

**Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Química
Departamento de Físico-Química**



1150054483



IQ

T/UNICAMP An89t 1

Dissertação de Mestrado

**Transesterificação do poli(3-
hidróxibutirato) com etilenoglicol via
catálise ácida - Influência nas
propriedades finais e morfologia**

Maria Cecilia Moraes Antunes

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Maria Isabel Felisberti

**Campinas – SP
Fevereiro de 2003**

UNIDADE	ICH
Nº CHAMADA	ICH
	UNICAMP
	An89t
V	EX
TOMBO BC	54483
PROC.	124103
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	24/06/03
Nº CPD	

BID. 296164

CM00186337-1

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA
UNICAMP**

An89t

Antunes, Maria Cecília Moraes

Transesterificação do poli(3-hidroxitbutirato) com etilenoglicol via catálise ácida: influência nas propriedades finais e morfologia / Maria Cecília Moraes Antunes. -- Campinas, SP: [s.n], 2003.

Orientadora: Maria Isabel Felisberti.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. PHB. 2. Telequérico. 3. Poli(hidroxialcanoato). 4. Funcionalização de polímeros. I. Felisberti, Maria Isabel. II. Universidade Estadual de Campinas. III. Título.

Dedico esse trabalho ao Dú, meu grande amor e
companheiro de todas as horas !
Obrigada querido!
Dedico também aos meus pais, que são para mim
exemplo de dedicação, amor e integridade.

AGRADECIMENTOS

- À Bel, pela orientação “irreparável”, pelo voto de confiança, e pela presença amiga.
- À Valéria pela disponibilidade em ajudar sempre que necessário.
- Aos técnicos, Gustavo, Fabiana, Sônia, Raquel, Márcia, Daniel pela ajuda nas análises.
- À Anita Marsaioli, por ter me recebido tão generosamente num momento de transição, e disponibilizado espaço, vidraria e conhecimento.
- Aos meus colegas de laboratório pela acolhida, ajuda em todos os momentos e pelas boas conversas: Antonio, Lili, Clodoaldo, Cristiana, Renato, Vanessa, Rose, Fabiana, Adair, Humberto, Diva, Samanta, Simone, Nádia, Marco.
- Aos meus irmãos queridos, que mesmo longe estão sempre presentes.
- Aos amigos da CPG, pelo apoio e a competência.
- À Lú e Carlinhos, pela impressora e as boas conversas.
- A todos os amigos que estão sempre na “torcida”.

RESUMO

O PHB (Poli-3-hidróxibutirato), é um poliéster termoplástico biodegradável de cadeia linear, opticamente ativo, e seu centro quiral se apresenta na configuração R quando biossintetizado, sendo assim 100% isotático. O PHB apresenta alta cristalinidade, sua análise microscópica indica a formação de poucos, porém grandes esferulitos o que ocasiona um material quebradiço, reduz sua taxa de degradação e impõe várias limitações em suas aplicações.

Este trabalho tem como objetivo funcionalizar o PHB através da transesterificação com etilenoglicol, resultando em um oligômero com terminações em hidroxilas primárias e massa molar controlada, o que possibilita a construção de copolímeros e a obtenção de materiais com propriedades mais adequadas, ampliando assim as aplicações. A transesterificação ocorreu em solução por catálise ácida e sua caracterização foi feita a partir de ^1H RMN, FTIR, DSC, TGA, Difração de Raios X e microscopia ótica. A funcionalização do PHB, ocorreu da maneira planejada, ou seja reduzindo a massa molar e inserindo hidroxilas primárias nas terminações da cadeia. Observou-se uma grande modificação na cristalinidade e cristalização do material em função da extensão da reação. A inserção da hidroxilas, associada à redução de massa molar e também ocasionou consideráveis mudanças na cinética de degradação do material.

ABSTRACT

The poly(-3-hydroxybutyrate), is a thermoplastic biodegradable polyester, with the chiral centre in R configuration, which means it's completely isotactic. This polymer presents high crystallinity and its morphology is characterized by few and big spherulites which deals to a brittle material and imposes several limitations to its applications. The purpose of this work was to functionalize the PHB by transesterification with ethyleneglycol, resulting in oligomers with primary hydroxyl groups in the chain ends and controlled molar mass. This transesterification would make possible the construction of block copolymers and the attainment of materials with more adequate properties. The reaction has occurred by acid catalysis in chloroform solution and the products were characterized by ^1H RMN, FTIR, DSC, TGA, X-rays difratometry and optical microscopy. The PHB functionalization occurred as planned, decreasing the molar mass and inserting primary hydroxyl groups in the chain ends which caused considerable changing in thermal degradation kinetics, morpholgy and crystallinity.

Data de Nascimento: 15/04/1975
Estado Civil: Casada
Endereço: Rua Egberto F. Camargo 1200 apto. 51
Bairro Notre Dame
Campinas, SP, CEP 13094-521
Telefone: (19) 3258 5134
E-mail: mantunes@iqm.unicamp.br

FORMAÇÃO ACADÊMICA

1997-1993 Graduação em Engenharia Química na Universidade Federal de Minas Gerais - **UFMG**

EXPERIÊNCIA PROFISSIONAL

2002 - 1999 Engenheira de Pesquisa e Desenvolvimento na **3M do Brasil Ltda.**

1999-1998 Trainee de Pesquisa e Desenvolvimento na **3M do Brasil Ltda**

1997- 1996 Estágio na **FDG** - Empresa de consultoria com foco em metodologias de desenvolvimento de produtos.

1995 - 1996 Estágio na **UNILEVER** - Unidade de Vespasiano

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

Junho 2001 Permeação Cutânea In Vitro - Faculdade de Farmácia - **USP** **Ribeirão Preto.**

2001-2000 Especialização em Cosmecêutica - **Instituto Racine** - SP

Junho 2000 Treinamento de 1 mês e meio nos Estados Unidos, na matriz da **3M**. Abordando os seguintes assuntos: Elaboração de microcápsulas, Desenvolvimento de patches transdérmicos, adesivos para área cosmética

ÍNDICE

I	INTRODUÇÃO.....	1
I.1	PROPRIEDADES DO PHB.....	3
I.1.1	BIODEGRADAÇÃO	5
I.1.2	BIOCOMPATIBILIDADE.....	7
I.1.3	DEGRADAÇÃO TÉRMICA	7
I.1.4	CRISTALINIDADE.....	10
I.2	APLICAÇÕES.....	17
I.3	MODIFICAÇÕES DO PHB.....	17
I.3.1	MODIFICAÇÕES NA BIOSÍNTESE.....	18
I.3.2	UTILIZAÇÃO DE ADITIVOS.....	19
I.3.3	BLENDAS POLIMÉRICAS	19
I.3.4	MODIFICAÇÕES QUÍMICAS.....	19
II	OBJETIVOS	24
III	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	25
III.1	MATERIAIS.....	25
III.2	PURIFICAÇÃO DO PHB.....	25
III.3	CARACTERIZAÇÃO DO PHB INICIAL E TRANSESTERIFICADO	25
III.3.1	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE HIDROGÊNIO (RMN ¹ H)	25
III.3.2	DIFRAÇÃO DE RAIO-X	26
III.3.3	ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (FTIR)	26
III.3.4	CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC).....	26
III.3.5	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA).....	27
III.3.6	CROMATOGRAFIA DE PERMEAÇÃO EM GEL (GPC).....	28
III.3.7	MICROSCOPIA ÓTICA	28
III.4	TRANSESTERIFICAÇÃO DO PHB.....	28
III.4.1	TRANSESTERIFICAÇÃO TENDO COMO CATALISADOR HCL	28
III.4.2	TRANSESTERIFICAÇÃO TENDO COMO CATALISADOR H ₂ SO ₄	29
IV	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
V	CONCLUSÃO	76
VI	BIBLIOGRAFIA	77

I INTRODUÇÃO

Os poliésteres naturais são polímeros produzidos por uma ampla variedade de microorganismos com o objetivo de atuar como reserva intracelular de energia e carbono. O seu acúmulo se dá no citoplasma da célula sob a forma de grânulos de 0,2-0,5 μm de diâmetro e a sua função se assemelha ao glicogênio sintetizado e estocado pelos mamíferos^[1]. Entre os biopolímeros pertencentes a essa família podemos destacar os polihidroxialcanoatos (Figura 1) também denominados PHA. As diferentes propriedades dos PHAs derivam do seu grupo substituinte R, podendo variar de um material duro e quebradiço até amorfo ou elastomérico.

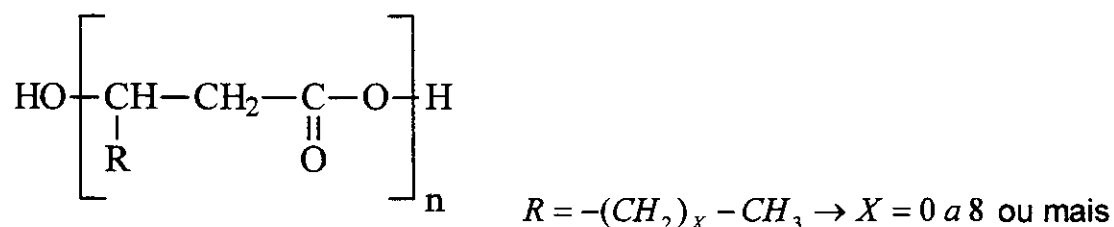


Figura 1: Estrutura de polihidroxialcanoatos.

Entre a família dos PHA, pode-se destacar o polihidroxibutirato, ou PHB, cujo grupo substituinte R (Figura 1) é uma metila. Este polímero foi o primeiro a ser isolado e é o único entre os PHA disponível comercialmente. A estrutura química deste biopolímero é apresentada na Figura 2. O PHB foi isolado pela primeira vez por Lemoigne em 1927^[2], entretanto, este material foi de pouco interesse aos pesquisadores e empresas até a década de 70, quando a crise do mercado petrolífero impulsionou a busca por tipos alternativos de polímeros. A partir daí, o interesse pelos PHAs e seus derivados vem crescendo cada vez mais, não apenas por apresentarem características como a biodegradação e a biocompatibilidade, como também pelo fato de serem obtidos a partir de fontes renováveis originadas da agricultura ou de resíduos industriais, permitindo assim, um processo sustentável na sua produção.

Em 1982, a Imperial Chemical Industries (ICI) desenvolveu um processo industrial de produção do PHB e alguns copolímeros e passou a comercializá-lo com o

nome de Biopol ^[3]. No Brasil, a CoperSucar desenvolveu em parceria com o IPT um processo produtivo de PHB a partir da cana de açúcar. Atualmente está sendo desenvolvido o processo de “pelletização” deste material para que possa ser comercializado em larga escala ^[4].

O PHB é relativamente abundante no meio ambiente, e pode ser encontrado em bactérias do solo, de algas e de esgotos microbiologicamente tratados. Entre as espécies de importância comercial e científica, pode-se citar a *Alcaligenes eutrophus*, *Bacillus megaterium*, *Ralstonia eutropha* e *Pseudomonas oleovorans* ^[4,5]. A sua síntese se dá na presença de elementos como o carbono, sob a forma de carboidratos, ácidos graxos, alcanos, ou óleos vegetais ^[6], o nitrogênio e o fósforo. A porcentagem de material acumulado usualmente é de 1 a 30 % de massa em relação à massa celular seca, podendo aumentar até cerca de 90 % ^[7, 8], em função do aumento da proporção de carbono, e ainda da redução de nitrogênio, de magnésio, de sulfato ou de oxigênio. Com base neste fato, pode-se concluir que o microorganismo sintetiza o PHA em situações onde há limitação de nutrientes que não o carbono ^[6], e este é o recurso utilizado na produção industrial do material. É importante ressaltar que as fontes de carbono utilizadas na síntese deste biopolímero são fontes renováveis, tais como o açúcar de cana ^[4], o açúcar de beterraba e óleos vegetais ^[5].

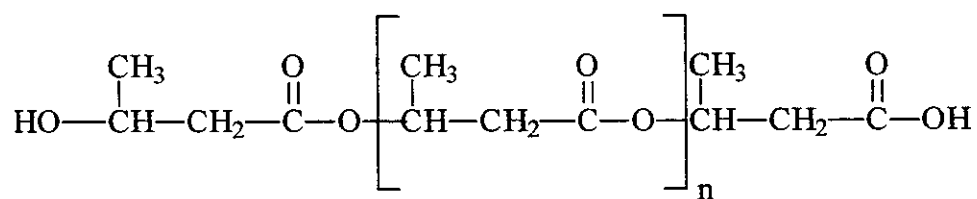


Figura 2: Estrutura química do Poli(3-hidróxibutirato).

Em linhas gerais, o processo de biosíntese dos PHAs e, conseqüentemente do PHB, consiste das seguintes etapas: a metabolização da fonte de carbono no substrato acetil-Coenzima A; a condensação da fase anterior no substrato acetoacetil-Coenzima A pela enzima β -cetotiolase; a transformação do substrato anterior em (R)-3-hydroxybutiril-Coenzima A por uma enzima redutase NADPH (adenina dinucleotídeo fosfato) dependente e a polimerização deste substrato monomérico pela enzima PHA polimerase. O tipo de PHB polimerase participante da síntese está intrinsecamente

relacionado ao microorganismo utilizado, existindo três variações desta substância classificadas em função do número de unidades monoméricas que estas utilizam como substrato. É o tipo de PHB polimerase que determina o tipo de PHA obtido. Outra fonte determinante no tipo de PHA obtido é a fonte de carbono utilizada. Como exemplo pode-se citar a obtenção do copolímero poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato), P(3HB-co-3HV), que ocorre quando a fonte de carbono é composta por glicose e ácido propiônico^[8].

O PHB pode ser sintetizado quimicamente através da polimerização por abertura de anel, utilizando a β -butirolactona como reagente. Quando obtido quimiosinteticamente, este polímero contém unidades com centro quiral em configuração tanto R, como S, denominado poli (3- hidróxibutirato) racêmico^[9,10].

1.1 PROPRIEDADES DO PHB

O PHB é um poliéster termoplástico de cadeia linear (Figura 2). Quando biossintetizado, este polímero apresenta sua unidade monomérica opticamente ativa e seu centro quiral se apresenta na configuração R, sendo assim 100 % isotático. Essa característica é função da estereoespecificidade da enzima responsável pela polimerização do monômero, a PHB polimerase^[2].

O PHB obtido microbiologicamente pode ter sua massa molar variando amplamente, de 10.000 a 3.000.000 g/mol, dependendo do microorganismo, da fonte e concentração de carbono e das condições de purificação do polímero. Existe evidência de que a atividade do PHB polimerase influencia a massa molar do polímero sintetizado, porém esta interação ainda não foi bem definida^[6].

A massa molar crítica do PHB (valor abaixo do qual o material tem perda acentuada nas suas propriedades mecânicas) é considerada em torno de 160.000 g/mol. Este valor foi obtido a partir de ensaios mecânicos de tração com polímeros de diferentes massas molares^[11], sendo considerado alto se comparado a polímeros termoplásticos comerciais, como por exemplo o poliestireno e o polibutadieno, cujas massas molares críticas são 18.100 g/mol e 3000 g/mol, respectivamente^[12].

A temperatura de transição vítrea (T_g) do PHB varia em torno de 0 e 5°C^[5], e a temperatura de fusão (T_f) 170 e 180 °C^[7,8,13]. A temperatura de fusão no equilíbrio (T_f^0) foi estimada pelo método de Hoffman-Weeks e apresenta forte dependência em relação à massa molar, podendo variar de 179 °C para amostras com massa molar média ponderada, $\overline{M_w}$, em torno de 20.000 g/mol, até 186 °C para massa molar em torno de 200.000 g/mol. A justificativa apresentada pelos autores para tal dependência está relacionada à significativa influência das terminações das cadeias na cristalização do material^[14]. A entalpia de fusão na condição de equilíbrio (ΔH_f^0) foi estimada em 146 J/g^[7].

O PHB possui propriedades mecânicas bastante semelhantes ao polipropileno isotático, iPP, conforme mostrado na Tabela 1. Apesar da semelhança de comportamento destes polímeros frente a ensaios mecânicos de tração, o PHB possui baixa resistência a impacto, apresentando característica quebradiça. Esse fato está relacionado ao seu alto valor de T_g , à morfologia de sua fase cristalina e ao processo de cristalização secundária, melhor detalhados no item 1.1.4^[15,16].

Tabela 1: Propriedades térmicas e mecânicas do PHB e iPP^[15,16]

Composição	$T_f(^{\circ}\text{C})$	$T_g(^{\circ}\text{C})$	Tensão na ruptura (MPa)	Alongamento (%)	Módulo Elástico (GPa)
PHB	175	9	45	4	3,8
IPP	174	-17	30	10	1,5

Dentre as características do PHB, existem 4 que devem ser analisadas mais profundamente: a biodegradabilidade e a biocompatibilidade, pois se tratam das maiores vantagens e diferenciais deste material; a degradação térmica e a fase cristalina, pois representam a grande limitação para as aplicações deste polímero. Esses tópicos serão analisados a seguir com maiores detalhes.

1.1.1 BIODEGRADAÇÃO

Biodegradação é um processo natural no qual compostos orgânicos são convertidos em moléculas mais simples, mineralizados e redistribuídos aos ciclos elementares da natureza tais como o de carbono, de enxofre e de nitrogênio. A biodegradação pode ocorrer por ataques de fungos, bactérias e suas enzimas^[1].

Uma das principais propriedades dos PHAs, e consequentemente do PHB é a sua biodegradabilidade em diversos ambientes, tais como o solo, a água de mar e de lagos, esgotos aeróbicos e anaeróbicos. A Tabela 2 apresenta as taxas de degradação típicas em alguns destes ambientes. Diversos microorganismos como fungos e bactérias podem degradar este polímero, tendo sido identificados 295 tipos de bactérias capazes de degradá-lo ^[6,17]. A taxa de biodegradação do PHB depende principalmente de fatores ambientais (temperatura, umidade, pH), da composição química, da estereoregularidade, da cristalinidade, da presença de aditivos e da área superficial.

Tabela 2 – Biodegradação do PHB em ambientes diversos ^[17]

Ambiente	Taxa média de erosão superficial (µm/semana)	Tempo para 100 % de perda de massa (semana)
Esgoto anaeróbico	100	0,5
Sedimentos de estuário	10	5
Esgoto aeróbico	7	7
Solo (25 °C)	5	10
Água do mar (15 °C)	1	50

Uma vez que o PHB é um polímero sólido, com alta massa molar, é impossível que este seja transportado através da membrana celular dos fungos e bactérias. Desta forma, estes microorganismos liberam uma enzima extracelular de nome PHB depolimerase que hidrolisa o polímero sólido em dímeros e monômeros, hidrosolúveis e passíveis de serem utilizados e metabolizados pela célula em água e dióxido de

carbono (CO_2). Esta etapa é denominada erosão superficial. A PHB depolimerase consiste de um polipeptídeo com massa molar variando de 37.000 a 60.000 g/mol. Esta enzima reconhece como substrato para hidrólise das ligações éster no PHB a seqüência de quatro unidades monoméricas. A sua atividade depende da sua concentração no meio, bem como do pH e da temperatura. A PHB depolimerase é composta de dois domínios, o sítio ativo e o domínio ligante responsável por se fixar no substrato.

Esta reação é considerada heterogênea, uma vez que a enzima é hidrossolúvel, e é dividida em duas etapas: 1) adsorção, na qual o domínio ligante da PHB depolimerase se fixa ao polímero e 2) hidrólise, na qual o sítio ativo catalisa a hidrólise do material^[6,18].

Embora a taxa de hidrólise do polímero seja determinada principalmente pela estrutura química de sua unidade monomérica e estereoespecificidade, a estrutura cristalina e as condições ambientais (Tabela 2) também exercem grande influência^[6,18,19]. Há evidências de que o aumento na cristalinidade do PHB ocasiona a redução da taxa de degradação enzimática, a fase amorfa do polímero apresenta taxa de degradação até 20 vezes maior que a cristalina, pois a PHB depolimerase hidrolisa preferencialmente as cadeias na fase amorfa, e a partir daí é que ocorre a erosão na fase cristalina^[2,6,17,19]. Desta forma, os copolímeros do PHB, que em geral apresentam menor cristalinidade, apresentam maiores taxas de biodegradação sendo até 10 vezes maior, como na comparação entre o homopolímero e o copolímero P(3HB-co-4HB)^[20].

Além da cristalinidade, a espessura da lamela influi grandemente na taxa de degradação. Lamelas mais espessas apresentam taxas de degradação mais lentas^[6,19]. A proposta para o mecanismo de ação da PHB polimerase, com base nestas observações, é o seguinte: o domínio ligante da enzima se liga às laterais da superfície lamelar, ocasiona um aumento na mobilidade das cadeias deste plano e possibilita a ação do domínio catalítico. É a partir de sua fixação na fase sólida que a enzima catalisa também (e preferencialmente) a fase amorfa^[6,19]. Ainda serão necessárias algumas pesquisas para que o mecanismo de degradação do PHB seja completamente compreendido.

I.1.2 BIOCOMPATIBILIDADE

A biocompatibilidade é um termo utilizado para definir a interação entre uma determinada substância e o ambiente fisiológico onde esta se encontra. Afirmar que determinado material é biocompatível significa dizer que os efeitos do organismo no material, e vice-versa ocorrem de maneira satisfatória. Ou seja, a substância é bem assimilada pelo meio onde está inserida e essa assimilação não gera resíduos tóxicos.

O PHB e seus copolímeros apresentam boa biocompatibilidade por duas razões principais: A presença de grandes quantidades de PHB de baixa massa molar na corrente sanguínea humana, e ainda, o fato do produto resultante da degradação do PHB ser o ácido 3-hidroxibutírico, um metabólito comum nos seres vivos em geral ^[21].

A biocompatibilidade do PHB foi avaliada *in vivo* e *in vitro* por vários pesquisadores. Como exemplos tem-se a utilização de uma copoliéster-uretana, obtida a partir da reação de oligômeros funcionalizados do PHB e poliglicolídeos com isocianato, na restauração de nervos ^[22]; o uso do PHB como suporte no implante de células para regeneração de tecidos ^[23] e o compósito de PHB e hidróxiapatita aplicado em restauração de tecido ósseo ^[24]. Todas essas utilizações apresentaram resultados bastante satisfatórios, indicando que um dos grandes campos de aplicações para o PHB pode vir a ser na área biomédica. A limitação para alguns casos diz respeito à alta cristalinidade do material, que faz com que a absorção deste material pelo organismo seja, muitas vezes, mais lenta do que o desejado ^[12].

I.1.3 DEGRADAÇÃO TÉRMICA

Quando submetido a temperaturas acima da faixa de fusão, o PHB sofre degradação térmica apresentando rápida redução da massa molar. A Tabela 3 apresenta dependência da massa molar com a temperatura para o material submetido à degradação em diversas isotermas ^[26]. Com base nestes dados é possível constatar que o PHB sofre degradação quando submetido a temperaturas próximas a de sua fusão ($T_f = 177^\circ\text{C}$), sendo essa variação já se torna considerável para apenas 1 minuto

de exposição, e fica mais pronunciada com o aumento da temperatura. Esse comportamento é observado também nos copolímeros de P(HB-co-HV).

Tabela 3: Massa molar do PHB em função da temperatura de degradação térmica em experimentos isotérmicos por diversos intervalos de tempo^[26]

*T_{degrad.} (°C)	$\overline{Mn}$ (x10⁻³ g/mol)	$\overline{Mn}$ (x10⁻³ g/mol)	$\overline{Mn}$ (x10⁻³ g/mol)	$\overline{Mn}$ (x10⁻³ g/mol)	$\overline{Mn}$ (x10⁻³ g/mol)
	Inicial	1 min	5 min	10 min	20 min
175	564	502	-	-	146
180	477	432	312	169	93
190	402	192	136	52	-
200	282	121	37	-	5

* T_{degrad} - representa a temperatura de degradação

Essa característica dificulta o seu processamento por métodos tradicionais empregados para termoplásticos. Por exemplo, o PHB processado por 7 minutos em um misturador Haake^[27] a diferentes temperaturas mostra diferentes comportamentos de fusão: a T_f desloca-se para temperaturas menores, sendo este efeito mais pronunciado à medida que a temperatura de processamento aumenta.

Com a redução de massa molar em função da degradação térmica, ocorrem pronunciadas reduções nas propriedades mecânicas do PHB. A tensão na ruptura pode ser reduzida em cerca de 30 % do seu valor absoluto inicial quando o PHB é submetido por 10 minutos a 180 °C^[11].

O mecanismo proposto para a reação de decomposição térmica é o de cisão aleatória de cadeia a partir do grupo éster, envolvendo um anel de seis membros como estado de transição (Figura 3). Esse mecanismo foi comprovado através da análise estatística da variação de massa molar do PHB na degradação térmica, indicando entretanto, algum favorecimento à cisão dos grupos próximos ao final da cadeia^[28]. Os oligômeros resultantes do início desta degradação têm suas cadeias finalizadas em

grupos carboxílicos e vinílicos (crotonatos). Com a evolução da degradação a partir do aumento de temperatura, o polímero chega a ser completamente volatilizado (entre 250 °C a 300 °C) e os produtos principais são dímeros, trímeros e o ácido crotonico, resultante da cisão nas pontas da cadeia ^[29].

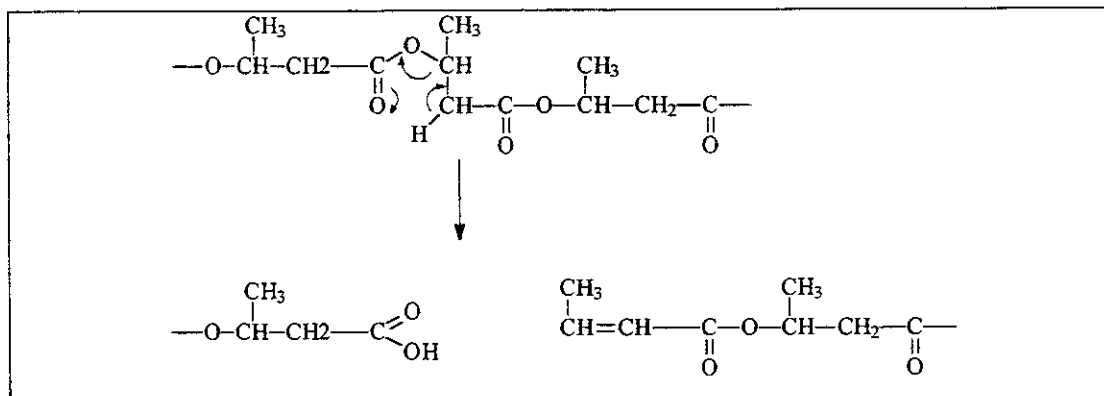


Figura 3: Mecanismo de degradação térmica do PHB

A massa molar de um PHB submetido à degradação térmica cai inicialmente, sofre um ligeiro aumento e, então, decai sigmodalmente com o tempo. O aumento na massa molar em um determinado período da degradação indica a ocorrência de uma reação paralela, concorrente à cisão aleatória. Esta reação se trata da policondensação através das hidroxilas terminais da cadeia do polímero original e os grupos carboxílicos existentes e recém formados (Figura 4) ^[29-31].

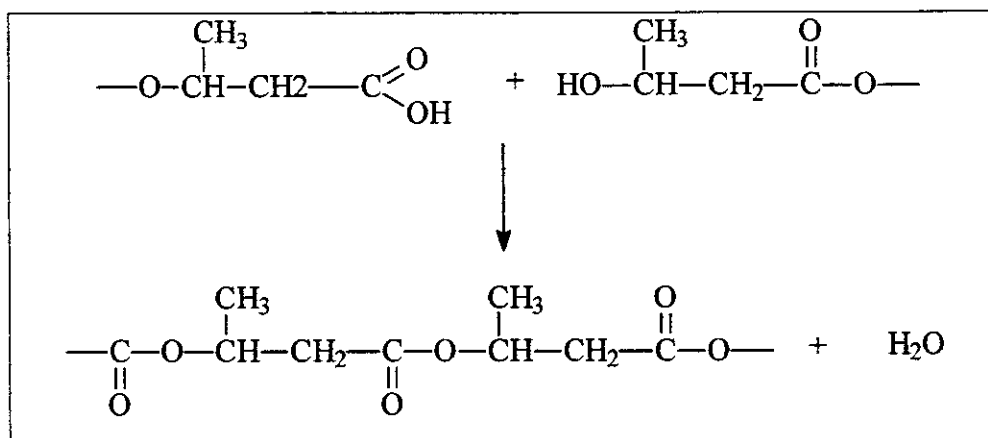


Figura 4: Reação de esterificação que ocorre durante a degradação térmica do PHB.

Foram utilizados vários aditivos na tentativa de melhorar a estabilidade térmica do PHB, porém muitos deles atuam como prodegradantes. Compostos de alumínio e sílica estabilizam levemente o polímero no início da degradação, porém atuam como prodegradantes em seguida ^[32]. O efeito de prodegradação foi observado também para impurezas resultantes da síntese do polímero ^[32], e ainda para glicerol e triacetato de glicerol, usados como plastificantes do polímero ^[33].

1.1.4 CRISTALINIDADE

O estado cristalino é definido como aquele que apresenta uma estrutura definida, que difrata Raios X e exibe uma transição de primeira ordem denominada fusão. Os polímeros que apresentam a característica de cristalização, são denominados semicristalinos, uma vez que nunca cristalizam completamente em função das longas cadeias que o compõe. O desenvolvimento de uma fase cristalina em um polímero depende da regularidade de sua estrutura. O PHB biosintetizado é considerado 100 % isotático e conseqüentemente apresenta alta cristalinidade variando entre 60 e 90 % ^[7], ao passo que o PHB sindiotático, obtido a partir de uma rota sintética partindo de monômeros com configurações R e S, tem cristalinidade menor.

Na estrutura cristalina, as cadeias poliméricas são arranjadas de maneira organizada e repetitiva. A menor unidade representativa do arranjo espacial das moléculas na fase cristalina é denominada célula unitária. Para o PHB, esta célula é constituída por 4 unidades monoméricas e é classificada como ortorrômbica, com as seguintes dimensões: $a = 5,76 \text{ \AA}$, $b = 12,30 \text{ \AA}$ e $c = 5,96 \text{ \AA}$. A conformação da cadeia polimérica é em hélice em L (termo que designa giro para o lado esquerdo) e cada volta completa é feita por duas unidades monoméricas ^[34]. A Figura 5 apresenta o esquema proposto para a conformação das cadeias poliméricas na célula unitária.

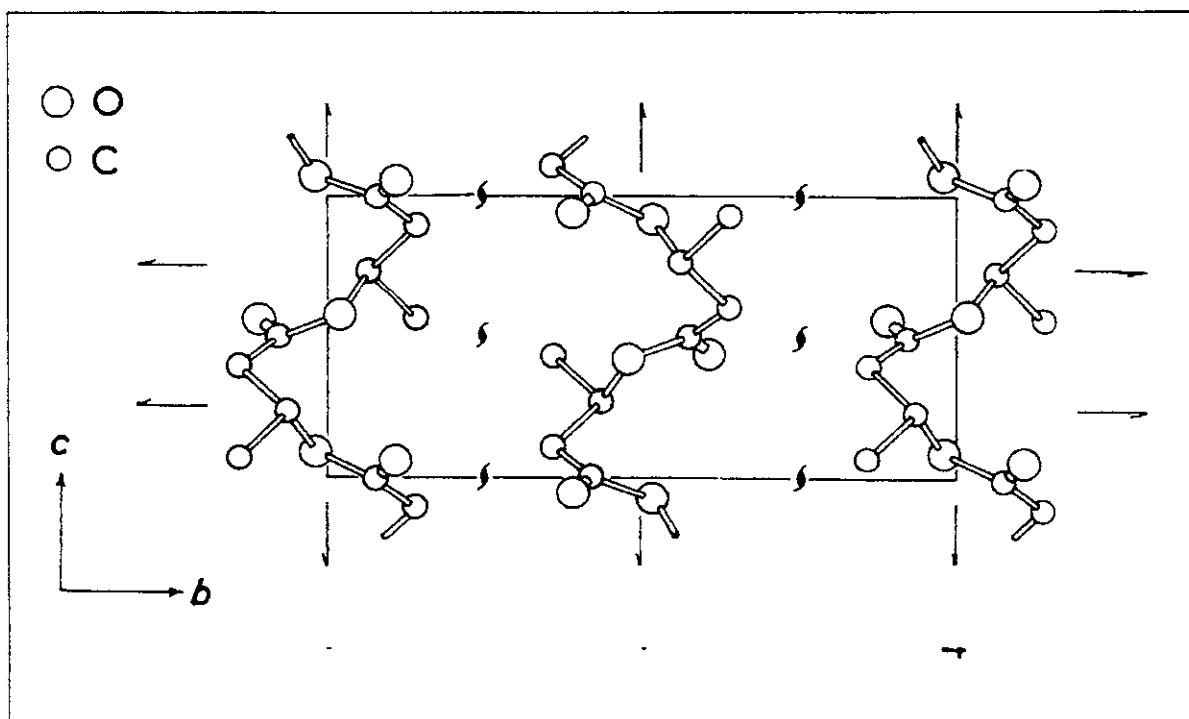


Figura 5: Estrutura da célula unitária ortorrômbica do PHB ^[34]

As células unitárias se organizam em lamelas da ordem de 5 a 20 nm de espessura e o conjunto destas estruturas formam as fibrilas, com dimensões na ordem de microns. A reunião das fibrilas irradiando em todas as direções a partir de um ponto central compõe os esferulitos, que podem ter dimensões na ordem de micrômetros a centímetros, dependendo da razão entre a densidade de nucleação e a de crescimento dos cristais do material, ou seja, da cinética de cristalização que determina a morfologia e a cristalinidade do polímero^[35].

O processo de cristalização a partir do resfriamento do material no estado fundido pode ser dividido em três etapas: na primeira, o material é resfriado sem que ocorra cristalização; na segunda, a cristalização ocorre a altas taxas, quase caracterizada como autocatalítica (cristalização primária) e, por fim, na terceira etapa, a cristalização ocorre a taxas muito baixas, alcançando um estágio de pseudoequilíbrio de cristalinidade (cristalização secundária). Nesta última etapa, que pode perdurar por longo tempo, se formam cristais mais imperfeitos, com maior número de defeitos, que se fundem em temperaturas inferiores às dos cristais formados inicialmente.

A formação e o crescimento de cristais em um determinado polímero é

constituída por dois processos básicos: a nucleação, na qual uma nova fase se inicia na fase fundida a partir de flutuações estatísticas ou de heterogeneidades, e o crescimento desta nova fase. A taxa de cristalização é fortemente dependente da temperatura, sendo baixa logo abaixo da fusão, aumentando e atingindo um valor máximo à medida que se resfria, e decrescendo com a evolução do resfriamento. Esse comportamento é típico de processos controlados pela etapa de nucleação ^[36].

Para que a nucleação se inicie, o sistema deve estar na condição em equilíbrio termodinâmico. A equação 1 descreve as componentes que determinam a variação de energia livre para a nucleação ^[37]:

$$\Delta G = V \times \Delta G_u + \sum_i S_i \times \sigma_i \quad (1)$$

Onde:

ΔG = energia livre para a formação do núcleo

ΔG_u = energia livre associada à cristalização por unidade de volume

V = volume do núcleo

S_i = área da interface i do núcleo

σ_i = energia livre da interface i do núcleo

Considerando que a temperaturas abaixo da temperatura de fusão T_f , ΔG_u é negativo, ou seja, favorável à formação dos núcleos, é possível perceber que o aumento na energia livre de formação do núcleo, ΔG , é função da contribuição positiva da energia interfacial livre, que se opõe à ΔG_u . Assim, a formação ou não de núcleos estáveis é resultado de um balanço entre estas duas grandezas.

Considerando um núcleo lamelar cilíndrico, representado na Figura 6, com comprimento ζ e área transversal ρ , a somatória da equação (1) deve ser desdobrada em dois termos: o termo referente ao plano lateral do núcleo com área $S_u = 2 \cdot \zeta \cdot \rho^{1/2} \cdot \pi^{1/2}$, e sua respectiva energia livre interfacial σ_u , e o termo referente ao plano transversal com área $S_e = 2 \cdot \rho$ (referentes aos planos superior e inferior do cilindro), e respectiva energia livre interfacial σ_e .

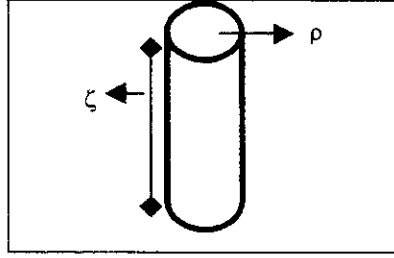


Figura 6: Representação esquemática do núcleo de cristalização cilíndrico

A equação (1) se transforma na equação (2):

$$\Delta G = \zeta \times \rho \times \Delta G_u + 2 \times \zeta \times \rho^{1/2} \times \Pi^{1/2} \times \sigma_u + 2 \times \rho \times \sigma_e \quad (2)$$

As derivadas da equação 2 em função das dimensões ζ e ρ igualadas a zero representam a barreira crítica de energia livre (ΔG^*) para que se forme o núcleo estável com tamanho crítico ζ^* e ρ^* . As equações 3, 4 e 5 representam essas igualdades, respectivamente. Desta forma, para que os núcleos lamelares possam passar para a etapa de crescimento, estes devem atingir o tamanho crítico, que é função da energia livre interfacial lateral e transversal, e da energia livre associada à cristalização ^[37].

$$\Delta G^* = \frac{8\Pi\sigma_u^2\sigma_e}{(\Delta G_u)^2} \quad (3) \quad \zeta^* = \frac{-4\sigma_e}{\Delta G_u} \quad (4) \quad \rho^* = \frac{4\Pi(\sigma_u)^2}{\Delta G_u} \quad (5)$$

O rearranjo da equação 3, substituindo ΔG_u por sua relação com entalpia e temperatura leva à equação 6 ^[37]:

$$\Delta G^* = \frac{8\Pi\sigma_u^2\sigma_e \times (T_m^0)^2}{(\Delta H_u)^2 \times (\Delta T)^2} \quad (6)$$

Onde:

T_m^0 = temperatura de fusão no equilíbrio

ΔH_v = entalpia de formação do núcleo por volume

$\Delta T = T_m^0 - T_c$ (temperatura de fusão no equilíbrio – temperatura de cristalização)

A partir da equação 7 é possível prever a relação entre a energia livre crítica de formação do núcleo e a temperatura, representada na Figura 7. À medida que a temperatura se eleva se aproximando da temperatura de fusão, o valor da energia livre de formação dos núcleos aumenta, deslocando o tamanho crítico dos núcleos estáveis para valores maiores e dificultando a formação dos mesmos. Assim, pode-se esperar que a temperaturas menores a densidade de formação de núcleos é maior, uma vez que esta condição é termodinamicamente mais favorecida, pois a probabilidade de se formar núcleos com tamanho acima do crítico aumenta.

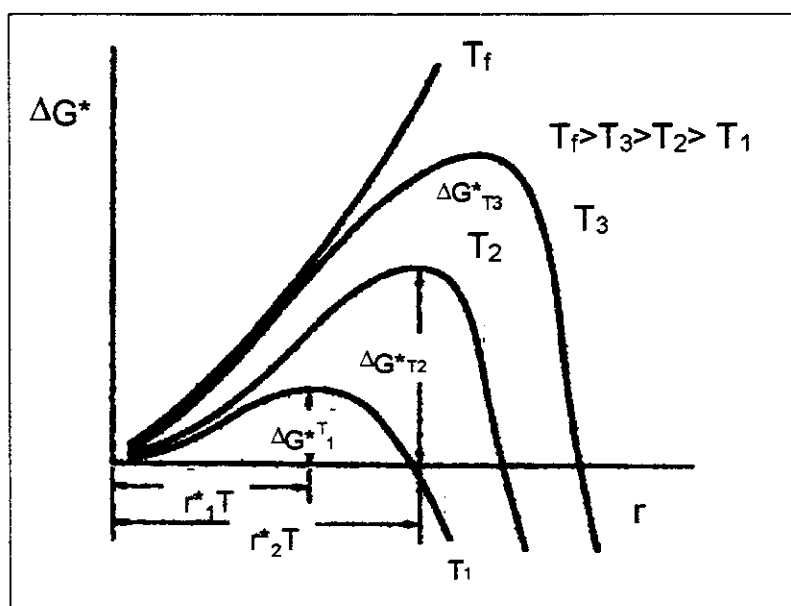


Figura 7: Variação de energia livre de formação de núcleos cristalinos esféricos com raio "r" a diferentes temperaturas ^[37]

A etapa de crescimento é função da difusão das cadeias poliméricas em direção ao núcleo em crescimento, sendo assim governado pela viscosidade do polímero, determinada pela sua massa molar e pela temperatura de cristalização ^[38].

A taxa global de cristalização depende, então, da taxa de nucleação e da taxa de crescimento e cada uma delas é fortemente relacionada à temperatura. Assim, as

condições ideais de cristalização tomam como base uma temperatura na qual tanto a difusão das cadeias, quanto a formação de núcleos estáveis seja possível.

A massa molar influi grandemente na taxa global de cristalização, essa influência se torna mais pronunciada a temperaturas de cristalização mais altas. Essa taxa chega a uma máximo com o aumento da massa molar, sofrendo posterior redução em função do aumento da viscosidade, pois o crescimento dos cristais por difusão passa a ser dificultado. Para valores de massa molar abaixo do ponto de máxima taxa de cristalização, as terminações da cadeia passam a dificultar a formação de núcleos estáveis acima do tamanho crítico ^[36].

O PHB resfriado lentamente a partir do estado fundido apresenta a formação de grandes esferulitos a temperaturas acima de 65°C (Figura 8), indicando um processo de cristalização no qual a densidade de nucleação é baixa, formando poucos núcleos. A densidade de nucleação do PHB varia fortemente com a temperatura, um aumento da mesma ocasiona pronunciada redução no número de esferulitos (Figura 8). A massa molar tem grande influência na morfologia da fase cristalina do PHB, de tal modo que a uma mesma temperatura a redução de massa molar implica em esferulitos em menor número e de maior tamanho, fato que pode estar relacionado à redução de viscosidade, ocasionando um aumento na difusão das cadeias e, conseqüentemente, um aumento na taxa de crescimento dos cristais ^[7,27]. Outro ponto importante a ser observado é a variação do espaçamento entre as bandas do esferulito em função da temperatura de cristalização.

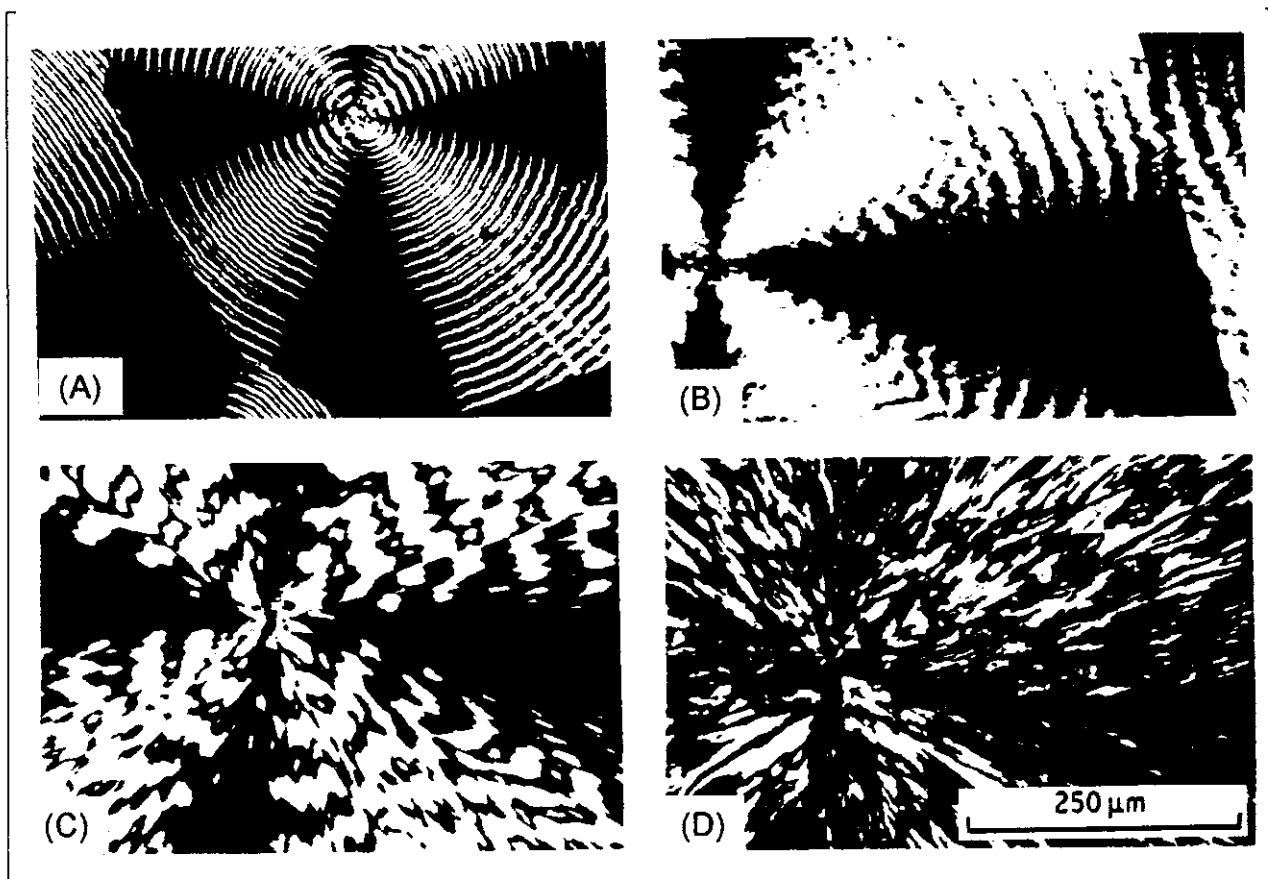


Figura 8: Microscopias óticas mostrando a morfologia do PHB ($\overline{M}_w = 358.000$ g/mol) em diferentes isotermas de cristalização: (A) $T_c = 65$ °C, (B) $T_c = 90$ °C, (C) $T_c = 100$ °C e (D) $T_c = 130$ °C ⁽⁷⁾

Apesar de apresentar comportamento dúctil logo após o processamento, o PHB se torna quebradiço depois de estocado à temperatura ambiente, chegando a ter seu alongamento da ruptura reduzido de 40% a 10 % em apenas duas semanas, quando processado em extrusora a 180 °C, e injetado em moldes resfriados a 60 °C. A justificativa para esse fato é atribuída à progressiva cristalização que ocorre no material após o seu processamento, reduzindo e limitando a mobilidade da fase amorfa ^[3]. Outra possível justificativa, seria a formação de rachaduras nos esferulitos à medida que o material é envelhecido, ocasionadas pela diferença entre o coeficiente de expansão térmica radial e circunferencial do PHB. Porém, comprovou-se que a formação dessas rachaduras é função da diferença entre o coeficiente de expansão térmica do PHB e do substrato (vidro na maioria das vezes), onde o material é fundido

e resfriado, de modo que, em algumas superfícies, como a mica, por exemplo, estas rachaduras não chegam a ocorrer ^[39].

O fato do PHB se tornar quebradiço com o tempo devido ao aumento de cristalinidade e de ser instável termicamente limita de maneira considerável as suas aplicações, fazendo-se necessário modificar estas características e ampliar o leque de aplicações

I.2 APLICAÇÕES

O fato do PHB e seus derivados serem substâncias biocompatíveis e biodegradáveis, e ainda, apresentarem algumas propriedades semelhantes às poliolefinas, faz com que haja grande interesse em buscar aplicações para estes materiais. Entretanto, em função das limitações anteriormente descritas (a instabilidade térmica, a alta cristalinidade, a rigidez e fragilidade e a baixa taxa de bioabsorção), as aplicações existentes atualmente são resultantes de modificações do homopolímero.

Entre as principais aplicações, pode-se destacar o desenvolvimento de biomateriais. Entre eles, o compósito de PHB e hidróxiapatita (30 % p/p) apresentou resistência à compressão da mesma magnitude que os ossos humanos, e está sendo testado em implantes ósseos ^[24, 40]; a blenda de PHB e PHB atático (70/30 em massa), utilizada na restauração de lesões do aparelho digestivo, substituindo suturas e cliques metálicos ^[41] e ainda os exemplos citados anteriormente no item I.1.2.

Há ainda outras utilizações com este material na área biomédica, como as microcápsulas de medicamentos hidrossolúveis e os sistemas parenterais de liberação de drogas ^[23,42]. Além dessas aplicações o PHB também vem sendo utilizado em embalagens, como as de cosméticos, e no estofamento de bancos de veículos produzidos pela Mercedes-Benz da Europa.

I.3 MODIFICAÇÕES DO PHB

As possibilidades de se alterar as propriedades do PHB (cristalinidade, caráter quebradiço, instabilidade térmica, taxa de degradação) de modo a alcançar as

propriedades adequadas podem ser assim divididas: modificações na biosíntese; utilização de aditivos; blendas poliméricas; modificações químicas.

1.3.1 Modificações na Biosíntese

Dependendo da fonte de carbono e do meio em que ocorrerá a biosíntese, é possível obter copolímeros com diferentes composições. Por exemplo, a síntese do copolímero P(HB-co-HV), com distribuição aleatória, ocorre em um meio contendo ácido pentanóico e butírico, ou ácido propiônico e glicose, e na ausência de nitrogênio, sendo possível variar o teor de hidróxivalerato de 0 a 95 %. Os copolímeros, em geral, apresentam menor ponto de fusão (T_f), fato que melhora as condições de processabilidade, evitando degradação térmica, porém mantendo a cristalinidade semelhante ao homopolímero e promovendo um aumento na valor da tensão na ruptura [13, 43,44].

O copolímero P(3HB-co-4HB), com distribuição aleatória, pode ser obtido em presença dos ácidos 4-hidróxibutírico e butírico em ausência de nitrogênio. A cristalinidade desse copolímero é menor em relação ao homopolímero, chegando a 14 % para o copolímero contendo 49 % em massa de unidades de 4HB, assim como a temperatura de fusão que chega a 54 °C^[13,44].

A modificação do caminho metabólico da bactéria *Pseudomonas* possibilita a síntese do copolímero P(3HB-co-3HA). A terminologia HA se refere a hidroxialcanoatos de tamanho médio de cadeia. Esse copolímero apresenta propriedades mecânicas bastante semelhantes ao polietileno de baixa densidade⁽⁴⁵⁾.

A adição de polietilenoglicol (PEG) ao meio de cultura da bactéria *A. latus*, possibilitou a esterificação in vivo do homopolímero, controlando a massa molar e as terminações da cadeia do PHB. Desta forma, ambas as terminações da cadeia possuem hidroxilas que podem reagir com outros polímeros na síntese de copolímeros (46).

1.3.2 Utilização De Aditivos

A degradação enzimática do PHB contendo dodecanol ou ácido láurico como plastificantes, foi avaliada observando-se a aceleração da degradação quando presentes em proporções até 1% em massa. Porém, quando essa proporção alcançou 9% em massa a taxa de degradação foi reduzida ⁽⁴⁷⁾.

A adição de carbonato a 0,7 % em massa como agente nucleante, com o objetivo de reduzir o tamanho dos cristais do PHB ocasionou a redução de 10 vezes na T_g e 35°C na T_f , indicando modificações na cristalização deste material ⁽⁴⁸⁾.

1.3.3 Blendas Poliméricas

A formação de blendas com o PHB têm como objetivo reduzir a sua temperatura de fusão, possibilitando o processamento em temperaturas menores, a redução dos custos e melhoria do desempenho. Na literatura há várias publicações sobre blendas do PHB com poliéteres, poliésteres, polivinilacrilatos, polisacarídeos, poli(hidroxi octanoatos) ^[16,49-51].

O PHB forma blendas miscíveis com poli(óxido de metileno) (PEO), poliepíclorohidrina (PECH), poli (acetato de vinila) (PVAc). Parcialmente miscíveis com poli(metacrilato de metila) (PMMA), enquanto blendas compatíveis podem ser obtidas com policaprolactona (PCL), borracha de etileno-propileno (EPR) e poli(acrilato de butila) (PBA) ^[16,49-51].

1.3.4 Modificações Químicas

Uma das grandes vantagens do PHB é sua biodegradabilidade e biocompatibilidade. Porém, algumas vezes, o aproveitamento destas características torna-se restrito em função das demais propriedades do material. É neste ponto que a construção de copolímeros a partir de unidades de PHB de massa molar reduzida e de polímeros que associem outras propriedades requeridas para uma dada aplicação se

torna bastante interessante. As aplicações para estes copolímeros podem variar desde o uso como compatibilizantes de blendas poliméricas imiscíveis até a obtenção de materiais com propriedades diferenciadas para atender às diversas necessidades da área biomédica, por exemplo: absorção variando de dias a anos, propriedades mecânicas variadas e ajuste de hidrofobicidade ^[53].

A obtenção desses copolímeros pode ser feita de maneira direta, como no caso da formação do copolímero de P(HB-co-ε-caprolactona) obtido a partir da transesterificação em solução dos homopolímeros, catalisada por ácido 4-toluenosulfônico ou por octoato de estanho ^[54]. Nesses casos, a distribuição de comonomeros não é controlada.

A outra forma de obtenção destes copolímeros é através da modificação química do PHB de modo a obter cadeias com massa molar reduzida e controlada, e ainda com as suas terminações funcionalizadas de modo a torná-las reativas com uma determinada classe de compostos, por exemplo hidroxilas reativas com isocianatos. Os copolímeros obtidos a partir deste material podem ter composição e distribuição de comonomeros mais controlada em relação à transesterificação direta. Um exemplo de um pré-polímero funcionalizado obtido por este método é a policaprolactona diol comercializada com diferentes massas molares, que pode ser utilizada na obtenção de vários copolímeros.

A funcionalização do PHB pode ser feita a partir de diferentes reações químicas: degradação térmica, síntese a partir de hidróxibutirato de etila, transesterificação catalisada por ácido, base ou organometálico ^[55-60].

A funcionalização do PHB a partir da degradação térmica ocorre através da degradação isotérmica a 190° C. Por exemplo, variando-se o tempo da isoterma é possível controlar a massa molar, sendo que o produto obtido apresenta como terminações um grupo carboxílico e um crotonato. Esta forma de modificação dos grupos funcionais terminais tem a limitação de que a copolimerização a partir do grupo insaturado, utilizando métodos de radicais livres, resulta em produtos indesejados ^[55].

O PHB pode ser obtido a partir da reação entre o hidróxibutirato de etila e vários tipos de diol (butanodiol, hexanodiol, octanodiol, decanodiol) catalisada por dibutil

óxido de estanho. Este método apresenta como desvantagem a dificuldade para alcançar a completa conversão dos ésteres ^[53,56].

A transesterificação em solução tem sido bastante usada como método de funcionalização do PHB. Esta reação em solução pode ocorrer por catálise ácida, básica, ou organo-metálica tendo como reagente um álcool ou éster.

Um exemplo de transesterificação por catálise básica é a reação do PHB com metanol, catalisada por metóxido de sódio, que resulta em polímeros com massa molar reduzida e dependente da concentração de catalisador. A análise das terminações da cadeia apresentou inesperadamente terminações olefinicas, além das hidroxilas já presentes no polímero e da metila. Este fato descarta essa rota para a obtenção de copolímeros com terminações definidas, controladas e reativas. A obtenção da olefina é justificada com base na formação do ânion alcóxido intermediário, que ocasiona a formação de um enolato que estabiliza em um grupo olefinico (Figura 9) ^[60].

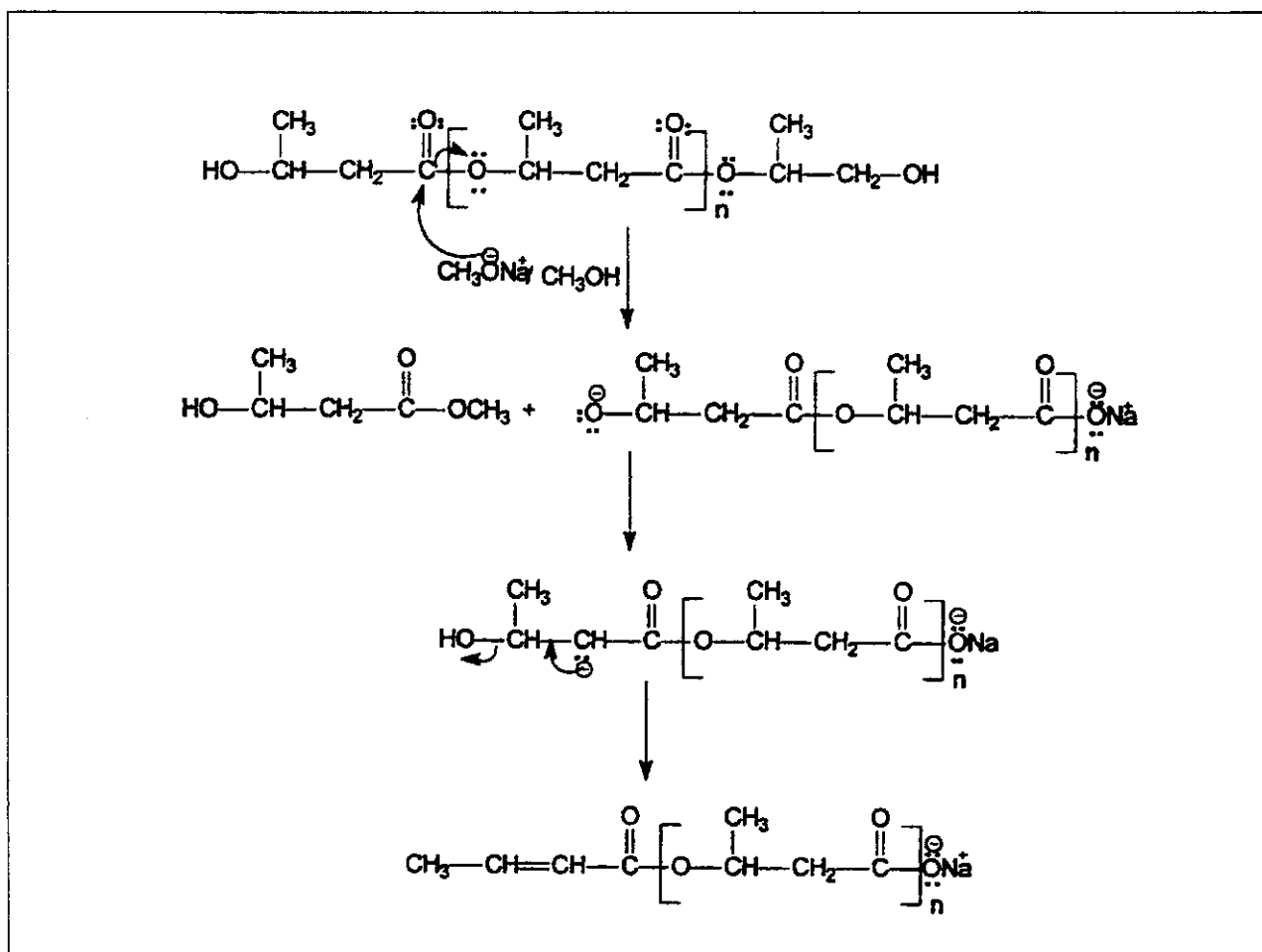


Figura 9: Mecanismo proposto para transesterificação do PHB via catálise básica^[60].

A transesterificação do PHB catalisada por organo-metálico apresentou bons resultados no tocante à funcionalização e controle de massa molar do PHB. Para reações em solução de diglima a 140 °C, tendo etileno glicol ($\text{HO}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$) como reagente e dibutil dilaurato de estanho como catalisador^(25,60), foram obtidos polímeros com terminações hidroxilas. O inconveniente desta rota é a hidrólise do catalisador à medida que ocorre a esterificação da carboxila da terminação do polímero original com o etilenoglicol. Nesses trabalhos a transesterificação por catálise ácida foi descartada, com a justificativa da formação de polímeros com terminações vinílicas.

A transesterificação por catálise ácida foi efetuada, até então, somente com objetivo de reduzir a massa molar do polímero utilizando metanol como reagente e H_2SO_4 ou HCl como catalisador^[59,61]. Na caracterização dos produtos desta metanólise

constatou-se que os oligômeros obtidos apresentam terminações metílicas e hidroxílicas originais do polímero. Não foi observada a formação de grupos vinílicas terminais, sugerindo que, se a reação for efetuada em condições adequadas e utilizando um diol como reagente, será possível obter o polímero com massa molar controlada e hidroxilas em ambas as terminações. A catálise ácida não apresenta a limitação de hidrólise do catalisador e a extração do mesmo é mais fácil em relação aos organometálicos.

II OBJETIVOS

O PHB apresenta alta cristalinidade, sua análise microscópica indica a formação de poucos, porém grandes esferulitos o que ocasiona um material quebradiço, reduz sua taxa de degradação e impõe várias limitações em suas aplicações. Este trabalho tem como objetivo funcionalizar o PHB através da transesterificação com etilenoglicol, resultando em um oligômero com terminações em hidroxilas primárias e massa molar controlada, o que possibilita a construção de copolímeros e a obtenção de materiais com propriedades mais adequadas. A transesterificação ocorreu em solução por catálise ácida e sua caracterização foi feita através de métodos espectroscópicos, da determinação de propriedades físicas e da avaliação morfológica.

III PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

III.1 MATERIAIS

O PHB utilizado fornecido pela CoperSucar com a identificação de FE030, apresenta massa molar média ponderada, $\overline{M_w}$, de 274.000 g/mol, a polidispersão, $\frac{\overline{M_w}}{\overline{M_n}}$, igual a 8, temperatura de transição vítrea, T_g , de 3 °C e temperatura de fusão, T_f , de 176 °C. O seu grau de cristalinidade, χ_c , estimado a partir da entalpia de fusão (ΔH_f) é de 70 %. A determinação das grandezas acima citadas foram feitas neste trabalho com as condições experimentais descritas a seguir.

Foram utilizados também Etilenoglicol ($\text{HO}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$), ácido sulfúrico (H_2SO_4), ácido clorídrico (HCl), éter de petróleo e clorofórmio; sendo que todos foram fornecidos pela Ecibra e possuem grau analítico. Não foi feita purificação prévia.

III.2 PURIFICAÇÃO DO PHB

O PHB foi purificado dissolvendo-se o polímero em clorofórmio na concentração de 5 % (m/v), seguido de filtração e precipitação em éter de petróleo na proporção de 1:5 (v/v) sob agitação. Este procedimento foi repetido 3 vezes. O material foi filtrado à vácuo e seco a 50 °C por 12 horas.

III.3 CARACTERIZAÇÃO DO PHB INICIAL E TRANSESTERIFICADO

III.3.1 Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H)

Os espectros de RMN foram obtidos em um equipamento INOVA, operando a 500 MHz de frequência no modo de transformada de Fourier. As análises ocorreram a temperatura ambiente com 6 segundos de intervalos entre os pulsos, intervalo espectral de 5000 Hz e 100 acumulações. Os polímeros foram dissolvidos em

clorofórmio deuterado, sendo que este foi utilizado como referência interna, a uma concentração de 10 mg/ml.

III.3.2 Difração de Raios-X

Os difratogramas foram obtidos em um difratômetro Shimadzu XRD -6000 a partir de amostras em forma de filme obtidos a partir de soluções do PHB em clorofórmio previamente seco. Os filmes foram secos sob fluxo laminar de argônio, permaneceram à temperatura ambiente por três dias, e então foram secos por 8 horas à temperatura ambiente sob vácuo. A fonte utilizada para a radiação foi a de Cu ($K\alpha$) e o comprimento de onda de 1,54 Å. Os ângulos de difração variaram na faixa de $5 < 2\theta < 50^\circ$.

III.3.3 Espectroscopia Vibracional na região do Infravermelho (FTIR)

Os espectros foram obtidos em um espectômetro Bomem MB-Séries MB-100, a partir de dois tipos de amostra: filmes, preparados como descrito acima, e pastilhas de KBr. O KBr foi seco a 150 °C por 24 horas. O espectros foram obtidos em um intervalo de 400 a 4500 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 64 acumulações por espectro.

III.3.4 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

Todas as análises foram executadas em um DSC2910 da TA Instruments. Foram feitos diferentes experimentos para a determinação das temperaturas de fusão, T_f , transição vítrea, T_g , cristalinidade, X_c , e avaliação do fenômeno de recristalização.

Determinação da temperatura de fusão (T_f)

O programa de análise foi: aquecimento de temperatura ambiente até 200°C; isoterma a 200°C por 2 minutos para eliminar a história térmica; resfriamento até -20°C,

permanecendo em isoterma nesta temperatura por dois minutos; aquecimento até 200°C. As taxas de aquecimento e resfriamento foram de 10°C/min em atmosfera de argônio.

Determinação da transição vítrea (Tg)

O programa de análise foi: aquecimento da temperatura ambiente até 200 °C a uma taxa de 10 °C/min ; isoterma a 200°C por 2 minutos; resfriamento a uma taxa de 30°C/min até -50°C, isoterma nesta temperatura por 5 minutos e posterior aquecido até 200°C à taxa de 10°C/min.

Avaliação da recristalização

Para verificar a ocorrência de recristalização durante o aquecimento do PHB no DSC, realizou-se experimentos variando a taxa de aquecimento de 5 a 40 °C/min, no intervalo de 0 a 200°C. Antes de iniciar o resfriamento, entre cada uma das etapas de aquecimento, a amostra permanecia a 200 °C por dois minutos e então era resfriada até 0°C sempre a uma taxa de 10°C/min para garantir a mesma condição de cristalização entre todos os aquecimentos.

Determinação da cristalinidade

Para a determinação da cristalinidade do PHB e frações transesterificadas, procedeu-se a cristalização isotérmica no equipamento de DSC. O programa de análise foi: isoterma a 200 °C por 2 minutos; resfriamento até 70 °C a uma taxa de 20 °C/min; isoterma nesta temperatura por 2 horas; resfriamento até 0 °C a uma taxa de 20 °C/min; aquecimento até 250 °C a uma taxa de 40 °C/min. A cristalinidade foi analisada a partir da curva de aquecimento.

III.3.5 Análise Termogravimétrica (TGA)

O equipamento TGA 2050 da TA Instruments foi utilizado para as análises. O material foi aquecido de 30 a 400 °C a uma taxa de 10 °C /min sob uma atmosfera de

argônio. Todas as amostras foram preparadas através da compressão do material a temperatura ambiente e conversão em pequenos discos de espessura, diâmetro e massa equivalentes. A massa das amostras foi de ± 5 mg.

III.3.6 Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)

As análises de GPC foram efetuadas pelo agrupamento de Biotecnologia do IPT (Instituto de Pesquisa Tecnológica – USP). O cromatógrafo utilizado foi o Waters/Bomba 510, detector Waters 2410 (temperatura de 45 °C). Foram injetados 200 μ l de solução em clorofórmio, a 0,10 % (m/v), a um fluxo de 1 ml/min. As colunas Ultrastyrigel foram mantidas a 30 °C. A curva de calibração foi obtida a partir de padrões de poliestireno, variando a massa molar na faixa de 6.610 a 3.390.000 g/mol.

III.3.7 Microscopia Ótica

O equipamento utilizado foi o Microscópio Nikkon E800 acoplado à máquina fotográfica. As lâminas utilizadas na análise foram preparadas da seguinte maneira: o material foi fundido na lâmina a 200 °C, e permaneceu nessa temperatura por dois minutos; em seguida as lâminas contendo as amostras foram submetidas imediatamente à temperatura de 50 °C por duas horas. Esse procedimento foi efetuado também para temperaturas de 70 °C e 90 °C.

III.4 TRANSESTERIFICAÇÃO DO PHB

III.4.1 Transesterificação tendo como catalisador HCl

O PHB foi dissolvido em clorofórmio previamente seco na proporção de 1:10 (m/v) em um balão volumétrico de três bocas. A uma das bocas foi acoplado um condensador; à segunda a entrada de gás nitrogênio, e à terceira, o aparato para a

retirada das alíquotas de reação.

À solução de PHB adicionou-se etilenoglicol na proporção de 1:5 (m/m) etilenoglicol/PHB, o que representa estequiometricamente 1 mol de etilenoglicol para cada 4 moles de unidades monoméricas. Utilizou-se como catalisador HCl, na proporção de 1/2000 (m/m) em relação ao PHB e a reação foi mantida a 35°C por 6 horas.

Foram retiradas alíquotas da solução reacional nos seguintes intervalos de tempo: 1,5 ; 3; 4,5 e 6 horas. As alíquotas foram denominadas PHBdiol_i HCl , onde i =1...4, refere-se à alíquota retirada. A Tabela 4 apresenta mais claramente essa denominação. Essas alíquotas foram coletadas em frascos contendo uma solução aquosa de bicarbonato de sódio para a neutralização do catalisador. Após a separação da fase aquosa e da fase orgânica, contendo o PHB, procedeu-se a precipitação do polímero, utilizando éter de petróleo como não solvente. O material obtido foi novamente dissolvido em clorofórmio, precipitado em éter de petróleo e seco a 80°C a vácuo por 12 horas.

Tabela 4: Denominação das alíquotas de reação catalisada por HCl

Tempo de Reação (h)	Denominação Alíquota
0	PHB Inicial
1,5	PHB diol ₁ HCl
3	PHB diol ₂ HCl
4,5	PHB diol ₃ HCl
6	PHB diol ₄ HCl

III.4.2 Transesterificação tendo como catalisador H₂SO₄

A montagem desta reação é similar à descrita no item anterior. À solução de PHB adicionou-se etilenoglicol na proporção de 1:5 (m/m) etilenoglicol/PHB, o que representa estequiometricamente 1 mol de etilenoglicol para cada 4 moles de unidades

monoméricas. Utilizou-se como catalisador H_2SO_4 na proporção de 1/2000 (m/m) em relação ao PHB e a reação ocorreu na condição de refluxo do clorofórmio ($\sim 60^\circ\text{C}$) por 9 horas.

Foram retiradas alíquotas da solução reacional nos seguintes intervalos de tempo: 1,5 ; 3; 5; 7; 9 horas. As alíquotas foram denominadas PHBdiol_i, onde $i = 1 \dots 5$, refere-se à alíquota retirada, a Tabela 5 apresenta mais claramente essa denominação. Essas alíquotas foram coletadas em frascos contendo uma solução aquosa de bicarbonato de sódio para a neutralização do catalisador. Após a separação da fase aquosa e fase orgânica, contendo o PHB, procedeu-se a precipitação do polímero. O material obtido foi novamente dissolvido em clorofórmio, precipitado em éter de petróleo e seco a 80°C a vácuo por 12 horas.

Tabela 5: Denominação das alíquotas de reação catalisada por H_2SO_4

Tempo de Reação (h)	Denominação Alíquota
0	PHB Inicial
1,5	PHB diol1
3	PHB diol2
5	PHB diol3
7	PHB diol4
9	PHB diol5

IV RESULTADOS E DISCUSSÃO

A transesterificação ocorre através do mecanismo de substituição nucleofílica, envolvendo a interação do catalisador ácido com a carbonila. Na Figura 10 é apresentada a reação de transesterificação do PHB, com o etilenoglicol, catalisada por ácido.

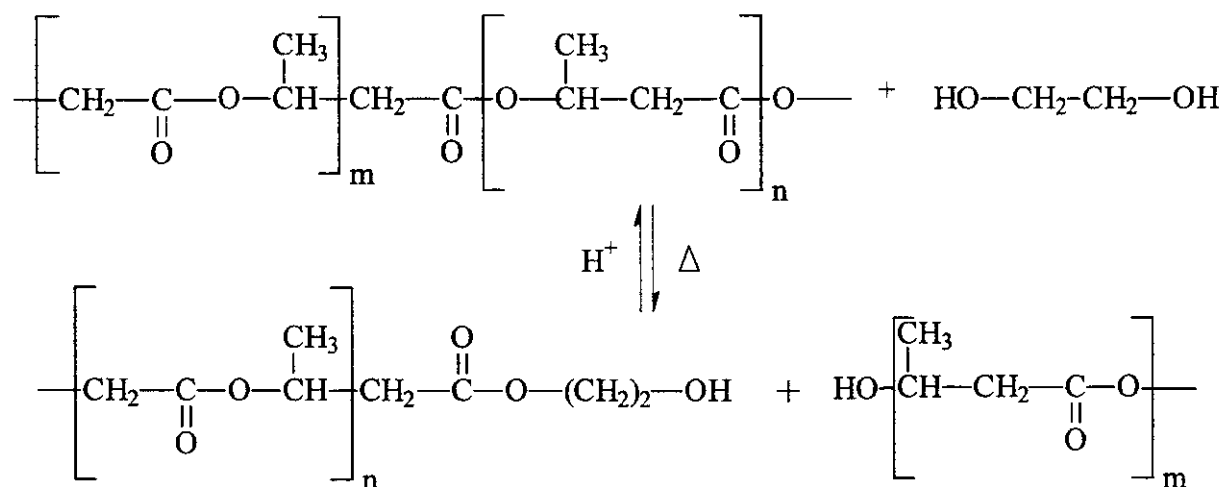


Figura 10 - Transesterificação do PHB com etileno glicol catalisada por ácido.

A Figura 11 apresenta o mecanismo proposto para a reação entre o PHB e o etilenoglicol. A transesterificação é uma reação de equilíbrio e para que esse se desloque no sentido dos produtos é necessário utilizar um grande excesso de etilenoglicol. Assim, trabalhou-se na proporção de 1 mol de etilenoglicol para cada 4 moles de unidades monoméricas de PHB no sentido de garantir o deslocamento da reação.

Os produtos inicialmente esperados nesta reação, resultantes do mecanismo proposto na Figura 11, estão representados na Figura 12. À medida que a reação se desenvolve, a hidroxila do etilenoglicol inserido na cadeia pode reagir com a carboxila do polímero, resultando nos produtos C e D, apresentados na Figura 12. Convém ressaltar que essas últimas representações não dizem respeito a um copolímero em

bloco, e sim a um produto de configuração aleatória.

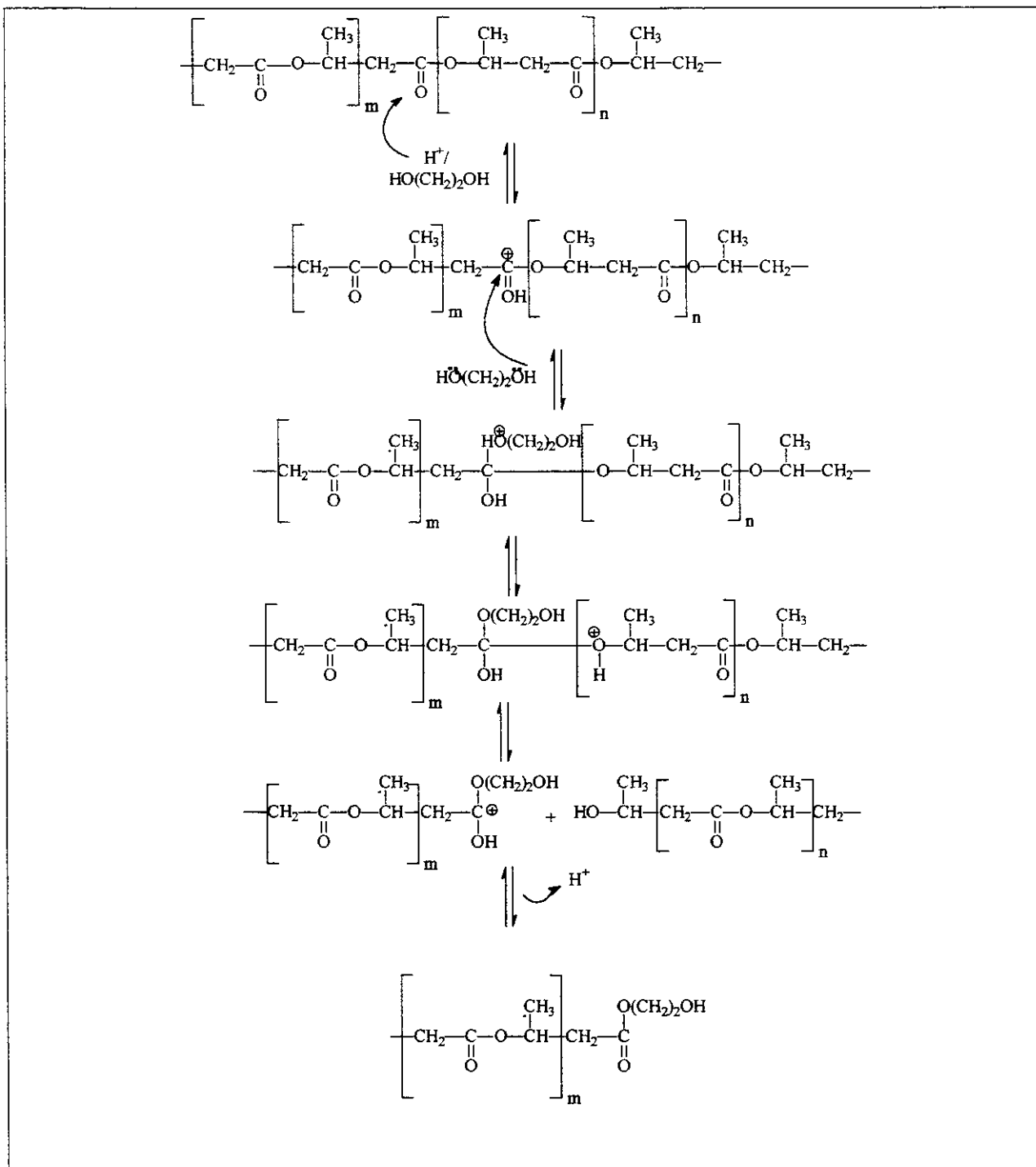
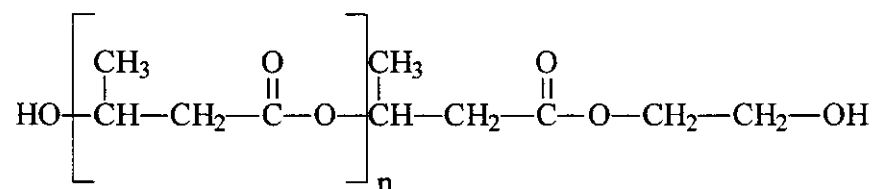
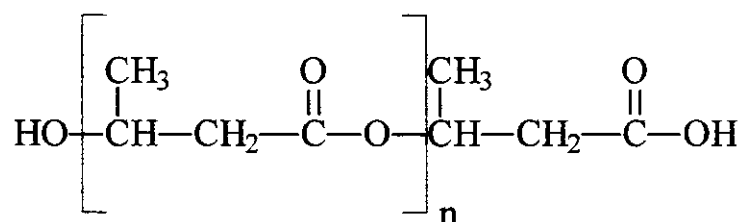


Figura 11: Mecanismo proposto de transesterificação via catálise ácido do PHB com etilenoglicol.

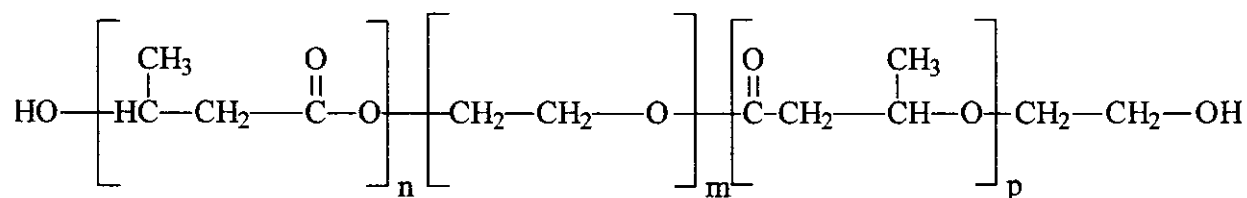
(A)



(B)



(C)



(D)

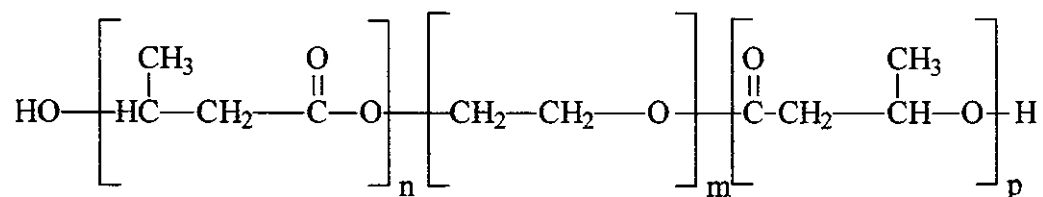


Figura 12: Produtos esperados da reação do PHB com o etilenoglicol.

A Figura 13 apresenta o espectro de RMN¹H, juntamente com as principais atribuições para o PHB inicial. A análise permite concluir que se trata do homopolímero, pois não se verificam sinais correspondentes a hidrogênios na estrutura hidroxivalerato, comuns em polímeros de PHB, ou seja, os deslocamentos em $\delta = 1,6 \pm 0,3$ ppm (CH₂) e outros dois picos em $\delta = 5,1 \pm 3$ ppm (CH) e $\delta = 0,9 \pm 0,3$ ppm (CH₃) [63,64]. A Tabela 6 apresenta os valores de δ apresentados na literatura e obtidos neste

trabalho, e ainda a proporção entre cada um deles obtido por integração, a qual confirma a relação de 3:2:1 entre prótons da metila, metileno e metina esperada para o PHB.

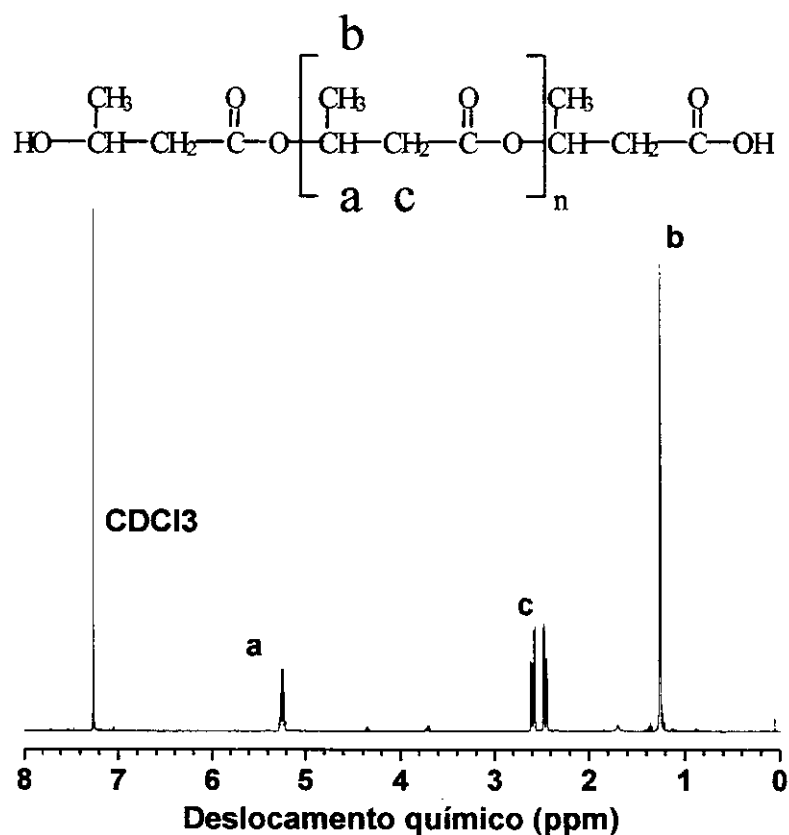


Figura 13: Espectro de RMN ^1H , 500 MHz em CDCl_3 do PHB Inicial.

Tabela 6: Deslocamentos químicos característicos do PHB

Segmento	δ (ppm) ¹	δ (ppm) ²	Área relativa
-CH (designado por a)	5,17 – 5,35	5,24	0,3
-CH ₂ (designado por c)	2,47 – 2,61	2,53	1
-CH ₃ (designado por b)	1,24 – 1,30	1,25	0,6

1 Deslocamento apresentado por [63]

2 Deslocamento obtido neste trabalho

A Figura 14 apresenta o espectro obtido para o PHB transesterificado por 6 horas via catálise por HCl a 35 ° C, o PHB diol₄HCl. A atribuição dos sinais do espectro pode ser feita de maneira semelhante a do PHB inicial, apresentando os picos característicos do PHB. A ampliação das regiões entre 3 e 4,7 ppm é apresentada na Figura 15 . É nesta região do espectro onde se apresentam alguns sinais de interesse relacionados aos prótons do etilenoglicol inseridos no polímero ^[25,56,60]. A partir de tal análise é possível observar que o espectro se apresenta semelhante ao PHB inicial, indicando que, mesmo depois de 6 horas de reação, a extensão da transesterificação não foi grande o bastante para ser detectada.

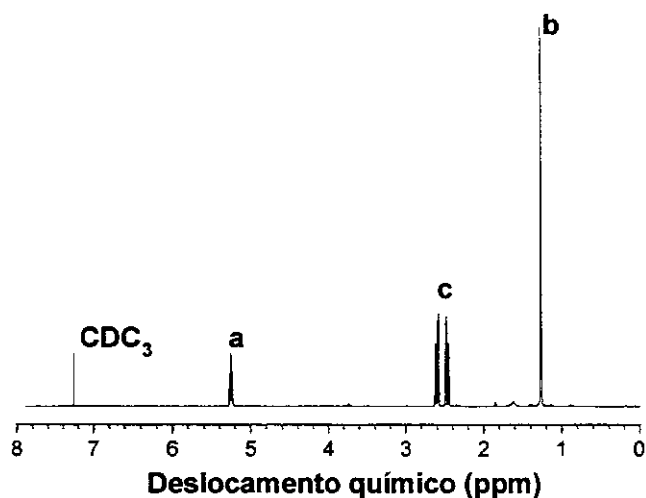


Figura 14: Espectro de RMN¹H, 500 MHz em CDCl₃ do PHB Diol₄HCl.

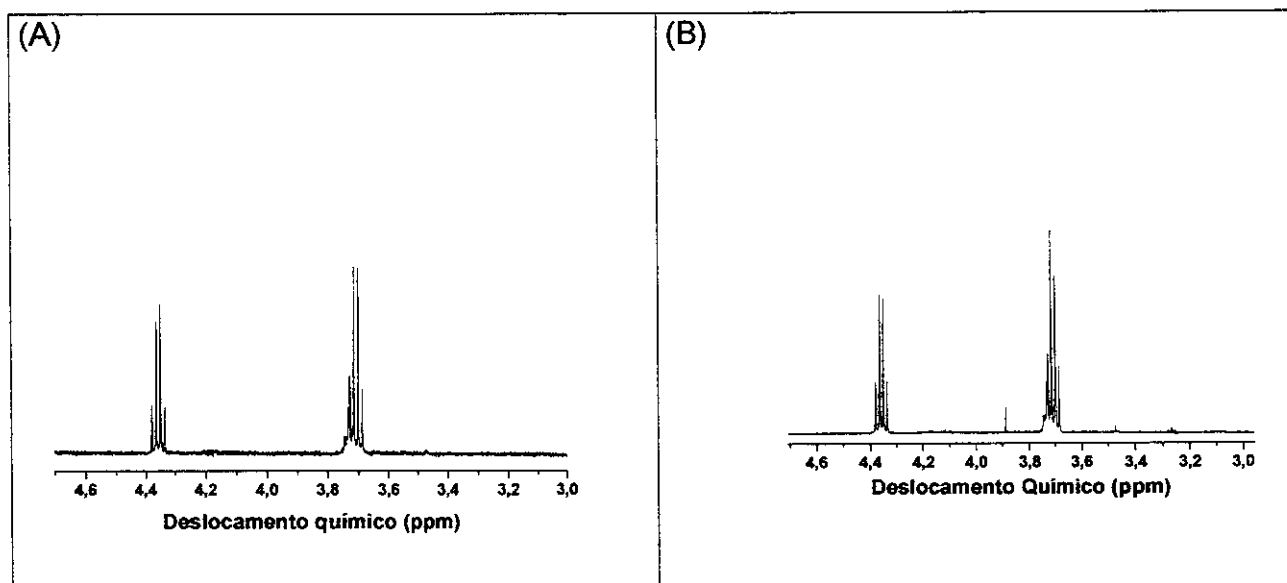


Figura 15: Região entre 3 e 4,70 ppm do espectro RMN ^1H para: (A) PHB Inicial e (B) PHB Diol $_{4\text{HCl}}$.

Os espectros obtidos para o PHB Diol 1 e PHB Diol2 referentes à transesterificação via catálise por H_2SO_4 sob refluxo do clorofórmio são similares ao PHB inicial, fato que se aplica inclusive à expansão da região entre 3 e 4,7 ppm, indicando que, nesta rota de catálise a extensão de transesterificação até 03 horas de reação não é alta o suficiente para ser detectada por RMN, se assemelhando também aos resultados obtidos durante as 6 horas da reação catalisada por HCl , a 35°C . Porém, os espectros referentes ao PHB Diol 3, 4 e 5 via H_2SO_4 referentes a 5, 7 e 9 horas respectivamente, apresentaram modificações que podem ser atribuídas aos produtos da transesterificação, indicando que, a partir de 5 horas a extensão de reação nesta rota, já se torna significativa para ser detectada por RMN. Pode-se concluir que o catalisador escolhido, bem como a temperatura, influi grandemente na extensão da reação.

A Figura 16 apresenta o espectro do PHB Diol5, no qual se observa os picos característicos do PHB inicial e outros de menor intensidade. A Figura 17 apresenta a expansão da região de deslocamento entre 3,0 e 4,7 ppm para o PHB diol5 e para o PHO (polihidróxiocetanoato) transesterificado via catálise organometálica ^[56], onde se apresentam alguns sinais de interesse analisados a seguir. É importante ressaltar que o espectro apresentado na literatura foi obtido em solução de DMSO-d_6 . Assim, o valor

exato de deslocamento dos picos não pode ser comparado, e sim a região e o formato dos sinais.

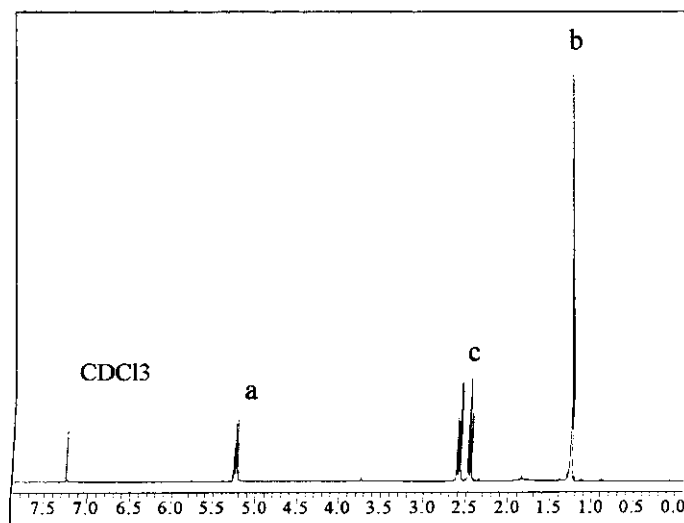


Figura 16: Espectro de RMN ^1H , 500 MHz em CDCl_3 do PHB Diol5.

De acordo com os produtos esperados para a reação de transesterificação (Figura 12), e analisando a Figura 17 (A), observa-se no espectro os seguintes sinais característicos dos hidrogênios: O primeiro, indicado como **e** com deslocamento entre $\delta = 3,75$ e $3,90$ ppm, se refere ao hidrogênio do grupo metileno ligado à hidroxila do etilenoglicol presente em uma das terminações do PHB Diol5. O pico **d** com deslocamento em $\delta = 4,18$ ppm pode ser atribuído à sobreposição dos metilenos posicionados entre duas carbonilas e do metileno do etilenoglicol ligado à carbonila presente no final da cadeia. O pico designado por **b**, com deslocamento em $\delta = 3,90$ ppm pode ser relacionado à metina do álcool secundário presente na outra extremidade da molécula. É importante ressaltar que os sinais observados na Figura 17 não são verificados no PHB inicial (Figura 15) e que a intensidade dos sinais é baixa, fato que está relacionado principalmente à alta massa molar dos polímeros analisados. O espectro apresentado na Figura 17 (B) corresponde a um oligômero com massa molar média ponderada, $\overline{M}_w = 2900$ g/mol, ^[25,60] isto justifica a maior intensidade dos sinais referentes às terminações da cadeia. O PHB Diol 5 analisado possui massa molar $\overline{M}_w$ de cerca de 36.000 g/mol.

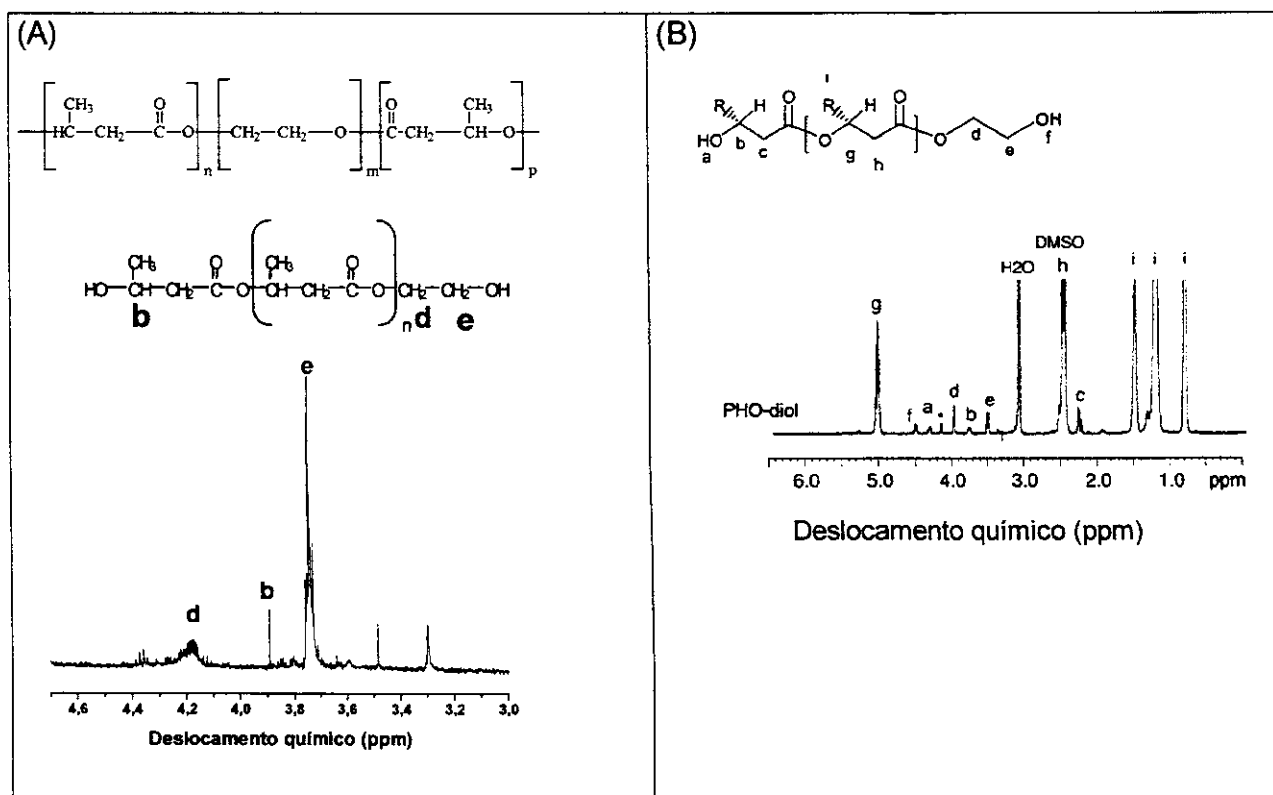


Figura 17: Região entre 3 e 4,70 ppm do espectro RMN H^1 : (A) PHB Diol5, (B) PHOdiol^[56].

A Figura 18 apresenta a expansão dos espectros do PHB inicial e do PHB diol 5, na região de deslocamento químico entre 5 e 7 ppm. Nessa região ocorrem os sinais referentes a prótons associados ao grupo crotonato ^[26]. Com base na análise dos espectros, é possível constatar que a o espectro PHB Diol 5 não apresenta tais deslocamentos, indicando que a transesterificação por catálise ácida possivelmente gerou outras terminações de cadeia que não o crotonato.

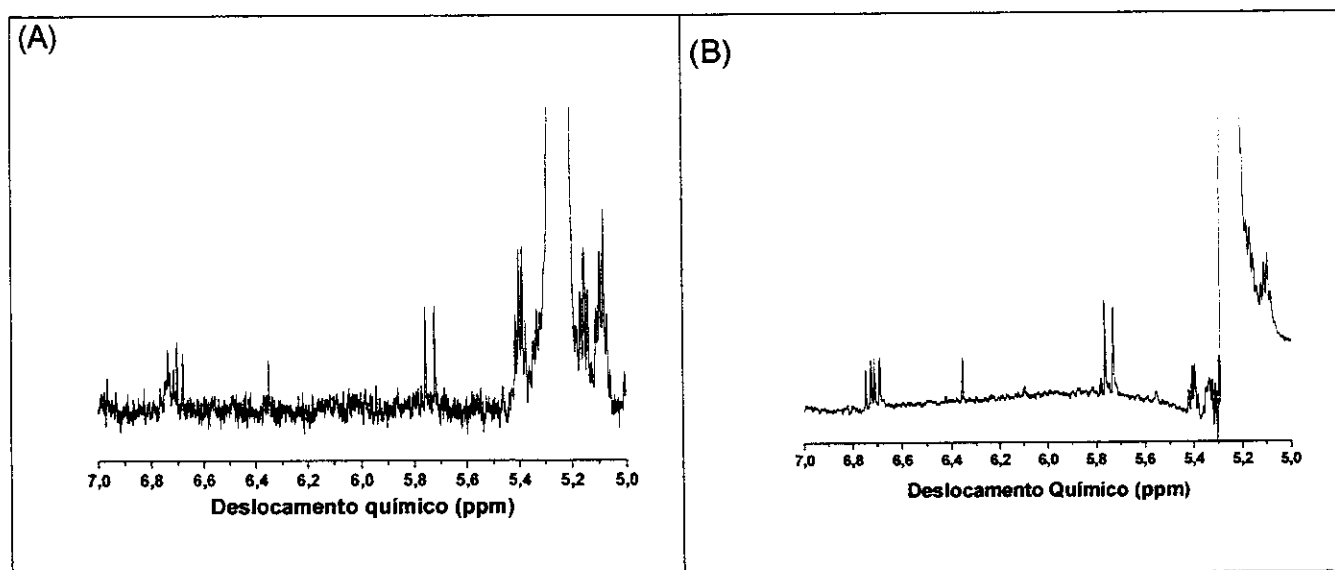


Figura 18: Região entre 5 e 7 ppm do espectro RMN H^1 : (A) PHB Inicial, (B) PHB diol5.

A Figura 19 apresenta o espectro de FTIR do PHB inicial onde é possível identificar as principais bandas que caracterizam o homopolímero. A Tabela 7 apresenta as principais absorções e suas respectivas atribuições para o PHB inicial [13,64].

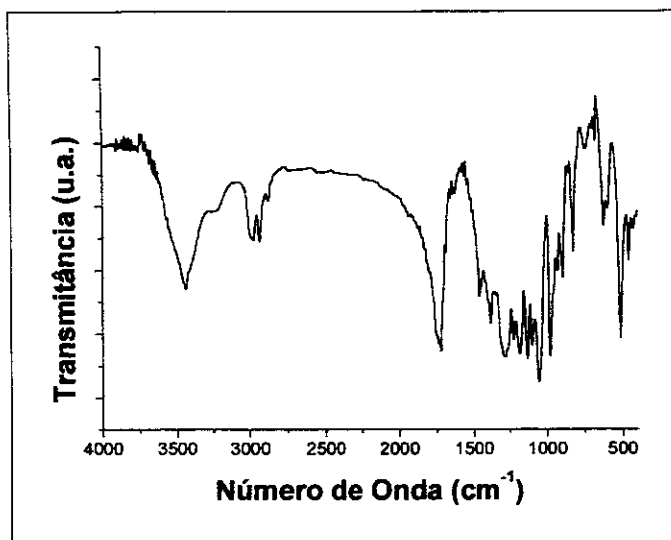


Figura 19 : Espectros FTIR para PHB Inicial , obtidos de dispersões em KBr .

Tabela 7: Principais bandas de Absorção no infravermelho para o PHB inicial

Ligação	$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹)
Estiramento C=O	1720
Estiramento CH ₃	2873, 2979 *
Estiramento CH ₂	2853, 2926 *
Estiramento C-O (éster)	1280, 1132
Estiramento OH (álcool)	3570
Angular CH ₃	1380, 1458
Angular CH ₂	1230, 1465

*Estiramento simétrico e antissimétrico, respectivamente.

A Figura 20 apresenta os espectros obtidos a partir de pastilhas de KBr do PHB inicial e de cada uma das alíquotas transesterificadas via catálise com H₂SO₄. Os espectros não apresentam alterações no tocante ao deslocamento das bandas ($\bar{\nu}$) relacionadas na Tabela 7 para o PHB inicial. Uma das alterações que poderiam ser esperadas seria o surgimento do estiramento da ligação C-O do álcool primário resultante da transesterificação. A justificativa para a não observância desta modificação deve-se à sensibilidade da técnica e ao baixo grau de transesterificação.

As razões entre as intensidades de algumas das bandas principais e a intensidade da banda da carbonila não apresentaram mudanças significativas, como pode ser observado na Tabela 8, reforçando a hipótese de baixa extensão de transesterificação. Uma vez que a presença da água nas pastilhas de KBr pode interferir nos resultados da banda referente à hidroxila, esta será analisada posteriormente, partindo de espectros obtidos com filmes do PHB.

Tabela 8: Razão entre intensidade de bandas do espectro de infravermelho

	PHB Inicial	PHB diol5
Estiramento C-O (1280 cm ⁻¹)/ C=O (1720 cm ⁻¹)	1,02	1,03
Estiramento CH ₂ (2926cm ⁻¹)/ C=O(1720 cm ⁻¹)	0,38	0,37

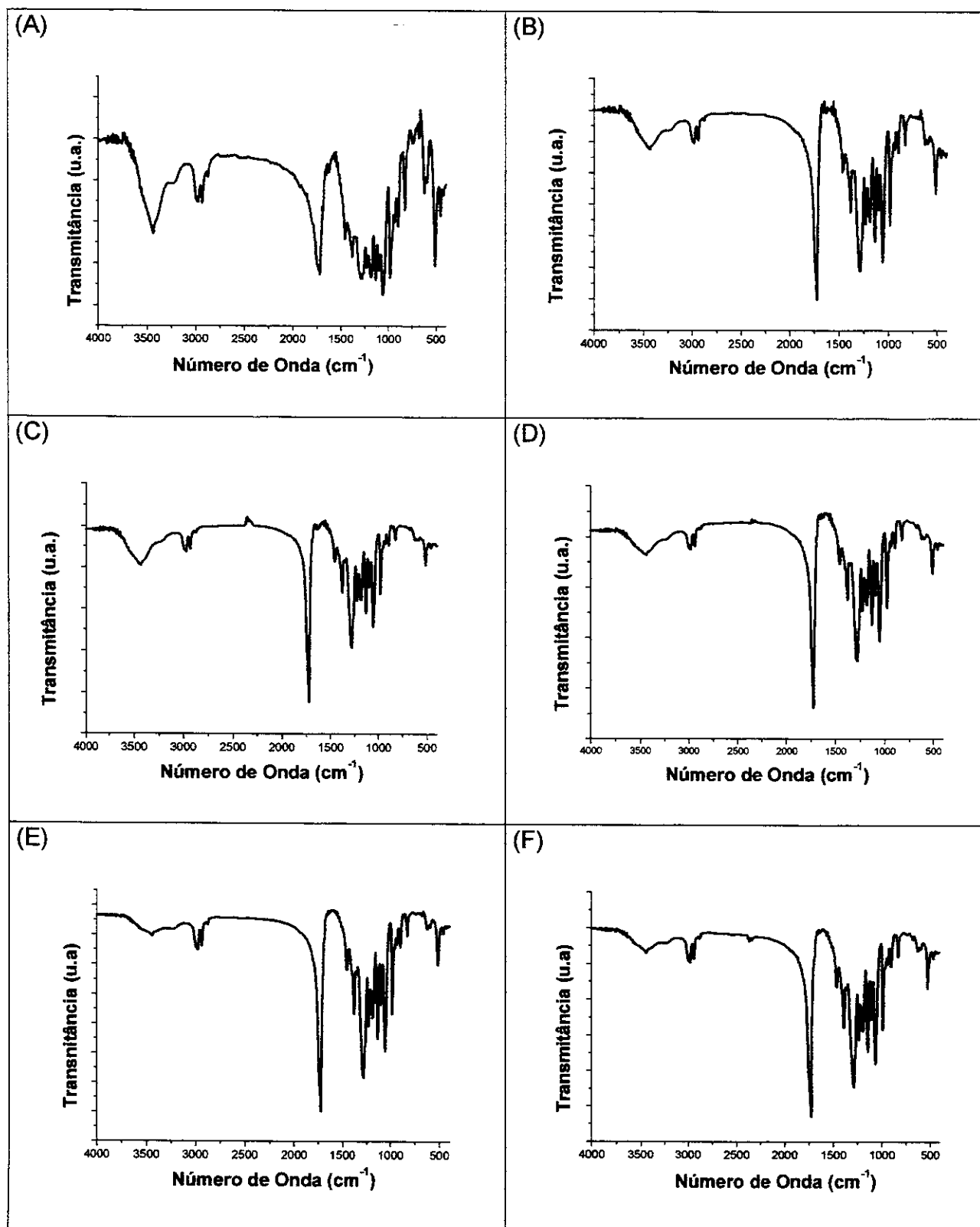


Figura 20: Espectro de FTIR : (A) PHB inicial , (B) PHB Diol 1, (C) PHB Diol 2 , (D) PHB Diol 3, (E) PHB Diol 4, (F) PHB Diol 5, obtidos de dispersões em KBr.

Como a análise da banda de absorção de hidroxila em espectros obtidos a partir de pastilhas de KBr pode ser prejudicada pela presença de H_2O foram preparados e analisados filmes do PHB inicial e suas alíquotas, e a Figura 21 apresenta o resultados destas análises. A principal observação a ser feita diz respeito ao deslocamento da linha base na região de absorção da hidroxila a partir do PHBdiol2 em diante. Esse fato é atribuído ao aumento relativo das carboxilas do fim da cadeia. A banda referente à hidroxila sofre um alargamento com a extensão da reação, possivelmente ocasionado pela presença da hidroxila do álcool primário e da carboxila.

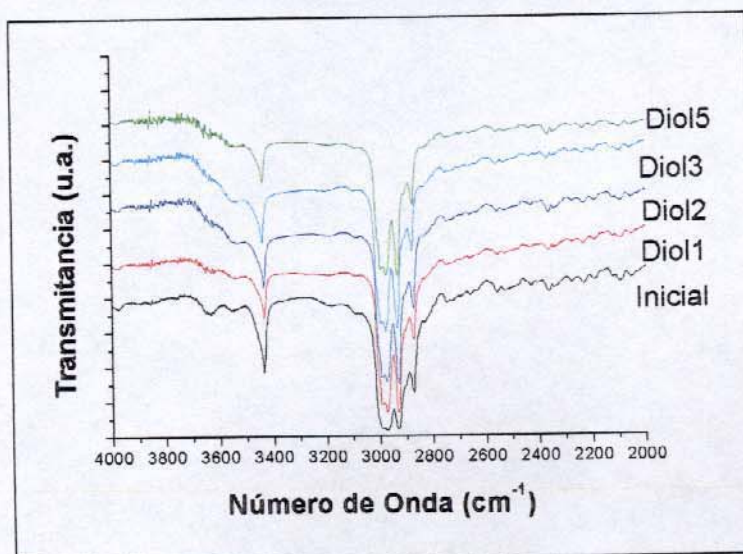


Figura 21 : Espectros FTIR para PHB Inicial e alíquotas - região de absorção da hidroxila.

A Tabela 9 apresenta a massa molar média ponderada ($\overline{M}_w$), a massa molar média aritmética ($\overline{M}_n$) e a polidispersão ($\frac{\overline{M}_w}{\overline{M}_n}$) para o PHB Inicial e as alíquotas transesterificadas via catálise com H_2SO_4 . Não foram realizadas análises para o material transesterificado com HCl . O PHB Inicial apresenta $\overline{M}_w = 274000$ g/mol, e uma polidispersão elevada de 8. À medida que a transesterificação ocorre, observa-se a redução da massa molar, bem como a modificação da polidispersão. A Figura 22 apresenta as curvas de distribuição de massa molar obtidas a partir do GPC. Observa-

se que as curvas vão se deslocando para valores menores de massa molar. Outro ponto importante a ser observado é o aparecimento de um segundo pico com valor de menor de massa molar, em torno de 3.500 g/mol, para todas as alíquotas transesterificadas, indicando que o produto da reação apresenta distribuição bimodal, e que a distribuição gaussiana ou normal apresentada pelo PHB inicial é alterada de maneira não aleatória pela transesterificação, o que pode indicar que o mecanismo desta reação não é completamente aleatório, e que pode ocorrer a reação preferencial das cadeias poliméricas de menor massa molar. Esse comportamento não é observado para transesterificação via organometálica quando o PHB utilizado possui polidispersão em torno de 2^[60], onde a distribuição de massa molar permanece unimodal com a evolução da reação. Outro ponto importante é o aumento de massa molar média ponderada $\overline{M}_w$, da alíquota de PHB Diol 5 em relação à PHB Diol 4, indicando talvez a formação do copolímero apresentado na Figura 12 (estrutura C).

Tabela 9: Massa molar para PHB inicial e alíquotas

Amostra	$\overline{M}_w$ (g/mol)	$\overline{M}_n$ (g/mol)	$\overline{M}_w / \overline{M}_n$
PHB inicial	274.000	36.000	8
PHB diol1	92.000	13.000	7
PHB diol2	58.000	9.100	6
PHB diol3	40.000	7.400	5
PHB diol4	27.000	6.300	4
PHB diol 5	36.500	6.300	6

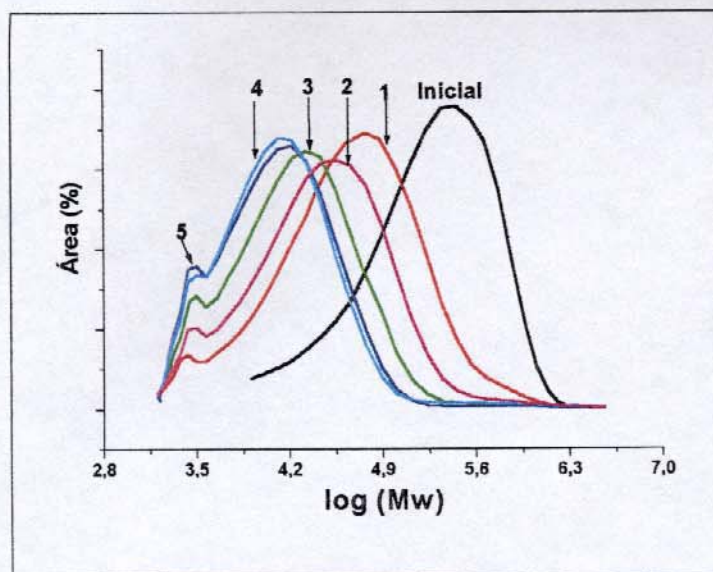


Figura 22: Distribuição massa molar do PHB inicial e alíquotas transesterificadas obtida a partir de GPC: (1) PHB Diol1, (2) PHB Diol2, (3) PHB Diol3, (4) PHB Diol 4 e (5) PHB Diol 5.

A Figura 23 apresenta a dependência de $\overline{M}_w$ e $\overline{M}_n$ com o tempo de reação. Observa-se que $\overline{M}_w$ e $\overline{M}_n$ se aproximam à medida que a reação avança, reduzindo a polidispersão. A relação entre a massa molar ponderada ($\overline{M}_w$) e o tempo de reação pode ser considerada exponencial, o que difere dos dados publicados para reações semelhantes utilizando um catalisador organo-metálico, para as quais se observa um comportamento sigmodal (Figura 24) ^[60]. A justificativa para este fato está relacionada à hidrólise do catalisador que ocorre em função da geração de água pela reação paralela de esterificação das carboxilas e hidroxilas nas terminações da cadeia do PHB. Em função disto, nas primeiras 2 horas de reação catalisada por organo-metálicos, não se observa a redução de massa molar, e assim, se faz necessário a adição de quantidades adicionais de catalisador no decorrer da reação, o que não se faz necessário na transesterificação catalisada por ácido.

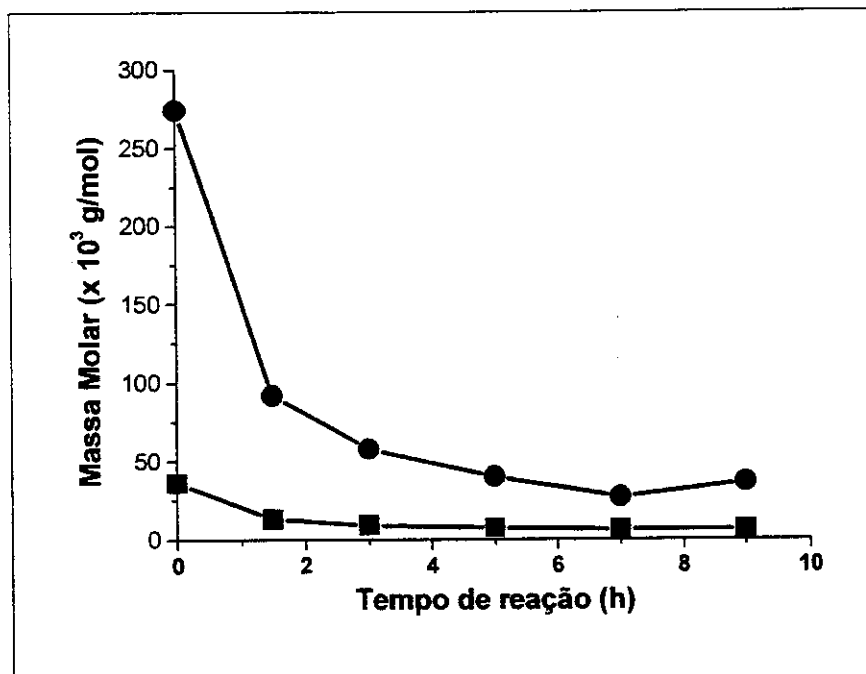


Figura 23: Evolução da Massa molar com tempo de reação na transesterificação catalisada por ácido : $\overline{M}_w$ (●) e $\overline{M}_n$ (■).

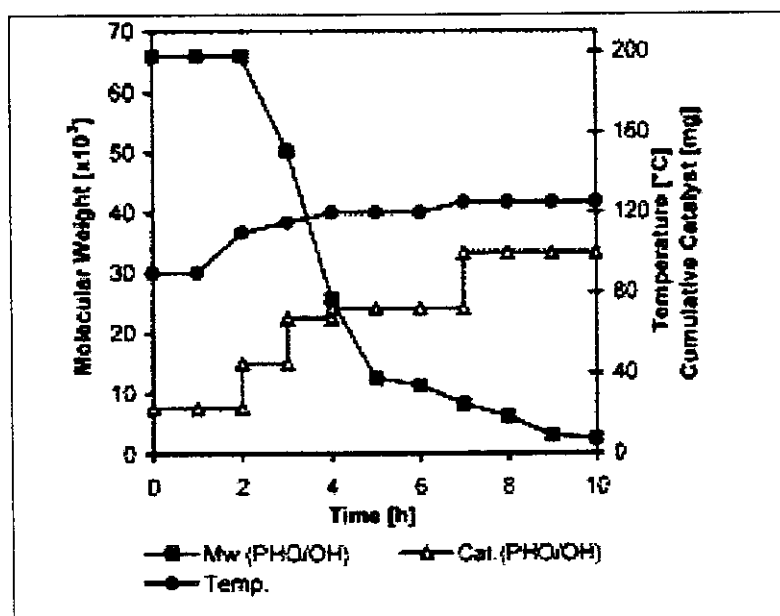


Figura 24: Evolução da Massa molar com tempo de reação na transesterificação catalisada por organometálico. ⁽⁶⁰⁾

A Figura 25 mostra as curvas termogravimétricas para o PHB inicial e transesterificado via catálise com H_2SO_4 . Na Tabela 10 encontram-se as temperaturas correspondentes ao início (T_i) e ao fim de degradação (T_f), a diferença entre T_i e T_f

(ΔT) e a temperatura correspondente à taxa máxima de perda de massa ($T_{\text{máx}}$). A $T_{\text{máx}}$ foi obtida da derivada da curva termogravimétrica em função da temperatura, apresentada na Figura 26.

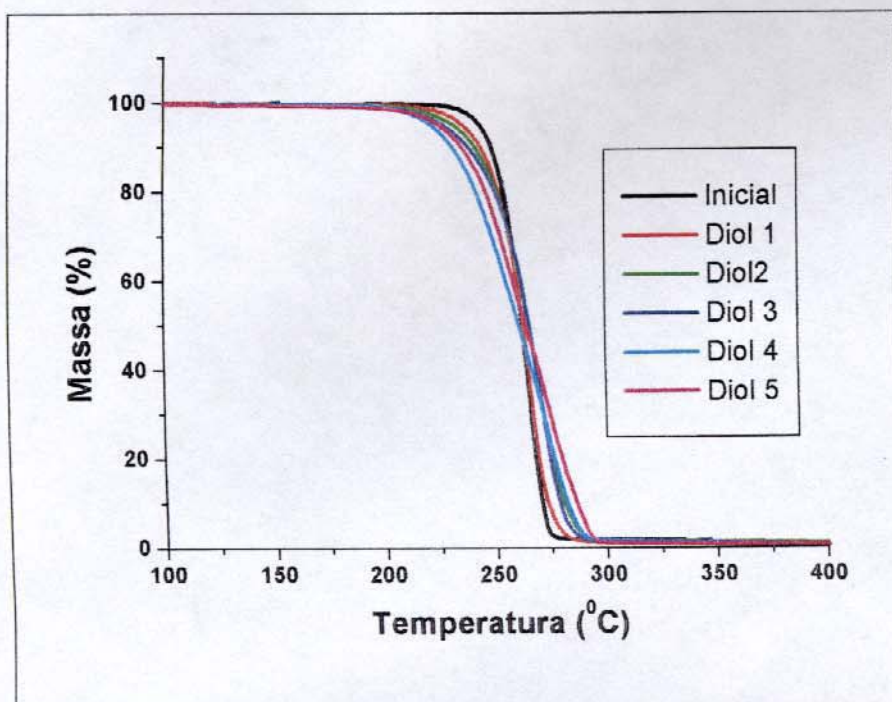


Figura 25 - Curvas termogravimétricas do PHB e das frações transesterificadas em atmosfera inerte de argônio. Taxa de aquecimento a 10°C/min.

Tabela 10 - Dados obtidos na análise termogravimétrica do PHB e frações transesterificadas

Polímero	T_i (°C)	T_f (°C)	ΔT (°C)
PHB inicial	243	272	29
PHBDiol1	236	273	37
PHBDiol2	232	281	49
PHBDiol3	227	280	53
PHBDiol4	221	285	64
PHBDiol5	225	289	64

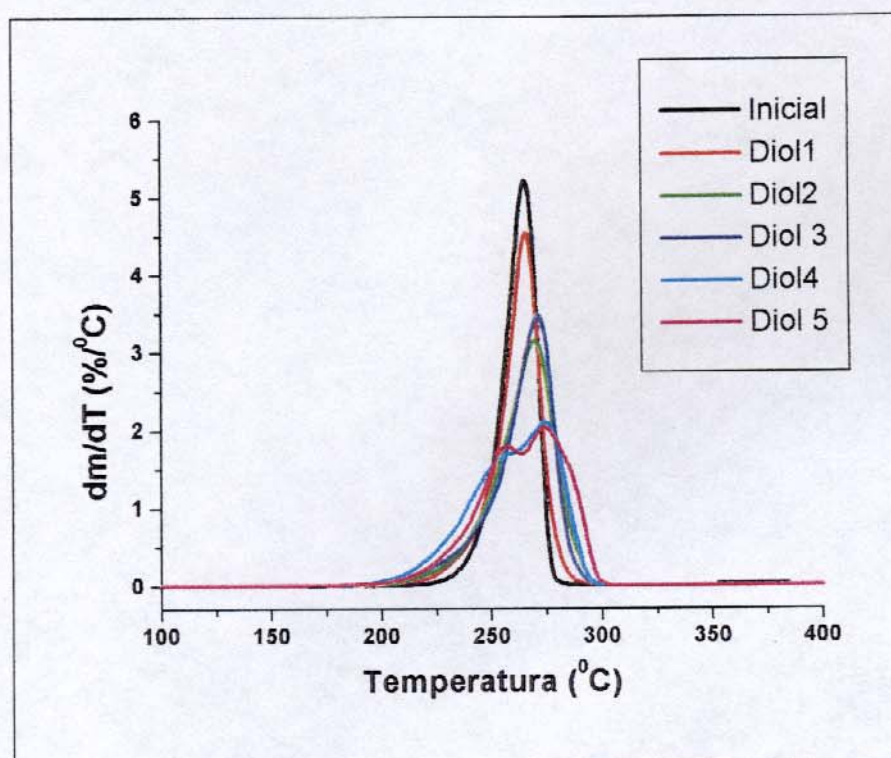


Figura 26: Curvas termogravimétricas diferenciais em função da temperatura para a reação de degradação térmica em atmosfera inerte.

Segundo as análises, tanto o PHB inicial quanto a primeira alíquota da transesterificação, PHBDiol1, apresentam temperatura inicial de degradação em 254 °C e final em 272 °C, as demais frações apresentam a seguinte tendência: a degradação começa a temperaturas mais baixas em relação ao PHB inicial e terminam em temperaturas mais altas de acordo com o mesmo referencial. A diferença de temperatura entre o início e o fim de degradação aumenta à medida que aumenta o tempo de transesterificação. A Figura 27 ilustra esta variação de temperatura.

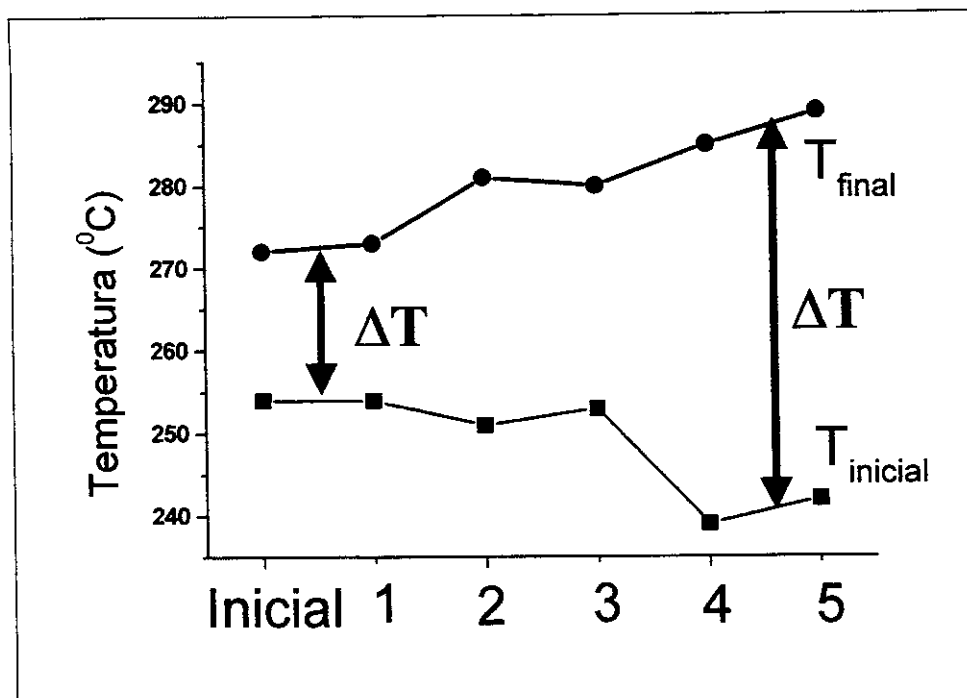


Figura 27: Relação entre temperatura inicial (■) e final (●) de degradação para PHB Inicial e demais frações transesterificadas (1..5).

Esse fato pode ser explicado de acordo com o mecanismo proposto de degradação, que prevê que a perda de massa do polímero pode ser minimizada pela esterificação das hidroxilas terminais com os ácidos carboxílicos gerados na degradação. As amostras mais transesterificadas possuem uma quantidade maior de hidroxilas disponíveis em relação à massa molar. Desse modo pode-se prever que essa reação de esterificação diminua a taxa de degradação do material, a tal ponto que a degradação se manifesta como dois processos. Como o observado para as alíquotas 4 e 5 : Enquanto as curvas termogravimétricas revelam apenas uma única etapa de perda de massa, a curva dm/dT versus T (Figura 26) mostra dois picos, indicando a perda de massa em duas etapas.

A análise termogravimétrica permite acompanhar a cinética global de degradação e, por monitorar a variação de massa de uma dada amostra, é sensível a diferenças de massa molar para polímeros que sofrem cisão de cadeia aleatória, como o PHB. Cadeias maiores, quando sofrem cisão, apresentam maior probabilidade de resultar em segmentos grandes de baixa volatilidade, sendo que esta probabilidade

diminui com a redução da massa molar do polímero a uma dada temperatura. Desta forma, a cisão de cadeias de polímeros de menor massa molar poderá resultar em espécies mais voláteis e detectáveis por variação de massa a temperaturas mais baixas. Isto justifica a degradação do PHB transesterificado iniciar a temperaturas menores, ou melhor ser detectada mais cedo.

A diminuição de massa molar com a transesterificação deve diminuir a viscosidade do PHB, aumentando a chance de seus grupos hidroxilas e carboxila se combinarem retardando a perda de massa. Além disso, com a redução de massa molar também há um aumento relativo de hidroxilas terminais, que também deve influenciar a taxa de condensação, deslocando o fim da degradação para temperaturas maiores.

A Tabela 11 apresenta as temperaturas referentes às seguintes taxas de degradações : 10 % ($T_{10\%}$), 50 % ($T_{50\%}$), 90 % ($T_{90\%}$). Apesar da degradação inicial das alíquotas transesterificadas começarem mais cedo, a temperatura referente a 50 % de perda de massa é similar para todos os materiais, indicando que, apesar de começar em temperaturas menores, a conversão das alíquotas transesterificadas é menor.

Tabela 11: Temperaturas características para decomposição térmica do PHB Inicial e alíquotas transesterificadas, aquecidos a uma taxa de 10 °C/min

Material	$T_{10\%}$ (°C)	$T_{50\%}$ (°C)	$T_{90\%}$ (°C)
PHB Inicial	249	263	271
PHB Diol 1	245	263	273
PHB Diol 2	242	266	280
PHB Diol 3	239	266	279
PHB Diol 4	239	262	282
PHB Diol 5	235	264	286

A Figura 28 apresenta a taxa de conversão $d\alpha/dt$ em função da conversão α considerando:

$$\alpha = 1 - \frac{m}{m_0} \quad (7)$$

onde m é massa residual e m_0 é massa inicial.

$$\frac{d\alpha}{dt} = \left(\frac{d\alpha}{dT} \right) * \frac{dT}{dt} \quad (8)$$

onde dT/dt é taxa de aquecimento

Observa-se que, para uma mesma conversão, a taxa de decomposição é maior para o PHB inicial e diminui com a extensão da transesterificação. A taxa máxima de conversão também varia com a extensão da reação de transesterificação, fato que pode ser explicado pela desaceleração da mesma em função do aumento do teor de hidroxilas. A Tabela 12 apresenta as taxas máximas de degradação para PHB inicial e cada uma das alíquotas, e a Figura 29 ilustra a acentuada queda destas taxas, em relação à evolução da reação.

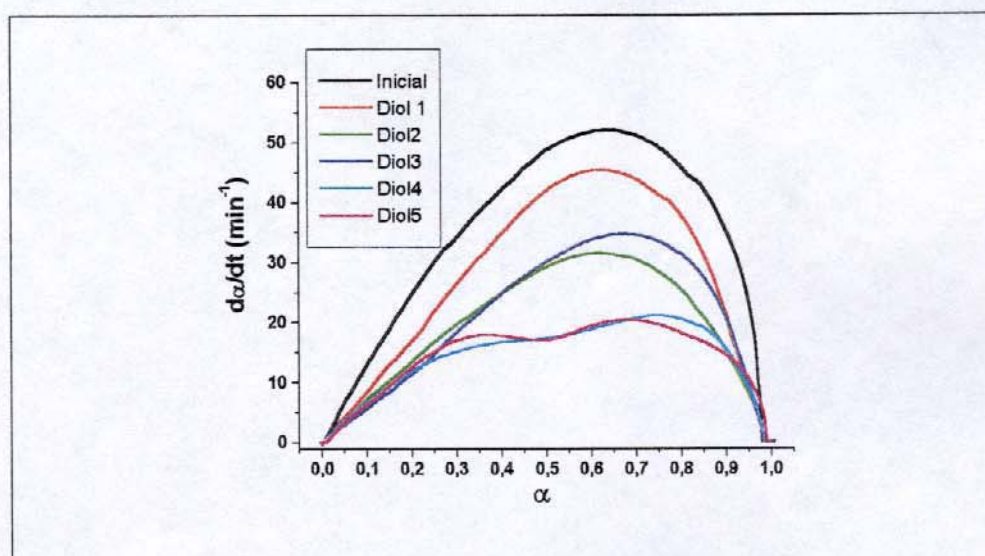


Figura 28: Taxa de degradação em função da conversão para o PHB inicial e transesterificado.

Tabela 12: Taxa de degradação máxima ($d\alpha/dt$), conversão ($\alpha_{\text{máx}}$) e temperatura correspondentes às taxas máximas ($T_{\text{máx}}$) de degradação.

Polímero	$d\alpha/dt$ (min^{-1})	^(a) $\alpha_{\text{máx}}$	^(b) $T_{\text{máx}}$ ($^{\circ}\text{C}$)
PHB inicial	52	0,63	266
PHB Diol1	45	0,63	266
PHB Diol2	35	0,68	270
PHB Diol3	31	0,62	271
PHB Diol4*	21 e 17	0,38 e 0,75	250, 274
PHB Diol5*	20 e 18	0,36 e 0,67	256, 275

*Essas curvas apresentam dois máximos de taxa de degradação

(a) Conversão obtida no máximo da curva de $d\alpha/dt \times \alpha$ (Figura 28)

(b) Temperatura obtida no máximo da curva de $dm/dT \times T$ (Figura 26)

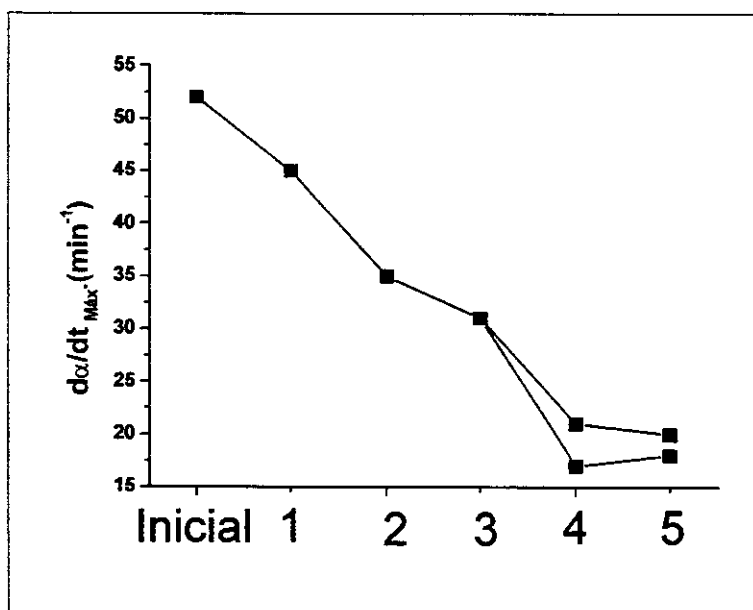


Figura 29: Variação da taxa de degradação para o PHB Inicial (I) e demais alíquotas PHB Diol_i (i=1..5).

A cinética de degradação, pode ser avaliada a partir da equação 9 ^[17] derivada da lei de velocidades $v = k[C]^n$:

$$-\frac{dm}{dt} = k_0 \times \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \times (m)^n \quad (9)$$

onde $m = 1 - \alpha$ é a fração de massa residual ($0 < m < 1$), e n a ordem da reação.

Linearizando e rearranjando a Equação 9, obtém-se a Equação 10:

$$\ln\left(-\frac{dm}{dt}\right) - n \times \ln(1 - m) = \ln k_0 - \frac{E_a}{R} \times \frac{1}{T} \quad (10)$$

É possível, então, plotar $\ln(-dm/dt) - n \times \ln(1 - m)$ versus $1/T$ (diagrama de Arrhenius) e obter valores como k_0 e energia de ativação (E_a) para cada uma das alíquotas de transesterificação e para o PHB inicial. A ordem de reação para a degradação do PHB apresentada na literatura é $n=1$ [32]. A Figura 30A apresenta os gráficos obtidos com base nessa equação, utilizando dados referentes à faixa de conversão (α) de 0 a 0,96 (Figura 30B). A Tabela 13 apresenta os parâmetros k_0 , E_{at} e o coeficiente de correlação obtidos a partir da regressão linear.

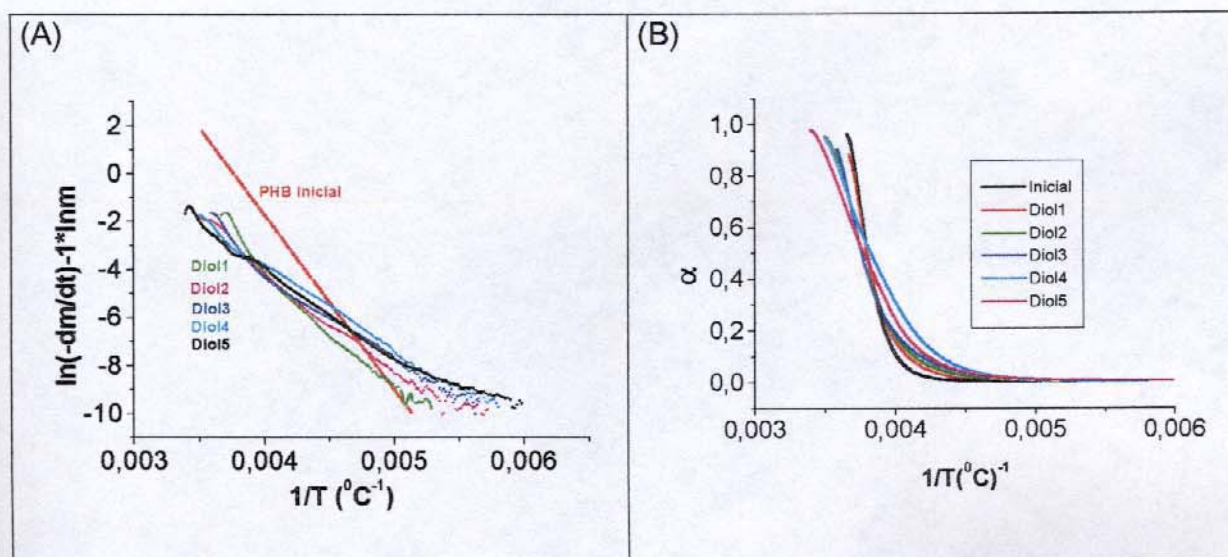


Figura 30: (A) Curvas obtidas a partir da equação 9: conversão em função do inverso da temperatura na faixa escolhida para linearização; (B) faixa escolhida para a linearização em função do inverso da temperatura.

Os coeficientes de correlação obtidos nas linearizações foram todos superiores a 0,98, o que representa um ajuste razoável dos dados à reta. A razão E_{at}/R representa a tendência da energia de ativação para a reação de degradação do PHB inicial e as alíquotas transesterificadas. A energia de ativação dá uma idéia de dependência da

taxa de reação com a temperatura. Quanto maior a energia de ativação, maior a variação da constante de velocidade com a temperatura. No caso do PHB transesterificado observa-se uma queda de E_{at} com o avanço da transesterificação. Este resultado é contraditório aparentemente, pois verifica-se que, com a evolução da transesterificação, a taxa de conversão para a degradação térmica a uma dada conversão diminui. Entretanto, a transesterificação é acompanhada por diminuição de massa molar, e, como já discutido, cadeias menores apresentam maior chance de gerarem na cisão segmentos mais curtos e voláteis, e esta tendência é intensificada pelo aumento da temperatura.

Neste caso, seria esperada uma taxa de reação mais alta para o PHB transesterificado a uma dada conversão e temperatura, o que não se verifica nas Figuras 26 e 27. Esse fato está relacionado à redução no valor de k_0 com a evolução da transesterificação. O parâmetro k_0 , característico de cada sistema, é um indicativo da propensão do sistema a reagir, ou seja, é um parâmetro relacionado à reatividade. A redução de k_0 indica a diminuição desta propensão e, conseqüente, redução na taxa de reação a uma dada temperatura e conversão. Para esse sistema específico a redução de k_0 pode ser atribuída à reação concorrente à degradação e cisão das cadeias, a condensação entre hidroxilas e carboxilas, (que é mais pronunciada nas alíquotas transesterificadas, em função do aumento do número relativo de hidroxilas), que se opõe à degradação e reduz assim a taxa global de reação. A Figura 31 apresenta as tendências de k_0 e E_{at} para o PHB inicial e cada uma das frações transesterificadas.

Tabela 13: Dados obtidos na linearização da equação 9

Alíquota	$\ln k_0$	E_{at}/R	R (fator de correlação)
PHB Inicial	27	7298	0,9885
PHB diol1	16	5100	0,9889
PHB diol2	12	4000	0,9913
PHB diol3	11	3756	0,9890
PHB diol4	10	3493	0,9977
PHB diol5	9	3333	0,9908

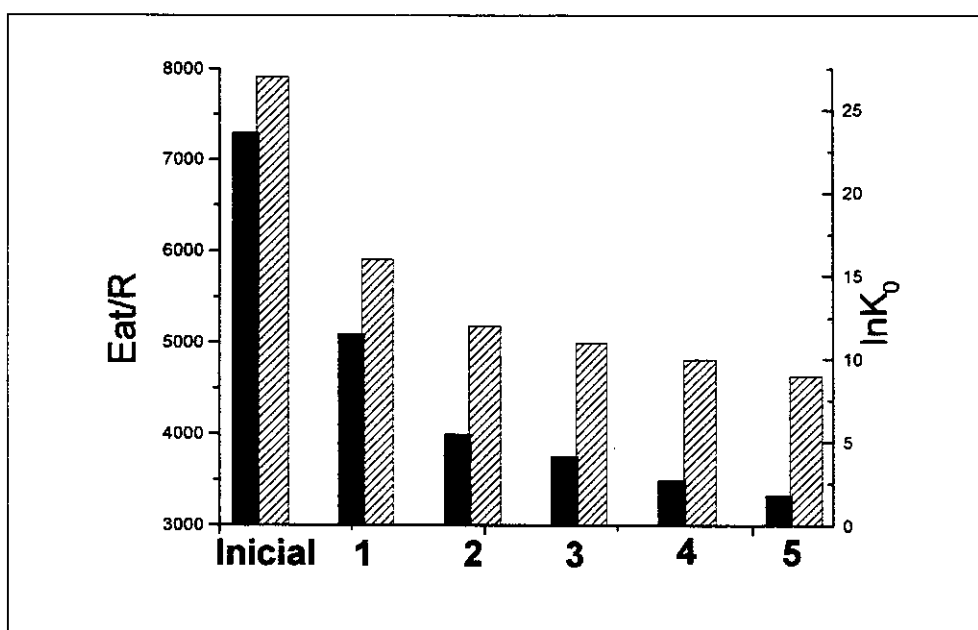


Figura 31: E_{at} (■) e k_0 (▨) para PHB inicial e cada uma das alíquotas transesterificadas PHB Diol_i (i=1..5).

A Figura 32 (A) apresenta a curva referente ao segundo aquecimento do PHB inicial, a uma taxa de 10 °C/min. O PHB apresenta dois picos endotérmicos de intensidade próxima por volta de 170° C que são atribuídos à fusão. A Figura 32 (B) apresenta o comportamento do PHB inicial resfriado a taxa de 10 °C/min, a partir do estado fundido. Para estas condições de análise o PHB sofre cristalização no resfriamento, sendo que a temperatura de cristalização (T_c) é 75 °C.

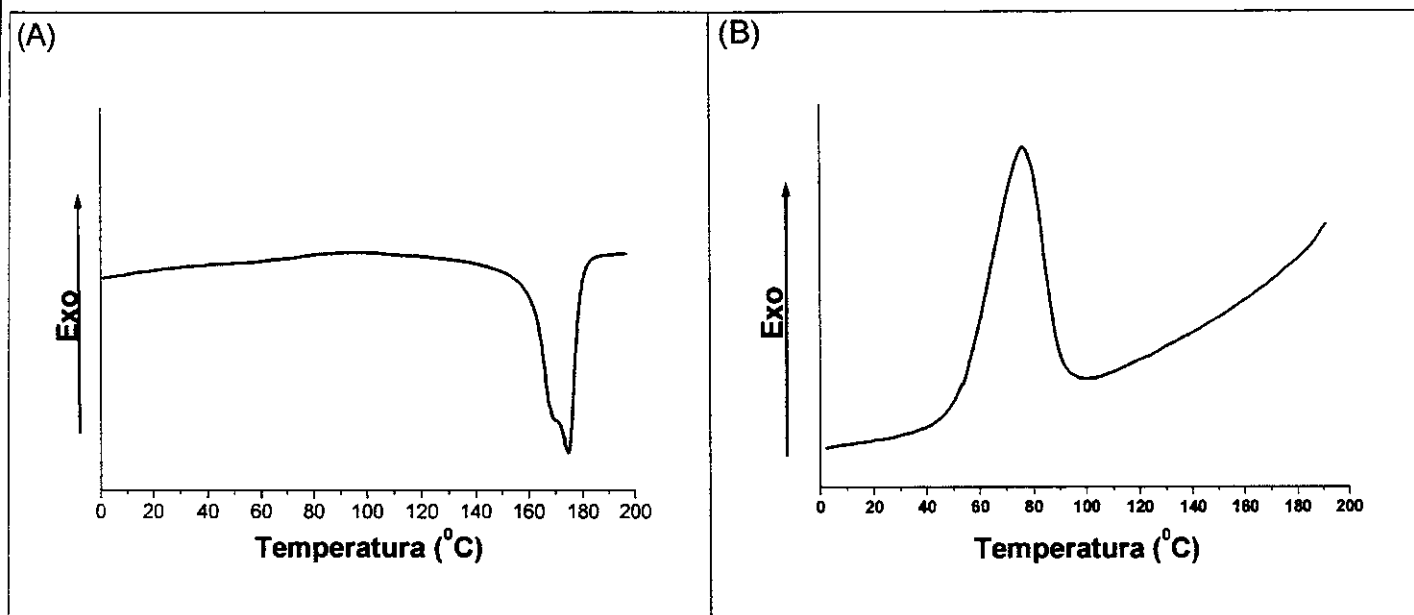


Figura 32: Curvas de DSC normalizadas com respeito à massa para o PHB inicial: (A) aquecimento; (B) resfriamento a 10 °C/min.

A presença de dois picos de intensidade próxima indica a existência de duas famílias de cristais com lamelas de espessuras distintas ou uma possível recristalização. Para que fosse verificada esta última possibilidade, foram realizados experimentos em que o PHB cristalizado sob condições idênticas foi aquecido a diversas taxas variando de 5 a 40 °C/min. A Figura 33 apresenta os resultados obtidos nessa análise, e a partir dela é possível verificar: 1) o deslocamento do pico de fusão para temperaturas mais altas com o aumento da taxa de aquecimento, que é atribuído ao fenômeno de fusão em condições de superaquecimento; 2) o desaparecimento gradativo de um dos picos à medida que a taxa de aquecimento aumenta, comprovando a hipótese da recristalização do polímero. A recristalização é definida como a fusão de cristais pequenos ou defeituosos existentes no polímero, seguido de cristalização. Este fenômeno se manifesta em experimentos conduzidos a baixas taxas de aquecimento, pois há tempo suficiente para que ocorra a fusão, a recristalização e novamente a fusão. Quanto maior a taxa de aquecimento, menor a chance de que

ocorra a recristalização, pois o material atinge rapidamente temperaturas acima da sua temperatura de fusão no equilíbrio, sendo impossível sua cristalização. Se o pico duplo da fusão do PHB inicial fosse referente a diferentes famílias de lamelas, a sua característica seria mantida em diferentes taxas de aquecimento.

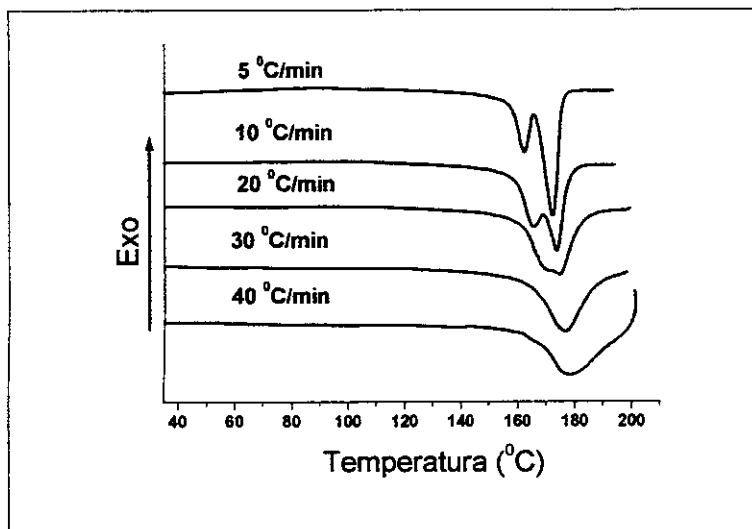


Figura 33: Curvas de DSC do PHB inicial aquecido a diversas taxas, normalizadas com respeito à massa e à taxa de aquecimento.

A Figura 34 (A) e (B) apresenta as curvas referentes ao segundo aquecimento e resfriamento, a uma taxa de 10 °C/min do PHB inicial e alíquotas transesterificadas via catálise com HCl a 35 °C. Com exceção da última alíquota da reação, o PHB Diol 4_{HCl}, não foram observadas modificações significativas entre as amostras, indicando que o grau de transesterificação obtido a partir desta reação não foi elevado o suficiente para ocasionar variações na fusão e cristalização do material. As modificações observadas no PHB Diol 4_{HCl} foram o deslocamento na temperatura de fusão para um valor cerca de 4 °C mais baixo, e ainda a cristalização deste material que não foi completa no resfriamento, sendo finalizada no aquecimento do material. Este é um indicativo de que a transesterificação forma produtos com maior dificuldade de cristalização.

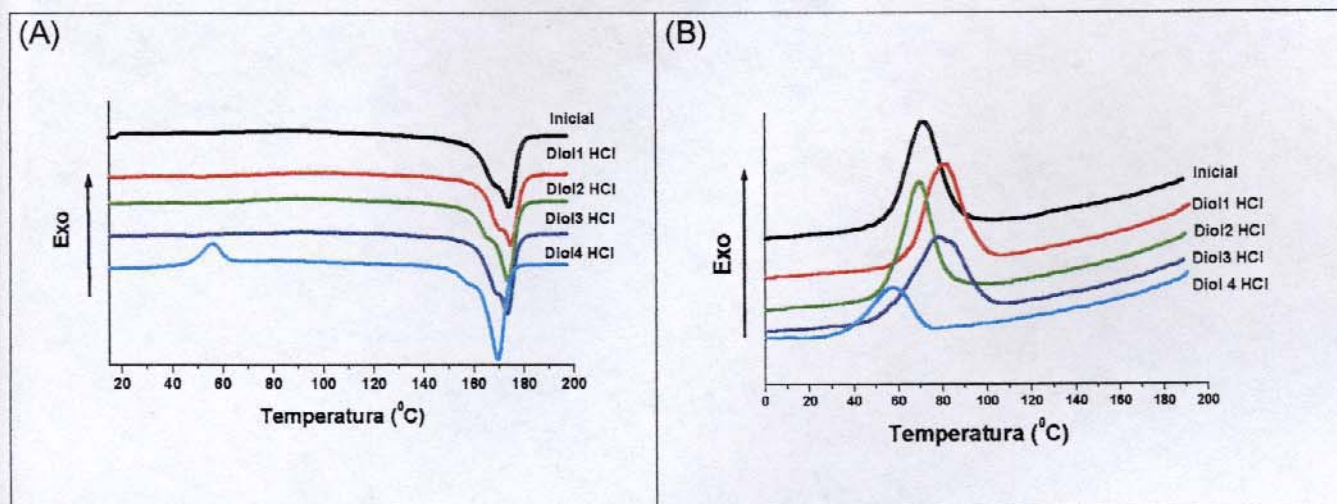


Figura 34: Curvas de DSC normalizadas com relação à massa para o PHB inicial e frações transesterificadas via catálise com HCl: (A) segundo aquecimento; (B) resfriamento a 10°C/min.

As curvas de DSC na Figura 35 correspondem à etapa do segundo aquecimento do PHB inicial e das alíquotas transesterificadas via catálise com H_2SO_4 a uma taxa de 10 °C/min, após as amostras terem sido resfriadas nas mesmas condições à taxa de 10°C/min. As curvas de DSC referentes ao aquecimento das alíquotas transesterificadas mostram um pico exotérmico, referente à cristalização, que não ocorre para o PHB inicial, pois este sofreu total cristalização no resfriamento (Figura 36). Enquanto o PHB inicial apresenta dois picos de fusão, as frações transesterificadas apresentam um terceiro, um indicativo de que, além do fenômeno de recristalização característico do PHB, é possível que haja famílias de cristais com espessuras de lamelas diferentes, hipótese que pode ser reforçada pela distribuição de massa molar bimodal das frações transesterificadas.

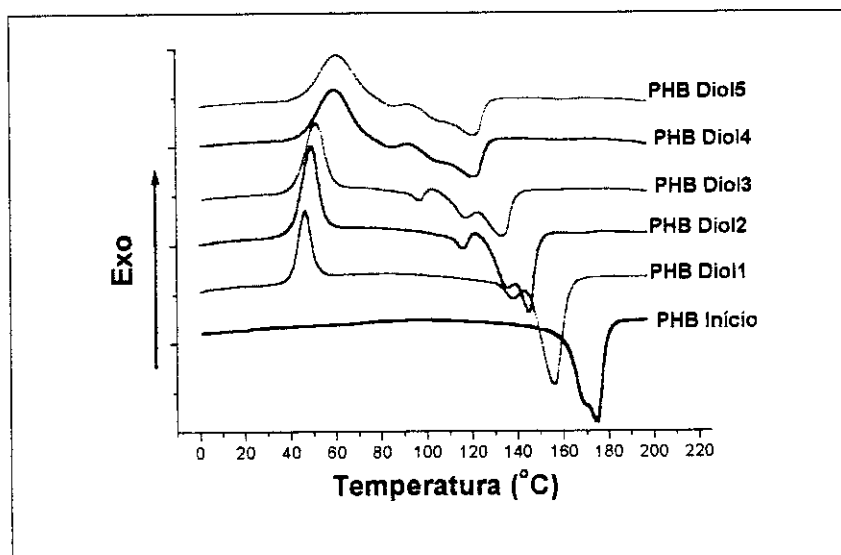


Figura 35 - Curvas do DSC para o PHB inicial e frações transesterificadas por catálise via H_2SO_4 , normalizadas com relação à massa, correspondentes ao segundo aquecimento a uma taxa de $10^\circ C/min$.

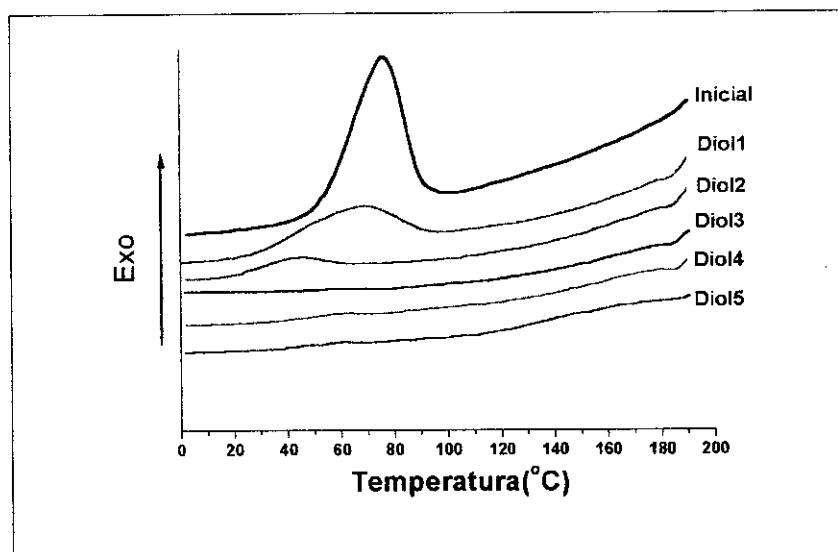


Figura 36 - Curvas do DSC para o PHB inicial e frações transesterificadas por catálise via H_2SO_4 , normalizadas com relação à massa, correspondentes resfriamento a uma taxa de $10^\circ C/min$.

Na Tabela 14 estão dispostas informações sobre a temperatura de cristalização no resfriamento (T_{cresfr}), temperatura de cristalização no segundo aquecimento (T_{caq}), temperatura de fusão (T_f) correspondente ao pico mais intenso, as entalpias

relacionadas à essas transições e ainda a diferença entre as temperaturas de fusão e cristalização (considerando os valores de mínimo e máximo dos picos, respectivamente). Observa-se uma diferença entre as entalpias de cristalização e de fusão, sendo que a entalpia de cristalização (ΔH_c), para o PHB Inicial, e para as frações transesterificadas Diol1 e Diol2 corresponde a cerca de 45 % da entalpia de fusão ΔH_f . Este fato está relacionado à recristalização do polímero durante seu aquecimento. No caso das alíquotas Diol3, 4 e 5 essa diferença cai para 18 % e em alguns casos ΔH_c é maior que ΔH_f ; o que pode estar relacionado à imprecisões nas determinações destas entalpias, uma vez que os picos de fusão e cristalização se sobrepõem (Figura 35).

É possível que o pico referente à fusão das alíquotas transesterificadas apresente um perfil que associa recristalização e fusão de diferentes famílias de cristais.

Tabela 14: Resultados obtidos no DSC do PHB inicial e transesterificados

Material	T_{cresfr} (°C)	ΔH_{cresfr} (J/g)	T_{caq} (°C)	ΔH_{caq} (J/g)	T_f (°C)	ΔH_f (J/g)	ΔT (°C)	
							$T_f - T_{\text{cresfr}}$	$T_f - T_{\text{caq}}$
PHB Inicial	75	59	-	-	176	98	101	-
PHBdiol1	64	22	46	30	156	96	92	110
PHBdiol2	41	5	49	51	145	78	104	96
PHBdiol3	-	-	51	47	133	57	-	82
PHBdiol4	-	-	59	52	121	45	-	62
PHBdiol5	-	-	60	62	121	40	-	61

Um ponto importante a ser observado na Tabela 14 é o deslocamento pronunciado na faixa temperatura de fusão à medida que a reação evolui, indicando uma forte relação entre a redução da massa molar e a temperatura de fusão do polímero. A Equação 11⁽⁶⁴⁾ descreve a dependência da temperatura de fusão com a massa molar:

$$\frac{1}{T_f} - \frac{1}{T_f^0} = \frac{R}{\Delta H_f} \times \frac{2}{P_n} \quad (11)$$

P_n = Grau de Polimerização

ΔH_f = Entalpia de fusão por unidade repetitiva

T_f^0 = temperatura de fusão no equilíbrio

Na Figura 37, é mostrada a relação entre o inverso da temperatura de fusão e o inverso do grau de polimerização calculado a partir de $\overline{M_w}$, a qual se ajusta a uma reta com coeficiente de correlação 0,9844, concordando com o previsto na equação 11.

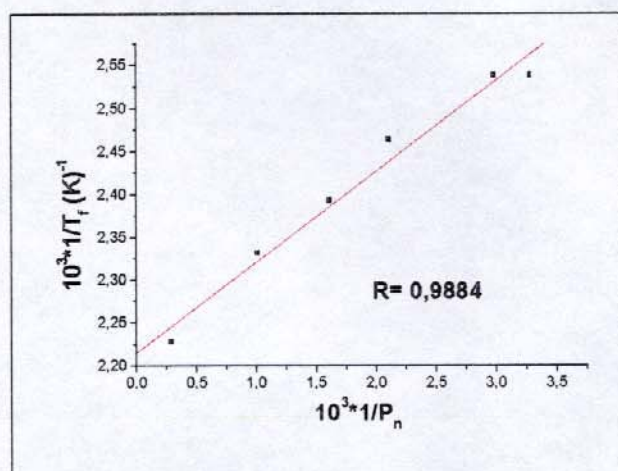


Figura 37 – Dependência entre inverso da temperatura com inverso do grau de polimerização, obtido com base em $\overline{M_w}$, conforme equação 11

A aplicação da equação 11 permite a estimativa da entalpia de fusão da unidade repetitiva, ΔH_f e a temperatura de fusão no equilíbrio T_f^0 , a partir dos coeficientes angulares e lineares da reta do gráfico apresentado na Figura 37, respectivamente:

$$\frac{1}{T_f^0} = 2,2 \quad (\text{coeficiente linear})$$

$$\frac{2R}{\Delta H_f} = 0,11 \quad (\text{coeficiente angular})$$

O valor obtido para a temperatura de fusão no equilíbrio é $T_f^0 = 178^\circ \text{C}$, valor este, próximo ao descrito na literatura para o PHB homopolímero de baixa massa molar (em torno de 20.000 g/mol) de 179°C [14]. O valor obtido para a entalpia de fusão por unidade estrutural é de $\Delta H_f = 157 \text{ J/mol}$.

Outro ponto importante a ser avaliado é a variação da largura do pico de fusão à medida que a transesterificação evolui. A Tabela 15 apresenta a temperatura em que se inicia (T_f^i) e termina (T_f^f) a fusão e a diferença entre elas (ΔT_f), obtidos a partir das curvas do DSC apresentadas na Figura 36.

Tabela 15: Temperaturas correspondentes ao início (T_f^i), término (T_f^f) da fusão e diferença entre elas para o PHB e das frações transesterificadas

Material	T_f^i ($^\circ\text{C}$)	T_f^f ($^\circ\text{C}$)	ΔT_f ($^\circ\text{C}$)
PHB inicial	155	184	29
PHB Diol 1	127	167	40
PHB Diol 2	110	153	43
PHB Diol 3	90	143	53
PHB Diol 4	72	131	59
PHB Diol 5	73	132	59

A figura 38 ilustra a relação entre a largura da fusão e a extensão da transesterificação. Ocorre um aumento acentuado na largura da fusão com a extensão da transesterificação, apesar da redução ocorrida na polidispersão, indicando uma distribuição no tamanho dos cristais mais dispersa, ocasionada pela maior influência dos defeitos inseridos na cadeia, $-\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O}-$, além do fenômeno de recristalização já mencionado.

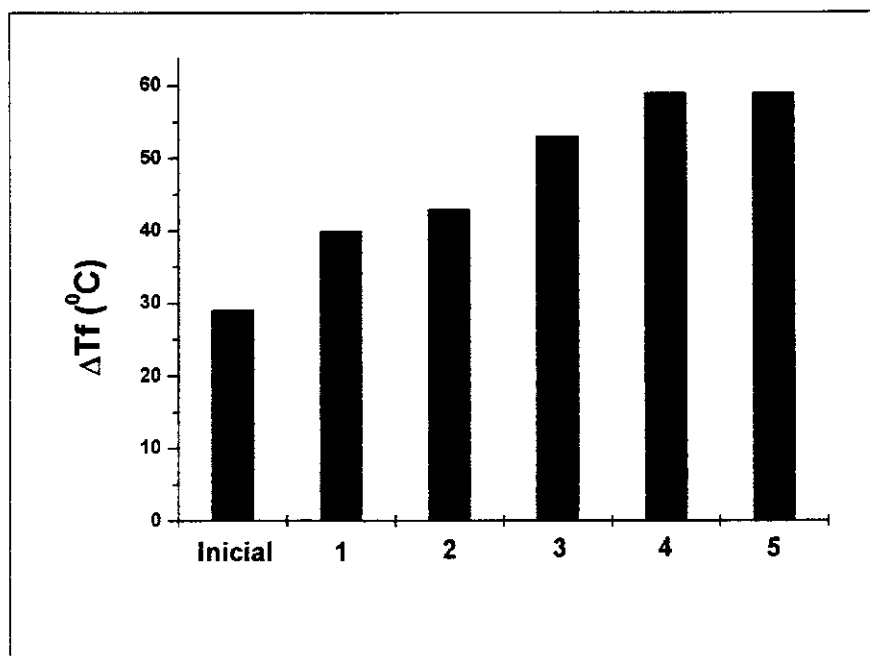


Figura 38: Largura do pico de fusão ΔT_f em função da extensão da transesterificação

O grau de cristalização também é fortemente afetado pela transesterificação. O grau de cristalinidade foi calculado baseado na equação 12 e considerando a entalpia de fusão do material 100 % cristalino a 146 J/g apresentado na primeira coluna da Tabela 16 ^[19]. A segunda coluna da Tabela 16 mostra a fração de cristalinidade do PHB transesterificados em relação ao inicial. Para a determinação da cristalinidade, o PHB inicial e os polímeros transesterificados foram submetidos à cristalização isotérmica a 70 ° C por duas horas, resfriados rapidamente a 30 ° C/min até 0 ° C e aquecidos a uma taxa de 40 ° C/min para minimizar os efeitos de recristalização. A Figura 38 apresenta as curvas obtidas nesta análise.

$$X_c = \frac{\Delta H_f}{\Delta H_{f_{PHB_{inicial}}}} \quad (12)$$

Avaliando a Tabela 16 e a Figura 39, observa-se a redução ΔH_f à medida que a transesterificação evolui, fato atribuído também à inserção dos defeitos (-O(CH₂)₂O-) e ao aumento da influência dos grupos terminais, devido a redução de massa molar, que

dificulta a formação de cristais, e ocasiona a redução da cristalinidade do polímero. As curvas de PHB diol 4 e 5 apresentam um pico de fusão quase imperceptível, perdendo quase toda a característica de cristalinidade, confirmando o fato de que a inserção de defeitos, dificulta grandemente a ordenação das cadeias poliméricas em células unitárias. A figura 40 mostra a redução pronunciada da cristalinidade em função da extensão da transesterificação.

Tabela 16: Grau de cristalinidade do PHB inicial e modificado

Material	X_c (%)	X_{i-rel} (%)
PHB Inicial	70	100
PHBdiol1	71	101
PHBdiol2	58	82
PHBdiol3	40	58
PHBdiol4	7	10
PHBdiol5	4	6

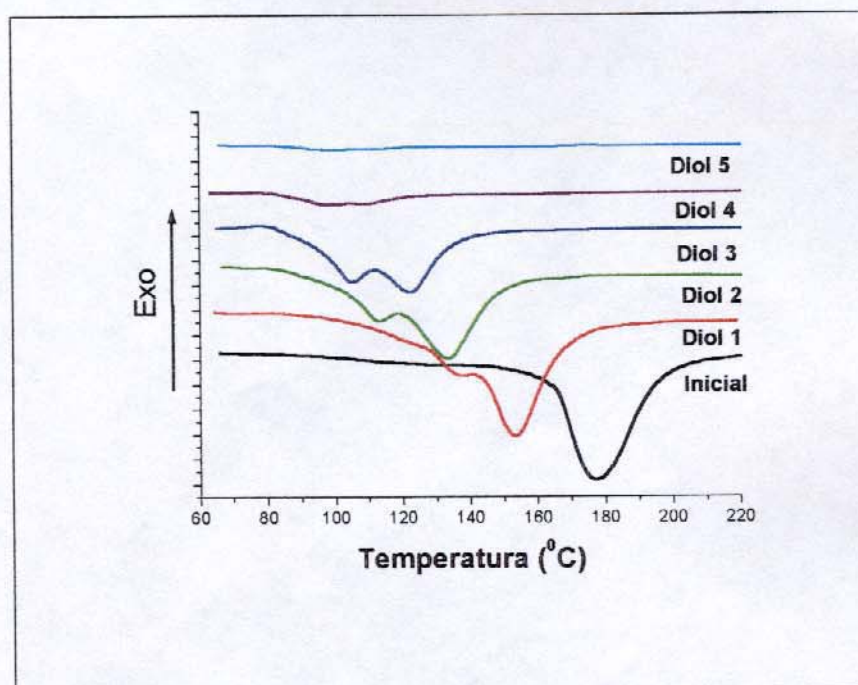


Figura 39: Curvas de DSC referentes ao PHB inicial e alíquotas transesterificadas submetidas a cristalização isotérmica a 70 °C por 2 horas e aquecidas a uma taxa de 40 °C/min. Curvas foram normalizadas com relação à massa

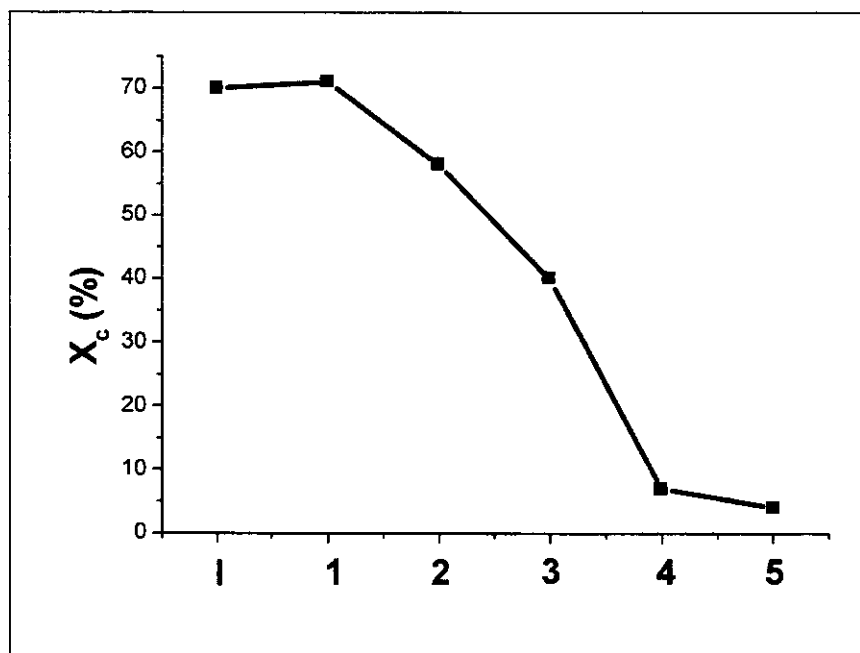


Figura 40: Grau de cristalinidade em função da extensão a transesterificação para o PHB

O PHB transesterificado cristaliza parcialmente, ou não cristaliza no resfriamento (Figura 36 e Tabela 13), de forma que no aquecimento observa-se nas curvas do DSC picos exotérmicos correspondentes à cristalização. Avaliando as Figuras 35 e 36, é possível constatar que a temperatura de cristalização no resfriamento diminui à medida que a transesterificação evolui, o que é novamente atribuído à inserção de defeitos e à redução da massa molar do material, que dificulta a formação de núcleos estáveis com tamanho acima do valor crítico. A redução de massa molar pode, até um determinado ponto facilitar cineticamente o crescimento dos cristais, em função de aumento da difusão, mas retarda a etapa de nucleação, ou desloca o início da cristalização para temperaturas menores em condições de cristalização sob resfriamento^[65].

A Figura 41 apresenta a relação entre o inverso da temperatura de cristalização e o inverso da massa molar média ponderada $\overline{M_w}$. Os três primeiros pontos são referentes ao PHB Inicial, Diol1 e Diol2 e seguem a tendência esperada: o aumento na massa molar ocasiona aumento na temperatura de cristalização, em decorrência do aumento da probabilidade de formação de núcleos com tamanho superior ao tamanho

crítico do núcleo. Os demais pontos do gráfico, referentes ao Diol 3, 4 e 5, mostram a tendência oposta ao esperado e discutido anteriormente. Uma possível explicação para isto seria que a etapa inicial de cristalização é muito lenta para estas alíquotas, em função dos defeitos e terminações da cadeia, de tal forma que o seu início pode não ser detectado nas condições do experimento em função do calor envolvido estar abaixo da sensibilidade do equipamento. Assim, a cristalização seria detectada em um estágio avançado, já em condições de aquecimento. Essa hipótese é reforçada a partir dos cálculos de cristalinidade efetuados anteriormente.

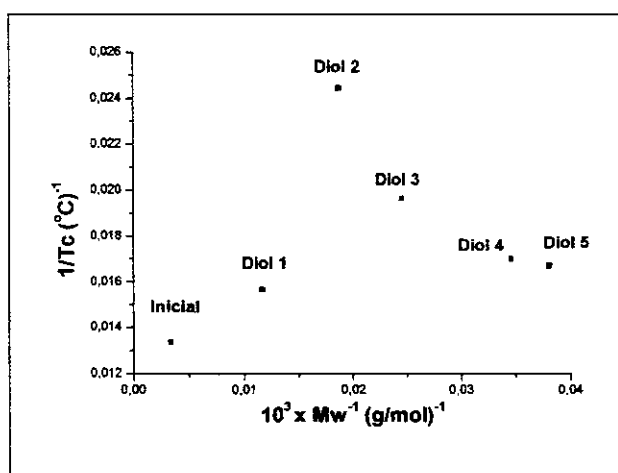


Figura 41 - Relação entre inverso da temperatura de cristalização T_c e inverso da massa molar média ponderada $\overline{M}_w$

A Figura 42 apresenta a relação entre T_f e T_c com a evolução da transesterificação. O comportamento observado se assemelha ao discutido anteriormente: os pontos referentes ao PHB Inicial, Diol 1 e Diol 2 (três últimos) apresentam a tendência esperada, ou seja, à medida que a temperatura de cristalização aumenta, a temperatura de fusão também o faz. No entanto, para as alíquotas do PHB Diol 3, 4 e 5 a temperatura de fusão foi deslocada para valores mais baixos à medida que a temperatura de cristalização aumentou. Neste caso, a cristalização se tornou muito lenta em função do aumento na influência das terminações da cadeia e inserção de defeitos no polímero, de tal forma que, nas alíquotas PHBdiol4 e 5, o final da etapa de cristalização chega a se sobrepor ao início

da fusão (Figura 35).

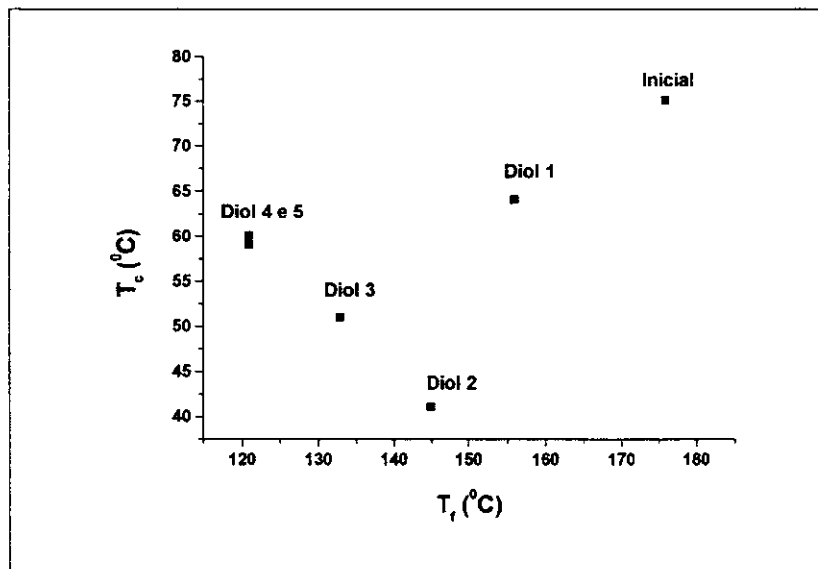


Figura 42: Temperatura de fusão, T_f , versus temperatura de cristalização, T_c , para PHB inicial e frações transesterificadas

Para a determinação da temperatura de transição vítrea, T_g , do PHB inicial e das frações transesterificadas por catálise via H_2SO_4 , o material foi resfriado a partir do seu estado fundido a uma taxa de $30\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$, até $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$, seguido de aquecimento a taxa de $20\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$. A Figura 43 apresenta a região de transição vítrea referente ao aquecimento. À medida que o polímero sofre transesterificação, ocorre a redução da massa molar e a modificação na cristalinidade, ocasionando um aumento na mobilidade das cadeias em função do aumento da influência das terminações da cadeia no excesso de volume livre, fazendo com que a T_g sofra redução. A Tabela 16 apresenta os valores obtidos para a temperatura de transição vítrea T_g . No PHB inicial a T_g medida foi de 3°C , enquanto que na alíquota do PHB Diol5, o valor da T_g foi de -18°C . Dentre as amostras analisadas, somente o PHB inicial sofreu cristalização apreciável durante o resfriamento.

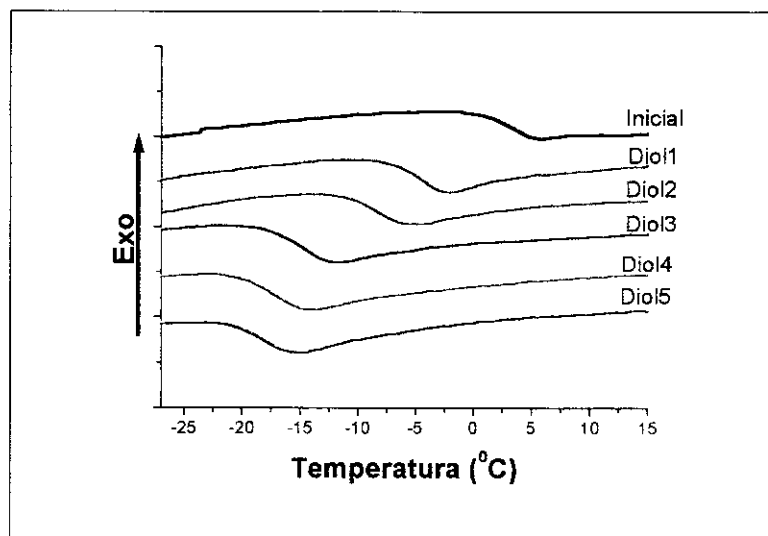


Figura 43 – Curvas de DSC mostrando a região de transição vítrea do PHB inicial e as amostras transesterificadas. Taxa de aquecimento de 20°C/min

A relação entre a temperatura de transição vítrea e a massa molar pode ser avaliada de acordo com a equação 12 de Flory –Fox^[65], que prevê que a T_g decai com a redução da massa molar. A Figura 44 apresenta os gráficos obtidos de T_g versus o inverso de $\overline{M_w}$. O coeficiente de correlação obtido para $T_g \times \overline{M_w}$ foi 0,9687, indicando um ajuste apenas razoável à linearidade proposta pela equação 13.

$$T_g = T_{g\infty} - \frac{K}{\overline{M_w}} \quad (13)$$

Na equação (13) o termo $T_{g\infty}$ designa a temperatura de transição vítrea quando a massa molar é infinita, e o termo K é definido pela seguinte equação (14)^[65]:

$$K = \frac{2\rho\theta N_{av}}{\alpha_f} \quad (14)$$

Onde:

ρ = Densidade do polímero

N_{av} = Número de avogrado

θ = Excesso de volume livre por terminação da cadeia

α_f = Coeficiente de expansão do volume livre

A partir da equação 14 é possível, então, determinar qual o excesso de volume livre por terminação de cadeia para um determinado polímero. A partir da linearização do gráfico na figura 44, obtém-se $T_{g\infty} = 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ e o parâmetro $K = 592.000\text{ }^{\circ}\text{C.g/mol}$; a razão entre $\rho^*\theta / \alpha_f$ é igual a $9,8 \cdot 10^{-19}\text{ }^{\circ}\text{C.g/mol}$.

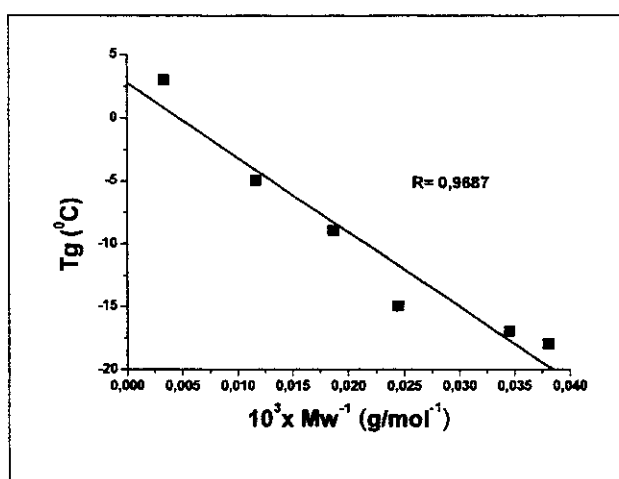


Figura 44 – Temperatura de transição vítrea (T_g) em função do inverso da massa molar média ponderada ($\overline{M_w}$)

A Tabela 17 apresenta a variação da capacidade calorífica (ΔC_p) na transição vítrea do PHB inicial e aliquotas transesterificadas. A capacidade calorífica está relacionada aos graus de liberdade da molécula relacionados a sua mobilidade. Abaixo da transição vítrea os graus de liberdade para polímeros se limitam ao vibracional e ao rotacional (rotação de grupos pendentes, por exemplo). Acima da transição vítrea os graus de liberdade são acrescidos das rotações de segmentos da cadeia principal, e ainda da mobilidade entre as cadeias que confere mobilidade ao material. Assim, o ΔC_p exprime a diferença de graus de liberdade das macromoléculas em seus estados vítreo e líquido, quanto maior a variação de C_p , maior o ganho de mobilidade na transição do estado vítreo para líquido. Para polímeros com massa molar superior a massa molar

crítica, o volume livre tanto do estado vítreo, como do líquido é menor do que para polímeros com massa molar abaixo do valor crítico. Neste caso, o excesso de volume livre conferido pelos grupos terminais é maior tanto no estado vítreo, como no estado líquido, e na transição vítrea o ganho relativo de mobilidade de segmentos de cadeia e grupos terminais é maior aumentando o valor de ΔC_p . O PHB tem massa molar crítica na faixa de 160.000 g/Mol, portanto, com exceção do PHB inicial, as demais alíquotas apresentam massa molar abaixo da crítica. Assim, a variação da C_p na transição vítrea é menor no PHB inicial em relação às alíquotas transesterificadas, em função de sua massa molar, e ainda em função do PHB inicial ter cristalizado parcialmente nas condições de resfriamento imposta.

Quando se faz a comparação entre as alíquotas transesterificadas não se observa variação no valor de ΔC_p . Uma possível explicação para isto é a inserção dos grupos $-O(CH_2)_2O-$ na cadeia de PHB, que altera as características do material, sobrepondo-se aos efeitos do excesso de volume livre das terminações da cadeia e à redução do grau de cristalinidade.

Tabela 17: Variação da Capacidade Calorífica na Tg

Material	T _g (°C)	ΔC_p (J/g*°C)
PHB Inicial	3	0,3
PHBdiol1	-5	0,5
PHBdiol2	-9	0,4
PHBdiol3	-15	0,5
PHBdiol4	-17	0,5
PHBdiol5	-18	0,4

A Figura 45 apresenta os difratogramas de Raios X obtidos para o PHB inicial e PHB Diol5 obtido via catálise com H_2SO_4 . Os picos em $\theta = 12^\circ$, 17° e 22° , são característicos da estrutura cristalina do PHB, cuja célula unitária é classificada como ortorrômbica. Analisando os difratogramas é possível observar uma variação na

intensidade dos picos características do PHB cristalino, porém não se verifica deslocamento dos picos principais, desta forma, é possível constatar que não houve modificação na célula unitária da fase cristalina em função da transesterificação do polímero. Assim, os segmentos $-O-(CH_2)_2O-$ possivelmente inseridas na cadeia não modificaram a célula e suas dimensões, podendo estar alocados na fase amorfa, ou presos na fase cristalina.

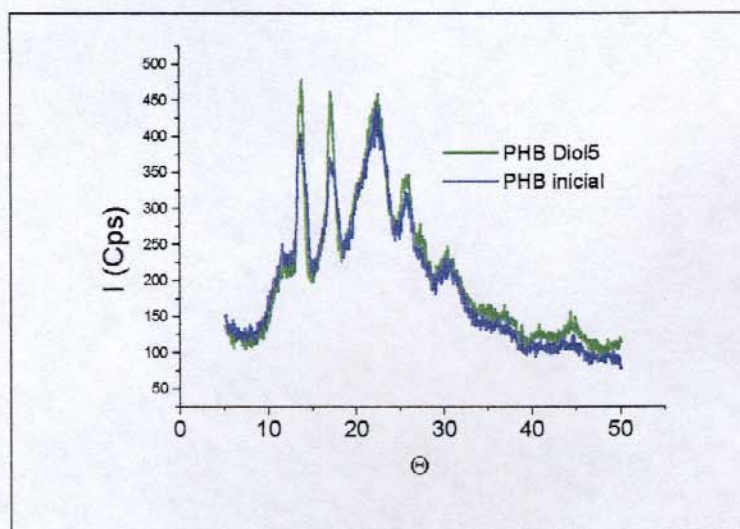


Figura 45: Difratogramas de Raios X para PHB e alíquotas transesterificadas de degradação do material.

A Figura 46 apresenta o PHB inicial, Diol 3 e Diol 5 transesterificados a partir de catálise com H_2SO_4 , cristalizados isotermicamente por 2 horas nas temperaturas de 50, 70 e 90 °C a partir do estado fundido. A primeira coluna é referente às micrografias de amostras cristalizadas isotermicamente a 50 °C. É possível verificar a formação de diversos esferulitos, com distribuição homogênea de tamanho, indicando uma alta taxa de nucleação. Isso ocorre pois a energia livre crítica de cristalização para que um núcleo em formação se estabilize e cresça diminui com a redução da temperatura, assim o tamanho crítico do núcleo também o faz, o que aumenta a probabilidade de formação de núcleos estáveis e ocasiona um aumento na densidade de nucleação e um número maior de esferulitos. À medida que a temperatura de cristalização aumenta

o tamanho crítico também o faz, ocasionado redução na densidade de nucleação. Na segunda coluna da Figura 46, referente às micrografias do PHB inicial, Diol 3 e Diol 5 cristalizados a 70 °C se observa a formação de um número menor de esferulitos de maior tamanho em relação à isoterma a 50°C. Além da componente de nucleação, a taxa de crescimento passa a ser favorecida com o aumento da temperatura, em função da redução da viscosidade e otimização da difusão das cadeias. O estudo da taxa de crescimento do esferulito para o PHB de massa molar $\overline{M_w} = 358.000$ g/mol e polidispersão em torno de 3, mostra que a taxa de crescimento se inicia 125 °C a partir do resfriamento, atinge seu máximo a temperatura de 90°C e decrescendo a 0 em torno de 40 °C ⁽⁷⁾. A avaliação da coluna referente à micrografia das amostras cristalizadas isotermicamente a 90 °C na Figura 46 mostra que, de fato, nessa temperatura a taxa de crescimento é bastante favorecida em detrimento da taxa de nucleação, havendo a formação de poucos esferulitos de tamanho maior em relação às demais isotermas.

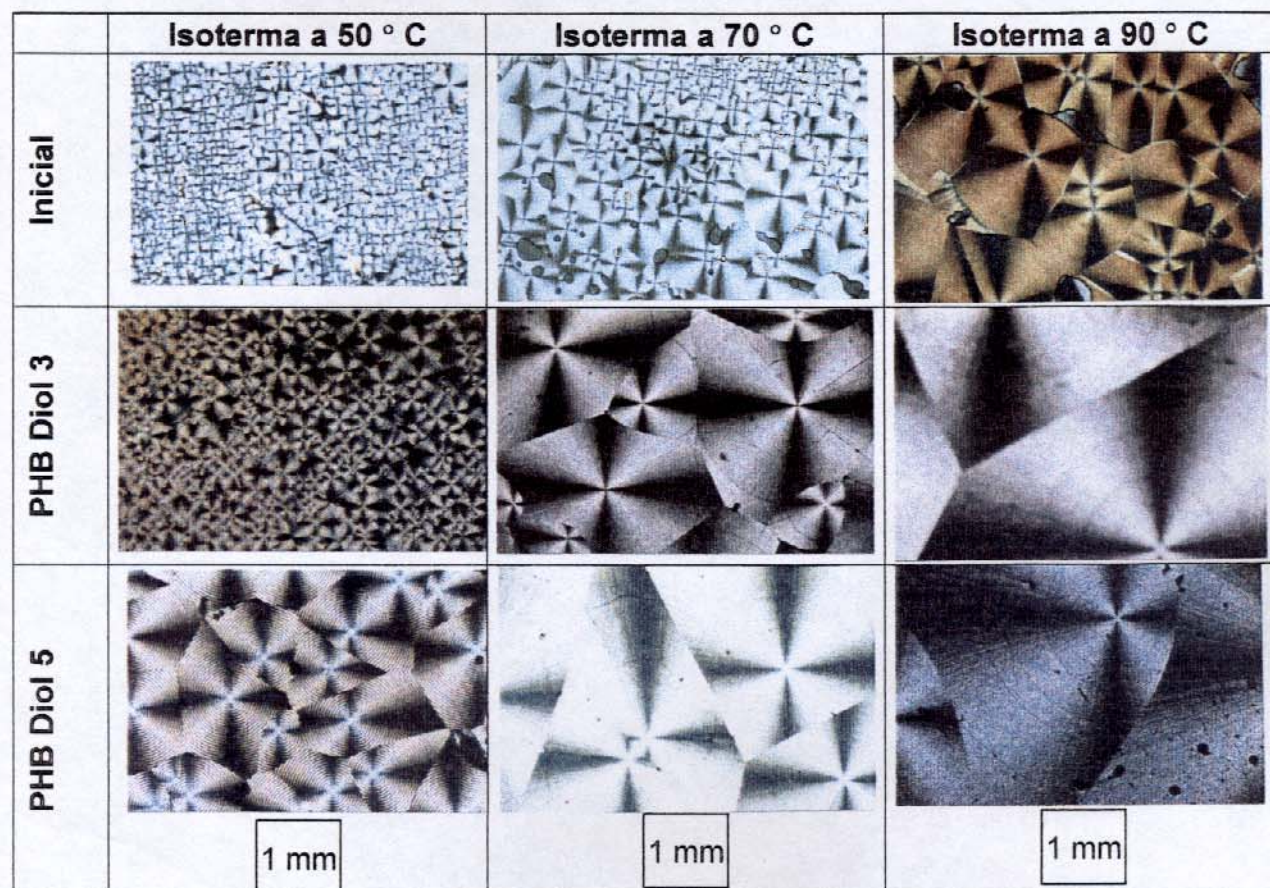


Figura 46: Micrografias do PHB inicial e frações transesterificadas em função de cristalização isotérmica a 50°C, 70°C e 90°C por duas horas.

Apesar do comportamento semelhante do PHB inicial e frações transesterificadas em relação às diferentes temperaturas, a comparação entre estes materiais para uma mesma temperatura apresenta significativas alterações. A Tabela 18 ilustra a variação do número de esferulitos por unidade de área para o PHB inicial e frações transesterificadas obtido a partir da contagem dos mesmos na micrografia, e posterior conversão para a área real da lâmina.

Tabela 18: Número de esferulitos por unidade de área

	Esferulitos a 50° C (mm ²) ⁻¹	Esferulitos a 70°C (mm ²) ⁻¹	Esferulitos a 90°C (mm ²) ⁻¹
PHB Inicial	4,7	1,84	
PHB Diol 3	1,8	0,14	0,03
PHB Diol 5	0,27	0,06	0,03

A partir da Tabela 18, é possível observar que, para uma mesma temperatura o número de esferulitos por unidade de área decresce consideravelmente a medida que a transesterificação evolui. Esse fato pode ser atribuído à redução de massa molar que dificulta a nucleação, porém favorece a etapa de crescimento dos esferulitos, e ainda a uma possível variação na taxa de nucleação, em função de modificações nos parâmetros de energia livre crítica, resultantes de modificação química do PHB e tamanho de núcleo. A Figura 47 apresenta o PHB inicial, e as frações transesterificadas cristalizados isotermicamente por 2 horas a 90°C.

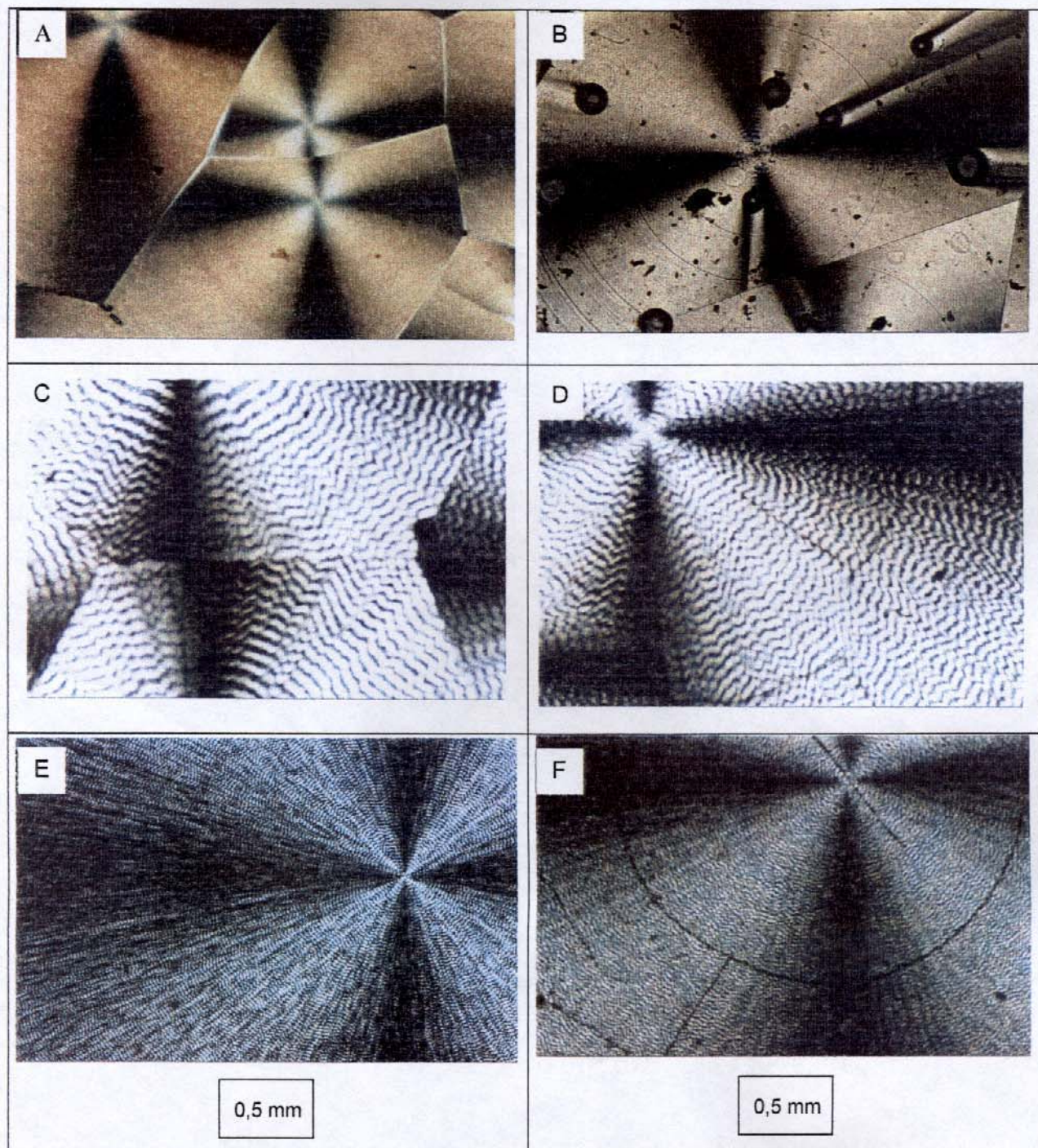


Figura 47: Microscopias do PHB inicial e frações transesterificadas em função de cristalização isotérmica a 90°C por duas horas: (A) PHB inicial, (B) PHB Diol 1, (C) PHB Diol 2, (D) PHB Diol 3, (E) PHB Diol 4, (F) PHB Diol 5

À temperatura de 90 °C, o taxa de crescimento dos cristais é bastante favorecida. É possível observar para todas as frações a presença de poucos e grandes

esferulitos. Porém há uma redução no número de esferulitos à medida que a transesterificação evolui. Como a etapa de cristalização está relacionada à somatória da etapa nucleação e crescimento, essa tendência deve ser avaliada em função de ambas as componentes.

O crescimento dos cristais é favorecido pela redução na viscosidade e consequente aumento na difusão. A redução de massa molar do PHB em relação à evolução da transesterificação ocasiona uma redução na viscosidade e a etapa de crescimento é favorecida a uma mesma temperatura.

A taxa de nucleação é função das dimensões críticas do núcleo a partir das quais ele se torna estável (Equação 5 e 6). Essas dimensões são função da energia interfacial livre e da energia livre de formação no núcleo por unidade de volume. A partir da Figura 47, é possível observar que a redução da massa molar tem efeito semelhante ao aumento de temperatura sobre a cristalização, assim, além de favorecer o crescimento dos esferulitos, pode também ocasionar um aumento nas dimensões críticas para formação de núcleos estáveis, reduzindo assim a taxa de nucleação. Essa redução pode ser atribuída ao aumento nos valores de energia livre interfacial, que está relacionado com a maior influência da pontas de cadeia na cristalização à medida que a massa molar diminui, e ainda à influência dos segmentos $-O(CH_2)_2O-$ inseridos nas cadeias com a transesterificação.

V CONCLUSÃO

O PHB foi funcionalizado adequadamente através da catálise ácida. Não houve formação de grupos crotonatos detectáveis pelos métodos espectroscópicos. Observou-se a redução da massa molar, de maneira exponencial com a extensão da reação. A reação que tem como catalisador o H_2SO_4 e como temperatura a de refluxo do clorofórmio ($\sim 60^\circ\text{C}$) se mostrou mais eficiente em relação à rota que utilizou HCl a 35°C .

As mudanças observadas na cinética de degradação do material reforçam a hipótese da inserção da hidroxilas nas terminações da cadeia. Observou-se também, uma grande modificação na cristalinidade e cristalização no PHB em função da extensão da reação.

VI BIBLIOGRAFIA

1. R. Chandra, R. Rustgi, "Biodegradable Polymers", *Prog Polym Sci*, **23**, 1273 (1998).
2. G. Braunegg, G. Lefebvre, K. Genser, "Polyhydroxyalkanoates, biopolyesters from renewable resources", *Journal of Biotechnology*, **65**, 127 (1998).
3. G.J. de Koning, P.J. Lemstra, "Crystallization phenomena in bacterial poly[(R)-3-hydroxybutyrate]: Embrittlement and rejuvenation", *Polymer*, **34**, 4089 (1993).
4. E. Rossell, R. Nonato, "Integrated production of biodegradable plastic, sugar and ethanol", *Appl Microbiol Biotechnol*, **57**, 1 (2001).
5. F.O. Ayorinde, S. Saeed, E. Price, A. Morrow, "Production of poly-(β -hydroxybutyrate) from saponified *Vernonia galamensis* oil by *Alcaligenes eutrophus*", *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, **21**, 46 (1998).
6. Y. Doi, K. Sudesh, "Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: biological polyesters", *Prog Polym Sci*, **25**, 1503 (2000).
7. D. Jendrossek, R. Handrick, "Microbial Degradation of Polyhydroxyalkanoates", *Annu Rev Microbiol*, **56**, 403 (2002).
8. Y. Inque, N. Yoshie, "Structure and physical properties of bacterially synthesized polyesters", *Prog Polym Sci*, **17**, 571 (1992).
9. P. Hocking, J. Revol, "Single crystals and crystalline morphology of synthetic racemic poly (β -hydroxybutyrate)", *Macromolecules*, **29**, 2467 (1996).
10. S. Hiki, M. Miyamoto, Y. Kimura, "Synthesis and characterization of hydroxy-terminated [RS]-poly-(3-hydroxybutyrate) and its utilization to block copolymerization with L-lactide to obtain a biodegradable thermoplastic elastomer", *Polymer*, **41**, 7369 (2000).
11. A. Hoffmann, S. Kreuzberger, G. Hinrichsen, "Influence of thermal degradation on tensile strength and Young's modulus of poly(hydroxybutyrate)", *Polymer Bulletin*, **33**, 355 (1994).
12. H. Batzer, *Polymere Werkstoffe - Band I*, George Thieme Verlag Stuttgart -New York, 251 (1985).

13. S. Ranjana, R. Alok, "Polyhydroxybutyrate, Its copolymers and blends", *J.M.S - Rev Macromol Chem Phys*, **C35**, 327 (1995).
14. S. Organ, P. Barham, "On the equilibrium of melting temperature of polyhydroxybutyrate", *Polymer*, **34**, 2169 (1993).
15. G. Koning, "Physical properties of bacterial poly(R-3-hydroxyalkanoates)", *Can J Microbiol*, **1**, 303 (1995).
16. M. Avella, E. Martuscelli, M. Raimo, "Properties of Blends and composites based on poly (3-hydroxybutyrate) (PHB) and poly (3-hydroxybutyrate - hydroxyvalerate) (PHBV) copolymers", *Journal of Materials Science*, **35**, 523 (2000).
17. C. Pouton, A. Saghir, "Biosynthetic polyhydroxyalkanoates and their potential in drug delivery", *Advanced Drug Delivery Reviews*, **18**, 133 (1996).
18. N. Yoshie, Y. Oike, K. Kasuya, Y. Doi, Y. Inoue, "Change on surface structure of poly(3-hydroxybutyrate) film upon enzymatic hydrolysis by PHB depolymerase", *Biomacromolecules*, **3**, 1320 (2002).
19. G. Montaudo, P. Rizzarelli, "Synthesis and enzymatic degradation of aliphatic copolyesters", *Polymer Degradation and Stability*, **70**, 305 (2000).
20. K. Nakamura, N. Yoshie, M. Sakurai, Y. Inoue, "A structural study of the crystalline state of the bacterial copolyester poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate)", *Polymer*, **35**, 193 (1994).
21. V. Doyle, R. Pearson, "An investigation of the growth of human dermal fibroblasts on poly-L-lactide acid in vitro", *Journal of Materials Science*, **7**, 381 (1996).
22. M. Boekenhagen, R. Stoll, P. Neuenschwander, "In vivo performance of new biodegradable polyester urethane system used as a nerve guidance channel", *Biomaterials*, **19**, 2155 (1998).
23. S. Willians, D. Martin, "PHA applications: addressing the price performance issue – Tissue engineering", *International Journal of Biological Macromolecules*, **25**, 111 (1999).
24. N. Galego, C. Rozsa, R. Sánchez, J. Fung, "Characterization and application of

- poly(3-hydroxyalkanoates) family as composite biomaterials", *Polymer Testing*, **19**, 485 (2000).
25. T. Hirt, P. Neuenschwander, U. Suter, "Telechelic diols from poly[(R)-hydroxybutiric acid] and poly{[(R)-hydroxybutiric acid]-co-[(R)-hydroxyvaleric acid]}", *Macromol Chem Phys*, **197**, 1609 (1996).
26. M. Kunioka, Y. Doi, " Thermal Degradation of Microbial Copolyesters: Poly((3-hydroxybutirate-co-3-hydroxyvalerate) and Poly ((3- hydroxybutirate -co-4-hydroxybutirate)", *Macromolecules*, **23**, 1933 (1990).
27. A. Quental, M. I. Felisberti, "Comportamento Térmico e Morfológico do Poli(Hidroxibutirato)-PHB", *Anais do 6º Congresso Brasileiro de Polímeros*, (2000).
28. R. Lehrle, R. Willians, C. French, "Thermolysis and methanolysis of poly(3-hydroxybutirate): random scission assesed by statistcal analysis of molecular weight distributions", *Macromolecules*, **28**, 4408 (1995).
29. J. Murray, N. Grassie, "The thermal degradation of Poly (-(D)-β-hydroxybutiric acid): Part 3", *Polymer Degradation and Stability*, **6**, 127 (1984).
30. J.Murray, N. Grassie, "The thermal degradation of Poly (-(D)-β-hydroxybutiric acid): Part 1", *Polymer Degradation and Stability*. **6**, 47 (1984).
31. J. Murray, N. Grassie, "The thermal degradation of Poly (-(D)-β-hydroxybutiric acid): Part 2", *Polymer Degradation and Stability*, **6**, 95 (1984).
32. F.D. Kopinke, M. Remmler, K. Mackenzie, "Thermal degradation of biodegradable polyesters – I: poly (3-hydroxybutirate)", *Polymer Degradation and Stability*, **52**, 25 (1996).
33. I. Janvinoga, I. Lacik, I. Chodak, "Thermal degradation of poly (3-hydroxybutirate) investigated by DSC", *Polymer Degradation and Stability*, **77**, 35 (2002).
34. M. Yokouchi, Y. Chatani, H. Tadokoro, K. Teranishi, " Structural studies os polyesters: 5. Molecular and Crystal structures of optically active and racemic poly Poly((β- hydroxybutirate)", *Polymer*, **14**, 267 (1973).
35. L. C. Sawyer., D. T. Grubb, "Polymer Microscopy", Chapman and Hall Ltda, 251

- (1985).
36. J.G. Fatou, "Encyclopedia of Polymer Science and Engineering - Supplement Volume", 2nd edition, 231.
 37. U. W. Gedde, "Polymer Physics", Klumer Academic Publishers, 251 (1985).
 38. L. Mandelken, "Comprehensive Polymer Science - Volume 2 - Polymer properties", 363.
 39. J. Hobbs, T. McMaster, M. Miles, P. Barham, "Cracking in spherulites of poly(hydroxybutirate)", *Polymer*, **37**, 3241 (1996).
 40. L.J. Chen, M. Wang, "Production and evaluation of biodegradable compsites based on PHB-PHV copolymer", *Biomaterials*, **23**, 2631 (2002).
 41. T. Freier, C. Kunze, C. Nischan, S. Kramer, "In vitro and in vivo degradation studies for development of a biodegradable patch based on poly(3-hydroxybutyrate)", *Biomaterials*, **23**, 2649 (2002).
 42. T. Eligio, J. Rieumont, R. Sánchez, "Characterization of chemically modified poly(3-hydroxyalkanoates) and their performance as matrix for hormone release", *Die Angewandte Makromolekulare*, **270**, 69 (1999).
 43. S. Bloembergen, D. Holden, "Studies of composition and crystallinity of bacterial poly(3-hydroxybutyrate-co-hydrovalerate)", **19**, 2865 (1986).
 44. M. Kunioka, A. Tamaki, Y. Doi, "Crystalline and thermal properties of bacterial copolyesters: poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate)", *Macromolecules*, **22**, 694 (1989).
 45. S Taguchi, H Matsusaki, K Matsumoto, K Takase, "Biosynthesis of biodegradable polyesters from renewable carbon sources by recombinant bacteria", *Polymer International*, **51**, 899 (2002).
 46. RD. Ashby, FY. Shi, RA. Gross, "A tunable switch to regulate the synthesis of low and high molecular weight microbial polyesters", *Biotechnology and Bioengineering*, **62**, 109 (1999).
 47. N. Yoshie, K. Nakasato , M. Fujiwara, K. Kasuya, "Effect of low molecular additives on enzyme degradation of poly(3-hydroxybutyrate)", *Polymer*, **41**, 3227 (2000).

48. E. Borges, R. Baltieri, L. Mei, "Estudo da influência de agentes nucleantes e plastificantes nas propriedades térmicas do poli(ácido-3-hidroxi-butírico)", *Anais do 6^o Congresso Brasileiro de Polímeros*, (2000).
49. J.N. Hay, L. Sharma, "Crystallisation of poly(3-hydroxybutyrate)/polyvinyl acetate blends", *Polymer*, **41**, 5749 (2000).
50. S.H. Park, S.T. Lim, T.K. Shin, H.J. Choi, M.S. Jhon, "Viscoelasticity of biodegradable polymer blends of poly(3-hydroxybutyrate) and poly (ethylene oxide)", *Polymer*, **42**, 5737 (2001).
51. A. Dufresne, M. Vinedon, "Poly(3-hydroxybutyrate) and poly(3-hydroxyoctanoate) blends: Morphology and mechanical behavior", *Macromolecules*, **33**, 2998 (2000).
52. A. Siciliano, A. Seves, T. de Marco, "Miscibility and thermal and crystallization behaviors of poly(D-(-)-3-hydroxybutyrate)/atatic poly(metil metacrilato) blends", *Macromolecules*, **28**, 8065 (1995).
53. T. Hirt, P. Neuenschwander, "Synthesis of degradable, biocompatible, and tough block copolyesterurethanes". *Macromol Chem Phys*, **197**, 1609 (1996).
54. G. Impallomeni, M. Giuffrida, T. Barbuzzi, "Acid catalyzed tranesterification as a route to poly(3-hydroxybutyrate-co-ε-caprolactone) copolymers from their homopolymers", *Biomacromolecules*, **3**, 835 (2002).
55. S. Nguyen, G. Yu, R. Marchessault, "Thermal degradation of poly(3-hydroxyalkanoates); preparation of well defined oligomers", *Biomacromolecules*, **3**, 219 (2002).
56. G. Saad, Y. Lee, H. Selinger, "Synthesis and thermal properties of biodegradable poly(ester-urethane) based on chemo-synthetic poly[(R,S)-3-hydroxybutyrate]", *Macromol. Biosci.*, **1**, 91 (2001).
57. Y. Hori, M. Suzuki, Y. Okeda, "A novel biodegradable polyurethane ester) synthesized from poly(3-hydroxybutyrate) segments", *Macromolecules*, **25**, 5117 (1992).
58. M. Reeve, S. McCarthy, R. Gross, "Preparation of (R)-poly(3-hydroxybutyrate)-poly(ε-caprolactone) and (R)-poly(3-hydroxybutyrate)-poly(lactide) degradable

- diblock copolymers", *Macromolecules*, **26**, 888 (1993).
59. R. Abate, A. Ballistreri, G. Montaudo, "Quantitative applications of matrix – assisted laser desorption /ionization with time-of-flight mass spectroscopy: Determination of copolymer composition en bacterial copolyesters", *Rapid Communications in Mass Spectroscopy*, **7**, 1033 (1993).
60. A. Andrade, B. Witholt, "Preparation and Characterization of enantiomerically pure telechelic diols from mcl-Poly[(R)-3-hydroxyalkanoates]", *Macromolecules*, **35**, 684 (2002).
61. K. Saeed, F. Ayorinde, B. Eribo, M. Gordon," Characterization of partially tranesterified poly(3-hydroxybutyrate)s using matrix –assisted laser desorption /ionization time-of-flight mass spectroscopy" , *Rapid Communications in Mass Spectroscopy*, **13**, 1951 (1999).
62. C. Rozsa,M. Gonzalez, N. Galego, P. Ortiz, "Biosynthesis and characterization of poly(3-hydroxybutirate) produced by *Bacillus circulans*", *Polymer Bulletin*, **37**, 429 (1996).
63. Y. Doi, M. Kunioka, Y. Nakamura, "Nuclear magnetic resonance studies on poly(3-hydroxybutirate) and a copolyester of 3-hydroxybutyrate and 3-hydroxyvalerate isolated from *Alcaligenes eutrophus* H16", *Macromolecules*, **19**, 2860 (1986).
64. L.H. Sperling, "Introduction to physical polymer science", 2nd edition, John & Wiley Sons, INC, New York, 200 (1970).
65. J. Mrk, A. Eisenberg, "Physical Properties of Polymers", 2nd edition, ACS Professional Reference Book. 1993