização de nutrientes contidos na madeira, necessários para a manutenção e crescimento dos micélios (Hammel, 1991 e Tuor 1995).

II.1.9.2 FUNGOS BASIDIOMICETOS:

Os fungos basidiomicetos são incluídos taxonomicamente no filo Basidiomycota do Reino Fungi. Morfologicamente são caracterizados como fungos que produzem esporos de origem sexuada em estruturas especializadas chamadas basídios, onde ocorre a cariogamia e a meiose. Apresentam micélio dicariótico durante a maior parte do ciclo de vida e hifas septadas que podem formar ansas, que são alças de conexão que auxiliam na manutenção da dicariótica típica do grupo. Embora nem todo basidiomiceto possua ansa, toda hifa com ansa é um fungo basidiomiceto. No grupo dos basidiomicetos, o septo da hifa é uma estrutura complexa, perfurado no centro e com a parede espessada envolta do poro, que por sua vez pode ser recoberto com uma membrana vinda do retículo endoplasmático. (Alexopoulos, 1966).

A biotecnologia, como ciência, tem emergido como uma área de grande potencial . O uso eficiente da maquinária microbiana para produzir os mais variados tipos de metabólitos (enzimas, vitaminas, fármacos, outros), tornou-se um campo de pesquisa inalienável. Os conhecimentos obtidos nestas pesquisas estão sendo utilizados nas áreas de energia, alimentação, farmacologia, agricultura, indústrias químicas e ciência do desenvolvimento ambiental, sendo esta última de extrema importância em função dos graves problemas que enfrentamos com a poluição do meio ambiente.

A grande vantagem de métodos biotecnológicos vem do fato de que suas reações são altamente específicas, não acarretam efeitos deletérios ao meio ambiente, são mais econômicos e podem ser utilizados onde processos químicos, não biológicos, são impraticáveis.

Do ponto de vista biotecnológico, fungos são microrganismos extremamente atraentes. Várias razões podem ser apontadas como justificativas para esta afirmação:

i) Fungos possuem um metabolismo bastante dinâmico e rápido, sendo que são grandes produtores de metabólitos secundários, de possível interesse industrial.

ii) São heterotróficos e adsorptivos, o que permite o seu cultivo em laboratório com muita facilidade, a baixos custos e sem grandes equipamentos.

iii) Fungos são tipicamente eucariontes e o fato de que se reproduzem através de esporos, produzidos por meiose e gerando indivíduos haplóides, permite que geneticistas tenham uma oportunidade direta e rápida de análise, particularmente com relação ao mapeamento genético e isolamento de mutantes.

iv) Fungos são bons degradadores de substratos refratários como celulose, lignina, queratina, quitina e outros, em função da sua capacidade penetrar em substratos sólidos, graças à produção de enzimas extracelulares que degradam tais substratos. Muitas destas enzimas são por si só de grande interesse industrial (Boominathan, 1990).

v) Apresentam grande versatilidade com relação aos substratos a serem degradados, podendo ser utilizado nas mais diversas áreas de biorremediação, pela capacidade de degradar hidrocarbonetos aromáticos, compostos bifenílicos policlorados, produtos originados em indústrias têxtil, papel e celulose, outros (Aust, 1990 e Reddy, 1995).

Avanços recentes na metodologia de técnicas bioquímicas, particularmente na área da engenharia genética, aponta para um futuro promissor, onde a manipulação destes microrganismos visando a produção de metabólitos em larga escala e principalmente de enzimas de interesse industrial, tornar-se-á cada vez mais acessível.

II.1.9.3 Enzimas que degradam a Lignina:

Os fungos basidiomicetos possuem a capacidade de degradarem a lignina e esta capacidade esta associada, em parte pelo fato deles secretarem peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e uma família de enzimas peroxidases e fenoloxidasas (Kirk, 1985).

II.1.9.3.i) Lignina Peroxidase (LiP):

A **lignina Peroxidase (LiP)** tem sido isolada de muitos fungos de degradação branca (podridão branca ou clara) e alguns de degradação parda (podridão parda) (Durán, 1997). No processo de degradação da lignina, a LiP é inicialmente oxidada pelo H_2O_2 e oxida núcleos aromáticos da molécula de lignina (fenólicos e não fenólicos), gerando radicais catiônicos. Estes reagem espontaneamente com nucleófilos (primariamente com H_2O) e com oxigênio molecular, gerando uma “combustão enzimática” onde ligações C-C e C-O são quebradas, despolimerizando a lignina e abrindo os anéis aromáticos. O álcool veratrílico, que é também um metabólito fúngico, é um substrato para LiP, e age como mediador ou transmissor de elétrons entre LiP e seus substratos (Kirk, 1987).

II.1.9.3.ii) Lacases:

A Lacase é uma cuproproteína do pequeno grupo de enzimas chamadas cuproproteínas azuis, cuprooxidases azuis, oxidases azuis (Thurston, 1994) ou ainda enzimas fenoloxidasas (*p*-difenol: dioxigênio oxido-redutase) e fazem parte de um grupo de enzimas oxidases que complexam o cobre. São produzidas por plantas superiores e por fungos, sendo secretadas pela maioria dos basidiomicetos. As lacases fúngicas em geral possuem 3 átomos de cobre, no caso do *Trametes versicolor* são encontradas 4 átomos de cobre, todos no estado de oxidação Cu^{2+} na enzima nativa. As lacases catalisam oxidações por extração de um elétron de substratos fenólicos, gerando radicais fenoxilos (Higuchi, 1990; Durán, 1997; Mayer, 2002).

Os radicais formados atuam em reações não catalíticas acoplado radical-radical, desproporção, desprotonação e ataques nucleofílicos pela água. Essas reações múltiplas levam a polimerização, quebras de ligações alquílicas e oxidações no C α e desmetilações (Durán, 1997). A oxidação de modelos não fenólicos de lignina foi observada na presença de outros substratos mediadores como 2,2-azobis(3-ethylbenzotiazol-6-ácido sulfônico)/ABTS e seringaldeído (Bourbonnais e col., 1995), bem como 1-hidroxibenzotriazol (Durán, 1997).

Diversos cuidados precisam ser tomados para a detecção da atividade de lacases. Por um lado, a variedade de substratos oxidados pelas várias lacases é muito grande e ao mesmo tempo, muitos dos substratos utilizados para detectar a atividade de lacases são também oxidados por peroxidases e outras polifenoloxidasas, como é o caso de ABTS e seringaldazina. Para usar estes substratos é necessário remover H_2O_2 do meio, o que frequentemente é omitido nos trabalhos que supostamente quantificaram atividades de lacase (Mayer, 2002).

II.1.9.3.iii) Manganês Peroxidase (MnP):

A manganês peroxidase (MnP) é uma enzima do grupo de peroxidases muito parecida com a LiP, pois também é extracelular, glicosilada e possui um grupo protético heme. No entanto, diferente de outras peroxidases, pois depende tanto do H_2O_2 quanto de Mn^{2+} como substrato preferido (doador de elétrons), que está sempre presente nos materiais lignocelulósicos (Hofrichter, 2002).

II.1.9.3.iv) Outras enzimas:

Há muitas outras enzimas que produzem H_2O_2 , encontradas em basidiomicetos e participam da degradação de lignina, tais como: glicose 1-oxidase, álcool oxidase, ácidos graxos Coa-oxidase, glioxal oxidase, arilálcool oxidase. Outras enzimas que podem estar relacionadas com a degradação da lignina são as peroxidases independentes do manganês, NAD(PH):quinona óxido redutase, celobiose:quinona 1-oxidoreductase, celobiose oxidase e celobiose desidrogenase (Durán, 1997), estas últimas gerando espécies reativas de oxigênio (Hammel e col., 2002).

CAPÍTULO III

III.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho visa obtenção de uma blenda polimérica, utilizando uma macromolécula, lignina de bagaço de cana de açúcar, com o polímero natural, PHBV [poli(3-hidroxi butirato-co-3-hidroxi valerato)]. Caracterizar o material obtido, estudar as propriedades mecânicas e a sua biodegradação com os fungos *Trametes versicolor* e *Phanerochaete chrysosporium*.

III.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Otimizar o processo de obtenção para melhorar as propriedades mecânicas das blendas obtidas.
- Caracterizar utilizando as técnicas: espectroscopia no infravermelho (IV), calorimetria diferencial de varredura (DSC), microscopia eletrônica de varredura (MEV), Termogravimetria (TGA), Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (H^1 -RMN), Análise Mecânica Dinâmica (DMA), Densidade de Sólido e Análise Elementar (CHN), injetora (ARBURG 221 K).
- Estudar a biodegradação do material obtido com os fungos *Trametes versicolor* e *Phanerochaete chrysosporium*.

CAPÍTULO IV

MATERIAIS E MÉTODOS

IV.1 OBTENÇÃO DAS BLENAS POLIMÉRICAS DE LIGNINA/PHBV

Encontra-se nas fotografias da Figuras IV.1 e IV.2 abaixo, as ilustrações dos polímeros naturais trabalhados nesta tese.



Figura IV.1 Foto do PHBV in natura

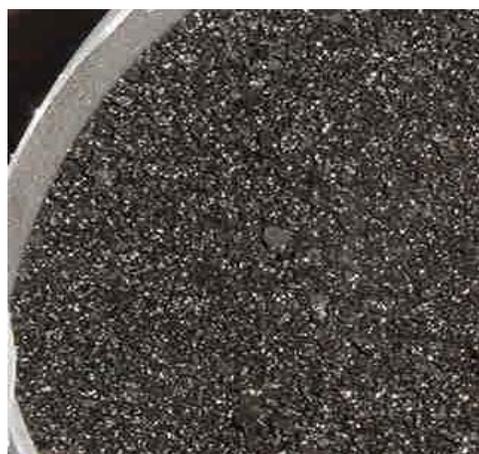


Figura IV.2 Foto da Lignina de bagaço de cana de açúcar

A Lignina de bagaço de cana de açúcar foi cedida pela Faculdade de Engenharia Química de Lorena (Debiq-Faenquil), e o PHBV foi cedido pela Copersucar (Piracicaba-SP)/ Usina da Pedra (Serrana-SP). Ambos foram pesados e posteriormente pré-misturados manualmente. Nesta primeira etapa do trabalho, produziu-se blendas a partir de uma mistura de 20%, 40%, 50%, 60% e 80% (em massa) de Lignina com relação à massa de PHBV.

Para simplificar a nomenclatura das blendas produzidas, apenas às outras porcentagens de lignina foi expressa na nomenclatura. Assim, uma blenda contendo 20% em massa de lignina e 80% de PHBV será expressa como 20% LIG/PHBV.

As misturas foram processadas num equipamento Haake Fisions Rheocord 90 à uma temperatura de 175°C, rotação de 90 rpm e tempo de 8 minutos. Também processou-se o

PHBV puro, para comparar com as blendas obtidas. A Blenda na proporção 50% Lignina e 50% PHBV foi escolhida para o estudo mais detalhado por apresentar melhor morfologia, dureza em relação às outras porcentagens e em vista que esta proporção representa também um menor custo.

Foram preparadas amostras de 50% LIG/PHBV, por mistura mecânica no Haake Fisions Rheocord 90, substituindo os rotores por uma monorosca (Figura IV.3) de diâmetro 19,1 mm - Razão L/D = 25,0 mm. As blendas 50% LIG/PHBV foram primeiramente extrudadas e granuladas, assim como amostras de PHBV in natura. Os grânulos da blenda e do PHBV in natura foram injetados para obtenção de corpos de prova para ensaio de tração (ASTM D638) e flexão norma (ASTM D790), a partir do PHBV in natura, sob as mesmas condições de temperatura.



Figura IV.3. Foto da Rosca da Extrusora

Utilizou-se uma injetora ARBURG 221 K, sob as seguintes condições: volume de injeção de 13,5 cm³, tempo de injeção 22 s, pressão de injeção de 1200 bar e velocidade de injeção 2,6 mm/s. O perfil de temperatura foi de 145°C, na zona de alimentação, 160°C, 165°C e 165°C no barril e 160°C no bico de injeção. A blenda 50% LIG/PHBV foi primeiramente extrudada e moída, o mesmo foi feito para uma amostra de PHBV. Também foi obtido um corpo de prova a partir do PHBV in natura, sob as mesmas condições.

IV.2 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO (IV)

As análises de infravermelho (FTIR) das amostras foram feitas no Espectrofotômetro Bomem – modelo B100, para identificar as bandas características da amostra antes e após o estudo da modificação da intensidade dessas bandas nas amostras por biodegradação.

Foram obtidos espectros de transmissão a partir de pastilhas de KBr com 0,5% do analito (porcentagem da amostra no KBr).

IV.3 ANÁLISE DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE HIDROGÊNIO - ^1H (RMN- ^1H)

Para confirmar que o polímero utilizado tratava-se do copolímero, PHBV, foi realizada a análise de RMN- ^1H em um equipamento Inova 500, operando a 500 MHz no modo de transformada de Fourier. Cada espectro foi obtido a 25°C, com 45s de tempo de espera entre os pulsos e 4000 de largura espectral. As amostras em solução foram preparadas dissolvendo-se uma ponta de espátula de P(HB-co-HV) em clorofórmio deuterado. Uma amostra da Aldrich foi utilizada como padrão para quantificar o HV presente no P(HB-co-HV); esta amostra padrão contém cerca de 12% de HV.

IV.4 CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC)

As análises de DSC, das blendas produzidas, foram realizadas em um calorímetro diferencial de varredura 2910 da TA Instruments, usando-se aproximadamente 10 mg de amostra, em panela de alumínio selada. As medidas foram feitas em fluxo de argônio com uma taxa de 20°C/min, tanto para o aquecimento como para o resfriamento. Foram feitas todas as medidas em dois ciclos (aquecimento e resfriamento).

IV.5 TERMOGRAVIMETRIA.

As análises termogravimétricas das blendas produzidas foram realizadas na faixa de temperatura entre 0°C e 1000°C, a uma taxa de aquecimento de 20°C/min, sob fluxo constante de argônio. Todas as análises foram efetuadas em uma termobalança TGA módulo 2050 da TA Instruments.

IV.6 ANÁLISE MECÂNICO-DINÂMICA (DMA)

A análise mecânica dinâmica (DMA) é uma das técnicas mais eficazes na avaliação do comportamento viscoelástica de misturas poliméricas e da miscibilidade. O comportamento mecânico-dinâmico pode ser avaliado em experimentos envolvendo cisalhamento, tração ou flexão. De modo geral, a análise mecânica dinâmica consiste na aplicação de uma tensão ou deformação oscilatória ou tensão de pequena amplitude em um sólido ou líquido viscoso, medindo-se a deformação sofrida ou a tensão, respectivamente, sob variação de frequência (Wetton, 1966). Normalmente, o material é submetido a uma deformação que corresponde a uma função senoidal. Se o comportamento viscoelástico for linear, o material responderá à oscilação com uma tensão também senoidal, porém defasada de um ângulo δ em relação à deformação devido à dissipação de energia (Turi, 1994). Através do DMA, podem ser medidos: módulo cisalhamento, G' , módulo de armazenamento, E' , o módulo de perda, E'' , e o fator de perda ou damping, $\tan \delta$, que é razão entre os módulos, ou seja: $\tan \delta = E''/E'$.

O módulo de armazenamento é uma medida da energia mecânica que é armazenada pela amostra na forma de energia elástica. O módulo de perda reflete a energia mecânica convertida em calor produzido pelas relaxações que o material pode sofrer. Pode-se medir E' , E'' e $\tan \delta$ em função da temperatura, da frequência e do tempo.

Os testes dinâmico-mecânicos são importantes para estudar a estrutura e a transição térmica de polímeros relacionados com cristalinidade, ligações cruzadas, separação de fases, agregação molecular, dentre outras. Podem também ser utilizados para analisar a composição química de polímeros e de misturas poliméricas.

IV.7 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

As morfologias das blendas produzidas, assim como a do PHBV processado, foram avaliadas utilizando-se um microscópio eletrônico de varredura modelo Jeol T-300 operando a 20 keV. As amostras para a microscopia eletrônica de varredura foram metalizadas com ouro/paládio e o suporte foi feito com uma fita de carbono. Também foram feitas microscopias de criofratura da blenda 50% LIG/PHBV injetada.

No caso das amostras de blendas submetidas aos testes de biodegradação, estas foram primeiramente liofilizadas por aproximadamente 24 horas, para secar as amostras sem comprometer a morfologia.

IV.8 ANÁLISE ELEMENTAR

A Análise Elementar das amostras para a determinação de porcentagem de Carbono, Hidrogênio e Nitrogênio foi feita no Aparelho de Análise Elementar da Perkin Elmer Serie II – 2400.

IV.9 DENSIDADE DE SÓLIDO

A determinação da densidade (g/L ou cm^3) de sólidos das amostras foi obtida no instrumento Multivolume Pycnometer 1305 – Micromeritics.

IV.10 ENSAIOS MECÂNICOS

As medidas de tração e flexão foram realizadas para blenda 50%LIG/PHBV, de acordo com a norma ASTM (tração D638 e flexão D790), em uma máquina universal de ensaios EMIC DL 2000 usando célula de carga de 5000 N e velocidade de deslocamento de 5,0 mm/min. A figura IV.6 ilustra um corpo de prova para a determinação das propriedades mecânicas das amostras.



Figura IV.4 -Corpo de prova para determinar propriedades mecânicas

IV.11 ENSAIOS DE BIODEGRADAÇÃO

IV.11.1 Atividade Enzimática

IV.11.1a) - Lacase

A atividade de lacase foi calculada utilizando um espectrofotômetro HITACHI, U-2000, no comprimento de onda de 525 nm, específico para a reação de oxidação da siringaldazina (Sigma).

No caldo extracelular de cultura dos microrganismos foi avaliada a atividade enzimática, o qual foi filtrado por meio de uma membrana Millipore (0,45 μm) e.

A atividade desta enzima foi determinada, utilizando siringaldazina como substrato enzimático. A oxidação de siringaldazina (Sigma) ($\epsilon_{460}=65.000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) foi conduzida numa mistura de reação contendo 0,6 mL do caldo filtrado, 0,3 mL de tampão citrato-fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,0) e 0,1 mL de siringaldazina (Sigma) $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$, num volume final de 1,0 mL. A reação teve início pela adição da siringaldazina e a velocidade de oxidação desta foi acompanhada durante 5 minutos a 525 nm. Uma unidade de atividade de lacase foi definida como a quantidade de enzima necessária para oxidar 1 μmol de substrato por minuto e por Litro do caldo de cultivo (Szklarz e col., 1989).

IV.11.1.b) - Lignina Peroxidase :

A atividade de Lignina Peroxidase (LiP) foi determinada pela a oxidação do álcool veratrílico. A Mistura de reação foi composta de 0,5 mL de caldo filtrado, 0,05 de H_2O_2 mmol L^{-1} , 0,375 mL de tampão tartarato de sódio $0,33 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0), 0,45 mL de água destilada e 0,125 mL de álcool veratrílico 4 mmol L^{-1} . O aparecimento do aldeído veratrílico foi determinado observando-se a velocidade da reação por 5 minutos a 310 nm. Uma unidade de LiP correspondeu à quantidade de enzima que oxidou 1,0 μmol de álcool veratrílico por minuto e por Litro do caldo de cultivo (Tien e Kirk).

IV.11.2 MICRORGANISMOS

Os fungos utilizados nestes testes foram o *Trametes versicolor* (CCT 4521), este fungo faz parte da coleção da Fundação Tropical André Tosello – Campinas-SP, preservado no laboratório de química biológica, sob coordenação do Prof. Dr. Nelson Durán/IQ e o *Phanerochaete chrysosporium* (ATCC 24725), cedido pela Prof^ª Maricilda Pallandi/ CBMEG- Unicamp (Centro de biologia molecular e engenharia genética).

IV.11.2.a) Cultivo do *Trametes versicolor* (CCT 4521) para a produção de Lacase:

Procedimento 1 - Meio de cultura: 12,5 g de extrato de malte (OXOID), 1,0 g de agar em 250 mL de água destilada. Temperatura de incubação de 28 °C durante 10 dias. Inoculação dos fungos nas placas.

Procedimento 2 – Meio de cultura: 5% do meio pronto (3% de extrato de malte, 1,5% ágar e 0,5% de peptona). A preparação segue conforme instrução do rótulo; foi adicionada 0,3 mg de ácido Ferúlico. Tempo de incubação de 20 dias 28 °C.

IV.11.2.b) Cultivo do fungo *Phanerochaete chrysosporium* (ATCC 24725) em meio sólido para a produção de Lignina Peroxidase:

O meio de cultura utilizado foi constituído de extrato de malte (20 g/L), ágar (20 g/L) e água destilada. O fungo foi inoculado em placas de Petri previamente esterilizadas contendo o meio descrito acima (realizado em capela de fluxo laminar). Deixaram-se as placas incubadas em estufa durante 5 dias a 37 °C.

IV.11.3 ENSAIOS EM MEIO LÍQUIDO

Os testes de biodegradação foram feitos em duplicata, tanto para o *Trametes versicolor* como para o *Phanerochaete chrysosporium*, sendo realizados em meio líquido contendo 2% de extrato de malte.

A inoculação dos fungos foi feita em uma capela de fluxo laminar, onde os círculos de 7,7 mm de diâmetro do micélio (três), escolhidos da região de crescimento apresentavam-se melhor para serem retirados (de 2,0 a 3,0 cm do centro do inóculo) e foram colocados em frascos erlenmeyers contendo 250 mL de meio. Os frascos foram mantidos sob agitação (150 rpm), a uma temperatura de 28°C para o *Trametes versicolor* e a 35°C para *Phanerochaete chrysosporium*.

Os testes de biodegradação utilizando o *Trametes versicolor* foram realizados com todas as blendas e com PHBV processado, o tempo máximo de incubação foi de 32 dias.

O fungo utilizado nesses testes foi adaptado para uma concentração de 70% em massa de blenda 50% LIG/PHBV no meio de crescimento. Na adaptação o tempo de incubação foi de 7 dias.

Já os testes de biodegradação utilizando o *Phanerochaete chrysosporium* foram realizados com as blendas 40, 50 e 60% LIG/PHBV e com o PHBV processado, o tempo máximo de incubação foi de 21 dias e o fungo utilizado no experimento não foi adaptado como no primeiro caso.

No caso do *Trametes versicolor*, foi medida a atividade enzimática para Lacase durante o período de incubação em meio sólido e líquido. Assim, alíquotas de aproximadamente 2 mL foram retiradas dos fracos onde se realizavam os testes de biodegradação, em vários intervalos de tempos. Com essas alíquotas foi possível acompanhar a atividade enzimática do microrganismo por meio do procedimento.

Para o *Phanerochaete chrysosporium* foi medida a atividade enzimática da Lignina Peroxidase em meio líquido, mas os dados não foram conclusivos, porque a quantidade encontrada deve ser melhor avaliada, por estarem muito baixo e muito próximo da concentração do controle.

CAPÍTULO V

RESULTADOS E DISCUSSÃO

V.1 OBTENÇÃO DA BLENDA

As Blendas foram obtidas:

- Aparelho Haake com rotores
- Aparelho Haake com extrusora monorosca

V.1.1 DISCUSSÃO PARCIAL – OBTENÇÃO DA BLENDA

As blendas foram obtidas no aparelho Haake e na extrusora monorosca acoplada ao Haake e o material obtido no Haake com os rotores ao serem analisados, aparentemente têm uma melhor estrutura, pois este sistema permite que o vapor formado seja expelido. No Haake acoplada a uma extrusora monorosca não tem aeração, portanto o vapor caminha pelo material formando um material poroso e quebradiço. Este vapor pode ser o resultado da umidade na lignina ou da degradação do material usado, considerando a complexidade da molécula de lignina e a pequena janela de degradação do PHBV quando aquecido, mas temos que analisar melhor estes problemas na confecção destes materiais no futuro. Neste trabalho não foi possível realizar melhores estudos com a lignina de bagaço de cana de açúcar, é necessário uma quantidade relevante de amostras para se chegar a uma explicação do fato que ocorreu na obtenção das blendas. Devemos ter uma atenção maior na secagem das amostras de partida e considerar também o uso de outros tipos de extrusoras; como a extrusora monorosca com um misturador mais apropriado e com um sistema de aeração, uma extrusora com dupla rosca e que também tenha aeração ou ainda um misturador tipo Bradbury.

Para trabalhos futuros esperamos ter mais resultados para que este problema seja melhor entendido, para isso teremos que conseguir uma quantidade muito maior de material

de partida, neste trabalho a quantidade de lignina de bagaço de cana de açúcar limitou os testes neste sentido.

V.2 CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL

A caracterização das blendas e dos materiais de partida (lignina e PHBV) foi realizada pelos seguintes métodos: Infravermelho, Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC), Termogravimetria (TGA), Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN-¹H), Análise Mecânica-Dinâmica (DMA), Análise de Microscopia de Varredura (MEV), Ensaio Mecânicos, Análise Elementar, Densidade de sólidos e Testes por ensaios de Biodegradação.

V.2.1 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO (IV)

Com base no trabalho de Nada (1998) foi possível fazer as atribuições ao espectro de IV obtido para a lignina utilizada neste trabalho. Assim, uma banda obtida em 3430 cm⁻¹ caracteriza dos grupos OH da lignina. Esta banda obtida difere da banda de vibração OH da água que é muito larga. Em 1335 cm⁻¹ e 1229 cm⁻¹, aproximadamente, verificam-se os estiramentos referentes à vibração OH dos grupos fenólicos. Bandas em 1136 e 1036 cm⁻¹ são características de grupos OH de álcoois secundário e primários, respectivamente.

As vibrações dos grupos OCH₃ são indicados pela banda presente em 2866 cm⁻¹, próxima aquela referente ao estiramento CH de grupos metila ou metileno, em 2926 cm⁻¹. Tem-se ainda para grupos OCH₃, a contribuição considerável de suas ligações CH, observadas nas bandas presentes em 1461 e 1428 cm⁻¹.

As bandas em 1600 e 1507 cm⁻¹ são características de anéis aromáticos e são devido a vibrações do esqueleto aromático. A banda detectada em 844 cm⁻¹ é referente ao C-H aromático, que está fora do plano de vibração na unidade *p*-hidróxi fenilpropano e aquela em 1700 cm⁻¹ é atribuída a estruturas isoladas beta-ceto.

No espectro de infravermelho do PHB as bandas características foram encontradas em 1282 cm⁻¹ e em 1726 cm⁻¹, referentes ao estiramentos C-O e C=O, respectivamente. Foram observadas, ainda, bandas em 2853 cm⁻¹, 2926 cm⁻¹ e 2972 cm⁻¹ referentes a estiramentos

C-H e uma banda em $3443,09\text{ cm}^{-1}$ referente ao estiramento OH, indicando a presença de umidade no material.

Quanto ao espectro de absorção da blenda pode-se dizer que não foram observadas alterações significativas com relação ao espectro obtido para a lignina pura, este resultado deve-se à ocorrência de sobreposição das bandas relativas à lignina e ao PHB. Houve, no entanto, o desaparecimento da banda referente ao estiramento C=O, presente no PHB e o deslocamento da banda referente a estruturas beta-ceto, presente na lignina em 1700 cm^{-1} e em 1713 cm^{-1} na blenda.

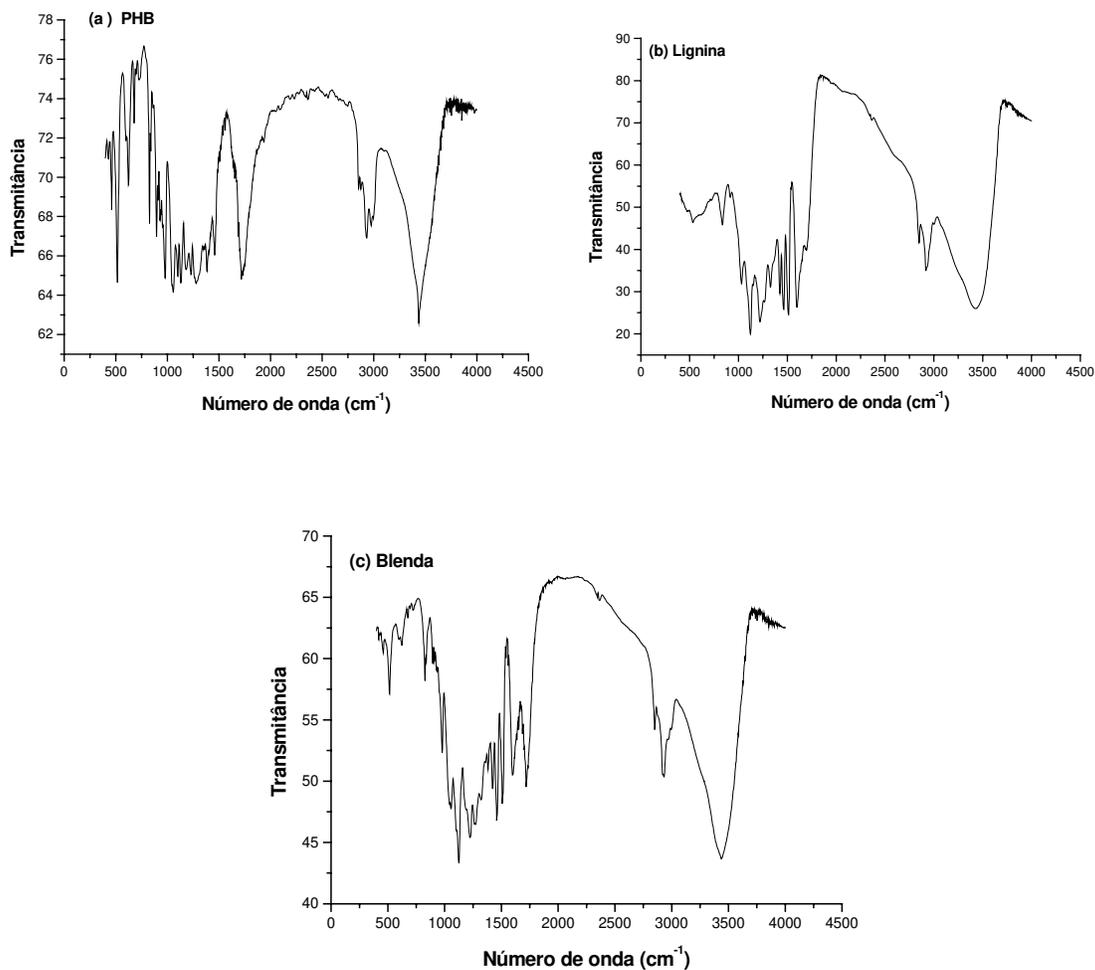


Figura V.1 Espectros de absorção no Infravermelho: (a) PHB ; (b) Lignina e (c) Blenda

V.2.2 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

Na análise de DSC foi observada uma temperatura de fusão aproximadamente de 156°C, indicando que o polímero que foi usado para se obter as blendas é o PHBV. Inicialmente havia a hipótese de que o polímero era o PHB o qual apresenta ponto de fusão aproximadamente de 180°C (Chen e col., 2001). Porém, como mostrado anteriormente, através da análise de RMN-¹H, trata-se de um copolímero P(HB-co-HV) e não de um homopolímero, o que resulta uma temperatura de fusão mais baixa.

Com a análise do termograma obtido para o PHBV determinou-se ainda a sua temperatura de transição vítrea, -6,79°C, e a sua temperatura de cristalização, 52,32°C.

No termograma obtido para a blenda 50%PHBV/50%LIG foi observado, assim como para o PHBV, dois picos referentes ao processo de fusão, um na temperatura de 133,84°C, menos intenso, e o outro em 157,69°C. Quanto a T_g e a T_c da blenda os valores encontrados foram -1,94°C e 59,24°C, respectivamente.

Observa-se que a diferença entre os valores de T_F da blenda e do PHBV puro é de aproximadamente 3°C para o primeiro pico e 1°C para o segundo pico. A maior diferença, no entanto, foi encontrada para os valores de transição vítrea e cristalização, havendo um aumento de 4,85°C e 6,92 °C, respectivamente. Estes valores são muito significativos e aparentemente poderiam indicar que há uma interação entre o PHBV e lignina.

Foi verificado por Ghosh (2000) as alterações na T_g e T_c, onde foi constatado um retardamento no processo de cristalização da blenda. Este resultado está em desacordo com os resultados obtidos neste trabalho, onde verificou-se uma aceleração no processo de cristalização da blenda. Isto pode ser explicado, porém, com base nas ligninas utilizadas, já que no trabalho da literatura (Ghosh, 2000) a lignina utilizada foi uma éster-lignina e o procedimento da obtenção da Blenda é a de filme de um éster-lignina com PHB, enquanto que neste trabalho a obtenção da blenda foi por uma extrusora monorosca e rotor no aparelho Haake e a lignina tem características diferentes, assim como o polímero usado foi o PHBV.

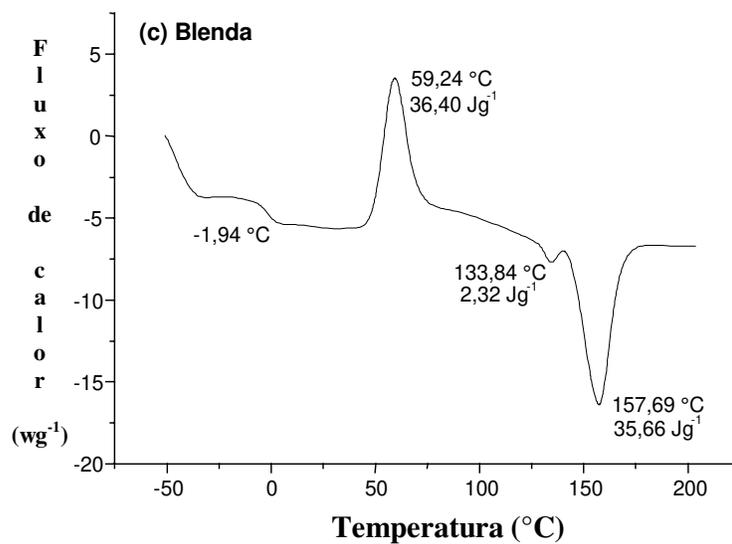
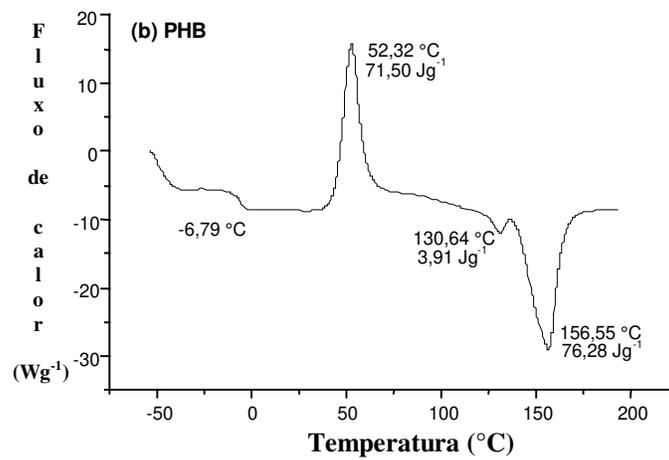
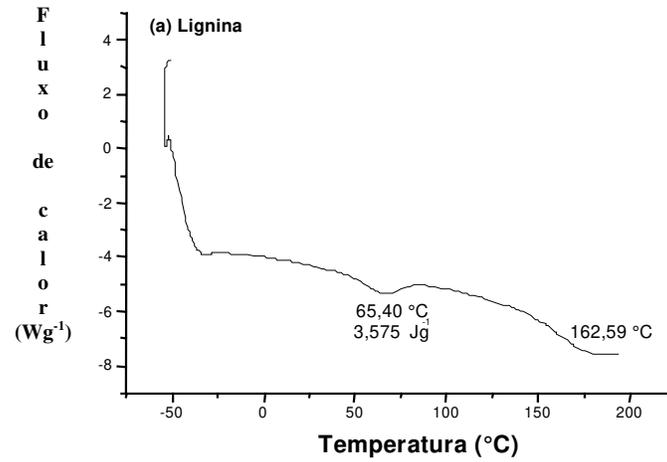


Figura V.2 – Análises de DSC: (a) Lignina; (b) PHB e (c) Blenda

Analisando-se as curvas de DSC obtidas para as blendas produzidas nota-se que não houve mudanças significativas nas temperaturas de fusão das blendas com relação ao PHBV, havendo uma perda de linearidade com o aumento na proporção de lignina na blenda. Com relação às temperaturas de transição vítrea das blendas produzidas, também não foram observadas alterações significativas com relação à Tg do PHBV. O mesmo foi constatado com relação às temperaturas de cristalização máxima, onde se observaram pequenas acelerações para as blendas que possuíam quantidades inferiores a 50% em massa de lignina e retardamentos para aquelas com quantidades superiores a 50%.

Porém, todas essas alterações observadas são muito pequenas quando se trata do estudo de blendas. Portanto, as análises de DSC (Figura V.3) obtidas para todas as blendas revelam comportamentos térmicos muito semelhantes ao do PHBV, o que comprova, mais uma vez, que não há interação entre os polímeros de PHBV e Lignina. As análises de DSC permitiram também determinar os estados de transição das amostras (Tg) das amostras(Tabela V.1).

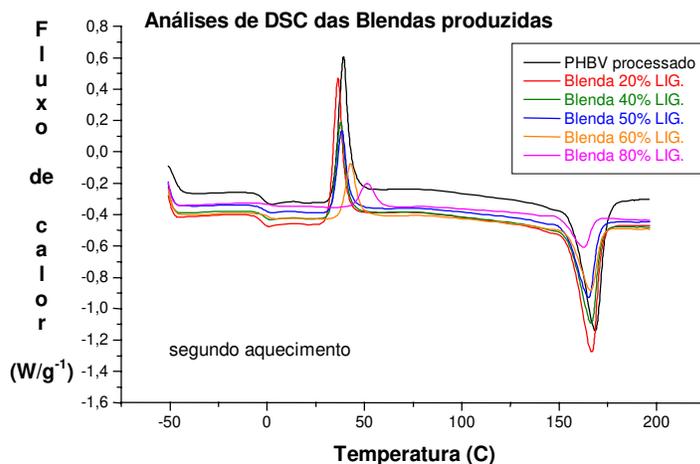


Figura V.3 Análises de DSC das blendas e PHBV processado

Tabela V.1 Tg das amostras determinadas por DSC

Amostras	Tg (°C)
PHBV virgem	-6,79
PHBV processado	-3,58

Lignina/PHBV	-1,94
--------------	-------

V.2.3 Termogravimetria.

As análises de Termogravimetria possibilitaram a avaliação da estabilidade térmica das blendas produzidas. A curva termogravimétrica do PHBV puro apresentou um único estágio de decomposição térmica, que ocorreu entre 279,46°C e 293,32°C, já a lignina, apresentou vários estágios de perda de massa devido a sua estrutura molecular com hidroxilas que podem ser liberadas, havendo perda de massa, a lignina é complexa.

A decomposição da blenda ocorreu em um único estágio, entre 274,55°C e 294,40°C. A variação entre a temperatura de decomposição da blenda e aquela observada para o PHBV puro foi de aproximadamente 5°C, o que é bastante significativo, mostrando que os polímeros estão, provavelmente, interagindo. Na Figura V.4 é mostrada as análises de TGA, para a lignina, PHBV e a Blenda e na figura V.5 podemos analisar a influência das porcentagens de Lignina/PHBV.

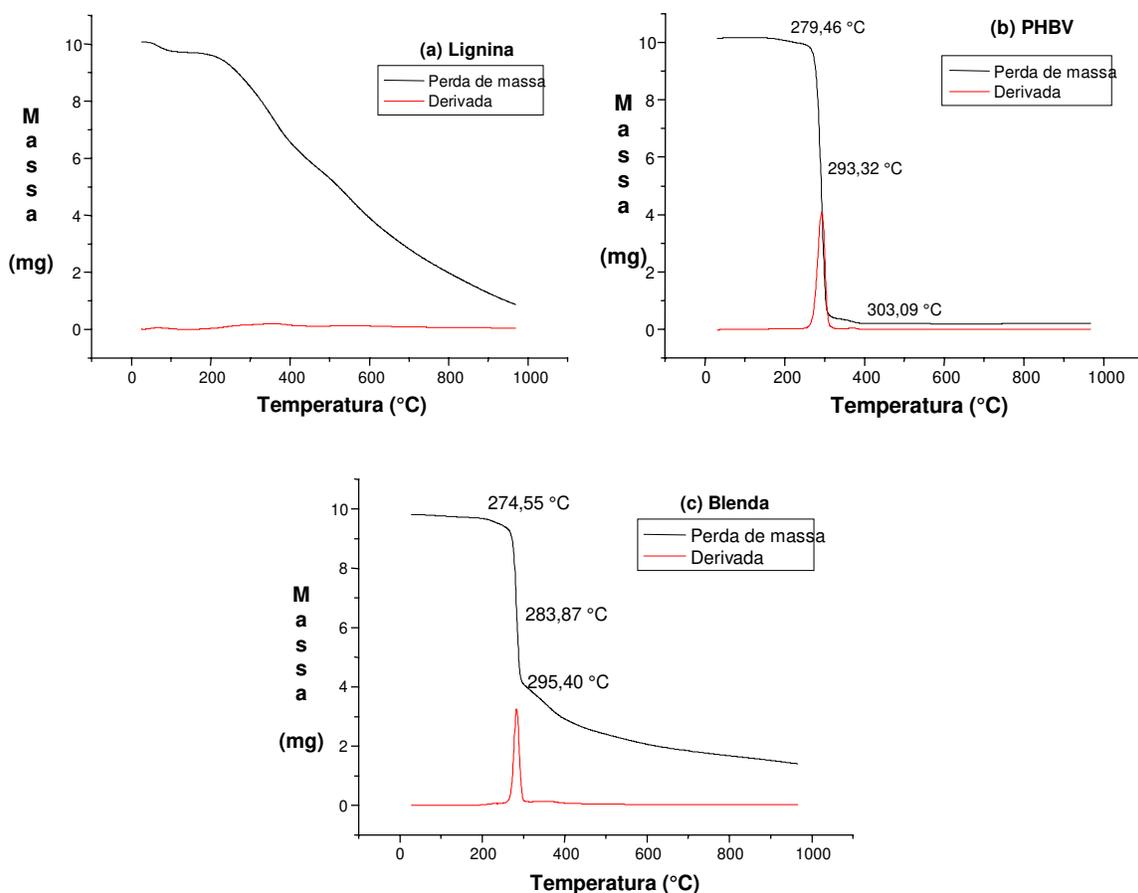


Figura V.4 Análises de TGA para (a) Lignina (b) PHBV e (c) Blenda.

Analisando-se os resultados obtidos para todas as blendas, observa-se que há uma perda de linearidade na decomposição térmica do material com o aumento em massa de lignina na blenda. No entanto, a perda de massa se inicia, praticamente, na mesma temperatura, tanto para as blendas produzidas quanto para o PHBV processado. Isto mostra que o PHBV presente nas blendas se decompõem de forma independente em relação a lignina já que não há uma mistura íntima entre esses polímeros, como já foi verificado nas análises de MEV e DSC.

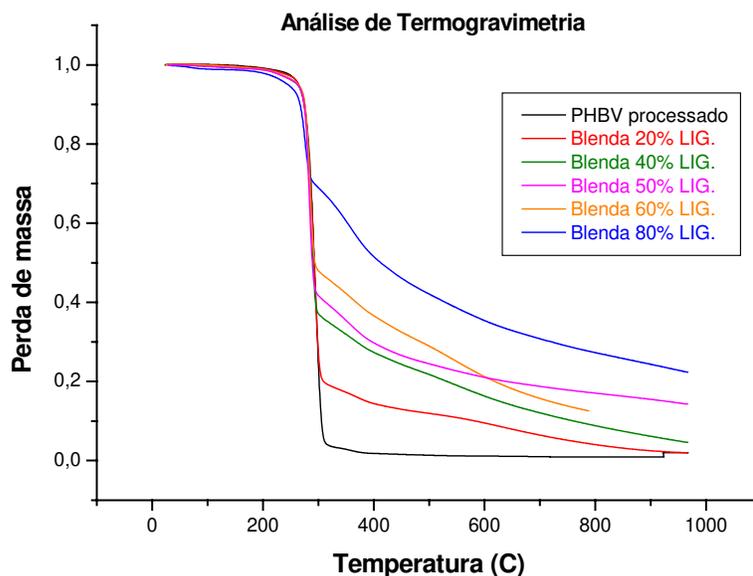


Figura V.5 Análises de TGA das blendas produzidas e do PHBV processado.

V.2.4 Análise de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN-¹H)

O polímero recebido da Coopersucar, trata-se na verdade de um copolímero e não de um homopolímero. Enquanto este último é formado apenas por unidades de hidroxibutirato (Figura V.6), o copolímero é formado por unidades de hidroxibutirato (HB) e hidroxivalerato (HV) (Figura V.7). A constatação e a quantificação das unidades HV se deu por meio da análise de ressonância magnética nuclear de próton (RMN-¹H). Essa

quantificação foi realizada integrando-se os picos das metilas do hidroxibutirato e hidroxivalerato, sendo o duplete aproximadamente a 1,28 ppm relativo às unidades de HB e o tripleto na região próxima a 0,90 ppm relativo às unidades de HV. Um P(HB-co-HV) da Aldrich contendo 12% de HV foi utilizado como padrão para a quantificação. Assim, a quantificação realizada revelou que o copolímero da Coopersucar possui cerca de 18% de HV. Os espectros de RMN-¹H obtidos para os copolímeros da Coopersucar e da Aldrich (figuras V.8 e V.9), mostram a região referente aos grupos metilas e etilas das unidades HB e HV dos respectivos copolímeros.

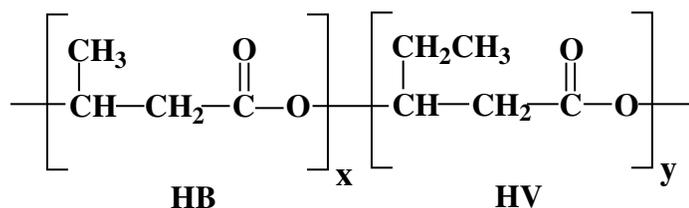


Figura V.6 Estrutura do copolímero poli(3-hidroxi-butirato-co-hidroxi-valerato), PHBV

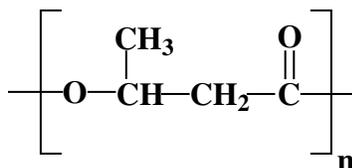


Figura V.7: Estrutura do homopolímero de poli(3-hidroxi-butirato), PHB

Comparando-se o espectro obtido para o copolímero da Coopersucar com aquele obtido para o da Aldrich, observa-se ainda um pico em 1,255 ppm, o que comprova a presença de impurezas. Essas impurezas provavelmente interferem nas temperaturas de fusão, cristalização e transição vítrea do copolímero.

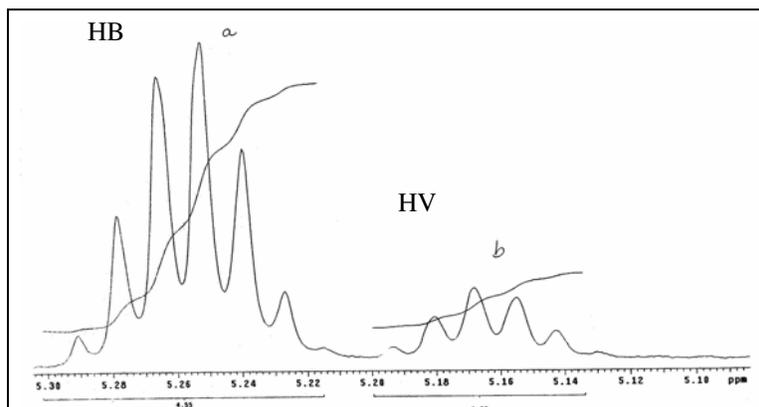


Figura V.8 Espectro de RMN-H do PHBV (Coopersucar)

Foi feito um espectro de RMN-H¹ e os valores encontrados pela integração dos prótons da amostra é de ¹H_{HB} = 4,55 e ¹H_{HV} = 1,00, para o padrão da Aldrich é de ¹H_{HB} = 9,16 e ¹H_{HV} = 1,00. Aplicando a equação de porcentagem, encontramos os valores para o PHBV (através da equação V.1).

$$\frac{{}^1\text{H}_{\text{HB}} + {}^1\text{H}_{\text{HV}} \text{-----} 100\%}{{}^1\text{H}_{\text{HV}} \text{-----} \text{X}} \Rightarrow \text{X \%}_{\text{HV}} = \frac{100\% {}^1\text{H}_{\text{HV}}}{{}^1\text{H}_{\text{HB}} + {}^1\text{H}_{\text{HV}}}$$

Equação V.1 Determinação da porcentagem de HV/HB

O valor determinado do HV da amostra é de aproximadamente 18% e para o HV (padrão Aldrich) que deveria ser de 12%, foi encontrado um valor experimental por volta de 10% (9,84%), comprovando que a amostra é PHBV e não PHB, apesar da diferença na integração do RMN-H¹ do padrão usado para os cálculos (Figura V.9).

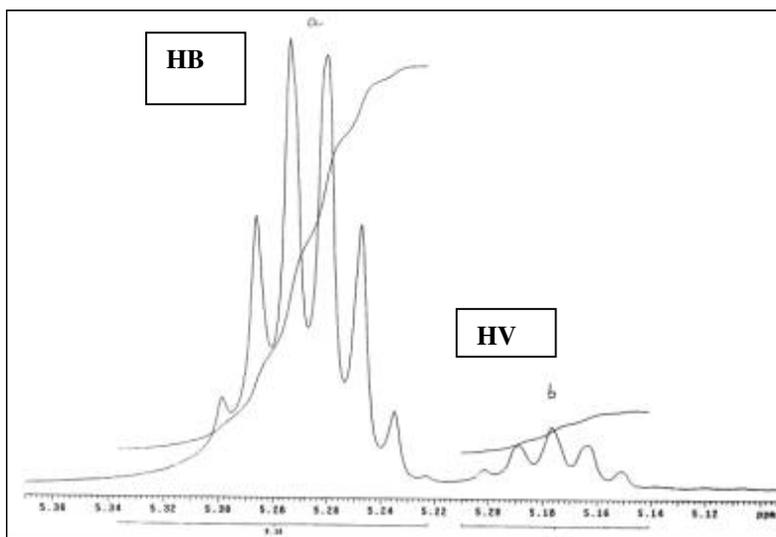


Figura V.9 Espectro de RMN-¹H do PHBV (Aldrich)

A integração do espectro de RMN-¹H do PHBV da Aldrich, usado como padrão para determinar a quantidade de PHBV utilizada apresentou aproximadamente de 10% (obtido

experimentalmente), sendo que o valor fornecido pelo fabricante foi de 12%. Provavelmente, o padrão poderia ter alguma impureza.

V.2.5 Análise Mecânico-Dinâmica (DMA)

Foi feita a Análise Mecânica Dinâmica para as amostras (Polímeros; PHBV processado, PHBV virgem, Lignina de Bagaço de Cana de Açúcar e a Blenda 50% de lignina/PHBV) para se obter dados das amostras em relação a Tg da cadeia principal, que foi determinada por $\tan \delta$ ($\tan \delta = E''/E'$) de acordo com a relação ao módulo de Perda E'' e ao módulo de Estocagem E' (tabela V.2), de acordo com as Figuras V.12, V.13, V.14 e V.15. O Tg da lignina não pode ser determinado porque há degradação da lignina, por perda de massa antes que se possa determinar a sua Tg.

A principal vantagem desta técnica sobre o DSC no estudo de transições, é que o DMA é cerca de 1000 vezes mais sensível na determinação de transições de fases, possibilitando a detecção de relações secundárias tais como as relações β e γ (figura V.10 e 11), que não podem ser detectadas por DSC (Wetton, 1966).

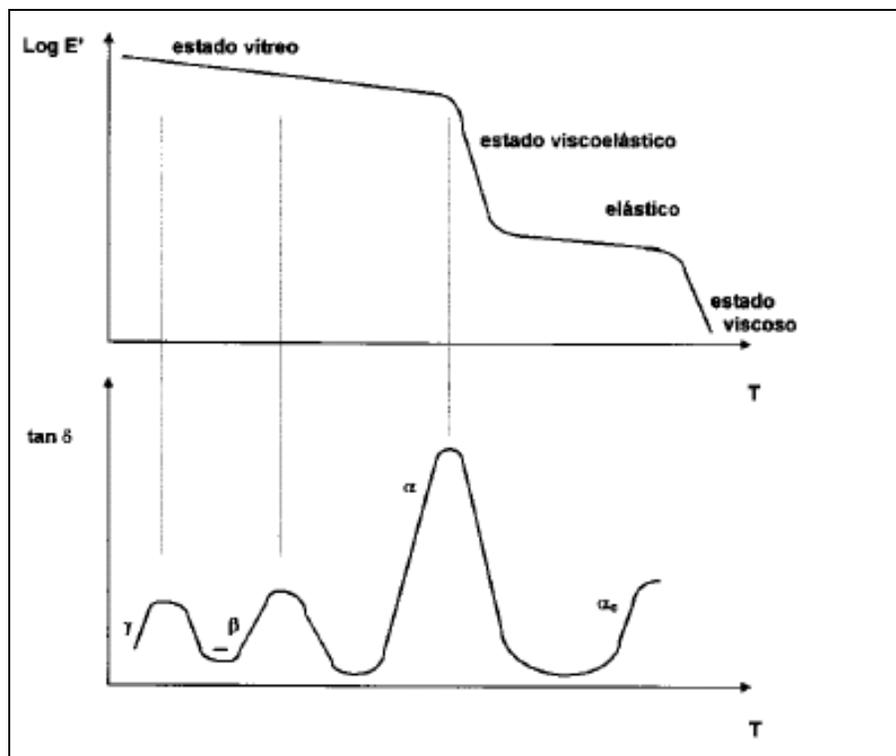


Figura V.10 módulo de armazenamento e $\tan \delta$

A figura V.11 mostra uma curva típica do módulo de armazenamento, identificando as regiões com diferentes comportamentos. A região viscoelástica da curva correspondente à região de transição vítrea está relacionada com as curvas do módulo de perda e fator de perda máximo, e com uma queda na curva do módulo de armazenamento. Outras relações podem ocorrer no estado vítreo, isto é, em temperaturas menores do que a temperatura de transição vítrea, T_g . Estas relaxações são chamadas de transições secundárias, sendo designadas pelo alfabeto grego, β , γ e outras, de acordo com a diminuição da temperatura.

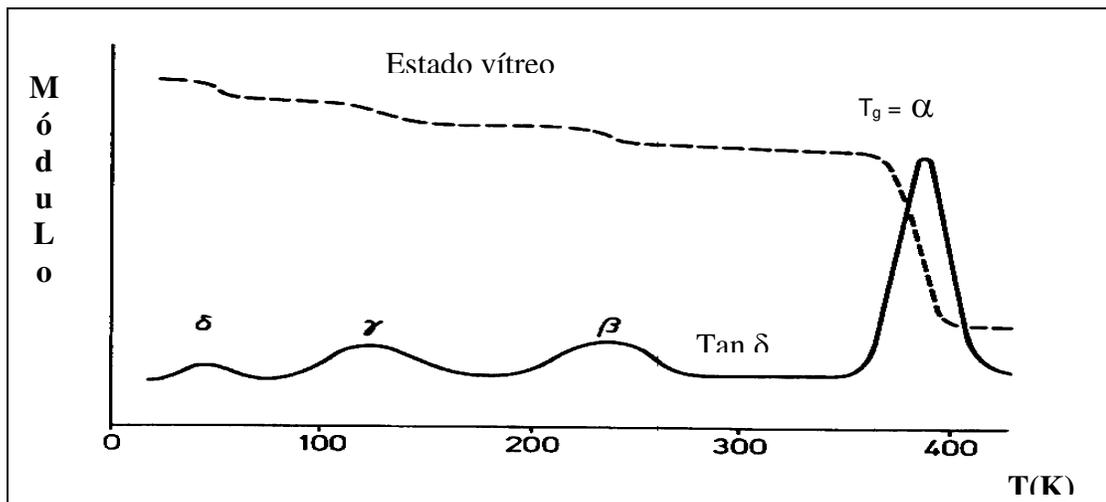


Figura V.11 – Estados de transição de um polímero

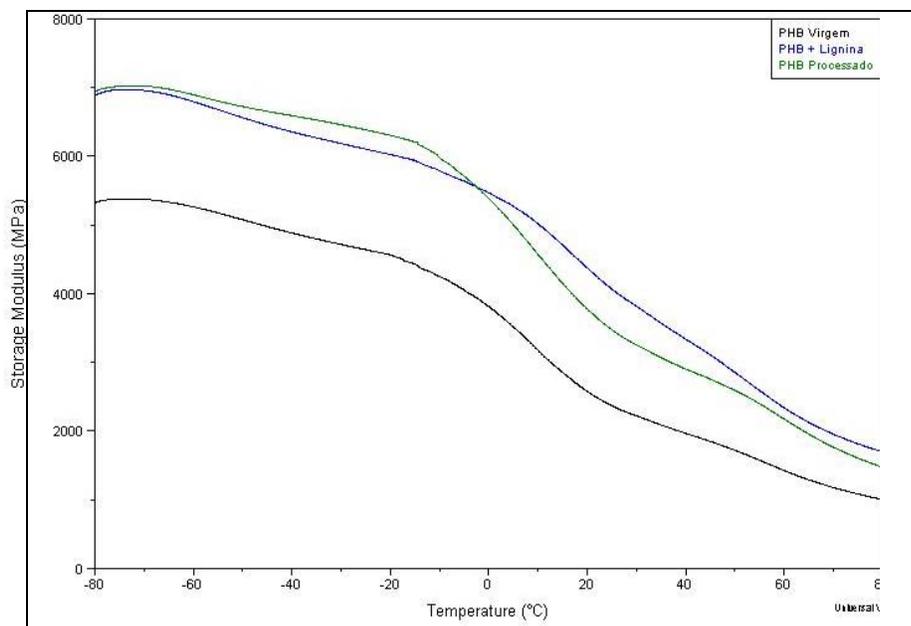


Figura V.12 DMA módulo de estocagem

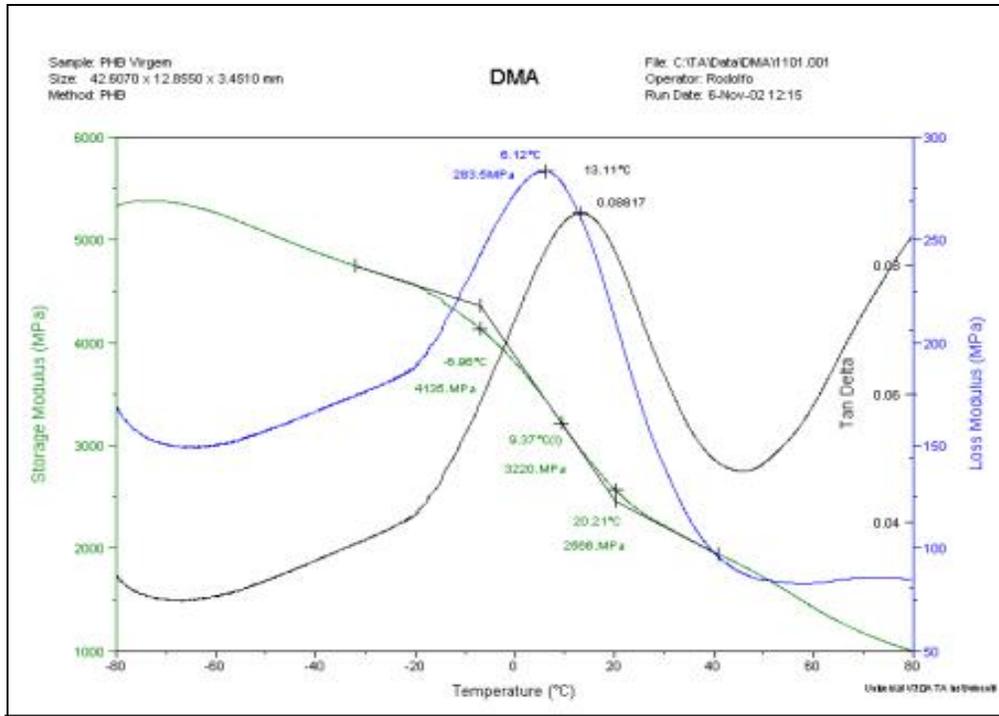


Figura V.13 Tan δ (delta) do PHBV Virgem

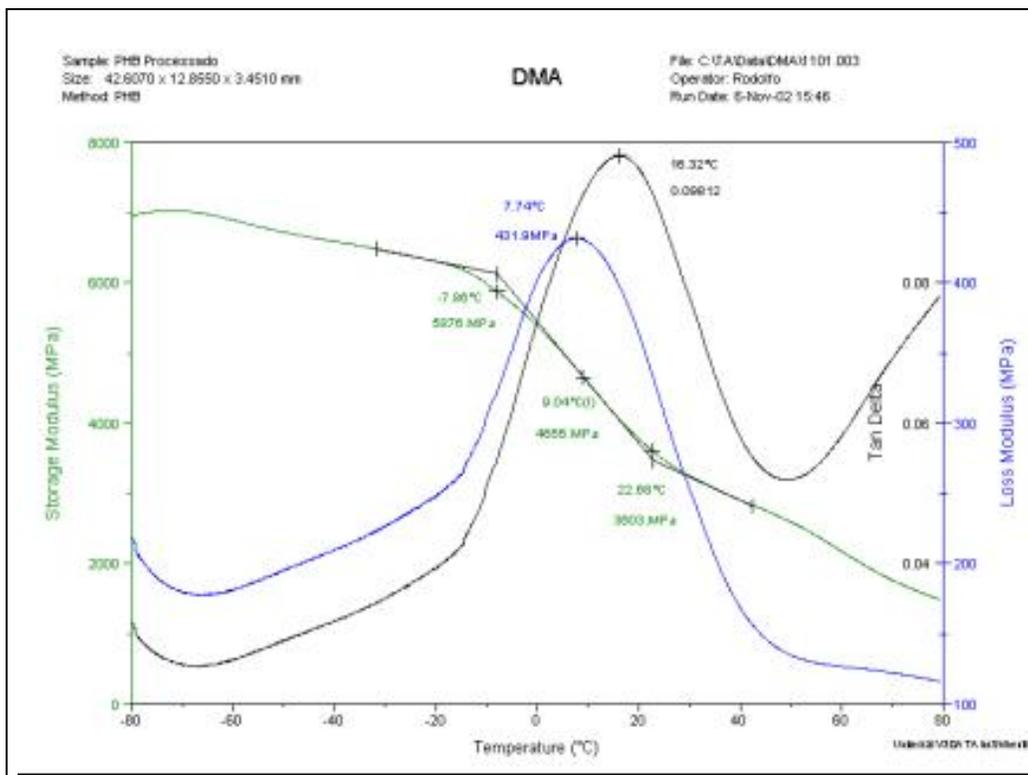


Figura V.14 Tan δ (delta) da PHBV Processado

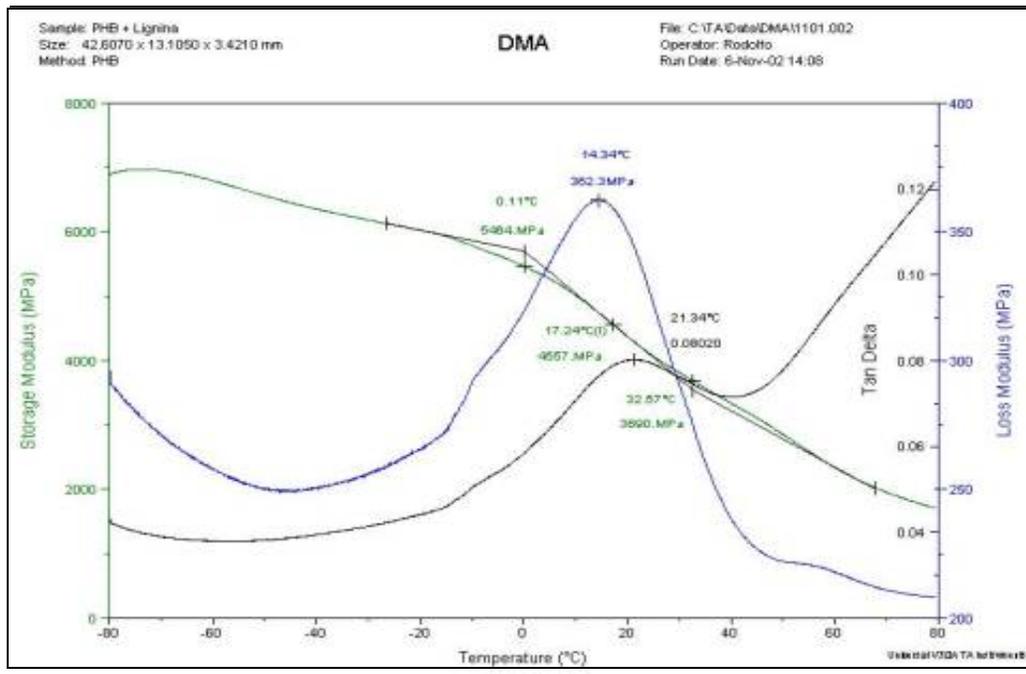


Figura V.15 Tan δ (delta) da Blenda Lignina/PHBV

V.2 Tabela Tan δ (delta) dos Polímeros e Blenda -DMA

Amostras	Tg (°C)
PHBV virgem	13,11
PHBV processado	16,32
Lignina/PHBV	14,34

V.2.6 Análise de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Foram feitas análises das amostras obtidas para observar possíveis modificações na sua morfologia. Observa-se que estas amostras mostram uma morfologia marcante, podendo-se perceber nestas microscopias a diferença de fases da blenda, com pequenos grãos na sua superfície e avaliar características como a topografia de cada uma delas. Foi observada a topografia das blendas (Figura V.16) com diferentes composições de material Lignina/PHBV e percebe-se que conforme aumenta a porcentagem de lignina no material

este se torna mais frágil e quebradiço. Figura V.17 são de Microscopia Eletrônica de Varredura da criofratura da blenda 50% LIG/PHBV e as fases da blenda onde pode-se ver nitidamente a Lignina na cavidade do PHBV.

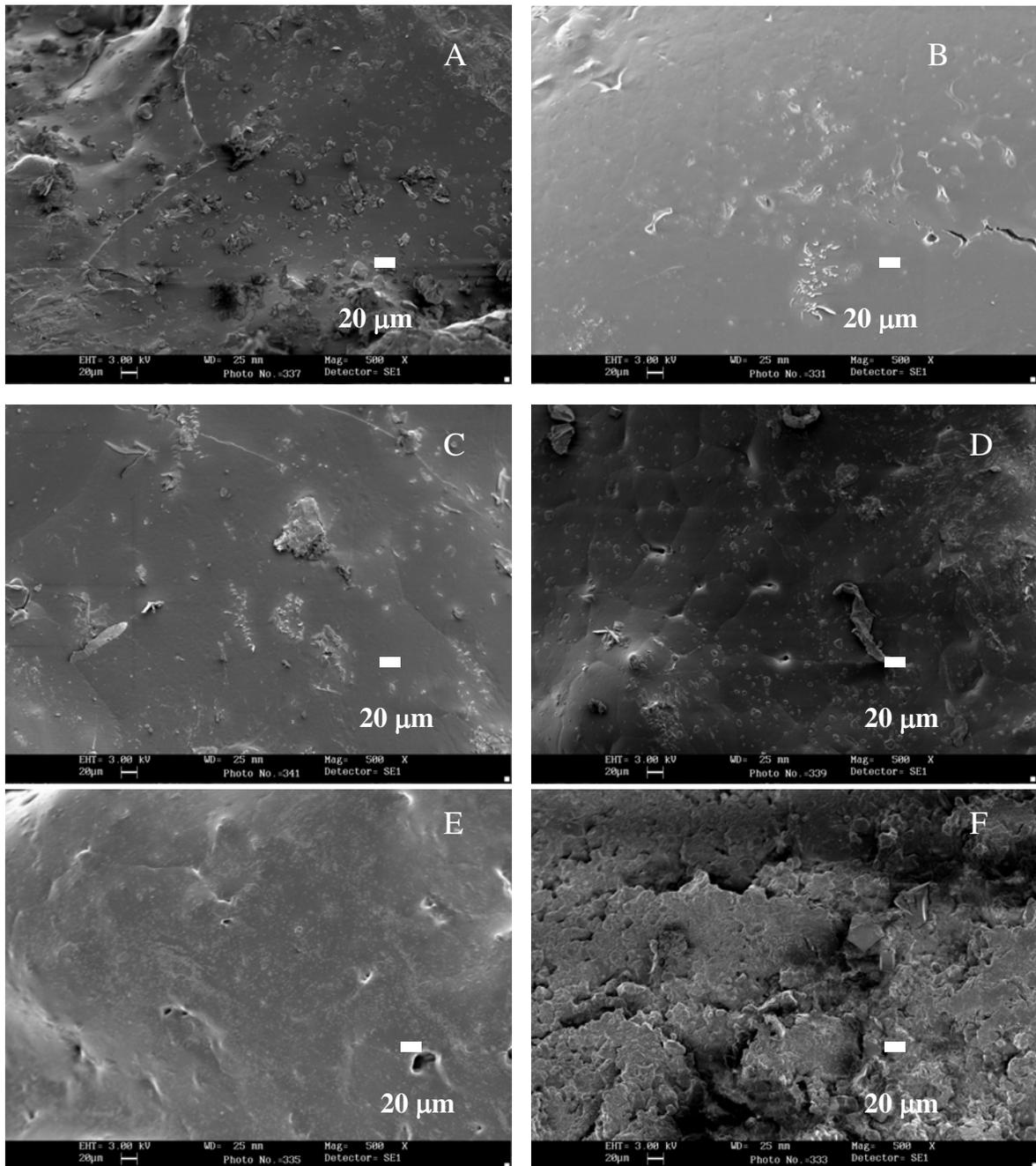


Figura V.16: Microscopia obtida da superfície dos materiais processados em Haake, com aumento de 500x: (A) blenda 50% LIG/PHBV; (B) PHBV; (C) blenda 20% LIG/PHBV; (D) blenda 40% LIG/PHBV; (E) 60% LIG/PHBV; (F) 80% LIG/PHBV.

As blendas contendo 40%, 50% e 60% *LIG/PHBV* apresentavam aparentemente aspectos muito semelhantes com relação a brilho e rigidez. No entanto, enquanto a blenda 20% *LIG/PHBV* apresenta um maior brilho em relação as demais, a blenda 80% *LIG/PHBV* apresenta-se opaca e com pouca adesão, o que lhe conferia fratura frágil e descamamento. Esta última característica da blenda 80% *LIG/PHBV* foi evidenciada na Figura 16 (F), onde se observa uma morfologia com ausência de superfície lisa e com pequenas irregularidades, evidenciadas por camadas que conferem uma maior porosidade a esta blenda, quando comparada às demais.

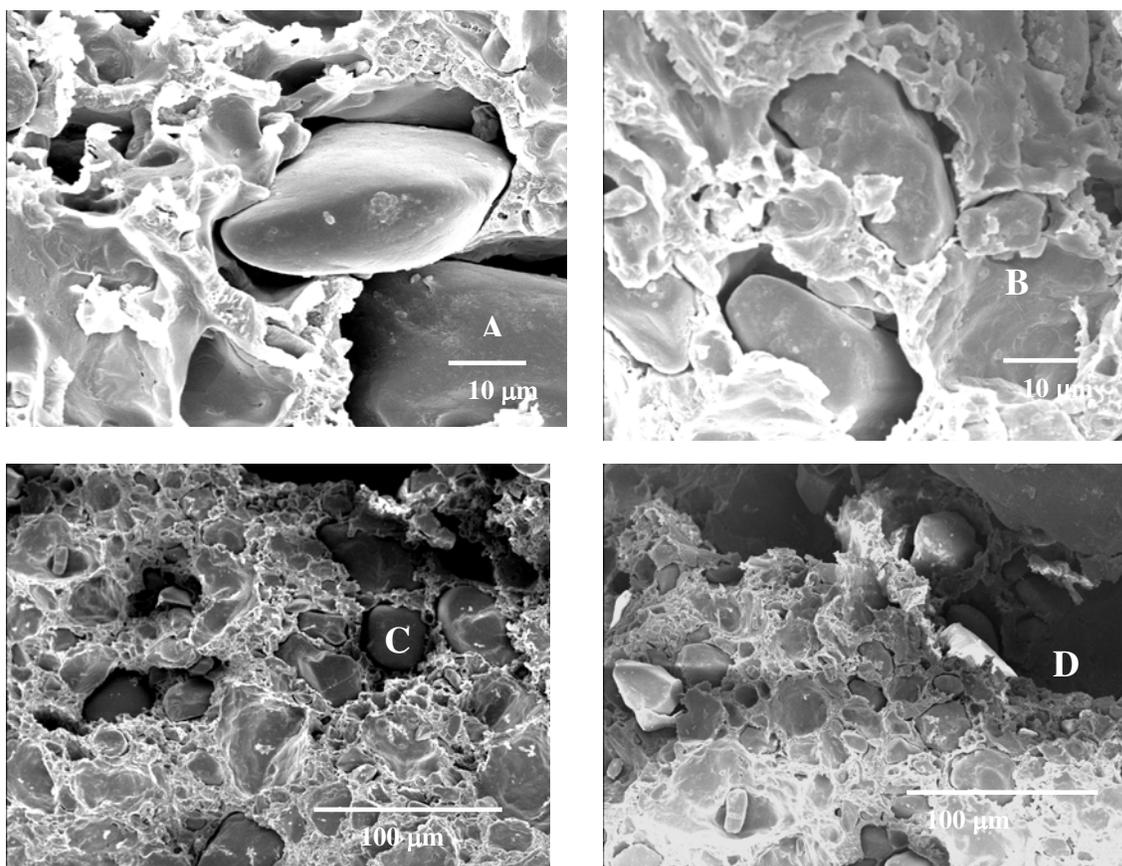


Figura V.17: Microscopia de criofratura da blenda 50% *LIG/PHBV*, processada no Haake, com aumento de: (A) 1000x; (B) 750x; (C) 100x; (D) 150x.

Os vazios observados entre as partículas de lignina e a matriz de PHBV (Figura V.16) mostram que os segmentos moleculares dos componentes poliméricos não se misturam intimamente. Tanto nas topografias quanto na fratura do material observam-se domínios dispersos dentro de uma fase contínua. Isto comprova que não há interação entre o PHBV e

a Lignina, o que está de acordo com os resultados obtidos nas análises térmicas e nos ensaios mecânicos.

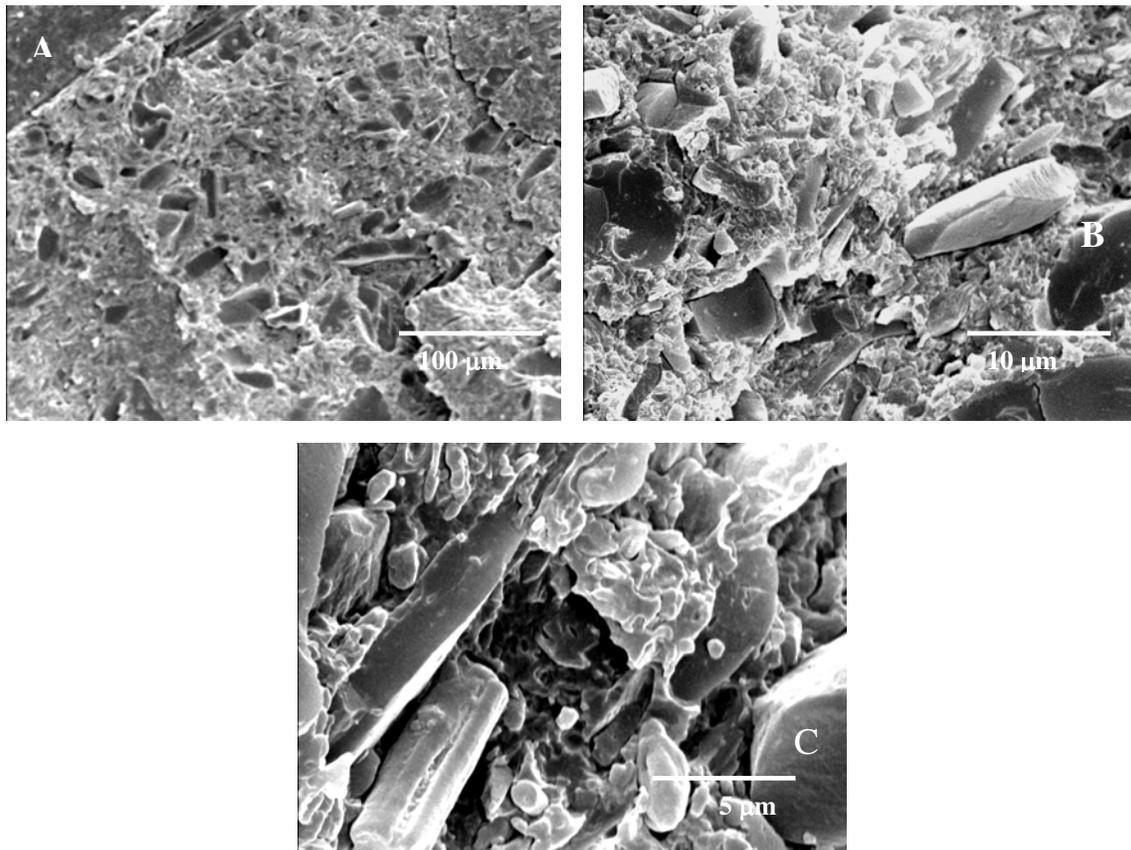


Figura V.18 Microscopia de criofratura da blenda 50% LIG/PHBV, processada no Haake, com aumento de: (A) 200x; (B) 1000x; (C) 5000x.

Os mesmos resultados observados na Figura V.17 foram observados na Figura V.18. Em todos os casos nota-se a presença de duas fases, havendo apenas uma diminuição dos espaços vazios entre os polímeros, devido a melhor mistura obtida para a blenda 50% LIG/PHBV, quando analisamos as criofraturas dos materiais injetados (Figura 18), com os materiais das blends que foram obtidos do Haake com rotores (Figura 17).

Portanto, com base nas microscopias obtidas da topografia das blends, e principalmente, com base naquelas obtidas com a criofratura da blenda 50% LIG/PHBV, processada no Haake e com a injetada, pode-se concluir que a blenda LIG/PHBV é imiscível, já que nela se observa uma separação de fases (segregação entre as moléculas).

V.2.7 ENSAIOS MECÂNICOS

Nos testes de tração e flexão realizados para a blenda 50% LIG/PHBV injetada, foi utilizada uma velocidade de 5,0 mm/min (figura V.19) e foi observada uma diminuição das propriedades mecânicas do material tanto em relação ao PHBV processado quanto em relação ao PHBV in natura. Desse modo, com base nos resultados observados nas curvas de Tração e Flexão, os valores determinados e mostrados nas tabelas V.3 e V.4 e o gráfico na figura V.19, de força versus deformação percebe-se que a força aplicada à blenda é muito menor que ao PHBV (in natura e processado). Pode-se perceber que os resultados das propriedades mecânicas das blendas são menores em relação ao polímero de partida PHBV, sendo indícios muito forte de que as blendas são incompatíveis e imiscíveis. Nota-se também que o módulo (Young) aumenta na Blenda e a diferença entre os módulos do PHBV e a blenda é mínimo na tração. No entanto este módulo torna-se maior para a blenda nos ensaios de flexão indicando que a blenda é mais rígida do que o PHBV nas condições padrões em que foram efetuadas as das medidas.

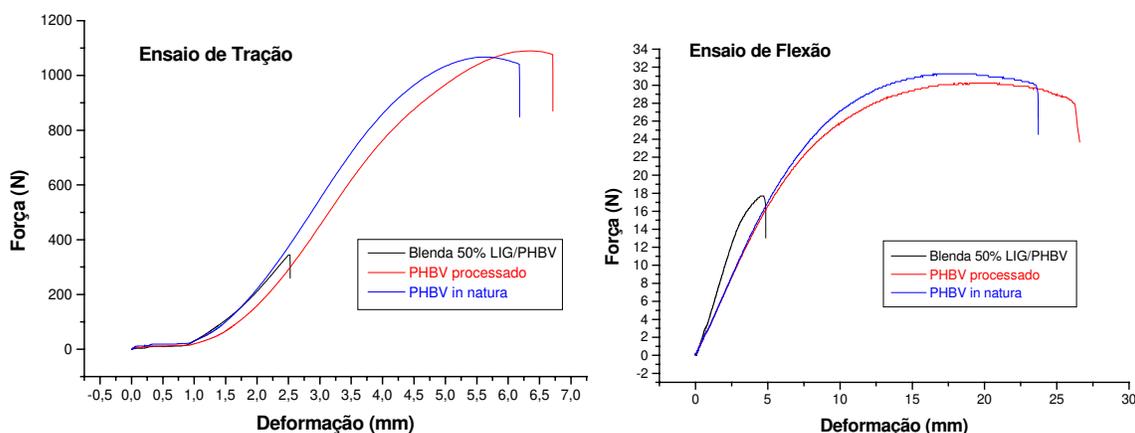
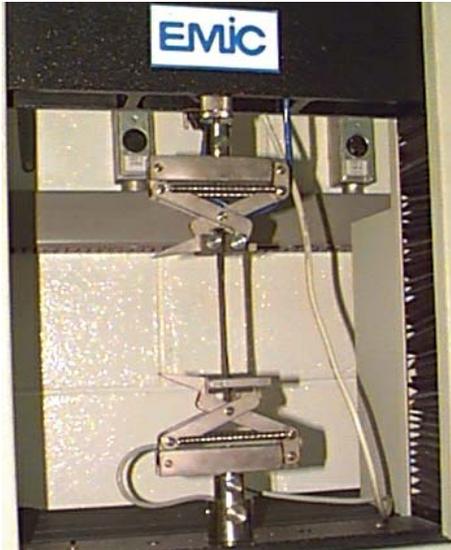


Figura V.19: Curvas de tração e Flexão da blenda 50% LIG/PHBV, PHBV (processado e in natura).

Na figura 20, pode-se ver uma foto do experimento em andamento do ensaio de Tração e Flexão, respectivamente

A) Tração



B) Flexão

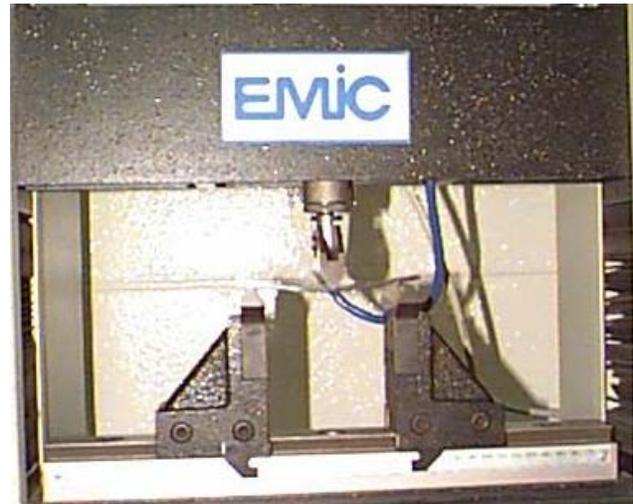


Figura V.20 Aparelho EMIC, para ensaio de Tração e Flexão.

As tabelas V.3 e V. 4 são os resultados obtidos dos ensaios mecânicos de Tração e Flexão, respectivamente.

Tabela V.3 : Resultados obtidos nos testes de Tração.

Amostras	Força máxima (kgf)	Tensão na força máxima (MPa)	Alongamento máximo (%)	Módulo de elasticidade (MPa)	Ruptura (MPa)
PHBV in natura	108,6 ± 2,3	23,4 ± 0,6	5,5 ± 0,4	853,3 ± 42,3	23,1 ± 0,7
PHBV processado	110,6 ± 4,2	24,1 ± 0,7	5,1 ± 0,4	900,4 ± 47,3	24,0 ± 0,7
Blenda 50% LIG/PHBV	33,4 ± 3,3	7,6 ± 0,8	2,1 ± 0,2	753,7 ± 61,7	7,6 ± 0,7

Tabela V.4 Resultados obtidos nos testes de Flexão.

Amostras	Força máxima (N)	Tensão Máxima (MPa)	Módulo (MPa)
PHBV in natura	30,1±2,7	31,1±1,8	1779±120
PHBV processado	32,6±1,3	35,0±1,4	2107±100
Blenda 50% LIG/PHBV	14,8±2,5	15,2±2,0	2344±169

A diminuição das propriedades mecânicas na blenda fica bem evidente nos gráficos de tração e flexão e nas tabelas apresentadas. Também se observa que as propriedades mecânicas do PHBV, que antes de ser injetado, já havia sido processado, são melhores do que o não processado (in natura).

É importante, mencionar que durante a extrusão da blenda 50%LIG/PHBV, notou-se a liberação de vapor proveniente provavelmente, de umidade presente na lignina, o que pode ter causado uma possível degradação do PHBV, e o aumento na característica quebradiça e na porosidade do material. Na injeção da blenda, porém, houve um maior controle quanto à umidade no sistema, não havendo problemas quanto à formação de vapores. Assim, a blenda obtida na proporção 50% lignina/PHBV, não apresentou propriedades mecânicas melhores do que o PHBV (in natura) e o PHBV (processado na extrusora), deve-se tentar otimizar o processo de obtenção das blendas para que o material possa ter melhores propriedades mecânicas .

V.2.8 ANÁLISE ELEMENTAR DAS BLENDA, LIGNINA E PHBV

Nesta análise, foi notado que as porcentagens de carbono e hidrogênio não variam muito e estão muito próximo do valor teórico (calculado) para o monômero de PHB (sabendo que temos aproximadamente 18% de PHBV no Polímero), pode-se prever que a porcentagem encontrada deveria ser maior que o calculado para o monômero de PHB, conforme as porcentagens obtidas para carbono (55,8%) e hidrogênio (6,98%), mas é interessante ressaltar a presença de nitrogênio nas amostras, o que pode determinar a presença de proteínas ou materiais nitrogenados, indicando provavelmente a presença de resíduos provenientes de microrganismos (PHBV) nas amostras.

Em relação à lignina fica difícil determinar a porcentagem teórica (calculada), porque a complexidade da molécula pode induzir a erros, pelo não conhecimento prévio da lignina

de bagaço de cana de açúcar que tem uma estrutura molecular um pouco diferenciada das ligninas mais conhecidas na literatura e pela própria estrutura complexa da lignina.

ANÁLISE ELEMENTAR

Amostras dia :	21/08/2002	23/07/2003
PHBV (Bruto) -	%C = 56,87 %H = 7,12 %N = 0,42	PHBV (Bruto) - %C = 55,97 %H = 7,47 %N = 0,83
PHBV(processado) -	%C = 56,73 %H = 7,20 %N = 0,25	PHBV (processado) - %C = 55,63 %H = 7,30 %N = 0,94
Lignina (modificada) -	%C = 61,69 %H = 5,93 %N = 0,68	Lignina (modificada) - %C = 57,53 %H = 5,85 %N = 1,55
Blenda (Lignina 50%) -	%C = 59,95 %H = 6,40 %N = 0,52	Blenda (Lignina 50%) - %C = 58,11 %H = 6,87 %N = 0,74
		Blenda (Biodegrada-Lignina 40%) - %C = 57,76 %H = 6,65 %N = 1,11

Tabela V.5 Análise Elementar

V.2.9 Densidade (sólido) (g/L ou g/cm³)

Foram feitas as medidas das densidades dos materiais poliméricos, pois se desejava saber a densidade real das amostras para que pudéssemos corrigir as porcentagens das massas a ser usadas para obtenção da blenda (Lignina/PHBV). É interessante notar que temos diferenças significativas em relação ao PHBV (bruto=1,01 g/L) e PHBV (processado=1,23 g/L), a densidade encontrada para o PHBV comercial (Aldrich) é de = 1,2 g/L.

A Lignina de bagaço de cana tem a densidade (medida) = 1,38 g/L, enquanto que as ligninas comerciais de madeira (Melbar) tem a sua densidade em torno de 1,2 g/L, portanto para trabalhos futuros estes dados terão que ser analisados e um tratamento prévio das amostras deverá ser feita para que sejam sanadas estas pequenas diferenças que podem gerar erros no tratamento dos dados, a reprodutibilidade e otimização do processo de obtenção de blendas poliméricas de Lignina/PHBV.

	21/08/2002 (g/L)	05/08/03 (g/L)
PHBV (Bruto)	-densidade = 1,01	0,97
PHBV (processado)	-densidade = 1,23	0,93
Lignina (modificada)	-densidade = 1,38	1,24
Blenda (Lignina 50%)	-densidade = 1,28	1,16
Blenda (Biodegrada-Lignina 40%) (<i>Trametes versicolor</i>)	-densidade = ND	0,46

Tabela V.6 – Densidade de Sólido

V.2.10 DISCUSSÃO PARCIAL DA CARACTERIZAÇÃO

A caracterização das blendas e dos materiais de partida (lignina e PHBV) foi realizada pelos seguintes métodos: Infravermelho, Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC), Termogravimetria (TGA), Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN-¹H), Análise Mecânica-Dinâmica (DMA), Análise de Microscopia de Varredura (MEV), Ensaio Mecânicos, Análise Elementar e Densidade de sólidos. Todos estes métodos permitiram obter informações interessantes dos materiais estudados, mas devemos ter em mente que outras informações podem ser obtidas por GPC (Cromatografia por Permeação em Gel), Microscopia de Força Atômica, Difração de Raio X, entre outras técnicas. Mas devemos estar cientes de que o material estudado é novo na sua obtenção e todas as análises devem serem feitas para se obter mais informações da sua estrutura e para que este tenha uma aplicação tecnológica, na substituição do plásticos, por ter características semelhantes a estes e por ser um material ambientalmente degradável.

V.3 Ensaio de biodegradação

Foram usados os fungos de degradação branca: *Trametes versicolor* (CCT 4521) e *Phanerochaete chrysosporium* (ATCC 24725), porque estes fungos são especialistas na biodegradação da lignina e provavelmente podem degradar PHBV e a Blenda. Ficou ainda como uma proposta usar bactéria para a degradação do PHBV, mas levando-se em consideração que o PHBV é facilmente degradado a CO₂ e H₂O, esta consideração foi descartada pelo tempo e objetivo do estudo proposto. Mas, no futuro deve ser feito algum tipo de biodegradação com bactéria para se ter mais dados sobre a degradação da blenda, e se os fungos estão usando a lignina como fonte de carbono ou o PHBV, ainda se o material só é usado como suporte.

V.3.1 Ensaio realizado com o *Trametes versicolor*

Os testes de biodegradação utilizando *Trametes versicolor*, foram realizados para todas as blendas (20, 40, 50, 60 e 80% em massa de lignina). No entanto, esses testes foram divididos em duas etapas, primeiramente, foram utilizadas as blendas 20, 50 e 80% LIG/PHBV, as amostras continham em média massas entre 3,0 e 4,0 g. Nessa primeira etapa, o tempo máximo de incubação foi de 21 dias e as alíquotas utilizadas para medir a atividade enzimática foram retiradas de acordo com o crescimento observado do fungo.

Na segunda etapa, os testes foram realizados com as blendas 40 e 60% LIG/PHBV e com o PHBV processado e as amostras também continham em média massas entre 3,0 e 4,0 gramas, o tempo máximo de incubação foi de 32 dias e as alíquotas utilizadas para medir a atividade enzimática foram retiradas em intervalos de 7 dias.

Durante o teste de biodegradação, observou-se nas duas etapas, que dentro de aproximadamente uma semana, toda superfície da blenda ficava recoberta pelo fungo, e que a população de microrganismo permanecia crescendo e se desenvolvendo aderido ao material, como pode ser observados nas figuras V.21 e V.22.

Na segunda etapa, onde o tempo de incubação foi maior, após o período de 32 dias foi observado que as amostras envolvidas pelo fungo presente no meio de crescimento se romperam, isto significa que a fonte de carbono existente inicialmente no meio líquido (2% extrato de malte) havia acabado. Porém, a população de microrganismos existente na

superfície da blenda permaneceu aderida e apresentou crescimento, o que sugere que esta população estava utilizando a blenda como fonte de carbono. Notou-se ainda que o PHBV processado apresentava uma coloração mais esbranquiçada após a conclusão do teste de biodegradação, o que também poderia ser encarado como um indício de sua degradação.

As fotos abaixo (Figuras V.21 e V.22) mostram as peças de PHBV processado e blendas, envolvidas pelo *Trametes versicolor* no meio líquido e também as amostras liofilizadas, onde se nota o fungo aderido no material.

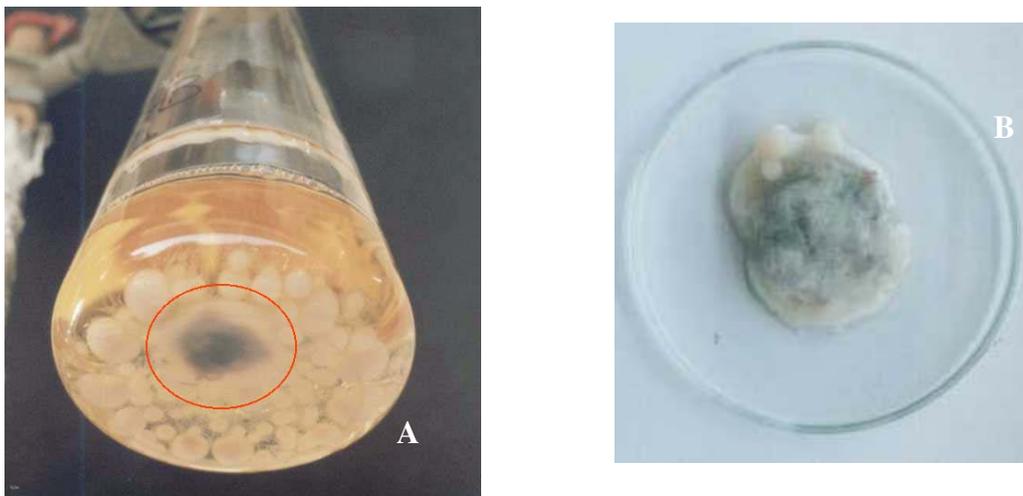


Figura V.21 (A) Teste de biodegradação em meio líquido realizado para o PHBV processado em Haake, utilizando *Trametes versicolor*; (B) Amostra liofilizada de PHBV processado em Haake, após o teste de biodegradação.



Figura V.22: (A) Teste de biodegradação em meio líquido realizado para a blenda 60% LIG/PHBV, processada em Haake, utilizando o *Trametes versicolor*; (B) Amostra liofilizada da blenda 20% LIG/PHBV, processada em Haake, após o teste de biodegradação.

Na análise de MEV feita para a criofratura da blenda 40% LIG/PHBV submetida ao teste de biodegradação pode-se observar hifas do fungo aderidas ao material, o que mostra que o microrganismo estava utilizando a blenda como fonte de carbono para seu crescimento ou suporte de mobilização.

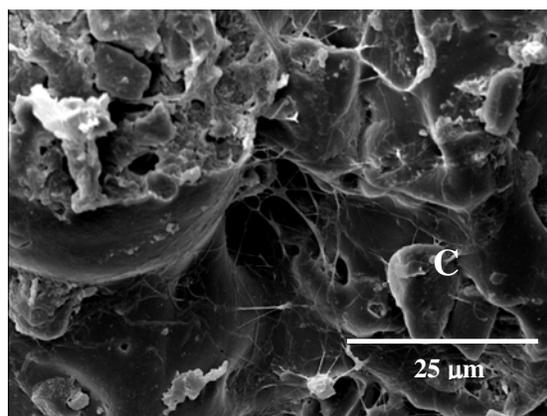
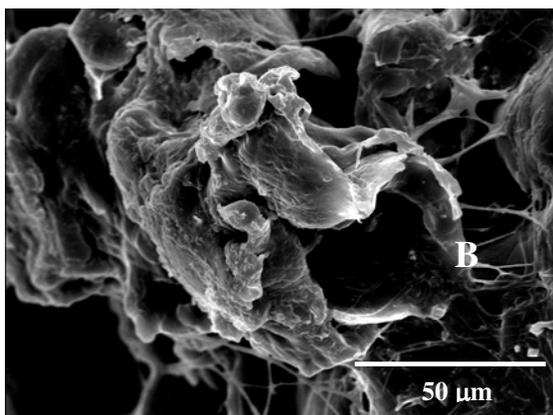
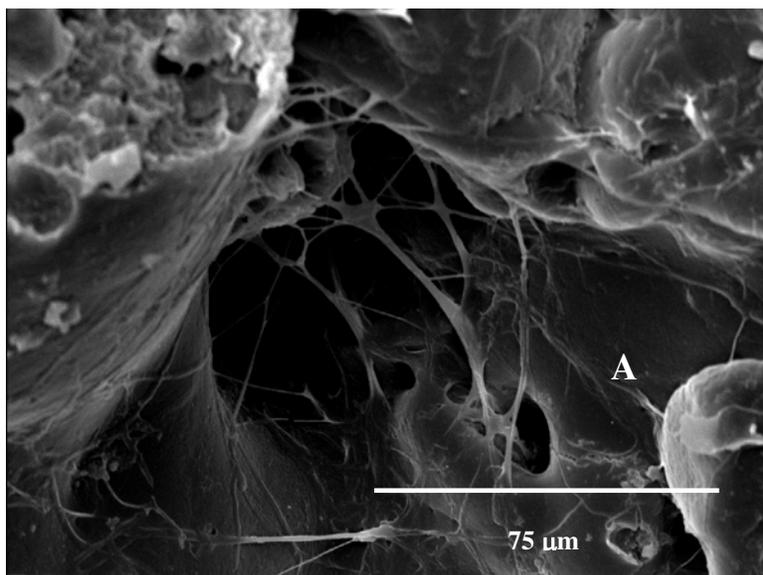


Figura V.23: Microscopias obtidas para a blenda 40% LIG/PHBV, processada em Haake, submetida ao teste de biodegradação com aumento de: (A) 1000x; (B) 1000x; (C) 500x.

Nas análises de MEV obtidas para a criofratura do PHBV processado submetido ao teste de biodegradação, não se observa a presença de hifas no interior do material como no caso da blenda 40% LIG/PHBV, apesar da grande quantidade de fungo observado na

superfície do PHBV processado (Figura V.21). Isto pode ser explicado pelo fato de que a blenda constitui um material muito mais poroso que o PHBV processado, devido à presença de espaços vazios entre as interfaces dos polímeros, como pode ser observado comparando-se as microscopias obtidas na criofratura da blenda 50% LIG/PHBV (Figura V.15) com aquelas obtidas para o PHBV após o teste de biodegradação (Figura V.24).

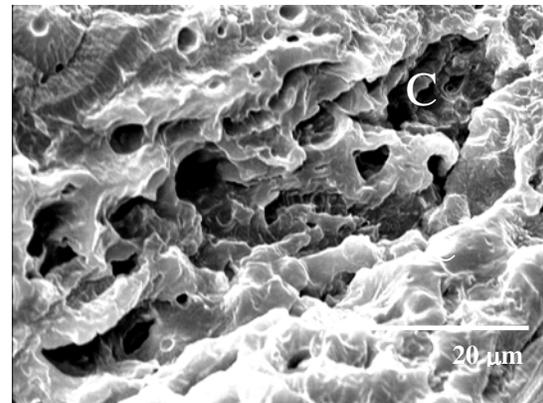
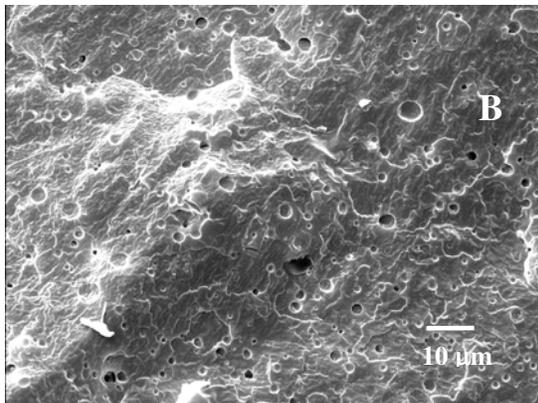
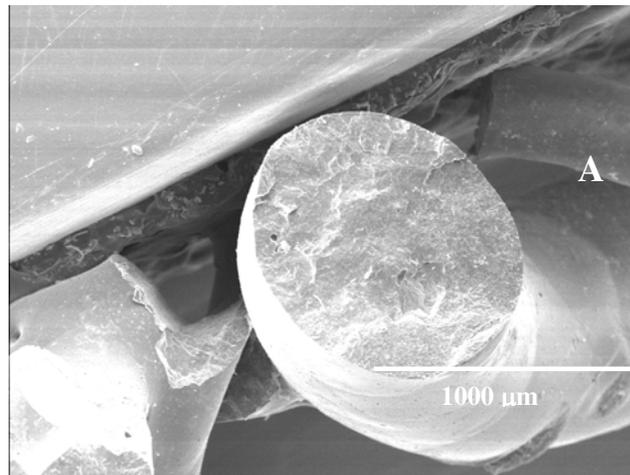


Figura V.24 Microscopias obtidas para o PHBV processado em Haake, submetido ao teste de biodegradação, com aumento de: (A) 50x; (B)1000x; (C) 2000x.

Como já foi dito anteriormente, os testes realizados com o fungo *Trametes versicolor* foram divididas em duas etapas. Assim sendo, as atividades enzimáticas medidas na primeira e segunda etapa podem ser analisadas nas tabelas V.5 e V.6, respectivamente.

Tabela V.7 Atividades enzimáticas medidas para as blendas contendo 20, 50 e 80% de lignina em massa.

Amostras	Atividade enzimática de Lacase (UL ⁻¹)			
	7 dias	12 dias	18 dias	21 dias
Controle*	79	71	78	77
Blenda 20% LIG	86	119	164	217
Blenda 50% LIG	41	84	152	216
Blenda 80% LIG	310	134	109	187

* Para fins de comparação um frasco erlenmeyer contendo apenas o meio líquido (2% extrato de malte) e o fungo inoculado, foi mantido sobre as mesmas condições de temperatura e agitação do teste de biodegradação.

Tabela V.8 Atividades enzimáticas medidas para o PHBV processado e para as blendas contendo 40 e 60% em massa de lignina.

Amostras	Atividade enzimática de Lacase (UL ⁻¹)			
	7 dias	14 dias	21 dias	32 dias
PHBV	61	199	182	70
Blenda 40% LIG	102	181	148	122
Blenda 60% LIG	156	165	186	75

A não linearidade dos dados obtidos nas tabelas V.5 e V.6 já era esperado, uma vez que a atividade desenvolvida pelo microrganismo depende de uma série de fatores; assim sendo, apesar de serem tomados os mesmos cuidados para uma determinada análise é comum que os resultados apresentem grandes diferenças.

De maneira geral, analisando-se as tabelas nota-se um aumento na produção de Lacase com o aumento de lignina presente na blenda; isto já era esperado uma vez que a biodegradação da lignina trata-se de um processo mais difícil do que a biodegradação do PHBV, devido a sua maior complexidade estrutural (presença de muitos anéis aromáticos).

Com relação a tabela V.6, nota-se à diminuição na produção de Lacase depois de 32 dias de incubação, isto ocorre devido a diminuição na oferta de carbono do meio, o que

causa a diminuição da população de fungo e conseqüentemente, a queda de atividade da Lacase. Foi observado na tabela V.6 que com o aumento de porcentagem da lignina há um aumento da enzima Lacase no meio e após 32 dias há uma drástica redução na produção de enzima o que sugere que depois da enzima degradar o material que o fungo não consegue usar como fonte de carbono, o microrganismo pare de liberar enzima para o meio. Sendo, lacase (Figura V.25) uma fenol oxidase (*p* – difenol oxidase), catalisa a oxidação de várias substâncias aromáticas e inorgânicas, particularmente fenóis, com a simultânea redução de oxigênio para água (Thurston, 1994; Xu, 1996). Compostos fenólicos são amplamente distribuídos na natureza e sua oxidação ou derivatização oxidativa é importante em processos tais como oxidação celular, proteção da parede celular, escurecimento em frutas, processamento de sucos e vinhos, deslignificação de polpas, descolorimento de tecidos e detoxificação de solos e águas contaminadas (Xu, 1996; Smith *e col.*, 1997; Minussi *e col.*, 1998; Durán, 2000).

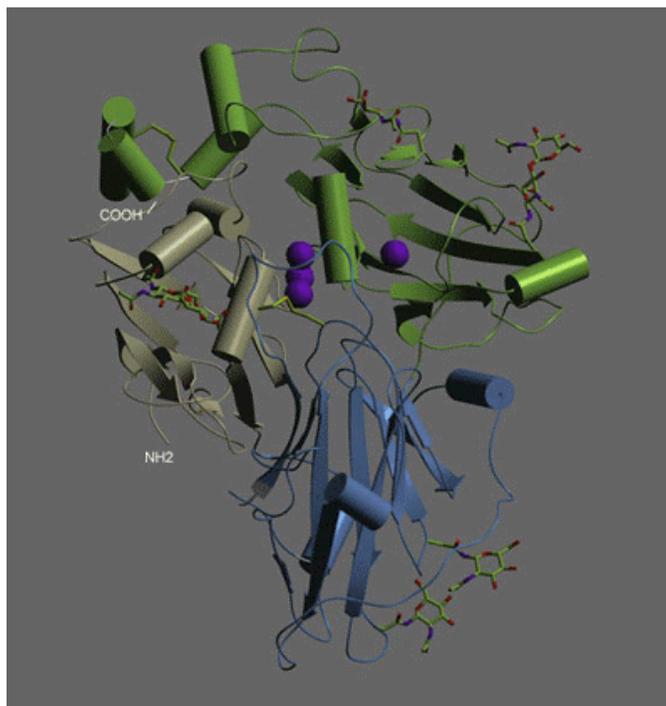


Figura V.25 Modelo da estrutura esquemática da Enzima Lacase.

V.3.2 ENSAIOS REALIZADOS COM O *Phanerochaete chrysosporium*

Os resultados obtidos nos testes de biodegradação realizados com o *Phanerochaete chrysosporium* (*P. chrysosporium*) foram muitos semelhantes aos obtidos com o *Trametes versicolor* (*T. versicolor*). Como já foi mencionado que as blendas utilizadas nesse estudo foram as 40, 50 e 60% LIG/PHBV, além do PHBV processado.

Aparentemente, o crescimento do *P. chrysosporium* mostrou-se mais rápido que o crescimento observado para o *T. versicolor*, sendo que a superfície de cada uma das blendas e do PHBV processado foi totalmente coberta em aproximadamente 5 dias; além disso a quantidade de fungo presente em cada material e no meio em geral, foi maior que nos testes realizados com o *T. versicolor*. Novamente, observou-se que o PHBV apresentava uma coloração mais esbranquiçada após a conclusão do teste de biodegradação, o que também poderia ser encarado como um indício de sua degradação.

No entanto, apesar de aparentemente possuir um crescimento maior e mais rápido, não se observa nas microscopias obtidas através da criofatura da blenda 50% LIG/PHBV submetida ao teste de biodegradação com o *P. chrysosporium* (Figura V.27), hifas no interior do material, como foram observadas na blenda 40% LIG/PHBV utilizando-se o *T. versicolor*. Apesar do tempo de incubação do *T. versicolor* ter sido um pouco maior, provavelmente, o principal fator responsável por essa diferença foi a não adaptação do *P. chrysosporium* à blenda 50% LIG/PHBV, como foi feito no caso do *T. versicolor*.

A foto da figura V.26, pode dar uma idéia da adaptação do fungo na blenda em meio sólido. Foi observado pela área de ocupação do fungo que o crescimento foi praticamente o mesmo para todas as proporções de blendas.



Figura V. 26 *Trametes versicolor* em meio sólido com proporções crescentes de blenda.

Em todos os casos o tempo de incubação foi de 7 dias, mas a partir da placa de 20%, ou seja, com o aumento de porcentagem de lignina, foi observado que há uma aceleração no tempo de esporulação, o que sugere uma provável adaptação ou estresse do fungo. Na figura V.27 podemos ver a morfologia (MEV) das blendas 50% Lignina/PHBV processada em Haake pela criofratura do material.

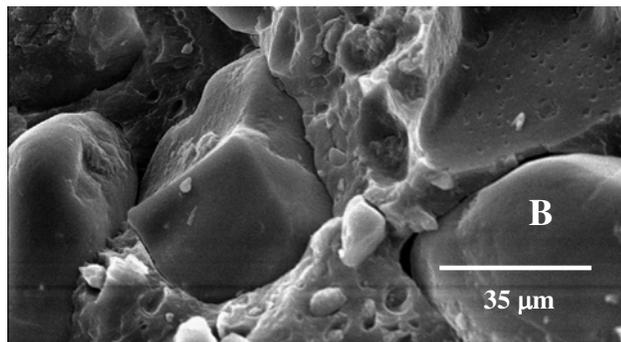


Figura V.27 - Microscopia da criofratura da blenda 50% LIG/PHBV, processada em Haake, submetida ao teste de biodegradação com o *Phanerochaete chrysosporium*, com aumento de: (A) 200x; (B)1000x.

Na Figura V.28, foi observado que não há penetração do *P. chrysosporium* no PHBV. Neste caso, além de não haver adaptação do fungo, existem ainda dificuldades encontradas na morfologia da blenda, como também foi observado para o *T. versicolor*, devido a menor porosidade desse material com relação às blendas produzidas.

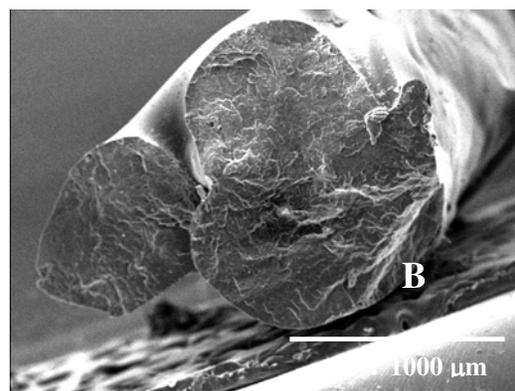
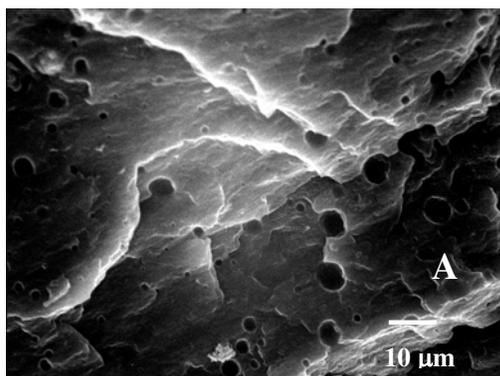


Figura V.28 - Microscopia da criofratura do PHBV processado em Haake, submetido ao teste de biodegradação com o *Phanerochaete chrysosporium*, com aumento de: (A) 1500x; (B) 50x.

V.3.3 DISCUSSÃO PARCIAL DO ESTUDO DA BIODEGRADÇÃO

Foram usados os fungos brancos de decomposição; *Trametes versicolor* e *Phanaerochatae cryosporium*, porque estes fungos são especialistas na degradação da lignina e o grupo de pesquisa já trabalha com estes fungos a algum tempo o que facilitou a análise dos dados obtidos. Foi proposto também o uso de bactérias para que pudéssemos elucidar algumas dúvidas na degradação dos materiais, assim como: os fungos realmente estavam degradando a lignina ou o PHBV ou o material estava sendo só usado como suporte? É claro que estas perguntas só poderão ser respondidas sem sombra de dúvida quando forem quantificadas por métodos como o teste de Sturm. Mas, tudo leva a crer que os fungos degradam o material e o estão usando-o como fonte de carbono, tanto pela disponibilidade do PHBV que é facilmente biodegradado no meio ambiente, como a especialidade destes fungos por lignina. Sabe-se hoje que estes fungos brancos de decomposição degradam a lignina por eles secretarem peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e a uma família de enzimas peroxidases e fenoloxidasas (Kirk, 1985).

A enzima Lacase pode ser estudada e quantificada a sua atividade enzimática, enquanto que para a LiP (lignina Peroxidase) não foram feitos estudos nas condições propostas neste trabalho. Porém, não se pode concluir qual das atividades enzimáticas foram mais eficientes, uma vez que aparentemente a LiP (Lignina Peroxidase) não apareceu no meio estudado porque o fungo *Phanaerochatae cryosporium* não entrou em estresse e portanto não liberou a enzima para que esta degradasse o material. Provavelmente o fungo conseguiu degradar o material, com uma pequena quantidade de enzima (LiP), por isso não foi possível encontrar a lignina no meio, este fato já é conhecido e ocorre para alguns fungos de decomposição branca, quando eles encontram no meio um material que pode ser facilmente biodegradado como o PHBV, ou seja, eles precisam de uma fonte de carbono adicional que funciona como um co-substrato para depois degradar a lignina, já que a lignina não funciona como fonte de carbono e energia para os fungos basidiomicetos. Certamente este mecanismo esta regulado pelo balanço entre as reações produtoras e consumidoras de energia (Kirk, 1985). Foram feitos os estudos de biodegradação com os micélios dos (*T. versicolor* e *P. chrysosporium*), por ser mais prático e mais seguro do que trabalhar com esporos.

CAPITULO VI

CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA PRÓXIMOS TRABALHOS

A idéia central desse trabalho era a obtenção de uma blenda que possuísse boas propriedades mecânicas, que pudesse ser usada como material para interiores de carros (ou outras utilidades tecnológicas), material de baixo custo comparado com o PHBV, blendas que sejam biodegradáveis ou material polimérico ambientalmente degradável (PAD). Levando-se em consideração que a metodologia empregada para a obtenção da Blenda não tem descrição na literatura para estes polímeros, sendo que, na literatura só foi encontrada obtenção de materiais similares em filmes, apesar de que algumas etapas não foram atingidas satisfatoriamente, mas os resultados devem ser analisados com profundidade, pois são promissores e devem ser o início de um estudo na obtenção de novos materiais a partir de polímeros naturais biodegradáveis que sejam efetivamente compatíveis e que tenham aplicação tecnológica.

As análises térmicas revelaram que as blendas produzidas possuíam propriedades térmicas muito semelhantes a do PHBV processado, demonstrando indícios de que não há interação entre os polímeros utilizados. Isto foi confirmado nas análises de MEV, onde se observou a presença de vazios entre as interfaces dos polímeros (inclusive beneficiando a biodegradação da Blenda), concluindo que as blendas eram imiscíveis. Com os ensaios de tração e flexão verificou-se que o material obtido perde tanto em tração/flexão em relação às propriedades mecânicas do PHBV, revelando que existe incompatibilidade da blenda.

No entanto, a idéia de se utilizar o PHBV, um polímero biodegradável, com lignina, polímero natural, obtido muitas vezes como resíduo de processos industriais (indústria papelreira), é muito promissor, uma vez que existem muitas possibilidades de estudo para se obter as melhoras desejadas para essa blenda. Como, por exemplo, o estudo das condições de processamento das blendas, no sentido de garantir uma maior uniformidade no material e possibilitar melhorias nas interfaces dos polímeros. Existe ainda a possibilidade de utilização de outras ligninas, já que estas possuem características diferentes conforme o seu processo de obtenção, o que também poderia acarretar em melhorias para o material. A falta de compatibilidade entre as fases de lignina e PHBV poderia ainda ser contornada por

meio da modificação estrutural de um dos polímeros ou pela adição de um agente compatibilizante. Por esse motivo, dentro desse grande número de possibilidades, seria interessante a continuidade do estudo da obtenção de uma blenda utilizando esses polímeros, o que pode ser proposto como continuidade do trabalho, já que o material obtido apesar de falhas na sua obtenção, fica evidente que é um campo novo e promissor.

Quanto ao estudo da biodegradação ficou evidente, com os resultados obtidos nesse estudo, a importância de adaptação do fungo, quanto ao seu uso no futuro e a influência da morfologia dos materiais. Foi constatado ainda que a quantidade de lignina presente no material não constitui um fator limitante ao crescimento do microrganismo, mas que provavelmente, interfira no tempo de degradação do material. Assim, a biodegradação de blendas produzidas a partir desses polímeros também constitui um grande campo de estudo, e por esse motivo o aprofundamento das investigações já iniciadas nesse projeto, também deve ser proposto em outros, para que se obtenha um sistema melhor, na produção de materiais poliméricos que tenham aplicação tecnológica e que sejam biodegradáveis. Nos dias de hoje torna-se uma idéia interessante e necessária, porque os polímeros tradicionais que poluem o meio ambiente, devem ser substituídos, pois já há uma pressão quando ao seu uso no futuro, se queremos ter menos materiais poluentes, teremos que retirá-los do mercado; não é uma tarefa fácil, mas é inevitável a sua substituição.

Além da sugestão acima, o uso de um compatibilizante, pode-se também adicionar à lignina grupos que possam ter uma melhor interação entre a lignina e o PHBV. Uma das propostas é modificar a lignina (metilar ou acetilar) e estudar as propriedades físicas da blenda e a sua biodegradação. Vale a pena também estudar outros tipos de ligninas produzidas pela indústria papelreira, lembrando que a lignina usada neste trabalho foi a lignina de bagaço de cana de açúcar e que outros tipos de lignina são facilmente obtidas no mercado; este detalhe é importante porque o custo na obtenção de materiais poliméricos pode ter uma influência muito grande neste tipo de estudo, na obtenção de blendas poliméricas, já que pode ser favorável a um país como o Brasil que tem uma reserva viável na obtenção destas blendas pela disponibilidade de ligninas de diferentes tipos.

A obtenção de uma blenda polimérica de lignina/PHBV é viável e apenas é uma questão de tempo e paciência para a otimização deste processo; os cuidados deverão ser mais bem trabalhados e refinados para que o sucesso na obtenção deste novo material

tenha êxito. Teremos que equacionar, a perda de massa da lignina durante o processo de aquecimento e a degradação do PHBV; ainda a umidade no material deve ser melhor avaliada; nota-se que quando o material foi extrudado, nas melhores condições da extrusora monorosca do Haake, há um aumento de pressão no sistema. Isto poderia ser evitado se o processo fosse realizado numa extrusora que tivesse desaeração; foi impossível processar este material nesta extrusora, pela quantidade de material disponível. Fica, portanto a sugestão que estudos futuros devem ser elaborados, partindo das premissas levantadas e pela experiência adquirida neste trabalho. Estes estudos devem ser feitos em misturadores com desaeração, no Haake ou outros misturadores mais potentes, tipo Bradbury ou extrusora com dupla rosca; sem dúvida a obtenção de novos materiais biodegradáveis com aplicação tecnológica já é uma realidade.

Pode-se concluir também que as blendas de porcentagens 50% e 40% de Lignina/PHBV foram as estudadas porque são as que apresentaram uma melhor morfologia e as que quando testadas apresentaram melhor dureza. Percebe-se também que aumentando a porcentagem de lignina, a blenda tornava-se mais quebradiça e com escamas. Por outro lado aumentando a porcentagem de PHBV na Blenda, também apresenta uma maior fragilidade e por outro lado o preço também não é atrativo ainda para se trabalhar com material deste tipo.

Uma outra contribuição relevante deste trabalho foi à determinação da porcentagem de 18% de HV no copolímero de PHBV, sendo que o material fornecido veio especificado como sendo um lote de PHB.

CAPITULO VII

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akhtar, C., Pouton, C. W., Notarianni, L. J. The influence of crystalline and copolymer composition on drug release from solution cast and melt-processed P(HB-HV) copolymer matrices. *J. Control. Release.*, v.**17**, p.225-233 (1991).
- Albertsson, A. C., Degradable polymers, *J. Macromol. Sci. – Pure Appl. Chem.*, v.**A30**, p.757-765 (1993).
- Alexopoulos, C. J.; Mims, C. W.; Blackwell, M.; Introductory Mycology. 4th ed. New York: John Wiley & Sons, p.869b. (1966)
- Alexy, P., Kosiková, B., Podstránska, G. The effect of blending lignin with polyethylene and polypropylene on physical properties. *Polymer*, v.**41**, p.4901-4908 (2000).
- Aust, S. D., Degradation of Environmental Pollutants by *Phanerochaete chrysosporium*. *Microbial Ecol.* v.**20**, p.197-209 (1990).
- Bajpai, P., Microbial Degradation of Pollutants in Pulp Mill Effluents. *Adv. Appl. Microbiol.*, v.**48**, p.79-134 (2001).
- Baptist J. N. US Patent, 3, 044, 942
- Benar, P., Gonçalves, A.R., Mandelli, D., Schuchardt, U., Hidroxymethylation and oxidation of organosolv lignins and utilization of the products, *Bioresource Technol.*, v.**68**, p.11-16 (1999).
- Billmeyer, F. W., *Text of Polymer Science*, John Wiley and Sons., Chapters 7, 12 and 17 (1994).
- Blanchete, R. A., Delignification by Wood-Decay Fungi. *Annu Rev Phytopathol.* v.**29**, p.381-398 (1991).
- Blanchette, R.A., Krueger, E.W., Haight, J.E., Akhtar, M., Akin, D.E. Cell wall alteration in loblolly pine wood decayed by the white-root fungus, *Ceriporiopsis subvermispora*. *J. Biotechnol.*, v.**53**, p.203-213 (1997).

- Boominathan, K. e Reddy, A. Fungal Degradation of Lignin: Biotechnological Applications Handbook of applied Mycology. Editado por Marcel Deckker Inc. New York. v.4, p.795-798 (1992).
- Braunegg, G., Lefebvre, G., Genser, K. F. Polyhydroxyalkanoates, biopolyester from renewable resources: Physiological and engineering aspects. *J. Biotechnol.*, v.65, p.127-161 (1998).
- Canetti, M., Urso, M., Sadocco, P., Influence of the morphology of and the supermolecular structure on the enzymatic degradation of bacterial poly(3-hydroxybutyrate), *Polymer*, v.40 (10), p.2587-2594 (1999).
- Chandra, R., Rustgi, R., Biodegradable Polymers. *Prog. Polym. Sci.*, v.23, p. 1273-1335 (1998).
- Chen, W., David, D. J., MacKnight, W.J., Karasz, F. E. Miscibility and morphology of blends of poly(3-hydroxybutyrate) and poly(vinil butyral). *Polymer*, v.42, p.8407-8414 (2001).
- Christel, P.; Chabot, F.; Leray, J. L. et.al. *Biomaterials*, v.1980, 271 (1982).
- Corradini, E., Pineda, E.A.G., Hechenleitner, A.A.W.Lignin-poly (vinyl alcohol) blends studied by thermal analysis. *Polym. Degrad. Stabil.*, v.66, p.199-208 (1999). *Curr Opin Biotech.* v.6, p.320-328 (1995).
- Dawes E. A., Senior P. J., The role and regulation of energy reserve polymers in microorganisms. *Adv. Microb. Physiol.*, v.10, p.135-266 (1973).
- Deng, X.M., Hao, J.Y. Synthesis and characterization of poly(3-hydroxybutyrate) macromer of bacterial origin. *Eur. Polym. J.*, v. 37, p.211-214 (2001).
- Doi, Y., Kunioka, M., Nakamura, Y., Soga, K. Nuclear Magnetic Resonance Studies on Poly(β -hydroxybutyrate) and a Copolyester of β -Hydroxyvalerate Isolated from *Alcaligenes eutrophus* H16. *Macromolecules.*, v.19, p.2860-2864 (1986).
- Dufresne, A., Dupeyre, D., Paillet, M., Lignocellulosic Flour-Reinforced Poly(hydroxybutyrate-co-valerate) Composites. *J. Appl. Polym. Sci.*, v. 87 (8): p.1302-1315 (2003)

- Durán N., Esposito E., Potential applications of oxidative enzymes and phenoxidase-like compounds in wastewater and soil treatment: a review., *Appl. Catal. B- Environ.*, v.**28**, p.83-99 (2000).
- Durán, N.; Espósito, E.; Biodegradação de lignina e tratamento de efluentes por fungos ligninolíticos. In: Melo, I.S.; Azevedo, J. L.; (Eds.). *Microbiologia ambiental*. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA. Documentos, 11. p.269-292 (1997).
- El-Gammal, A.A., Kamel, Z., Adeeb, Z., Helmy, S.M. Biodegradation of lignocellulosic substances and production of sugars and lignin degradation intermediates by four selected microbial strains. *Polym. Degrad. Stabil.*,v.**61**, p.535-542 (1998).
- El-Hadi, A., Schanabel, R., Straube, E., Muller, G., Henning, S. Correlation between degree of crystallinity, morphology, glass temperature, mechanical properties and biodegradation of poly (hydroxyalkanoate) PHAs and their blends. *Polym. Test.*, v.**21**, p.665-674 (2002).
- El-Shafee, E., Saad, G.R., Fahmy, S. M. Miscibility, crystallization and phase structure of poly(3-hydroxybutyrate)/ cellulose acetate butyrate blends. *Eur. Polym. J.*, v.**37**, p.2091-2104 (2001).
- Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, Academic Press, New York, v.**9**, p.509-572 (1988).
- Eriksson, K. E. L., Biotechnology in the Pulp and Paper Industry. *Wood Sci Technol.* v.**24**, p.79-101 (1990).
- Fengel, D. e Wegener, G., Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions. Editor Walter de Gruyter, Berlin.p.66-75 (1989).
- Findlay, R. H., White D. C. Polymeric beta-hydroxyalkanoates from environmental samples and *Bacillus megaterium*. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.**45**, p.71-78, 1983.
- Folkes, M. J. e Hope, P. S. (eds.), "Polymer Blends and Alloys", Chapman & Hall, Cambridge, 1993.
- Fox, D. W. e Allen, R. B. *Compatibility*, in: "Encyclopedia of Polymer Science and Engineering", Mark, H. F.; Bikales, N. M.; Overberger, C. G.; Menges, G.; Kroschwitz, J. I. (eds.), 2^aEd., John Wiley & Sons, New York, 3, (1988).

- Ghosh, I., Jain, R.K., Glasser, W.G. Lignin : Historical, Biological, and materials perspectives. *Amer. Chem. Soc.*, v.742, p.331-350 (2000).
- Gilmore, D. F., Fuller, R. C., Lenz, R., "Biodegradations of Poly(Beta-Hydroxy Alkanoates), in Degradable Materials: Perspectives, Issues and Opportunities, Barengerg, S. A.; Brash, J. L.; Narayan, R., and Redpath, A. E., Eds. CRC Boston, pp. 481-514 (1990).
- Hammel, K. E., Moen, M. A., Depolymerization of a Synthetic Lignin *in vitro* by Lignin Peroxidase. *Enzyme Microb Tech.* v.13, p.15-18 (1991).
- Hammel, K. E.; Kapich, A. N.; Jensen Jr., K. A.; Ryan, Z. C., Reactive oxygen as agents of wood decay by fungi. *Enzyme Microb Tech.* v.30, p. 445-453 (2002).
- Hashimoto, T., Hasegawa, H., Tanaka, H., Yamasaki, K., Bicontinuous microdomains morphology of block copolymers, 1. Tetrapod network structure of polystyrene-polyisoprene diblock copolymers. *Macromolecules*, v. 20, p.1651-1662 (1987).
- Hataka, A., Lignin-Modifying Enzymes from Selected White-Rot Fungi: Production and Role in Lignin Degradation. *FEMS Microbiol Rev.* v.13, p.125-135 (1994).
- Higuchi, T., Lignin Biochemistry: Biosynthesis and Biodegradation. *Wood Sci Technol.* v.24, p. 23-63 (1990).
- Huang, S. J. in "Comprehensive Polymer Science", Eastmond, G. C., Ledwith, A., Russo, S., Sigwalt, P.(eds), Pergamon Press, Oxford, v.6, p.597 (1989).
- Huang, S. J. Polymer waste management – biodegradation, incineration, and recycling, *J. Macromol. Sci. Pure.*, v.A32 (4), p.593-597 (1995).
- Huang, S. J., and Edelman, P. G., An Overview of Biodegradable Polymers and Biodegradation of Polymers, in Degradable Polymers : Principles and Applications., Scott, G., and Gilead, D., Eds., Chapman & Hall, Chapter 2, p.18-28, (1995).
- Janigóná, I., Lacík, I., Chodák, I. Thermal degradation of plasticized poly(3-hydroxybutyrate) investigated by DSC. *Polym. Degrad. Stabil.*, v.77, p.35-41 (2002).
- Jarret, P; Cook, W. J.; and Bell, J. P. et.al., *Polym. Prepr.*, v.22(2), 351 (1981).

- Jiang, Y., Satoh, K., Aratsu, C., Kobayashi, N., Unten, S., Kakuta, H., Kikuchi, H., Nishikawa, H., Ochiai, K., Sakagami, Combination effect of lignin F and natural products, *Anticancer Res.*, v.**21**(2A), p.965-970 MAR-APR (2001)
- Kaplan, D. S., Structure-Property Relationships in Copolymers to Composites : Molecular Interpretations of the Glass Transition Phenomenon, *J. Appl. Polym. Sci.*, v.**20**, p.2615-2629 (1976).
- Kim, M.-N., Lee, A.-R., Lee, K.-H., Chin, I. J., Yoon, J. S. Biodegradability of poly(3-hydroxybutyrate) blended with poly(ethylene-co-vinyl acetate) or poly(ethylene oxide). *Eur. Polym. J.*, v.**35**, p.1153-1158 (1999).
- Kirk, T. K., Farrel, R. L., Enzimatic "combustion": The microbial degradation of lignin. *Annu Rev Microbiol.* v.**41**, p.465-505 (1987).
- Kirk, T. K., Shimada, M., Lignin Biodegradation: The microorganisms involved and the physiology and biochemistry of degradation by white-rot fungi. In; Higuchi, T. (Ed.). Biosynthesis and biodegradation of wood components. San Diego: Academic Press, cap. 21, p.579-605 (1985).
- Kollinsky, F., Markert, G., Multicomponent Polymer Systems, ACS, Washington, D.C., pp.175. (1971)
- Koning, C.; Duin, M.; Van. Pagnouille, C. Strategies for compatibilization of polymer blends. *Prog. Polym. Sci.*, v.**23**, 707-757 (1998).
- Kosíková, B., Duris, M., Demianová, V. Conversion of lignin biopolymer into surface-active derivatives. *Eur. Polym. J.*, **36**, p.1209-1212 (2000).
- Kunioka, M., Nakamura Y., Doi Y. New bacterial copolyesters produced in *Alcagines eutrophus* from organic acids. *Polym. Commun.*, v.**29**, p.174-176, (1988).
- Kurek, B., Martinez-Inigo, M. J., Artaud, I., Hames, B.R., Lequart, C., Monties, B. Structural features of lignin determining its biodegradation by oxidative enzymes and related systems. *Polym. Degrad. Stabil.*, v. **59**, p.359-364 (1998).
- Leisola, M. S. A., Fiechter, A., *Adv. Biotechn. Processes*, v. **5**, p.59-89 (1985).
- Lemoigne, M. Produit de déshydratation et de polymérisation de l'acid β -oxybutyrique. *B. Soc. Chim. Biol.*, v.**8**, p.770-782 (1926).
- Lonsdale, H. K. The growth of membrane technology. *J. Membrane Sci.*, v.**10**, p.81-181 (1982)

- Macrae, R.M., Wilkinson, J.R. Poly- β -hydroxybutyrate metabolism in washed suspensions of *Bacillus cereus* and *Bacillus megaterium*. *J. Gen. Microbiol.*, v.19, p.210-222 (1958).
- Maddever, W. J., and Campbell, P. D., "Modified Starch Based Environmentally Degradable Plastics," in *Degradable Materials: Perspectives, Issues and Opportunities*, Barengerg, S. A.; Brash, J. L.; Narayan, R., and Redpath, A. E., Eds. CRC Boston, pp. 237-262 (1990).
- Masson, J. F., and Manley, R. St. John, "Solid-state NMR of some cellulose/synthetic polymer blends". *Macromolecules.*, v.25,589-592 (1992).
- Mayer, A. M., Staples, R. C., Lacase: New functions for an old enzyme. *Phytochemistry*. v.60, p.551-565 (2002).
- Meyer A., *Praktikum der botanischen bakterienkunde*. Jena, 1903.
- Minussi R.C., Pastore G.M., Durán N., Biotreatment of paper and pulp effluent using fungal mediators: ABTS and HTB, in: Arce J., Velazquez C. L. (Eds.), *Proceeding of the XIII Latin-American Chemical Congress.*, Rio Grande, Puerto Rico, QAM-M-8 (1998).
- Nada, A. A. M. A., El-Sakhawy, M., Kamel, S.M. Infra-red spectroscopic study of lignins. *Polym. Degrad. Stabil.*, v. 60, p.247-251 (1998).
- Narayan, R., Engineering and design of biobased materials. *Abstr. Pap. Am. Chem. S.*, 224:002-Btec Part 1, 18 (2002).
- Narayan, R., Introduction, in *Degradable Materials: Perspectives, Issues and Opportunities*, Barengerg, S. A., Brash, J. L., Narayan, R., and Redpath, A., Eds. CRC Boston, p.1-37 (1990).
- Narayan, R., Smith D. M., Lehmann, R. G., , Kozerski, G. E., Miller, J. R., Fate and effects of silicons polymer during the composting process. *Compost. Sci. Util.*, V.6 (2), p.6-12 (1998).
- Nunes, S. P. e Inoue, T., Evidence for spinodal decomposition and nucleation and growth mechanisms during membrane formation, *J. Membrane Sci.*, v.111, p.93-103 (1996).
- Olabisi, O.; Roberson, L. M.e Shaw, M. T., "Polymer-Polymer Miscibility", Academic Press Inc., New York, 9-10, 19-64, 282-283 (1979).

- Park, S.H., Lim, S. T., Shin, T. K., Choi, H.J., Jhon, M.S. Viscoelasticity of biodegradable polymer blends of poly(3-hydroxybutyrate) and poly(ethylene oxide). *Polymer*, v.**42**, p.5737-5742 (2001).
- Parra, C., Rodriguez, J., Baeza, J., Freer, J., Durán, N., Iron-binding catechols oxidating lignin and chlorolignin. *Biochem. Bioph. Res. Co.*, v. **251**; p.399-402 (1998).
- Paul, D. R. e Newman, S. (eds.), "Polymer Blends", Academic Press Inc., New York, 1, (1978).
- Paul, D. R.; Barlow, J. W. e Keskkula, H. *Polymer Blends in: "Encyclopedia of Polymer Science and Engineering"*, Mark, H. F.; Bikales, N. M.; Overberger, C. G.; Menges, G.; Kroschwits, J. I. (eds.), 2^a Ed., John Wiley & Sons, New York, 12, (1988).
- Piló-Veloso, D., Nascimento, E. A., Morais, S. A. L., Isolamento e análise estrutural de ligninas. *Quím. Nova*, v.**16**; p.435-448 (1993).
- Poirier, Y., Dennis D. E., Klomparens K., Somerville C. Polyhydroxybutyrate, a biodegradable thermoplastic, produced in transgenic plants. *Science*, v.**256**, p.520-523 (1992).
- Pouton, C. W., Akhtar, S. Biosynthetic polyhydroxyalkanoates and their potential in drug delivery, *Adv. Drug Deliver. Rev.*, v.**18**; p.133-162 (1996).
- Quinteros, R., Goodwin, S., Lenz, R., W., et al., Extracellular degradation of medium chain length poly(beta-hydroxyalkanoates) by *Comamonas* sp. *Int. J. Biol. Macromol.*, v.**25** (1-3): p.135-143 Jun-Jul (1999).
- Reddy, C. A., The Potential for White-Rot Fungi in the Treatment of Pollutants.
- Rehm, B. H. B., Steinbüchel, A. Biochemical and genetic analysis of PHA synthases and other proteins required for PHA synthesis. *Int. J. Biol. Macromol.*, v.**25**, p.3-19 (1999).
- Rohella, R.S., Sahoo, N., Paul, S.C., Choudhury, S., Chakravorty, V. Thermal studies on isolated and purified lignin. *Thermochim. Acta*, v.**287**, p.131-138 (1996).
- Rozman, H. D., Tan, K. W., Kumar, R.N., Abubakar, A., Ishak, Z., A., M., Ismail H. The effect of lignin as a compatibilizer on the physical properties of coconut fiber-polypropylene composites. *Eur. Polym. J.*, v.**36**, p.1483-1494 (2000).

- Santos, H. F., Análise Conformacional de modelos de lignina, *Quim. Nova*, v.**24**, nº 4, p.480-490 (2001).
- Sealey, J. E.; Samaranayake, G.; Todd, J. G., and Glasser, W. G., "Novel Cellulose Derivatives. IV. Preparation and Thermal Analysis of Waxy Esters of Cellulose," *J. Polym. Sci. Pol. Phys.*, v.**34**, 1613-1620 (1996).
- Seebach D., Fritz, M. G. Detection, synthesis, structure, and function of oligo(3-hydroxyalkanoates): contributions by synthetic organic chemists. *Int. J. Biol. Macromol.*, v.**25**, p.217-236 (1999).
- Sepúlveda, T. V., Torres, E. F., Guzmán, A. M., Gonzales, M. L., Quinteros, G. T. Microbial degradation of thermo-oxidized low-density polyethylene. *J. Appl. Polym. Sci.*, v.**73**, p.1435-1440 (1999).
- Silva, G.A., Compatibilização de Blendas de acetato de celulose e poliestireno com viniltriacetoxissilano: comportamento morfológico e biodegradação. Tese de Doutorado, Instituto de Química, Unicamp, (2002)
- Sirkar, K. K., Agarwal, N. K., e Rangaiah, G. P., Effect of short air exposure periods on performance of cellulose-acetate membranes from casting solutions with high cellulose-acetate content *J. Appl. Polym. Sci.*, v.**22**, p.1919-1944 (1978).
- Site GE - <http://www.geplastics.com.br/resins/materials/>, accessed in September 2003.
- Site USP - <http://cecae.usp.br/recicla/>-, accessed in June 2000.
- Smith M., Thurston C.F., Wood D.A., Fungal laccases: role in the delignification and possible industrial applications. In: *Multi-Copper oxidases.*, Messerschmidt A. (ed.), p.201-224 (1997).
- Souza, J.A., IQ-UNICAMP-Tese de Doutorado-"Estudo da Biodegradação do Ácido 2,4 Diclorfenoxiacético em Formulações de Liberação Controlada", p.2-7 (1999).
- Stapp, C. Über die reserveinhaltsstoffe und den schleim von *Azotobacter chroococcum*. *Zentbl Bakteriol II*, v.**61**, p.276-292 (1924).
- Stropnik, C., Germic, L. e Zerjal, B., Morphology variety and formation mechanisms of polymeric membranes prepared by wet phase inversion. *J. Appl. Polym. Sci.*, v.**61**, p.1821-1830(1996).

- Sudesh, K., Abe, H., Doi, Y. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: biological properties. *Prog. Polym. Sci.*, v.**25**, p.1503-1555, 2000.
- Sudesh, K., Gan, Z., Matsumoto, K., Doi, Y., Direct observation of polyhydroxyalkanoate chains by atomic force microscopy *Ultramicroscopy*, v.**9**; p.157-164 (2002)
- Swift, G., Degradability of Commodity Plastics and Speciality Polymers: An Overview, in Agricultural and Synthetic Polymers Biodegradability and Utilization, Glass, J. E. and Swift, G., Eds. American Chemical Society Press, Washington, DC, Chapter 1, p.2-12 (1990).
- Swift, G.; Directions for environmentally biodegradable polymer research. *Acc. Chem. Res.*, v.**26**, p.105-110 (1993).
- Szklarz, G.D., Antibus, R.K., Sinsabaugh, R. L., Linkins, A., Production of phenol oxidases and peroxidases by wood-rotting fungi. *Mycology*, v.**81** (2), p.234-238 (1989).
- Thurston C.F., The structure and function of fungal laccases., *Microbiology*, v.**140**, p.19-26 (1994).
- Tien, M., e Kirk, T. K., Proc. Nat. Acad. Sci., USA, v.81, p. 2280-2284 (1984).
- Tuomela, M., Vikman, M., Hatakka, A., Itävaara, M. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. *Bioresource Technol.* v.**72**, p.169-183 (2000).
- Tuor, U., Winterhalter, K., e Fiecher, A., Enzymes of White-Rot Fungi involved in Lignin Degradation and Ecological Determinants For Wood Decay. *J Biotechnol.* v.**4**, p.11-17 (1995).
- Ullmann's^a Eyclopedia of Industrial Chemistry. 5th Edition, VCH: Germany, v.**A21**, p.273-304(1986).
- Ullmann's^b Eyclopedia of Industrial Chemistry. 5th Edition, VCH: Germany, v.**A16**, p.187-258 (1986).
- Utracki, L. A., *Introduction to Polymer Alloys and Blends e Polymer- Polymer Miscibility in "Polymer Alloy and Blends: Thermodynamics and Rheology"*, Hanser Publishers, New York, (1990).

- Utracki, L.A., *Polymer Alloys and Blends*, Handbook of Polymer Science and Technology, ed. Nicholas P. Cheremisinoff, New York, v.4 p.121-202, (1989).
- Utracki, L.A., *Polymer Alloys and Blends-Thermodynamics and Rheology*; Munich, Carl Hanser Verlag Publishers, (1989).
- Vasile, C., Downey, M., Wong, B., Macoveanu, M., M., Pasar, M. C., Choi, J. H., Sung, C. and Baker, W., Polyolefins/lignosulfonates blends. II. Isotactic polypropylene/epoxy-modified lignin blends. *Cell. Chem. Technol.*, v.32, (1-2) p.61-88 (1998).
- Verhoogt, H., Ramsay, B. A., Favis, B. D. Polymer Blends containing poly(3-hydroxybutyrate). *Polymer*, v.35, nº 24, p 5155-5169 (1994).
- Wallen L. L., Rohwedder W. K. Poly-b-hydroxyalkanoate from activated sludge. *Environ. Sci. Technol.*, v.8, p. 576- 579 (1974).
- Wendlandt, K. D., Jechorek, M., Helm, J., Stottmeister, U. Producing poly-3-hydroxybutyrate with a high molecular mass from methane. *J. Biotechnol.*, v.86, p.127-133 (2001).
- Wetton, R. E., Dynamic Mechanical Thermal Analysis of Polymers and Related Systems, em: "Developments in Polymers Characterization", Dawkins, J.V(ed.), Elsevier Applied Sci. Publishers, London, p. 170-221 (1968).
- Williamson D. H., Wilkinson J. F. The isolation and estimation of the poly-b-hydroxybutyrate inclusions of Bacillus species. *J. Gen. Microbiol.*, v. 19, p.198-209 (1958).
- Wool, R. P. Biodegradable Plastics and Polymers, Ed. By Yoshiaru Doi and Kazuhiko Fukuda, Elsevier Science B.V.– ISBN 0-444-81708-5); pp.250 (1994)
- Xu F., Oxidation of phenols, anilines and benzenethiols by fungal laccases: Correlation between activity and redox potentials as well as halide inhibition., *Biochemistry*, v.35, p.7608-7614 (1996).
- Yamane, H., Terao, K., Hiki, S., Kimura. Y. Mechanical properties and higher order structure of bacterial homo poly(3-hidroxybutyrate) melts spun fibers. *Polymer*, v.42, p.3241-3248 (2001).

- Yoon, J. S., Lee, W. S., Jin, H. J.; Chin, I. J., Kim, M. N., Go, J. H. Toughening of poly(3-hydroxybutyrate) with poly (cis-1,4-isoprene). *Eur. Polym. J.*, v.**35**, p.781-788 (1999).
- Yoshie, N., Nakasato, K., Fujiwara, M., Kasuya, K., Abe, H., Doi, Y., Inoue, Y. Effect of low molecular weight additives on enzymatic degradation of poly(3-hydroxybutyrate). *Polymer*, v.**41**, p.3227-3234 (2000).
- Zhang, L., Deng, X., Zhao, S. Huang, Z. Biodegradable polymer blends of poly(3-hydroxybutyrate) and hidroxyethyl cellulose acetate. *Polymer*, v.**38**, n.21, p.6001-6007 (1997).
- Zinn, M., Witholt, B., Egli, T., Occurrence, synthesis and medical application of bacterial polyhydroxyalkanoate. *Adv. Drug. Deliver. Rev.*, v. **53**, p.5-21 (2001).

Folha de versão final

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado em Engenharia Química.

Orientadora Lúcia Helena Innocentini Mei