



Universidade Federal
do Rio de Janeiro

Escola Politécnica

AVALIAÇÃO DA BIODEGRADAÇÃO DE COMPÓSITOS DE POLI(3- HIDROXIBUTIRATO)/NANOPARTÍCULAS OBTIDAS A PARTIR DE FARELO DE MILHO

Clara da Silva Costa

Projeto de Graduação apresentado ao Curso de Engenharia de Materiais da Escola Politécnica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Engenheiro.

Orientador: Rossana Mara da Silva Moreira
Thiré

Rio de Janeiro
Setembro de 2012

AVALIAÇÃO DA BIODEGRADAÇÃO DE COMPÓSITOS DE POLI(3-
HIDROXIBUTIRATO)/NANOPARTÍCULAS OBTIDAS A PARTIR DE FARELO
DE MILHO

Clara da Silva Costa

PROJETO DE GRADUAÇÃO SUBMETIDO AO CORPO DOCENTE DO
CURSO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS DA ESCOLA POLITÉCNICA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS
REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE
ENGENHEIRO DE MATERIAIS.

Examinada por:

Prof. Rossana Mara da Silva Moreira Thiré, D.Sc.

Prof. Marysilvia Ferreira da Costa, D.Sc.

Enga. Tatiana Faria Pereira, M.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

SETEMBRO de 2012

Costa, Clara da Silva

Avaliação da biodegradação de compósitos de poli(3-hidroxi-butirato)/ nanopartículas obtidas a partir de farelo de milho/ Clara da Silva Costa. – Rio de Janeiro: UFRJ/ Escola Politécnica, 2012.

VI, 46 p.: il.; 29,7 cm.

Orientador: Rossana Mara da Silva Moreira Thiré

Projeto de Graduação – UFRJ/Escola Politécnica/ Curso de Engenharia de Materiais, 2012.

Referências Bibliográficas: p. 38-39.

1. Poli(3-hidroxi-butirato). 2. Nanocompósitos. 3. Polímeros Biodegradáveis. 4. Biodegradação. 5 Aproveitamento de resíduos

I. Thiré, Rossana Mara da Silva Moreira. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola Politécnica, Curso de Engenharia de Materiais. III. Avaliação da biodegradação de compósitos de poli(3-hidroxi-butirato)/nanofibras de celulose

Resumo do Projeto de Graduação apresentado à Escola Politécnica/ UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Engenheiro de Materiais

AVALIAÇÃO DA BIODEGRADAÇÃO DE COMPÓSITOS DE POLI(3-HIDROXIBUTIRATO)/NANOPARTÍCULAS OBTIDAS A PARTIR DE FARELO DE MILHO

Clara da Silva Costa

Setembro/2012

Orientador: Rossana Mara da Silva Moreira Thiré
Curso: Engenharia de Materiais

O presente trabalho tem o objetivo de analisar e caracterizar a possível biodegradação do compósito de poli(3-hidroxitirato)/nanopartículas obtidas a partir do farelo de milho. A caracterização da biodegradação foi feita através do ensaio de biodegradação em solo, onde a liberação de CO₂ produzido pelos micro-organismos presentes no solo foi medida e relacionada com a biodegradação dos filmes (Norma ASTM D5988-03). Para confirmar o ensaio de biodegradação, uma contagem do número unidades formadoras de colônias foi feita no solo antes e após o ensaio verificando a utilização do carbono dos filmes pelos micro-organismos para manutenção de suas funções vitais. Para caracterizar a degradação dos filmes, o ensaio de tração foi realizado para medir possíveis perdas de propriedades mecânicas. Além disso, o ensaio de FTIR foi feito para medir a quantidade de grupos carboxílicos terminais presente nos filmes antes e após o ensaio de biodegradação caracterizando a degradação. E por fim, os ensaios de DSC e DRX foram feitos para avaliar uma possível mudança no grau de cristalinidade dos filmes. Os resultados mostraram que os nanocompósitos de PHB contendo até 0,1% de nanopartículas podem ser considerados biodegradáveis. No entanto, os filmes de PHB puro e de PHB contendo até 0,3% de nanopartículas foram passíveis apenas de de degradação sob condições aeróbicas quando incubados em solo por 90 dias.

Palavras-chave: Poli(3-hidroxitirato), Nanocompósitos, Polímeros Biodegradáveis, Biodegradação, Aproveitamento de resíduos.

Abstract of Undergraduate Project presented to POLI/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Engineer.

EVALUATION OF BIODEGRADATION THE POLY(3-HIDROXIBUTIRATO)/NANOPARTICLES OBTAINED FROM CORN BRAN

Clara da Silva Costa

September/2012

Advisor: Rossana Mara da Silva Moreira Thiré
Course: Materials Engineering

This study aims to analyze and characterize the possible degradation of the composite of poly (3-hydroxybutyrate) / nanoparticles obtained from corn bran. The characterization of biodegradation was made by biodegradation in soil, where the release of CO₂ produced by micro-organisms in the soil was measured and related to the biodegradation of films (ASTM D5988-03). To confirm the degradation test, a count of the number of colony forming units was made in the soil before and after the test by checking the use of the carbon films by the micro-organisms to maintain their vital functions. To characterize the degradation of the films, the tensile test was carried out to measure possible loss of mechanical properties. In addition, the FTIR test was done to measure the amount of terminal carboxylic groups present on the films before and after the degradation test characterizing degradation. Finally, the XRD and DSC tests were made to evaluate possible changes in the degree of crystallinity of the films. The results show that PHB nanocomposites containing up to 0.1% of nanoparticles can be considered biodegradable. However, the films of pure PHB and PHB containing up to 0.3% nanoparticles were capable only of degradation when incubated under aerobic conditions in soil for 90 days.

Keywords: Poly (3-hydroxybutyrate), Nanocomposites, Biodegradable Polymers, Biodegradation, waste reuse.

Agradecimentos

Aos meus pais, Walmir e Selma, por todo o apoio que me deram durante toda a minha vida. Aos meus irmãos, Cinthia e Walmir Junior, que foram meus companheiros de vida, escola, faculdade e vão ser de profissão. Aos meus avôs, avós, tios e tias que sempre torceram muito por mim.

Aos amigos de turma da MetalMat, que foram essenciais durante esta jornada de 5 anos estando ao meu lado em momentos alegres e principalmente nos difíceis.

Aos amigos fora do universo acadêmico da engenharia, principalmente os do Colégio Militar que sempre estiveram presentes em toda a minha vida acadêmica.

A todos os membros do Laboratório de BioPolímeros pelo apoio.

A professora Rossana Mara da Silva Moreira Thiré, por toda a sua orientação ao decorrer deste projeto;

A todo corpo docente da MetalMat, que contribuiu com a minha formação;

A todos os técnicos e técnicas, que me ajudaram a realizar todos os experimentos presentes neste texto. Principalmente a Luiza do Labpol (Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais) e a Grazielle do LMSCP do Programa de Engenharia Química COPPE/UFRJ.

A EMBRAPA pela doação do solo, PHB Industrial pela doação da matéria-prima, Diogo Y. Fujimoto pelas nanopartículas de amido/celulose, Laboratório de química do solo Geotecnia/COPPE/UFRJ pela análise de teor de carbono no solo.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE GERAL	v
CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO E OBJETIVO	1
1.1 INTRODUÇÃO	1
1.2 OBJETIVO.....	3
CAPÍTULO 2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 PHB	4
2.2 BIODEGRADAÇÃO.....	6
CAPÍTULO 3 - MATERIAIS E MÉTODOS.....	9
3.1 MATERIAIS.....	9
3.2 OBTENÇÃO DOS FILMES DE PHB/NANOPARTÍCULAS	10
3.3 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO	10
3.3.1 LIBERAÇÃO DE CO ₂	10
3.3.2 CONTAGEM DO NÚMERO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIA	13
3.3.3 BIODEGRADAÇÃO (ASPECTO VISUAL).....	14
3.3.4 MICROSCOPIA ÓPTICA	14
3.3.5 ENSAIO DE TRAÇÃO.....	14
3.3.6. ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER(FTIR)16	
3.3.7 CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC).....	16
3.3.8 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X	17
CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
4.1 BIODEGRADAÇÃO DOS COMPÓSITOS.....	19
4.1.1 LIBERAÇÃO DE CO ₂	19
4.1.2 CONTAGEM DO NÚMERO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIA	20
4.2 DEGRADAÇÃO DOS COMPÓSITOS.....	22
4.2.1 ASPECTO VISUAL	22
4.2.2 MICROSCOPIA OPTICA	24
4.2.3 ENSAIO DE TRAÇÃO.....	26
4.2.4 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO (FTIR).	29
4.2.5 CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC)	32
4.2.6 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X	34

CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO.....	36
CAPÍTULO 6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
CAPÍTULO 7 - ANEXO.....	40

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO E OBJETIVO

1.1 INTRODUÇÃO

O século XX foi marcado como o período de desenvolvimento dos polímeros e dos plásticos, materiais estes que constituem hoje a maior parcela de materiais consumidos pelo homem (Coutinho, et al. 2004).

Além de apresentarem inércia química e de serem resistentes a degradação os polímeros sintéticos apresentam grande versatilidade de aplicações, alta resistência mecânica e baixo custo. Os polímeros mais utilizados pelo homem são o polietileno (PE), o polipropileno (PP), o poliestireno (PS), o poli(tereftalato de etileno) (PET) e o poli(cloreto de vinila) (PVC).

Porém o uso desenfreado dos mesmos e sua fácil descartabilidade gerou um grande problema para a sociedade. O aumento do consumo vem crescendo no mundo inteiro por isso é grande a quantidade de resíduos plásticos descartados no meio ambiente. No ano de 2000 eles formavam cerca de 20% do volume total de lixo produzido no Brasil (Coutinho, et AL. 2004).

Os polímeros sintéticos apresentam uma resistência a degradação muito grande o que torna o acúmulo destes nos lixões cada vez maior, além disso eles geram um esgotamento de fontes não renováveis como o petróleo.

Com o aumento da preocupação ambiental no mundo e a tentativa de tentar diminuir o impacto causado pelos materiais poliméricos, novas soluções começaram a ser sugeridas. Algumas medidas começaram a ser tomadas para tentar diminuir essa quantidade exagerada de lixo. Entre elas estão a incineração, a reciclagem, a reutilização e as pesquisas direcionadas para o desenvolvimento dos polímeros biodegradáveis.

Os polímeros conhecidos como “Polihidroxialconatos”, os PHA’s, são a família de polímeros termoplásticos mais estudados atualmente para a aplicação como materiais biodegradáveis. O “Polihidroxibutirato” conhecido como PHB é o PHA mais conhecido da família. O grande interesse no PHB se dá pelo fato dele apresentar boas propriedades para este tipo de aplicação como a biocompatibilidade e a biodegradabilidade, além de possuírem as mesmas propriedades plásticas que os

polímeros sintéticos mais usados atualmente que são o polipropileno e o polietileno. Porém o PHB possui desvantagens que dificultam a sua aplicação industrial como a instabilidade térmica, o alto custo do processo e a fragilidade do material devido a sua alta cristalinidade (Wang, 2004).

Acredita-se que a adição de nanopartículas de amido e celulose ao filme de PHB serve como uma boa alternativa de minimizar os custos dos polímeros biodegradáveis além de melhorar suas propriedades mecânicas (VINHAS, 2007). No entanto, até o momento, há poucos estudos sobre o efeito da presença de nanocargas na biodegradação dos filmes de PHB.

O processo de biodegradação de um material orgânico pode ser aeróbio, em presença de oxigênio, ou anaeróbio, sem oxigênio. De acordo com a Norma ABNT NBR Z5448-1:2008 (Embalagens plásticas degradáveis elou de fontes renováveis Parte 1 : Terminologia), a biodegradação aeróbia corresponde à degradação causada por atividade biológica de ocorrência natural por ação enzimática, em presença de oxigênio, causando uma mudança na estrutura química do material, produzindo principalmente dióxido de carbono e matéria orgânica estabilizada.

Diversas normas técnicas nacionais e internacionais são utilizadas para padronizar os testes de biodegradação de plásticos. A Norma ASTM D5988 – 03 (Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation in Soil of Plastic Materials or Residual Plastic Materials After Composting) descreve a metodologia para determinação do nível e da taxa de biodegradação aeróbia de materiais plásticos em contato com solo, sob condições de laboratório.

Diversos fatores podem influenciar no ensaio de biodegradação, entre eles estão as características do polímero (mobilidade, taticidade, cristalinidade, massa molar, grupo funcional e a presença ou não de plastificantes de aditivos) e o tipo de microrganismo (Kurusu, 2011). Cada polímero irá apresentar um grupo de microrganismos responsáveis pela sua degradação. Durante o ensaio a quantidade de dióxido de carbono produzido pelas bactérias do solo é usado como ferramenta para avaliar o grau de biodegradação.

1.2 OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a biodegradabilidade de um nanocompósito composto pela matriz de PHB e reforçado com partículas obtidas a partir de farelo de milho, um subproduto da indústria amilácea.

O trabalho seguiu as seguintes etapas:

- i) Preparação de filmes de PHB/nanopartículas obtidas a partir de farelo de milho com diferentes teores de carga.
- ii) Ensaio de biodegradação em solo com retiradas de amostras após 15, 30 e 90 dias.
- iii) Ensaio mecânicos de tração para caracterizar a perda de propriedades durante a biodegradação.
- iv) Análises de Microscopia Óptica para observar mudanças na morfologia do filme.
- v) Análises de DSC e DRX para avaliar possíveis mudanças na estrutura cristalina e nas propriedades térmicas do polímero causadas pela biodegradação, como, por exemplo, modificação do grau de cristalinidade, alteração das temperaturas de transição vítrea e de fusão etc..
- vi) Análise de FTIR para avaliar a alteração na composição química do PHB ao longo do período de biodegradação.

CAPÍTULO 2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PHB

O poli (3-hidroxi butirato) - PHB, pertence à família dos polihidroxi alcanoatos (PHA), que é uma das classes de polímeros biodegradáveis mais estudadas atualmente. Além do PHB o outro polímero dessa família que também é produzido comercialmente é o seu copolímero poli(3-hidroxi butirato-co-3-hidroxi valerato) - PHBV. Os polihidroxi alcanoatos (PHAs) são diferenciados de acordo com a composição química do seu grupo lateral como mostra a figura 1.

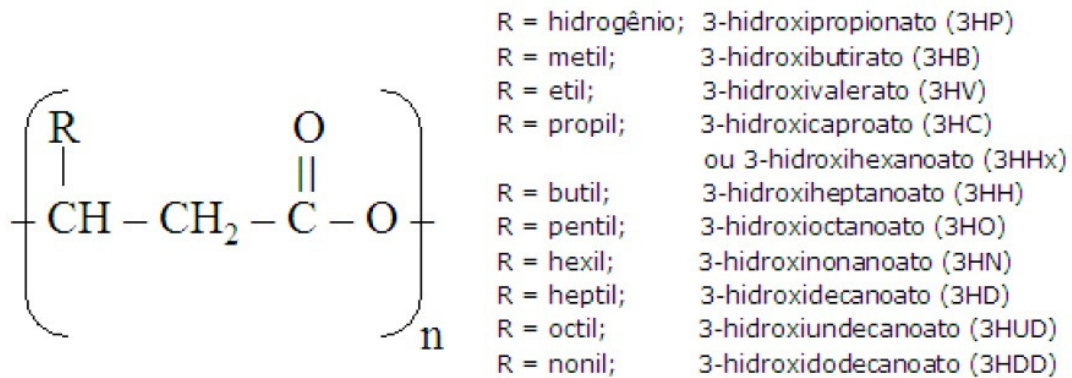


Figura 1. Representação da estrutura química dos PHAs.

O PHB é o mais conhecido da família por ser o único que consegue ser produzido em larga escala. Ele é um polímero termoplástico, com alto grau de cristalinidade, temperatura de fusão em torno de 175°C e com uma temperatura de transição vítrea aproximadamente 5°C (Pereira, 2010). Além disso, o PHB apresenta boas propriedades de barreira à água e a gases. As propriedades do PHB estão apresentadas na Tabela 1 abaixo.

Tabela 1. Tabela de propriedades do PHB (NASCIMENTO, 2009; MELLO, 2010)

Propriedades	Valor
Densidade (g/cm³)	1,25
Cristalinidade (%)	55-80
Temperatura de transição vítrea, Tg (°C)	5
Temperatura de fusão cristalina, Tm (°C)	178
Módulo de elasticidade (GPa)	1,70
Tensão de escoamento (MPa)	35
Alongamento na ruptura (%)	10
Resistência ao impacto (KJ/mm²)	3

O PHB, assim como os outros polímeros de sua família, é sintetizado por diferentes espécies de bactérias a partir de fontes de carbono renováveis como, por exemplo, a cana-de-açúcar. O PHB funciona como reserva de carbono e de energia para micro-organismos, assim como o glicogênio funciona como reserva energética para os animais. Quando a quantidade de alguns nutrientes como nitrogênio, oxigênio, fósforo ou enxofre se torna muito baixa, o percentual de PHB na célula pode chegar a índices elevadíssimos, até 80% em peso. (Kurusu, 2011)

Apesar de seu potencial como alternativa aos plásticos sintéticos, algumas propriedades intrínsecas do PHB, como o processamento, dificultam o desenvolvimento e a produção dos plásticos biodegradáveis.

Uma dessas propriedades é a fragilidade do PHB que está associada à baixa densidade de nucleação e ao alto grau de cristalinidade do polímero, o que resulta em esferulitos muito grandes e susceptíveis a trincas.

Além disso, o PHB sofre com o efeito da cristalização secundária que ocorre a temperatura ambiente durante a fase de armazenamento do produto. A cristalização secundária dos cristais de PHB ocorre na fase amorfa do polímero e corresponde a um processo de aperfeiçoamento dos cristais. Pesquisadores concluíram que a ocorrência desse fenômeno restringe bastante a movimentação da fase amorfa, que fica incapaz de dissipar energia por fluxo viscoso e assim o material se torna frágil (Kurusu, 2011). No entanto, pesquisas revelaram que o aumento do grau de cristalinidade em função do efeito da cristalização secundária no PHB só tem

influência até o 20^o dia de armazenamento. Depois disso, o grau de cristalinidade chega a um patamar (MELLO, 2010).

Outro fator que dificulta o processamento do PHB é a sua instabilidade térmica no fundido, uma vez que suas temperaturas de fusão e de degradação são muito próximas, sendo a temperatura de fusão em torno de 175°C e a temperatura de degradação por volta de 170°C. (Aoyagi, et al. 2002).

2.2 BIODEGRADAÇÃO

O grande problema nos dias atuais é a não degradabilidade dos polímeros sintéticos e principalmente a não biodegradabilidade dos mesmos. Com o aumento do consumo de insumos plásticos devido a falsa idéia de descartabilidade, os polímeros sintéticos se tornaram os grandes vilões da sociedade atual. Hoje em dia o mais importante não é mais o fato do material poder ser reutilizado, reprocessado (reciclado) ou até mesmo que em determinadas condições controladas do ambiente ele possa ser degradado. O mais importante atualmente é a possível biodegradabilidade dos materiais.

Degradação é o conjunto de reações que envolvem a quebra das ligações primárias da cadeia principal do polímero e formação de outras cadeias, com conseqüente mudança da estrutura química e redução da massa molar. É uma alteração química que normalmente implica em mudanças nas propriedades físico-químicas. (CANEVAROLO JUNIOR, 2004)

A degradação é influenciada por fatores químicos, físicos (temperatura) e biológicos que levam a quebra das ligações caracterizando a degradação. Uma divisão de tipos de degradação é feita de acordo com cada um desses fatores, são elas a fotodegradação, degradação térmica, oxi-degradação e a biodegradação.

A biodegradação também é responsável pela quebra das ligações primárias da cadeia principal e também implica em mudança de propriedades, mas se inicia através da ação de microrganismos presentes no meio ambiente e ocorrem de forma natural sem que nenhum iniciador de reação, como por exemplo a temperatura, precise ser adicionado ao conjunto.

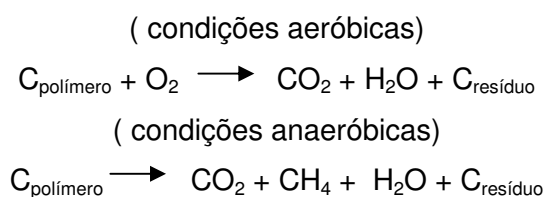
Um polímero só pode ser considerado biodegradável quando sob a ação de algum tipo de microorganismo (bactérias, fungos ou algas) ele sofre o processo de degradação, ou seja, ocorre a quebra de suas cadeias poliméricas e estas passam a ser processadas e digeridas pelos micro-organismos. Para que essa degradação ocorra é preciso que os organismos possam produzir enzimas que sejam capazes de

degradar as cadeias poliméricas e para isso algumas condições ambientes devem ser consideradas como a temperatura, a umidade e a presença de oxigênio.

O processo de degradação dos polímeros biodegradáveis ocorre em etapas distintas. Primeiro os micro-organismos aderem na superfície do polímero, etapa chamada de biodeteriorização. Depois os micro-organismos secretam enzimas que são capazes de hidrolisar os polímeros, ou seja, faz a quebra das cadeias poliméricas, etapa de biofragmentação. Só após a quebra destas cadeias é que os micro-organismos conseguem efetivamente assimilar o polímero através de suas membranas consumindo-o. É nesta etapa, conhecida como mineralização, que a biomassa do polímero é transformada em gás; mais precisamente em dióxido de carbono e como subproduto se gera água. Sendo esta a única forma de comprovação de que o polímero está sendo consumido pelo micro-organismo (Kurusu, 2011).

Existem dois mecanismos básicos com o qual os micro-organismos podem fazer a degradação das cadeias, a degradação aeróbica e a degradação anaeróbica. De acordo com a Norma ABNT NBR 15448-1 Parte 1 (Embalagens plásticas degradáveis elou de fontes renováveis – Terminologia), a biodegradação aeróbica (ou aeróbia) é a degradação causada por atividade biológica de ocorrência natural, por ação enzimática, em presença de oxigênio, causando uma mudança na estrutura química do material, produzindo principalmente dióxido de carbono e matéria orgânica estabilizada.

A diferença entre as degradações aeróbicas e anaeróbicas é a presença ou não de oxigênio e a composição do produto final. Na degradação aeróbica são produzidos dióxido de carbono (CO₂) e água (H₂O) e na degradação aneróbica são produzidos dióxido de carbono, água e metano (CH₄). A biodegradação dos polímeros é dividida em duas etapas, a etapa de despolimerização e a etapa de mineralização.



Em primeiro lugar o polímero é despolimerizado em forma de pequenos monomeros, já que a maioria deles apresenta uma cadeia polimérica muito grande para ser degradado pelos micro-organismos. Depois da despolimerização esses monomeros são mineralizados dando fim ao processo de biodegradação. Esse colapso do polímero ocorre por causa da constante mudança das forças físicas (calor, resfriamento, umidade, etc) e biológicas que causam danos levando a fratura do material polimérico (Aamer Ali Shah, 2008).

Durante a etapa de despolimerização os micro-organismos precisam de fontes de energia e carbono para conseguir promover a “quebra” da cadeia polimérica. Já na etapa de mineralização alguns produtos são formados devido a degradação final do polímero como o CO₂, H₂O, ou CH₄.

Apesar de ser considerado biodegradável, é válido lembrar que o PHB se apresenta de forma estável durante o seu uso e que ele só irá se degradar se estiver em contato com um meio que propicie essa degradação, ou seja, se estiver diretamente em contato com bactérias ou outros micro-organismos. Essa biodegradação irá depender de alguns fatores externos como temperatura, área de contato entre o micro-organismo e o polímero, pH, umidade, atividade microbiana do meio ao qual o material está exposto, cristalinidade do polímero e a presença de nutrientes.

Diversos estudos tem sido feitos para avaliar a degradabilidade do PHB e de seus compósitos, mas a forma como esses ensaios são conduzidos são diferentes entre si. O ensaio realizado por Vinhas (2007) fez o estudo da biodegradabilidade de blendas de poliéster/amido através do ataque microbiano. Neste caso os filmes foram colocados diretamente em contato com um micro-organismo que sabidamente degrada o amido. Já no estudo com (Wang,2004) os filmes são formados pela matriz de PHBV com cargas de OMMT (montmorilonita organofílica) e o ensaio de biodegradação é realizado misturando com um meio de cultura de micro-organismos e só depois os filmes são enterrados.

CAPÍTULO 3 - MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS

O poli(3-hidroxitirato) (PHB) foi fornecido pela empresa PHB Industrial S/A (São Paulo, Brasil). O solo (argissolo vermelho amarelo, camada 0-20 cm) empregado no ensaio de biodegradação foi fornecido pela Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária – Embrapa, setor de análise de solos. Na Tabela 2 são apresentadas as características do solo utilizado, de acordo com os resultados dos testes enviado pelo Laboratório de Água, Solos e Plantas - LASP/EMBRAPA. A verificação do teor de carbono do solo foi realizada no Laboratório de Química dos solos e geotecnia ambiental, Geotecnia COPPE-UFRJ.

Tabela 2. Características do solo utilizado nos ensaios de biodegradação.

Análise granulométrica (g/kg)	Areia – 470; silte – 190; argila - 340
pH	5,8
Al (cmolc dm⁻³)	0
Ca (cmolc dm⁻³)	4,7
Mg (cmolc dm⁻³)	1,4
K (mg dm⁻³)	78
H+Al (cmolc dm⁻³)	4,0
P (mg dm⁻³)	44,9
S (cmolc dm⁻³)	6,3
C (mg/g solo)	2020

As nanopartículas utilizadas nesta pesquisa foram obtidas a partir de farelo de milho em trabalhos anteriores do Grupo do Laboratório de Biopolímeros do PEMM/COPPE/UFRJ (Fujimoto, 2011). De acordo com o autor, estas nanopartículas são amorfas e constituídas por dois polímeros naturais biodegradáveis, amido e celulose. Após o processo de liofilização, as partículas apresentaram tamanhos nano e submicrométricos.

3.2 OBTENÇÃO DOS FILMES DE PHB/NANOPARTÍCULAS

O PHB em pó foi primeiramente peneirado em peneira com abertura de 0,250mm. Foi utilizada a fração com maior granulometria em função de experiência com trabalhos anteriores do Laboratório de Biopolímeros. A solução de PHB foi obtida misturando-se 7g de PHB em 80ml de clorofórmio. A solução foi, então, mantida sob agitação por duas horas a temperatura ambiente para promover o inchamento do polímero. Depois, ainda sob agitação, a dispersão foi mantida a uma temperatura de 65°C para que ocorresse a total solubilização do PHB.

Os filmes de PHB/nanopartícula foram obtidos através da técnica de evaporação de solvente (casting) utilizando uma solução de PHB dissolvido em clorofórmio onde foram adicionadas diferentes concentrações de nanopartículas (p/p) 0%; 0,05%; 0,1% e 0,3%. A mistura da solução de PHB com as nanopartículas foi levada para o Turrax sob agitação de 6000 rpm durante 5 minutos e depois foi vertida em placas de Petri de vidro. As placas foram colocadas sobre a bancada nivelada e a solução foi deixada secar a temperatura ambiente pelo tempo necessário para a evaporação do solvente (2 dias).

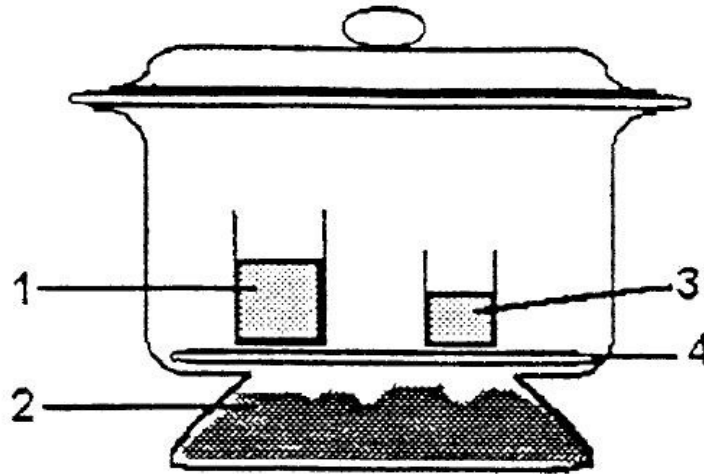
Os filmes foram cortados em tamanhos de 12 x1,6 cm para a realização do ensaio de biodegradação.

3.3 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

3.3.1 LIBERAÇÃO DE CO₂

O ensaio de biodegradação é caracterizado pela quantidade de CO₂ liberado para a atmosfera. Essa liberação representa a atividade celular dos micro-organismos presentes no solo. Este é um método utilizado em testes laboratoriais para caracterizar a biodegradação de um polímero.

Para que o CO₂ liberado possa ser medido o ensaio é realizado seguindo a norma ASTM D5988-03 (Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation in Soil of Plastic Materials or Residual Plastic Materials After Composting). De acordo com o método descrito, é feita uma relação entre a quantidade de CO₂ liberado pelos micro-organismos e a quantidade de KOH que irá reagir com esse dióxido de carbono existente no meio. O sistema sugerido pela Norma para incubação do solo contendo as amostras a serem avaliadas é apresentado na Figura 2.



NOTE 1—(1) Barium hydroxide solution or potassium hydroxide solution, (2) soil, (3) water, and (4) perforated plate.

Figura 2. Sistema para ensaio de biodegradação segundo a Norma ASTM D5988-03.

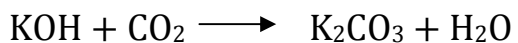
O ensaio foi realizado com o auxílio de uma câmara climática responsável pelo controle da umidade ambiente e da temperatura. Neste ensaio a umidade foi mantida em 50% e a temperatura em 21°C. A água utilizada para manter a umidade dentro da câmara climática foi filtrada antes de entrar no processo, para que nenhum tipo de microrganismo exterior pudesse afetar o ensaio.

Os filmes de PHB puro, PHB/nanopartículas e filtro de celulose (utilizado como controle) são colocados em um recipiente plástico com tampa, como mostra a Figura 3, juntamente com dois bequers de 50 ml cada, um contendo 50 ml de água destilada e outro com 20 ml de uma solução de KOH na concentração de 0,5M. Além dos dois beakers também é colocado no recipiente uma determinada quantidade de solo. As quantidades de solo e de polímero usados no ensaio são baseados na norma ASTM. Neste experimento foram utilizados 200g de solo que segundo a norma estará relacionado com 120mg de carbono presente na amostra. Para garantir que 120mg de carbono fossem enterradas no solo uma análise da cadeia polimérica do polímero foi feita, com isso foram enterradas cerca de 230mg de cada tipo de filme nas composições de 0%; 0,05%; 0,1% e 0,3%.



Figura 3. Sistema utilizado para ensaio de biodegradação.

Durante o ensaio, a medida que o microorganismo vai degradando o material, uma quantidade de CO_2 é produzida e irá reagir com o KOH presente no meio formando o composto K_2CO_3 e liberando H_2O de acordo com a equação 1.

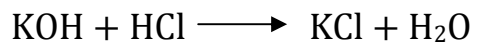


eq.1

Uma vez por semana, a solução de KOH e a água destilada foram renovadas. Isso serve para fazer a renovação do ar dentro do recipiente. A solução de KOH retirada foi, então, titulada com uma solução de HCl com concentração de 0,25M. Uma solução de fenolftaleína foi utilizada como o indicador ácido-base. Em um recipiente erlenmeyer, foram adicionados 10ml do KOH retirado da amostra e uma gota da solução de fenolftaleína, apresentando uma coloração rosada e portanto, evidenciado o pH alcalino da solução. Foi feita, então, a titulação com a solução de HCl e determinou-se o volume de HCl necessário para deixar a solução transparente novamente, ou seja, para neutralizar a solução. A Figura 4 abaixo esclarece o processo de titulação realizado nas amostras de KOH retiradas do ensaio de biodegradação. A reação que ocorre entre KOH e HCl está representada na equação 2.



Figura 4. Titulação do KOH retirado do ensaio de biodegradação



eq.2

A determinação das quantidades de CO₂ teórica e liberada foram feitas com base nas equação 3 e 4, também seguindo a norma ASTM. Na equação 5 é apresentada o cálculo da porcentagem de CO₂ liberado.

$$y \text{ mg C} \longrightarrow \frac{44 \cdot y}{12} \text{ mg CO}_2$$

eq.3

$$\text{mg CO}_2 = \frac{(0,25N) \cdot (X \text{ ml HCl}) \cdot 44}{2}$$

eq.4

$$\% \text{CO}_2 = \frac{5,5 \cdot (X \text{ ml HCl}) \cdot 12}{44 \cdot Y}$$

eq.5

3.3.2 CONTAGEM DO NÚMERO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIA

Para avaliar o número de unidades formadoras de colônias presentes nos solos usados nos testes de biodegradação, 5 gramas de solo foram colocados em um erlenmeyer contendo 30 ml de solução salina (NaCl 0,85%) e 5g de pérolas de vidro estéril e deixados sob agitação de 300 rpm por 30 minutos.

Após agitação, 10 ml dessa solução, foram retiradas e foi feita diluição seriada (10^{-1} a 10^{-5}), 100 μ l foi inoculado em placas de Petri contendo meio PCA (agar padrão de contagem – glicose 0,1%, triptona 0,5%, extrato de levedura 0,25%, agar 1,5% e água destilada) e distribuídos com auxílio de uma alça de Drigalsky. As placas foram inoculadas por 72h em temperatura ambiente, em seguida foi obtido o número de unidades formadoras de colônias (UFC). Todos os experimentos foram realizados em triplicata e a figura 5 abaixo mostra como o ensaio de contagem de número de colônias foi realizado.

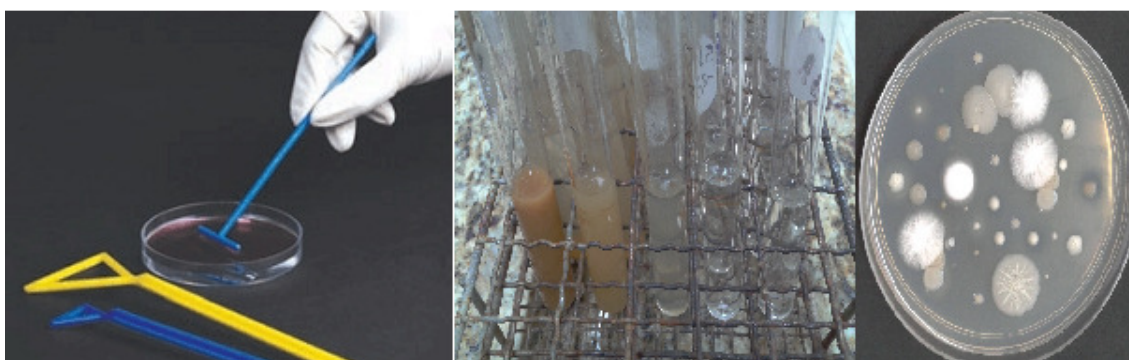


Figura 5. Ensaio de contagem de unidades formadoras de colônia.

3.3.3 BIODEGRADAÇÃO (ASPECTO VISUAL)

Muitas vezes o processo de biodegradação pode não ser confirmado pelos ensaios realizados no material polimérico após o período em contato com o solo. No entanto, o aspecto visual pode ser um forte indício de que tenha ocorrido a degradação.

Formação de pequenas trincas, formação de alguns poros, fragmentação, coloração diferenciada e a formação de um biofilme na superfície do polímero são parâmetros visuais que podem ser considerados para caracterizar uma possível degradação com ou sem ação direta dos micro-organismos. (Aamer Ali Shah, 2008)

3.3.4 MICROSCOPIA ÓPTICA

A análise por microscopia óptica foi utilizada para realizar uma observação mais detalhada da degradação dos filmes. Neste trabalho foi utilizado um microscópio da marca OLIMPKUS GX 71 com aumento de 500 vezes.

3.3.5 ENSAIO DE TRAÇÃO

O ensaio de tração foi realizado para avaliar as possíveis perdas de propriedades mecânicas dos filmes de PHB/nanopartículas durante o ensaio de

biodegradação. É válido ressaltar que este ensaio evidencia apenas a degradação das amostras em contato com o solo e não a biodegradação.

O equipamento utilizado foi uma máquina universal de ensaios INSTRON 5582. O teste foi realizado em quadruplicata e em alguns casos em duplicata devido à degradação parcial de alguns filmes. Não foram feitos os controles de umidade nem de temperatura. A carga utilizada no ensaio foi de 2KN, com velocidade do travessão de 5 mm/min e distanciamento entre garras de 25mm. Foram utilizadas garras pneumáticas para garantir que o filme não se soltasse durante a realização do ensaio. Os corpos de prova foram cortados de acordo com a norma ASTM D882-91 com tamanhos definidos de 10cm x0,8 cm, com tamanho útil de corpo de prova de 50 mm (Figura 6). Uma foto da realização do ensaio é apresentada na figura 7.



Figura 6. Corpos de prova do ensaio de tração



Figura 7. Ensaio de tração dos filmes de PHB/nanocarga.

3.3.6. ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) é uma das técnicas de caracterização de materiais poliméricos mais utilizadas. A análise vibracional de polímeros pode fornecer informações em três importantes aspectos estruturais: composição química, estrutura configuracional e conformacional. Além disso, fornece indicações de forças interatômicas devido à presença de interações moleculares. Esta técnica baseia-se na observação da frequência e da intensidade de radiação absorvida quando um feixe desta radiação atravessa a amostra. A incidência de radiação na molécula na mesma frequência da vibração de uma de suas ligações aumenta a amplitude desta vibração, absorvendo parte da energia incidente, reduzindo a intensidade da radiação transmitida, gerando um espectro característico do material (CANEVAROLO JUNIOR, 2004).

A análise de FTIR foi feita para avaliar o índice de grupos carboxílicos terminais (IGCT). De acordo com (VINHAS, 2007), durante a degradação de poliésteres por micro-organismos, ocorre a quebra das ligações ésteres, gerando, como consequência, um aumento no número de IGCT. A quantificação foi feita através da equação 6.

$$\text{IGCT} = \frac{(\text{absorção a } 3290 \text{ cm}^{-1})}{(\text{absorção a } 2970 \text{ cm}^{-1})} \quad \text{eq.6}$$

Sendo a banda a 3290 cm^{-1} referente à vibração dos grupos carboxílicos terminais e a banda a 2970 cm^{-1} referente à vibração de deformação axial C-H. O ensaio foi feito em um equipamento da marca Thermo Scientific Nicolet 6700.

3.3.7 CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC)

A calorimetria diferencial de varredura é uma técnica de caracterização de materiais na qual são medidas diferenças de fluxo de calor em uma amostra e uma material de referência, enquanto ambos são submetidos a um aquecimento ou um resfriamento controlado. O equipamento registra a diferença de fluxo de calor entre a amostra e a referência enquanto a temperatura da amostra é aumentada ou diminuída linearmente. Assim, a área de pico fornece a medida exata da energia elétrica necessária para manter ambas à mesma temperatura [canevarolo].

Esta técnica é usada para avaliar uma possível mudança na temperatura de transição vítrea do polímero (T_g), na temperatura de cristalização (T_c) e na temperatura de fusão (T_m) e para medir as características térmicas do material como entalpia de fusão (ΔH_f) e calor específico (C_p).

O ensaio foi feito com dois estágios de aquecimento, utilizando um equipamento Perkin Elmer, modelo DSC8500 (laboratório LMSCP do Programa de Engenharia Química COPPE/UFRJ). O primeiro é realizado para apagar todo o histórico térmico do polímero e o segundo foi feito para avaliar as possíveis mudanças.

No primeiro estágio, o material foi aquecido até a temperatura de 210°C a uma taxa de 10°C/min. Em seguida, o material foi resfriado rapidamente, para que não houvesse tempo do polímero se cristalizar, até a temperatura de -30°C a uma taxa de 150°C/min. Novamente, a amostra foi aquecida até 210°C a taxa de 10°C/min. No 2º ciclo de aquecimento, foram determinadas T_g , T_c e T_f .

A equação para o cálculo da cristalinidade está apresentada abaixo (eq. 7).

$$X_{C,DSC} = \frac{\Delta H_{fA}}{\Delta H_{f100\%}} \times 100 \quad \text{eq.7}$$

Como o material utilizado é um compósito conseguimos calcular o grau de cristalinidade mássico das amostras levando em consideração somente a fração mássica de PHB na amostra. Para isso ao invés de usar o valor da entalpia de fusão (ΔH_f), usa-se o de entalpia de fusão por unidade de massa (ΔH_f^*) como mostra a eq.8 a seguir. Sendo W_{PHB} a fração, em massa de PHB nas amostras.

$$\Delta H_f^* = \frac{\Delta H_f}{W_{PHB}} \quad \text{eq.8}$$

3.3.8 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

A difração de Raios-x constitui uma das principais técnicas de caracterização microestrutural de materiais cristalinos. Os raios-x ao atingirem um material podem ser espalhados elasticamente sem perda de energia. Se os átomos que geram os raios-x estiverem arranjados de maneira sistemática como em uma estrutura cristalina verifica-se que as relações de fase entre os espalhamentos se torna periódica. Em uma estrutura cristalina com dois ou mais planos, a condição para haver difração de

raios-x vai depender da diferença de caminho percorrida pelos raios e do comprimento de onda da radiação incidente (λ). Essas condições são expressas pela lei de Bragg que está ilustrada na equação 9.

$$n\lambda = 2d\sin\theta \quad \text{eq.9}$$

λ = comprimento de onda dos raios-x incidentes

θ = ângulo de difração

d = distância interplanar

n = número inteiro

O ensaio de difração de raios-x é realizado para avaliar a mudança do grau de cristalinidade das amostras em função da degradação das amostras. Esse cálculo foi feito seguindo a fórmula apresentada na equação 10, onde k é o fator de correção que no caso do PHB é 0,96 (Fujimoto, 2011). A região angular usada na medição deste ensaio foi de $2-60^\circ(2\theta)$ com tempo de contagem de 1,5, passo de 0,05 e fonte de radiação de CuK α ($\lambda = 1,541 \text{ \AA}$). O ensaio foi realizado em um equipamento da marca LabX XDR 6000.

$$\%C = \left[\frac{I_c}{(I_c + kI_a)} \right] * 100 \quad \text{eq.10}$$

I_c = área dos picos cristalinos

I_a = área do halo amorfo

K = fator de correção

Os valores de grau de cristalinidade obtidos a partir do ensaio de DRX serão diferentes dos valores obtidos para o ensaio de DSC. Isso ocorre porque o ensaio de DSC consegue medir o grau de cristalinidade somente do polímero, já o ensaio de DRX mede o grau de cristalinidade do compósito como um todo. Apesar das nanopartículas serem amorfas elas interferem no valor obtido para o ensaio de DRX porque elas aumentam a região amorfa do material diminuindo, conseqüentemente, o valor do grau de cristalinidade.

CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 BIODEGRADAÇÃO DOS COMPÓSITOS

4.1.1 LIBERAÇÃO DE CO₂

Conforme discutido anteriormente, a biodegradação ocorre quando os micro-organismos utilizam um material contendo carbono para extrair a energia química necessária para impulsionar seus processos vitais. Sob condições aeróbicas, o carbono é biologicamente oxidado a CO₂ no interior da célula, liberando energia. Desta forma, a determinação da taxa e da quantidade de CO₂ liberado em função da carbono total disponível antes do processo é uma medida direta da quantidade de carbono utilizada pelo micro-organismo, ou seja, o percentual de biodegradação do material (Narayan, 2010).

Os resultados do ensaio de biodegradação quanto à liberação de CO₂ para os filmes de PHB/nanopartículas e do controle positivo (filtro de papel) estão apresentados no gráfico da Figura 8. O papel de filtro, como já se sabe, é um material biodegradável e por isso foi usado como controle.

Através do gráfico apresentado na Figura 8, pode-se perceber que não houve diferença significativa entre os perfis de liberação de CO₂ obtidos. Isto pode ser um indício de que todos os filmes estão contribuindo para a sobrevivência dos micro-organismos assim como o filtro. Fazendo uma relação entre a quantidade de CO₂ produzido e a quantidade de CO₂ teórico (Equação 3), foi determinado o percentual de CO₂ liberado (taxa de biodegradação) como mostra a Figura 9. Pode-se observar que esse valor ficou abaixo de 2% para todas as amostras, incluindo o controle positivo. Neste caso, pode-se dizer que o método utilizado não foi o mais adequado para fazer a medição da quantidade de CO₂ produzidos.

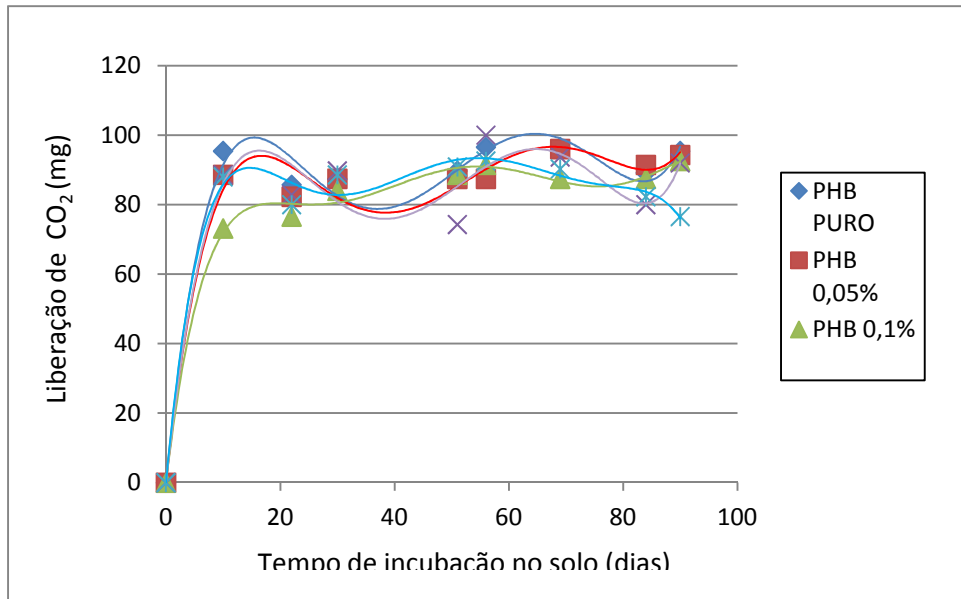


Figura 8. Quantidade de CO₂ produzidas durante os 3 meses de ensaio.

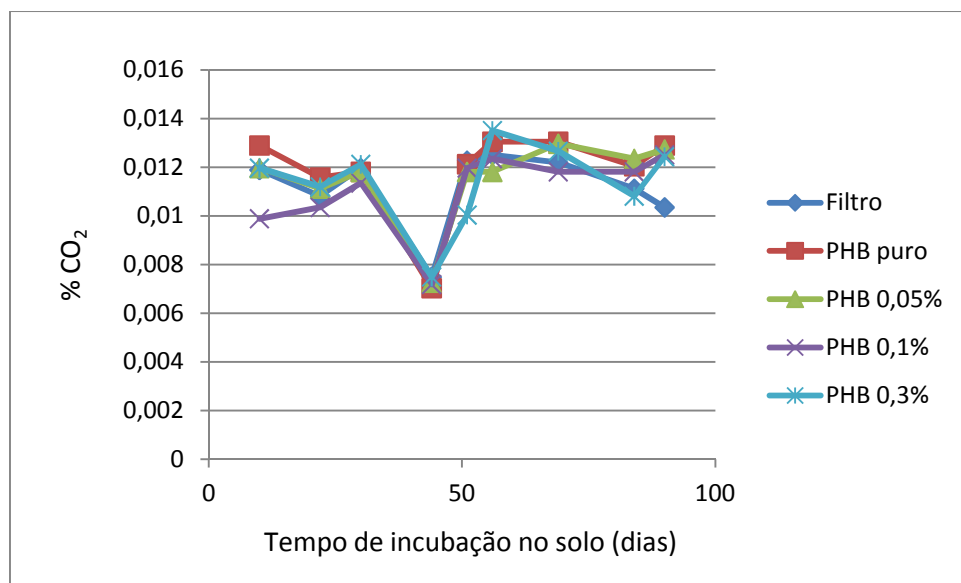


Figura 9. Porcentagem de CO₂ produzidos durante os 3 meses de ensaio.

4.1.2 CONTAGEM DO NÚMERO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIA

Segundo a norma utilizada para o ensaio a única maneira de realmente garantir que o material seja biodegradável é através dos cálculos de liberação de CO₂. No entanto, outra forma de avaliar a assimilação de carbono pelos micro-organismos consiste na quantificação do número de micro-organismos presentes nas amostras de solo após a retirada dos filmes. A tabela 3 mostra a contagem do número de unidades formadoras de colônias de bactérias presentes no solo após 90 dias de ensaio.

Por meio de avaliação estatística (Teste t), foi verificado um aumento significativo da quantidade do número de colônias das amostras do controle positivo (filtro), PHB/0,05% nanopartículas e PHB/0,1% nanopartículas em relação ao solo. Pode-se dizer, portanto, que a presença de filmes de PHB puro e o PHB contendo 0,3% de nanopartículas não contribuíram para a reprodução dos micro-organismos, ou seja, estes filmes não serviram como fonte de energia para os organismos presentes no solo. É válido ressaltar que trabalhos anteriores (Fujimoto, 2010) indicaram a similaridade entre as propriedades físicas e térmicas dos filmes de PHB puro e de PHB/0,3%. O autor atribuiu esta similaridade à formação de aglomerados submicrométricos com dispersão heterogênea na matriz de PHB. A amostra que apresentou a maior taxa de biodegradação foi o filme de PHB contendo 0,1% de nanopartículas, que mostrou um aumento de 733% quando comparado com o controle positivo.

Tabela 3. Comparação do número de unidades formadoras de colônia entre o solo puro e o solo após a retirada das amostras submetidas a 90 dias de ensaio.

AMOSTRA	Nº DE COLÔNIAS	DESVIO PADRÃO
SOLO INICIAL	1,00E+06*	2,08E+05
FILTRO	1,50E+06*	1,53E+05
PHB PURO	1,00E+06	3,79E+05
PHB 0,05%	1,60E+06*	1,73E+05
PHB 0,1%	1,10E+07*	5,77E+05
PHB 0,3%	1,20E+06	1,00E+05

(*) diferença estatisticamente significativa

A Figura 10 mostra uma fotografia típica do solo após a retirada do filme de PHB/0,1%, onde se pode ver a presença de uma camada branca (circulada) na superfície do solo que estava em contato com o filme. Esta camada branca pode ser atribuída ao biofilme formado, indicando que o filme funcionou como uma fonte de energia para a multiplicação dos micro-organismos. Além da camada branca, é visto na Figura 9 o filme de PHB/0,1% totalmente degradado.

Desta forma, ao contrário do que foi observado no ensaio de liberação de CO₂, pode-se considerar o controle positivo e os filmes PHB 0,05% e 0,1% como materiais biodegradáveis. Portanto, a adição de até 0,1% (p/p) de nanopartículas de amido e celulose facilitou a biodegradação do PHB.



Figura 10. Imagem do solo após a retirada do filme de PHB/0,1%

4.2 DEGRADAÇÃO DOS COMPÓSITOS

4.2.1 ASPECTO VISUAL

O aspecto dos filmes de PHB/nanopartículas antes e após serem retirados do ensaio de biodegradação nos tempos de 15, 30 e 90 dias podem ser comparado nas Figuras 11-14. Nestas Figuras, pode ser observada a gradativa degradação sofrida pelos filmes ao longo do tempo. Percebe-se que o filme com maior aparência de degradação é o de PHB/0,1%, estando estes parcialmente fragmentados após 90 dias de ensaio. Neste caso, os primeiros sinais de degradação, como o pequeno furo indicado pela seta na Figura 12, começaram e ser visualizados ainda após 15 dias.

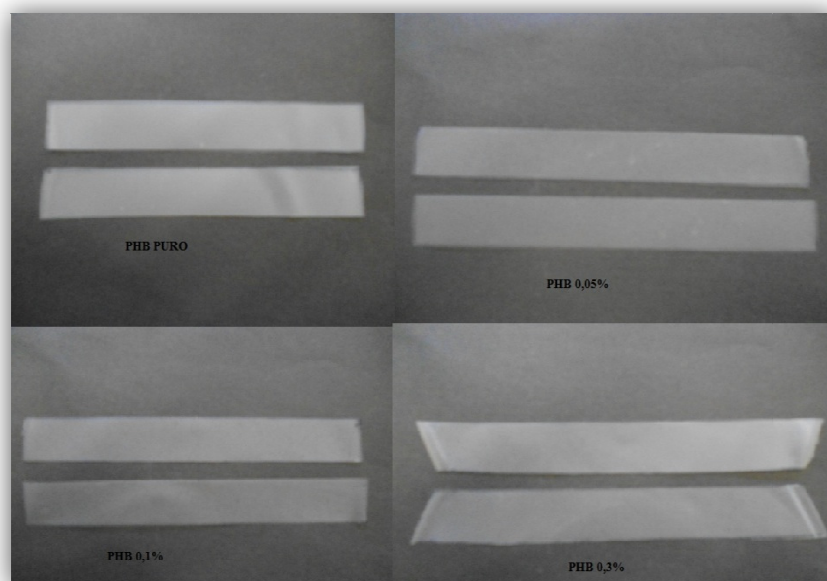


Figura 11. Filmes antes da biodegradação.



Figura 12. Filmes após 15 dias de biodegradação.

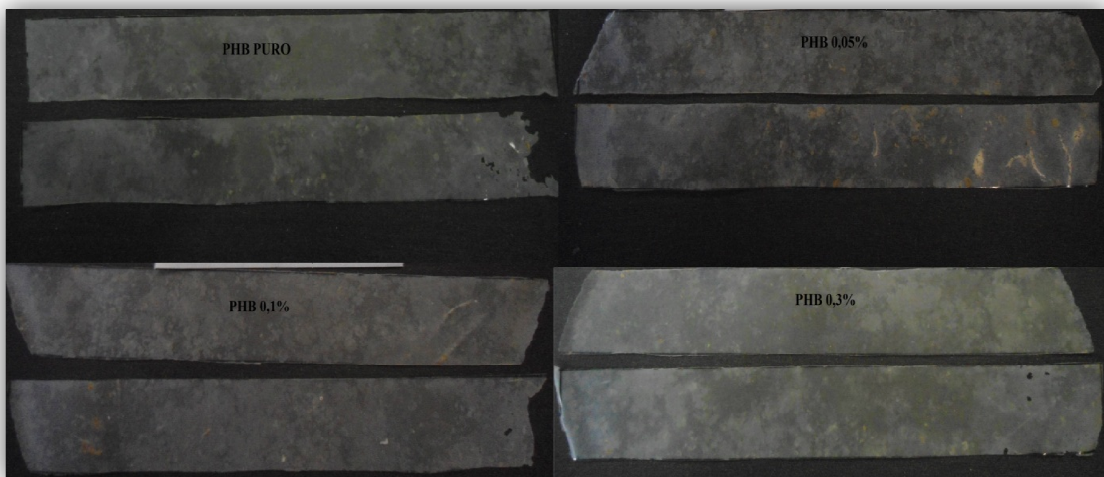


FIGURA 13. Filmes após 30 dias de biodegradação.

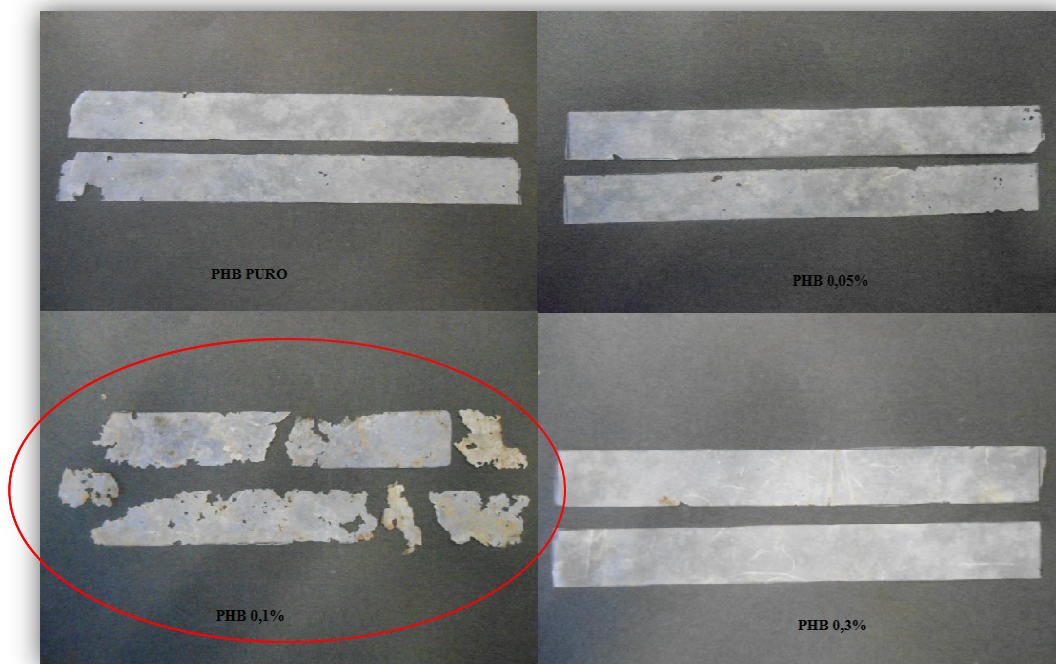


Figura 14. Filmes após 90 dias de biodegradação.

4.2.2 MICROSCOPIA OPTICA

O ensaio de microscopia óptica foi realizado com um aumento de 500x para observar algum detalhe que possa evidenciar a degradação e que não pudesse ser observado a olho nu. As figuras 15-18 mostram uma comparação feita entre a imagem dos filmes antes e após a degradação.

Através das Figuras, ficou evidenciada a presença de buracos e trincas que caracterizam a degradação. Além disso, podemos observar uma mudança na coloração dos filmes que pode ser explicada pela aderência de uma pequena quantidade de solo nos filmes.

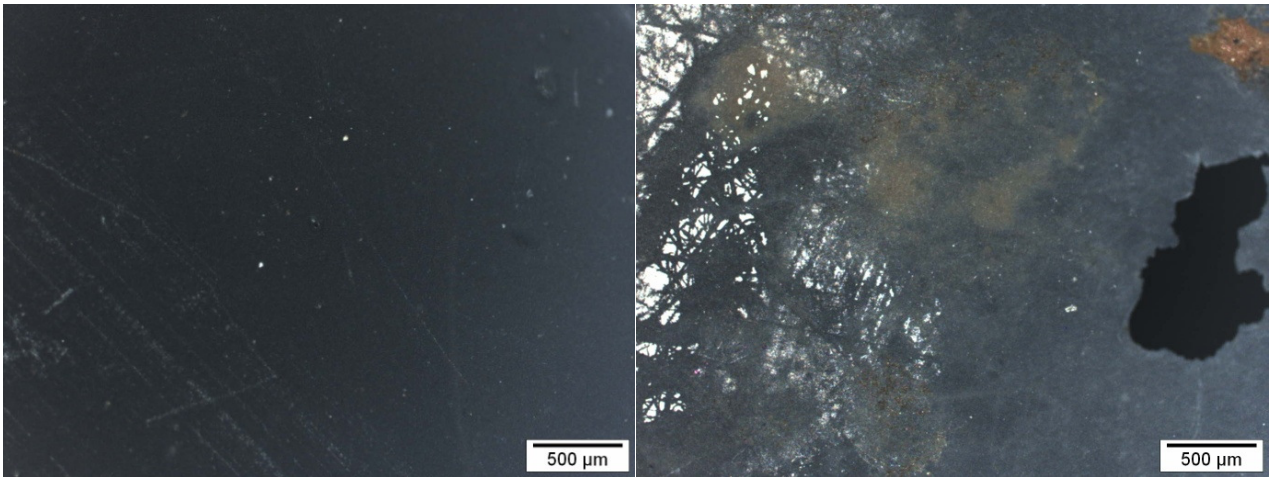


Figura 15. PHB PURO antes da biodegradação e após 90 dias de biodegradação.

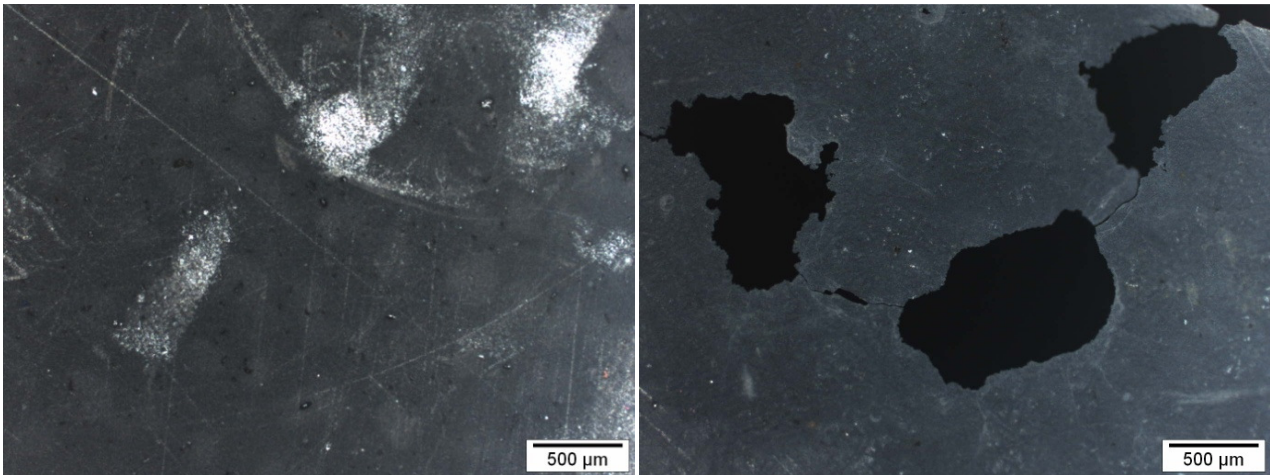


Figura 16. PHB 0,05% antes da biodegradação e após 90 dias de biodegradação.

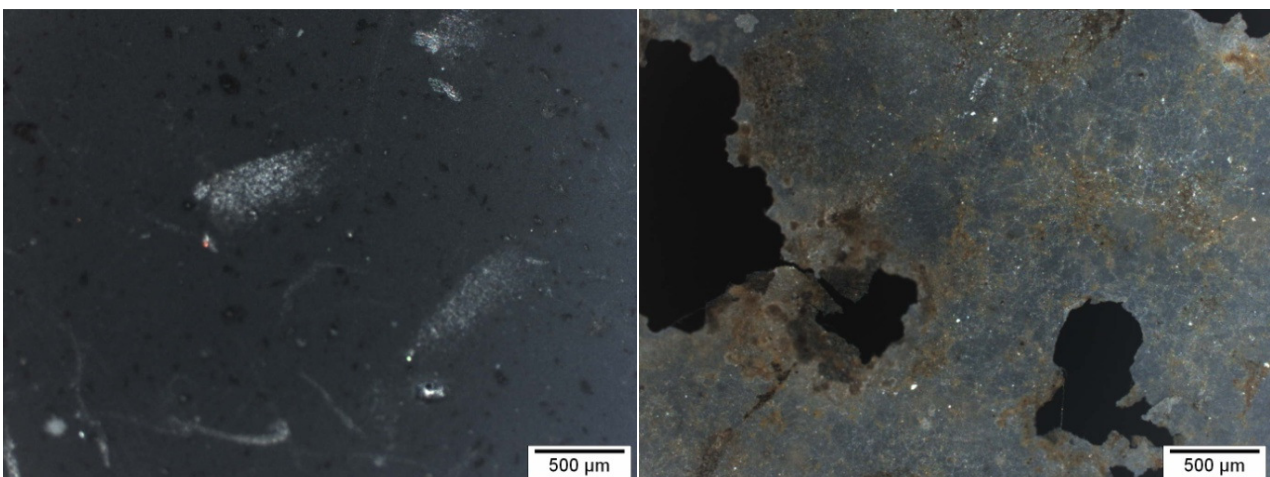


Figura 17. PHB 0,1% antes da biodegradação e após 90 dias de biodegradação.

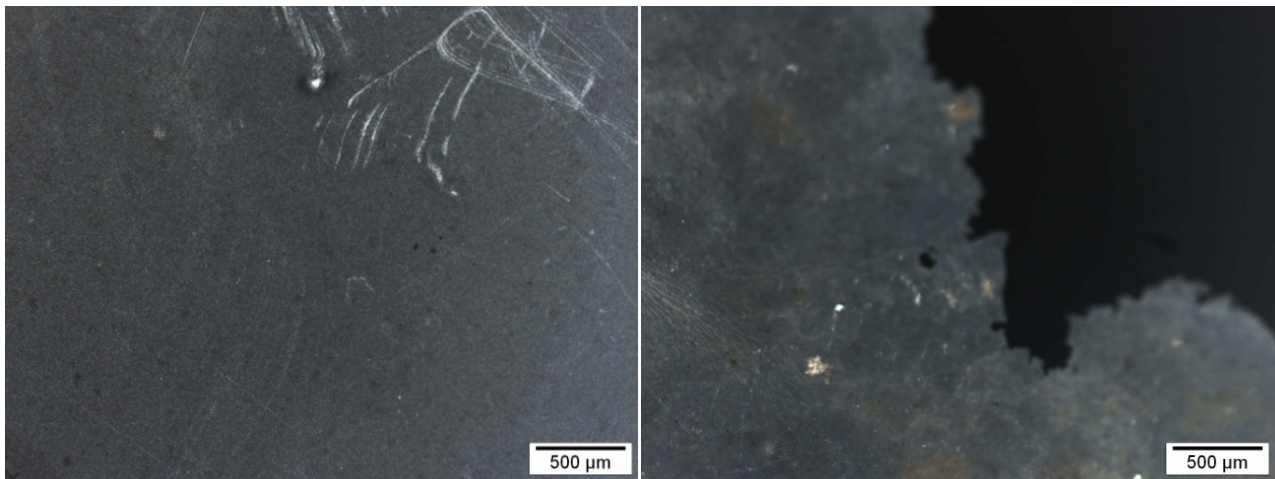


Figura 18. PHB 0,3% antes da biodegradação e após 90 dias de biodegradação.

4.2.3 ENSAIO DE TRAÇÃO

O ensaio de tração foi realizado em todas as amostras retiradas do ensaio de biodegradação nos tempos de 15 e 90 dias, além disso, também foi feito nos filmes antes da degradação. O ensaio só não foi realizado naquelas amostras que devido ao ataque microbiano não foi possível a realização do mesmo, como foi o caso da amostra de PHB/0,1% retirada após 90 dias de degradação.

O que mais ficou evidenciado, em todas as amostras, foi a diminuição dos valores de alongamento na ruptura (AR) ao longo da degradação. Essa diminuição dos valores de alongamento ocorreu em função da presença de defeitos (poros, trincas etc) na superfície dos filmes devido à degradação. Esses defeitos funcionam como pontos de concentração de tensão fragilizando o material. Os valores de módulo de elasticidade (E) e de limite de resistência à tração (LR) variaram pouco e de forma irregular estando dentro do desvio padrão (Figuras 19-22, tabela 4).

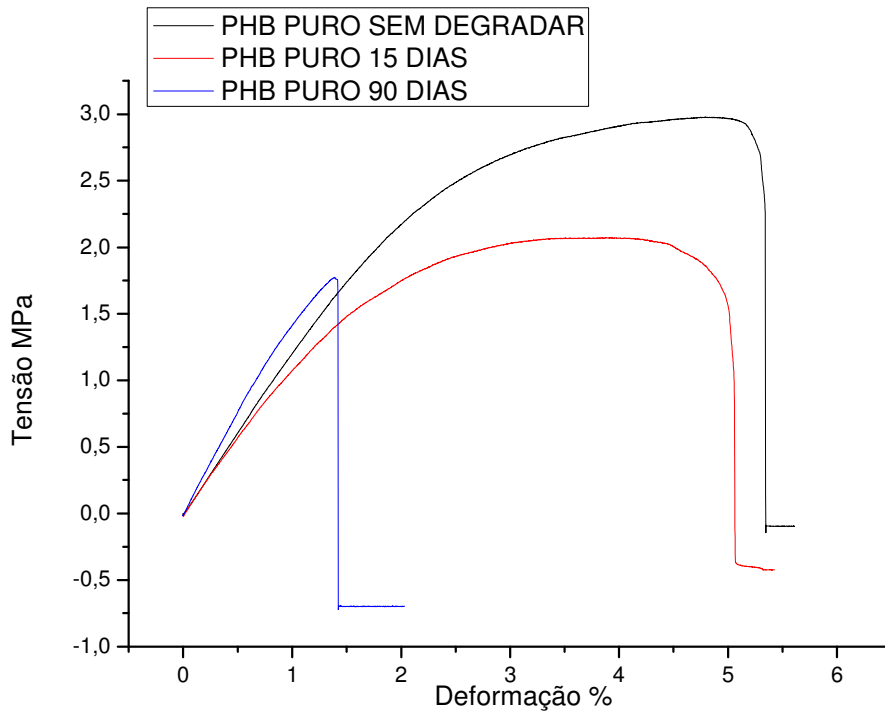


Figura 19. Curvas médias do ensaio de tração nas amostras de PHB puro ao longo do ensaio de degradação.

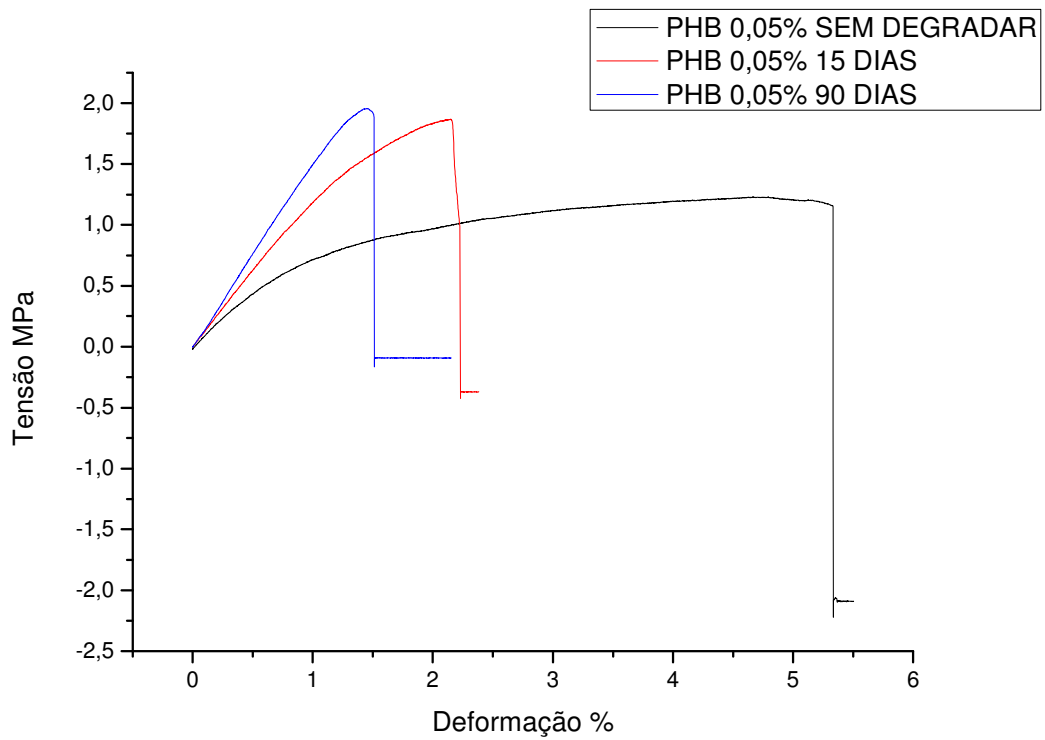


Figura 20. Curvas médias do ensaio de tração nas amostras de PHB 0,05% ao longo do ensaio de degradação.

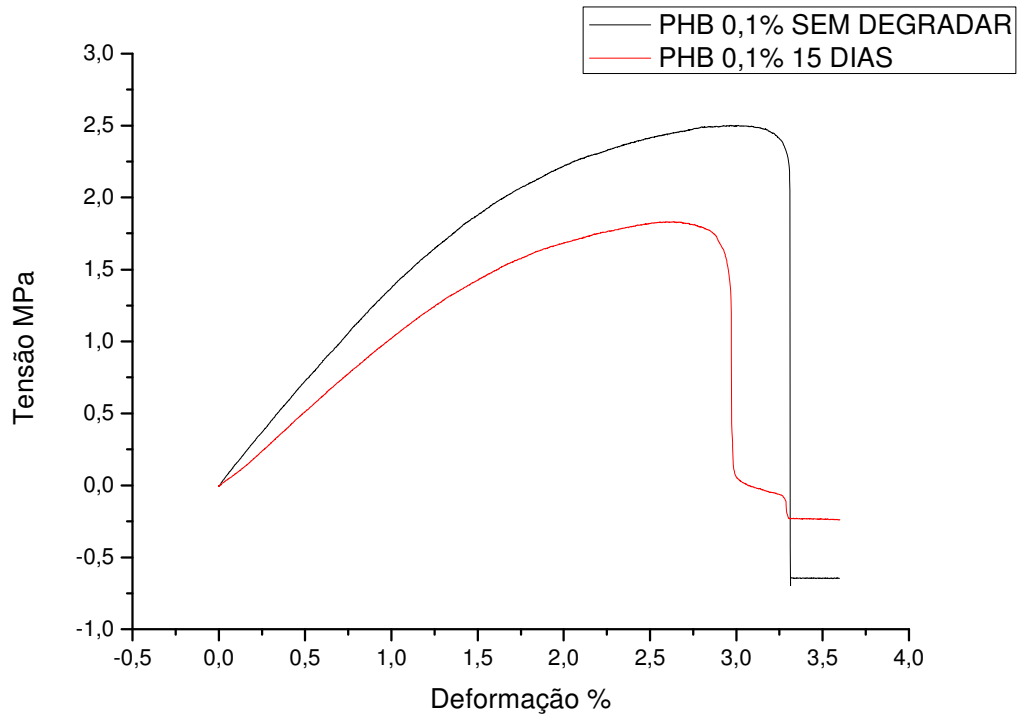


Figura 21. Curvas médias do ensaio de tração nas amostras de PHB 0,1% ao longo do ensaio de degradação.

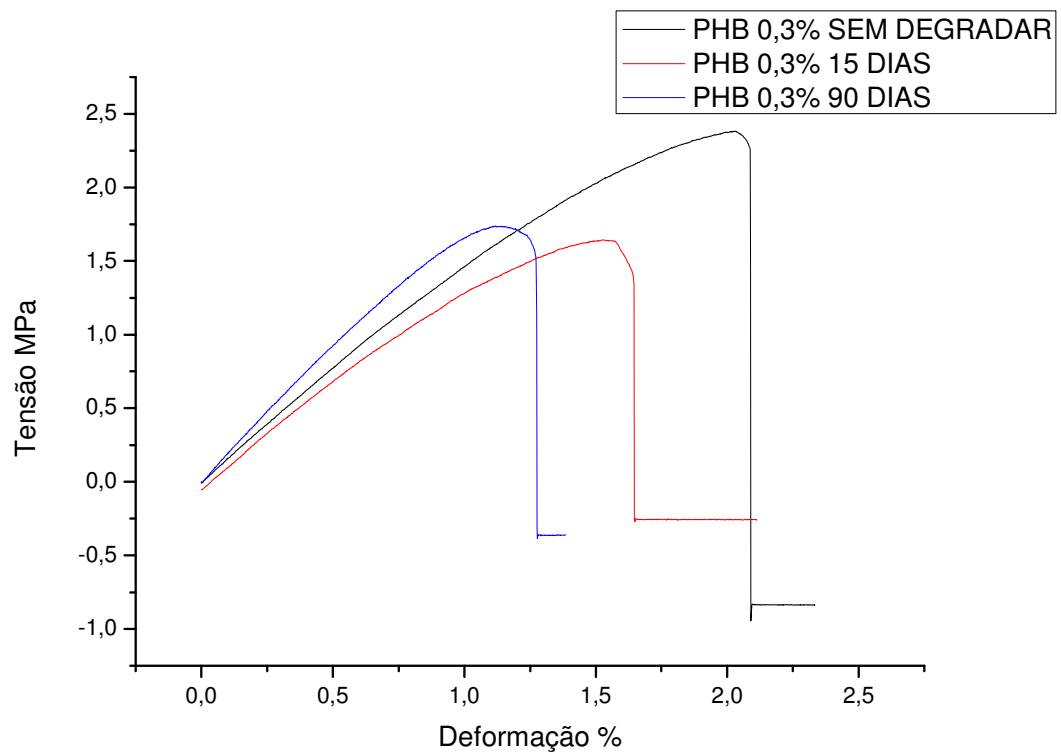


Figura 22. Curvas médias do ensaio de tração nas amostras de PHB 0,3% ao longo do ensaio de degradação.

Tabela 4. Resultados do ensaio de tração realizados em todas as amostras antes e após a degradação.

TEMPOS	TIPO	E (Mpa)	LR (Mpa)	AR (%)
SEM BIODEGRADAR	PHB PURO	1,45 ± 0,36	2,87 ± 0,50	5,59 ± 0,65
	PHB 0,05%	1,17 ± 0,38	1,47 ± 0,31	5,26 ± 0,54
	PHB 0,1%	1,45 ± 0,11	2,62 ± 0,17	3,47 ± 0,22
	PHB 0,3%	1,51 ± 0,06	2,55 ± 0,31	2,33 ± 0,39
15 DIAS	PHB PURO	1,23 ± 0,16	2,45 ± 0,54	5,32 ± 0,34
	PHB 0,05%	1,26 ± 0,03	1,96 ± 0,13	2,54 ± 0,42
	PHB 0,1%	1,15 ± 0,15	2,15 ± 0,45	3,20 ± 0,26
	PHB 0,3%	1,34 ± 0,04	1,25 ± 0,56	1,58 ± 0,10
90 DIAS	PHB PURO	1,50 ± 0,16	1,72 ± 0,65	1,40 ± 0,31
	PHB 0,05%	1,52 ± 0,24	1,60 ± 0,60	1,34 ± 0,45
	PHB 0,1%	-	-	-
	PHB 0,3%	1,86 ± 0,13	1,68 ± 0,08	1,23 ± 0,07

4.2.4 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO (FTIR).

Uma forma empregada para quantificar a degradação de um poliéster é a determinação da presença de grupos carboxílicos terminais no polímero uma vez que se entende que a formação desses grupos é decorrente da degradação do poliéster pelos micro-organismos (VINHAS, 2007). Os espectros de FTIR para as amostras antes da biodegradação e após 90 dias de degradação são mostradas na figura 23 apresentada a seguir. Os outros espectros são apresentados no anexo, sendo eles os de 15 dias, 30 dias, PHB puro, PHB 0,05%, PHB 0,1% e PHB 0,3%.

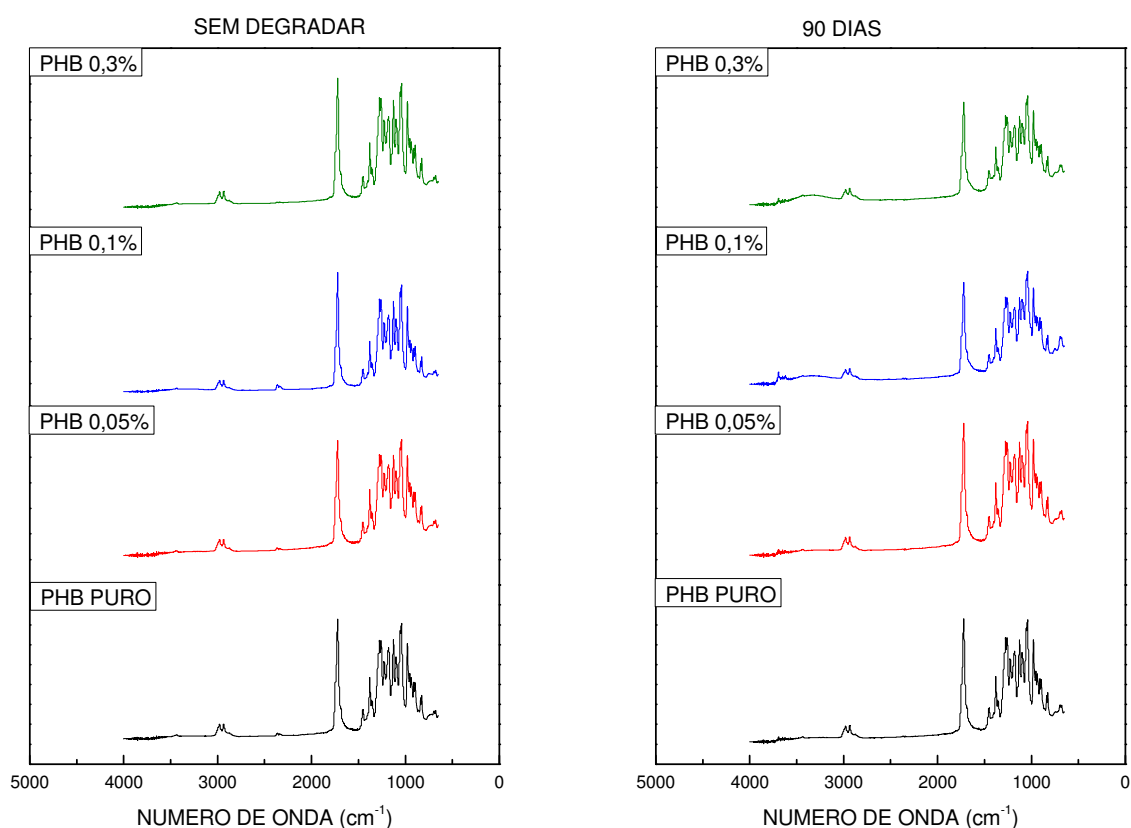


Figura 23. Espectros de FTIR sem biodegradar e após 90 dias de degradação.

Para calcular o índice de grupos carboxílicos terminais (IGCT) faz-se a relação entre os picos referentes aos grupos carboxílicos terminais (3290 cm^{-1}) e o pico referente à vibração da deformação axial C-H. Na figura 24 temos uma ampliação dos espectros antes e após a degradação para que os picos relacionados com a degradação do poliéster fossem evidenciados.

Além dos picos relacionados com a degradação também foram feitas ampliações dos espectros nas regiões dos picos característicos do PHB como mostra a figura 25. Esses picos são referentes às ligações químicas características do PHB como a ligação C=O que representa o éster, esta ligação pode ser encontrada na região de 1721 cm^{-1} . A vibração da ligação O-C-O na fase cristalina pode ser encontrada em três picos diferentes próximos uns aos outros (1228 , 1262 e 1278 cm^{-1}) enquanto que na fase amorfa o pico pode ser observado na região de 1182 cm^{-1} . Em anexo são apresentadas os espectros de todas as amostras divididas por dias de degradação (sem degradar, 15 dias, 30 dias e 90 dias) e divididas por tipo de amostra (PHB puro, PHB 0,05%, PHB 0,1% e PHB 0,3%).

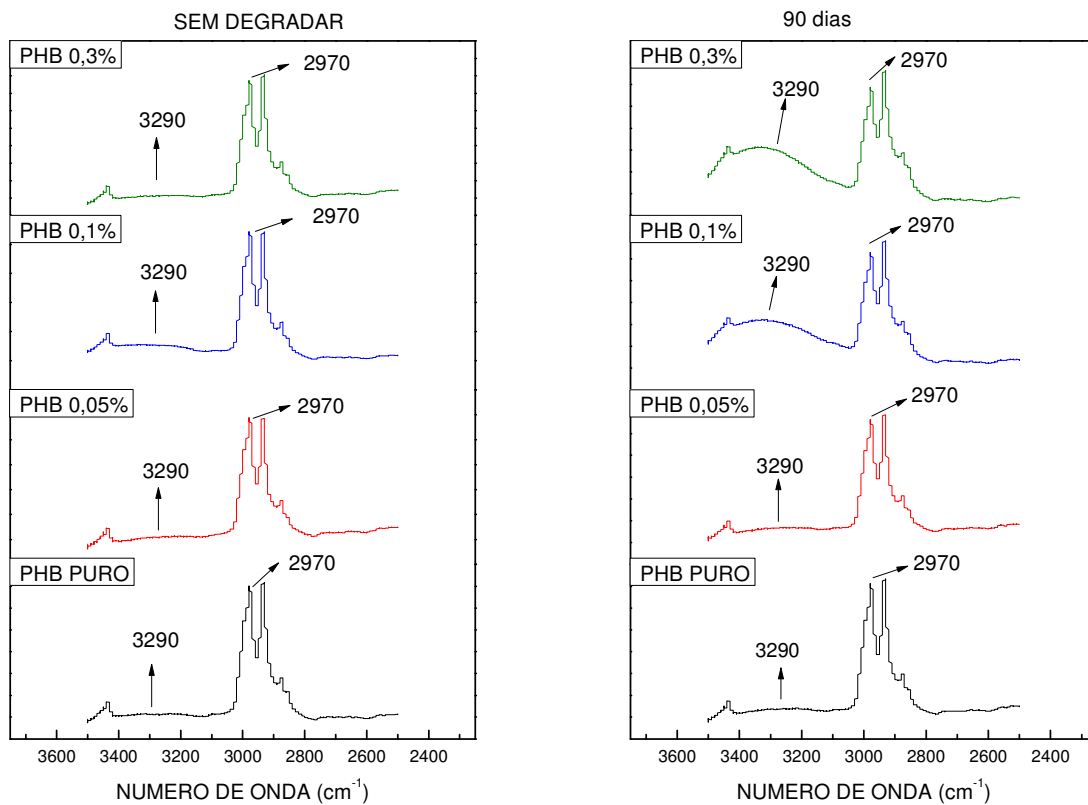


Figura 24. Representação das bandas características da degradação.

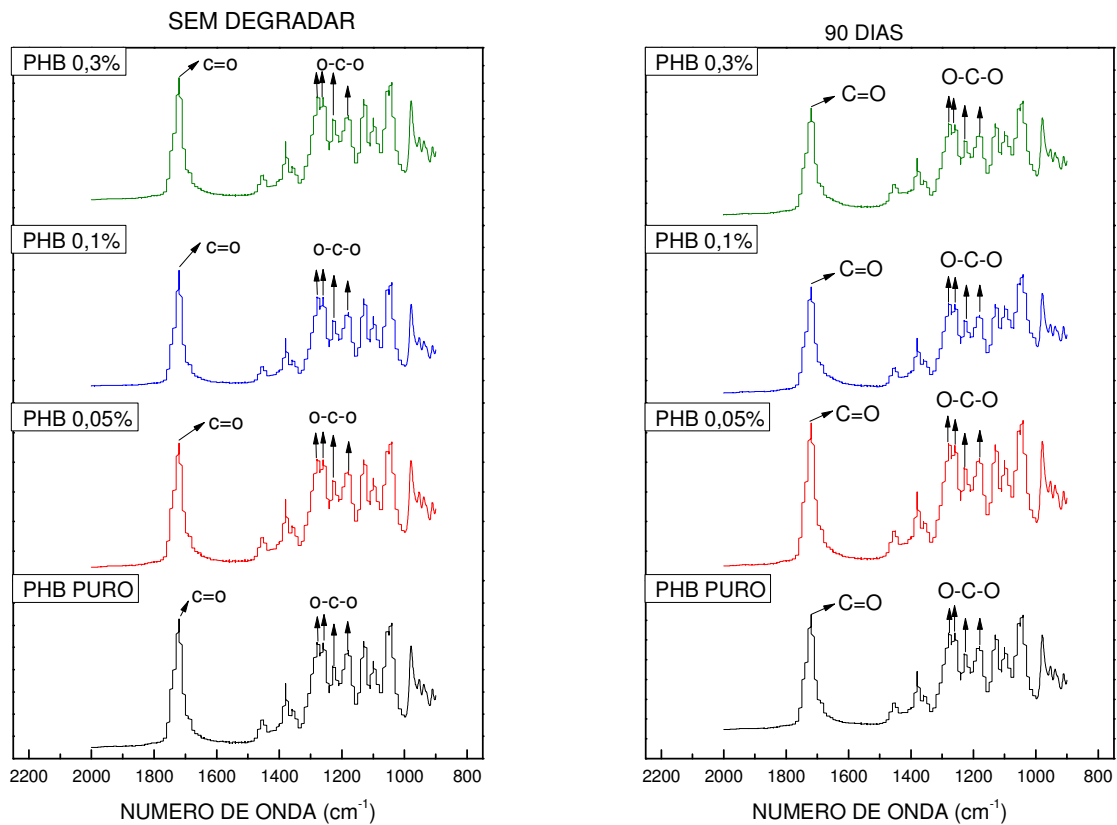


Figura 25. Picos característicos das ligações presentes no PHB.

No presente trabalho foram feitas as comparações entre os 4 tipos diferentes de amostras (PHB puro, PHB 0,05%, PHB 0,1% e PHB 0,3%) ao longo da degradação. Na Tabela 5 apresentada abaixo se tem uma comparação dos valores de IGCT para as amostras antes da degradação e após 90 dias de degradação. Percebemos um aumento do IGCT para todas as amostras, mas os aumentos mais significativos foram percebidos nas amostras de PHB 0,1% e PHB 0,3%. O aumento do IGCT pode ser um indício de redução do peso molecular de todas as amostras após incubação no solo.

Tabela 5. Percentual de degradação segundo análise de FTIR.

FTIR		
AMOSTRA	SEM DEGRADAR	90 DIAS
PHB PURO	16,27%	22,24%
PHB 0,05%	17,81%	27,73%
PHB 0,1%	22,94%	114,59%
PHB 0,3%	12,21%	134,06%

4.2.5 CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC)

O ensaio de DSC foi realizado para avaliar a cristalinidade das amostras. Além disso, faz-se uma análise das temperaturas de transição vítrea (T_g), temperatura de cristalização (T_c), temperatura de fusão (T_f), entalpia de cristalização (ΔH_c) e entalpia de fusão (ΔH_f). Na Tabela 6 apresentada a seguir tem-se uma comparação entre esses resultados para as amostras antes da degradação e após 90 dias de degradação. A variação de todos os parâmetros térmicos foi muito pouco, portanto, não podemos afirmar nada. O que pode ser retirado desses valores é o aumento da temperatura de transição vítrea (T_g) com a adição das nanopartículas. Esse aumento pode ser explicado pelo fato das nanopartículas terem interagido com a parte amorfa do polímero e assim dificultando ainda mais a sua movimentação.

Tabela 6. T_g , T_c , ΔH_c (J/g), T_f , ΔH_f (J/g) das amostras sem degradar e após 90 dias.

Amostra	T_g (°C)	T_c (°C)	ΔH_c (J/g)	T_f (°C)	ΔH_f (J/g)
PHB PURO SEM DEGRADAR	1,25	53	-47	166	67
PHB PURO 90 DIAS	1,97	53	-45	165	63
PHB 0,05% SEM DEGRADAR	3,38	56	-40	171	65
PHB 0,05% 90 DIAS	1,68	51	-35	171	70
PHB 0,1% SEM DEGRADAR	2,25	53	-42	171	71
PHB 0,1% 90 DIAS	2,21	51	-41	169	68
PHB 0,3% SEM DEGRADAR	2,83	53	-39	170	64
PHB 0,3% 90 DIAS	2,06	51	-39	169	68

Na figura 26, são apresentadas as curvas de DSC para todas as amostras antes da degradação e após 90 dias de degradação. Em anexo são apresentadas as curvas de DSC divididas por amostras (PHB puro, PHB 0,05%, PHB 0,1% e PHB 0,3%). Percebe-se pelas curvas que não houve uma mudança muito significativa na forma das mesmas e nem nos parâmetros térmicos.

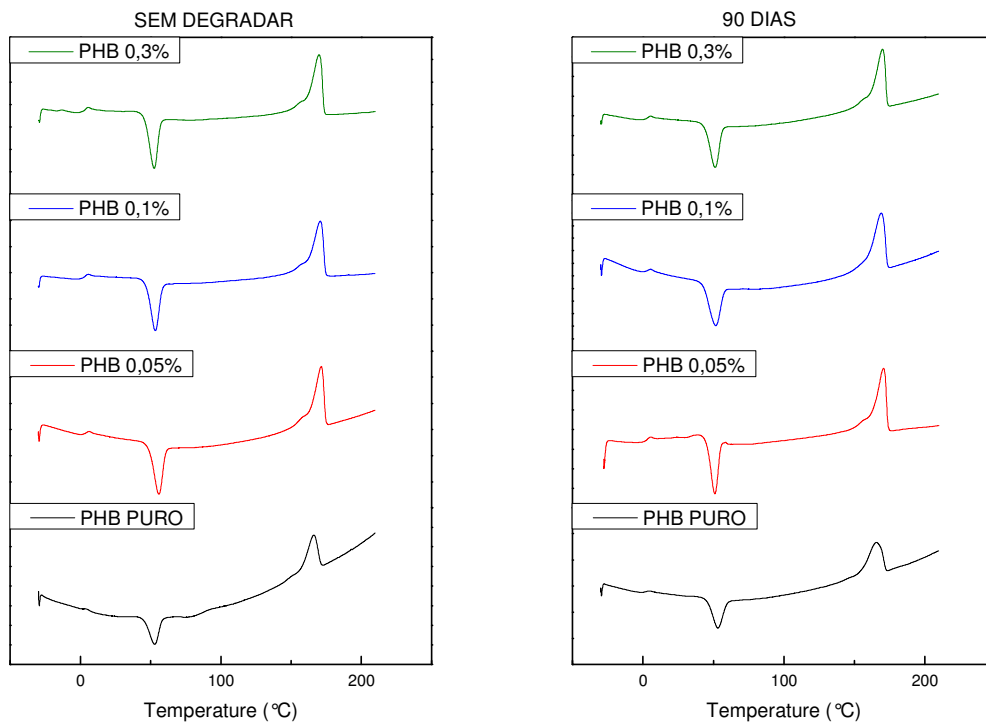


Figura 26. Curvas de DSC das amostras sem degradar e após 90 dias de degradação.

Contudo o principal resultado retirado do DSC está relacionado com o grau de cristalinidade dos filmes, para isto precisamos dos valores da entalpia de fusão das amostras (Tabela 7) e do valor da entalpia de fusão do polímero 100% cristalino que no caso do PHB é de 146 (J/g) (Fujimoto,2011).

Os resultados para as amostras antes da degradação e após 90 dias de degradação são apresentados na Tabela 7 a seguir. A variação nos valores da cristalinidade não foi muito significativa em nenhuma amostra, mas mostra a tendência destes valores.

Tabela 7. Percentual de cristalinidade das amostras sem degradar e após 90 dias

Amostra	Xc	Xc mássico
PHB PURO SEM DEGRADAR	46%	46%
PHB PURO 90 DIAS	43%	43%
PHB 0,05% SEM DEGRADAR	44%	44%
PHB 0,05% 90 DIAS	48%	48%
PHB 0,1% SEM DEGRADAR	49%	49%
PHB 0,1% 90 DIAS	47%	47%
PHB 0,3% SEM DEGRADAR	44%	44%
PHB 0,3% 90 DIAS	47%	47%

4.2.6 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

Os difratogramas de todas as amostras foram analisados e os graus de cristalinidades foram medidos. Na figura 27 estão apresentados os difratogramas de todas as amostras antes e após 90 dias de degradação e em anexo os difratogramas de 15 dias e 30 dias, além dos difratogramas divididos por tipo de amostra.

Como pode ser visto na Tabela 8, houve uma diminuição no grau de cristalinidade das amostras ao longo da degradação, com exceção do filme de PHB/0,05%. Essa diminuição do grau de cristalinidade nos resultados podem ser explicados pelo fato de no ensaio de DRX a adição das nanopartículas terem aumentado a região amorfa e assim diminuído o grau de cristalinidade. Pela Figura 27, observa-se uma diminuição da intensidade do pico de difração em $2\theta = 13,6^\circ$ referente ao plano (020) para todas as amostras.

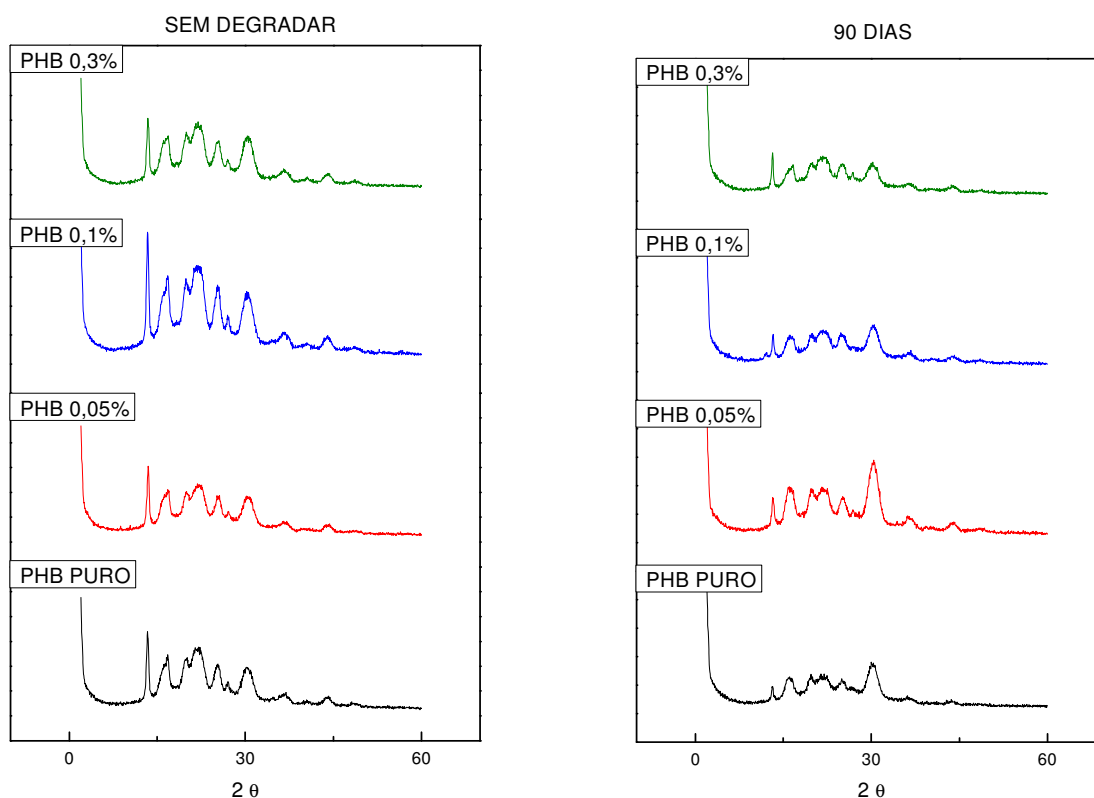


Figura 27. Picos do DRX para as amostras antes da biodegradação e após 90 dias de degradação.

Tabela 8. Grau de cristalinidade das amostras ao longo da degradação.

Amostra	SEM BIODEGRADAR	15 DIAS	30 DIAS	90 DIAS
PHB PURO	54%	44%	42%	37%
PHB 0,05%	49%	46%	47%	52%
PHB 0,1%	55%	48%	44%	44%
PHB 0,3%	52%	46%	52%	44%

CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO

Pelo ensaio de biodegradação referente à Norma ASTM D5988– 11 (Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation in Soil of Plastic Materials or Residual Plastic Materials After Composting) não foi possível confirmar a biodegradabilidade do PHB e de seu nanocompósitos contendo nanopartículas oriundas do farelo de milho. Para tal a quantidade de CO₂ liberado ao longo do ensaio pelas amostras contendo os filmes deveria ser maior que a liberação de CO₂ do solo puro, o que não foi possível ser observado. Possivelmente ocorreram problemas de execução do ensaio e a metodologia empregada deve ser revisada.

Porém, outra maneira encontrada de comprovar a biodegradação dos filmes foi através da contagem de número de unidades formadoras de colônias presentes no solo após a retirada dos filmes enterrados por 90 dias. Se o número de colônias formadas fosse maior nos solos relacionados com os filmes ficaria comprovado que o PHB ou seus compósitos funcionaram como fonte de energia para a manutenção e reprodução das bactérias presentes no solo. Nesse ensaio, a amostra que apresentou os melhores resultados foi a de PHB/0,1% obtendo um resultado bastante expressivo quando comparado com o controle positivo. A biodegradação dos filmes de PHB puro e de PHB contendo 0,3% de nanopartículas não foi evidenciada.

A degradação em solo dos filmes de PHB decorrente de processos sem a presença do micro-organismo foi evidenciada após 90 dias por inspeção visual, ensaios de tração e avaliação do número de grupos carboxílicos terminais. Considerando a avaliação morfológica a olho nu e via microscopia óptica, observou-se maior fragmentação e deterioração dos filmes de PHB/0,1%. Todas as amostras mostraram sinais de degradação após 90 dias de incubação em solo.

O ensaio de tração foi realizado para avaliar as possíveis perdas de propriedades mecânicas nas amostras ao longo do tempo de degradação. As variações no módulo de elasticidade (E) e no limite de resistência (LR) estão dentro do erro experimental e, portanto pode ser considerado que não houve mudanças significativas. Já os valores de alongamento na ruptura (AR) diminuíram ao longo da degradação para todas as amostras evidenciando uma perda de propriedade mecânica, sendo um resultado coerente relacionado à degradação dos filmes.

O percentual de degradação dos filmes foi avaliado através da quantificação do número de grupamentos carboxílicos terminais por FTIR. Neste ensaio as amostras com maior percentagem de degradação foram os filmes de PHB/0,1% e PHB/0,3%.

Os ensaios de DSC e DRX foram feitos para avaliar mudanças no grau de cristalinidade das amostras ao longo do tempo de degradação. Nos ensaios realizados a variação no grau de cristalinidade foi pouco significativo o que não permite dizer se realmente houve essa diminuição de cristalinidade. Desta forma pode-se dizer que a degradação do filme ocorreu preferencialmente na fase amorfa.

Por fim com todos esses resultados podemos concluir que os nanocompósitos de PHB contendo até 0,1% de nanopartículas obtidas a partir de farelo de milho podem ser considerados biodegradáveis. No caso dos filmes de PHB puros e de PHB/0,3%, estas amostras podem ser consideradas apenas passíveis de degradação em solo em condição aeróbica. A amostra de PHB/0,1% foi a de maior percentual de degradação, uma vez que apresentou bons resultados em todos os ensaios realizados.

CAPÍTULO 6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Blendzki, A.K; A. J. (19 de fevereiro de 2010). Mechanical performance of biocomposites based on PLA and PHBV reinforced with natural fibers - A comparative study to PP. *Composites Science an Technology* .

Shah, A.A; F. H. (26 de janeiro de 2008). Biological Degradation of plastics: A comprehensive review. *Scienc Direct* , pp. 246-265.

CALLISTER, W. D. (2002). *Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução*. LTC - Livros Técnicos e Científicos Editora S.A.

CANEVAROLO JUNIOR, S. V. (2004). *Técnicas de Caracterização de Polímeros*. Artliber.

CARASCHI, J. C. (2002). Compósitos Biodegradáveis de Polihidroxibutirato (PHB) Reforçado com Farinha de Madeira: Propriedades e Degradação. *Acta Scientiarum* , 24 (6), 1609-1614.

CASARIN, S. A. (2010). Blendas de PHBV e PCL para Uso em Dispostivos de Osteosíntese. *Tese de D.Sc* .

Hiratuka, C; Cunha, A.M; Araújo, R.D; Mello, C.H; Casedi, J. (junho de 2008). *Relatório de acompanhamento setorial transformados plásticos* , pp. 2,3.

Coutinho,B.C;Miranda,G.B;Sampaio,G.R;De Souza,L.B.S;Santana,W.J;Coutinho,H.D.M.(2004).A importância e as vantagens do polihidroxinutirato (Plásticos biodegradáveis).

D5988-03, A. (2010). *Standart Test Method For Determining Aerobic Biodegradation in soil of Plastic Materials or Residual Plastic Materials after Composting*. ASTM.

Drewnik, M. (21 de junho de 2005). The effect of environmental conditions on the decomposite rate of cellulose in mountain soils. *Science Direct* .

EL-HADI, A. S. (2002). Correlation Between Degree of Crystallinity, Morphology, Glass Temperature, Mechanical Properties and Biodegradation of Poly (3-hydroxyalkanoate) PHAs and Their Blends. *Polymer Testing* , 21, 665-674.

Barud, J. L. (17 de junho de 2010). Bacterial Cellulose/poly(3-Hydroxybutirate) composite membranes. *Science Direct* .

FRANCHETTI, S. M. (2006). Polímeros Biodegradáveis - Uma Solução para Diminuir a Quantidade dos Resíduos Plásticos. *Química Nova* , 29 (4), pp. 811-816.

Fujimoto, D. Y. (2011). *Produção de Poli(3-hidroxitirato)/Nanopartículas obtidas a partir de subproduto da indústria amilácea*. Rio de Janeiro.

JANIGOVÁ, I. L. (2002). Thermal Degradation of Plasticized Poly(3-hydroxybutyrate) Investigated by DSC. *Polymer Degradation and Stability* , 77, 35-41.

Kanh, P. H. *Difração de Raios X*.

Kurusu, R. S. (Agosto 2011). O efeito do tempo e do recozimento nas propriedades mecânicas de de biodegradação de materiais baseados no Poli(3-hidroxi-butirato)(PHB).

L.P, K. (7 de fevereiro de 2006). Biopolymer based nanocomposite: Comparing layered silicates and microcrystalline cellulose as nanoreinforcement. *Composites Science and Technology* .

Mello, C.C. (Março, 2010). Modificação superficial de pó de coco visando a fabricação de compósitos biodegradáveis com matriz de poli(3-hidroxi-butirato). *Tese de M.Sc.* Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil: Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Narayan, R. (2010). Misleading claims and misuse proliferate in the Nascent. *Bioplastic Magazine*, n. 1, v. 10, pp. 38-41

NASCIMENTO, A. P. (Março de 2009). Nanocompósitos Biodegradáveis a Base de Poli(3-hidroxi-butirato) e Nanocristais de Amido. *Tese de M.Sc.* Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil: Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Pereira, T.F. (setembro de 2010). Produção de arcabouços de Poli(3-hidroxi-butirato) pela técnica de sinterização seletiva a laser. Defesa de qualificação de doutorado. Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil: Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Santos, R. E. *Microscopico optico*.

Wang, C. S. (24 de junho de 2004). Characteristics and biodegradation properties of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/organophilic montmorillonite (PHBV/OMNT) nanocomposite. *Science Direct* .

VIEGAS, C. P. (2005). Estudo da Produção de Polihidroxialcanoatos (PHAs) por *Chromobacterium violaceum*. *Tese de M.Sc.* Florianópolis, Santa Catarina, Brasil: Universidade Federal de Santa Catarina.

VINHAS, G. M. (2007). Estudo das Propriedades e Biodegradabilidade de Blendas de Poliéster/Amido Submetidas ao Ataque Microbiano. *Química Nova* , 30, 1584-1588.

Yun-Xuan Weng, Y. W.-L.-Z. (5 de fevereiro de 2010). Biodegradation behavior of PHBV films in a pilot-scale. *Polymer testing* .

Aoyagi, Y.; Yamashita, K.; Doi, Y. "Thermal degradation of poly[(R)-3-hydroxybutyrate], poly[caprolactone], and poly[(S)-lactide]" *Polymer Degradation and Stability*, 76, 1, 53 (2002)

CAPÍTULO 7 - ANEXO

DSC

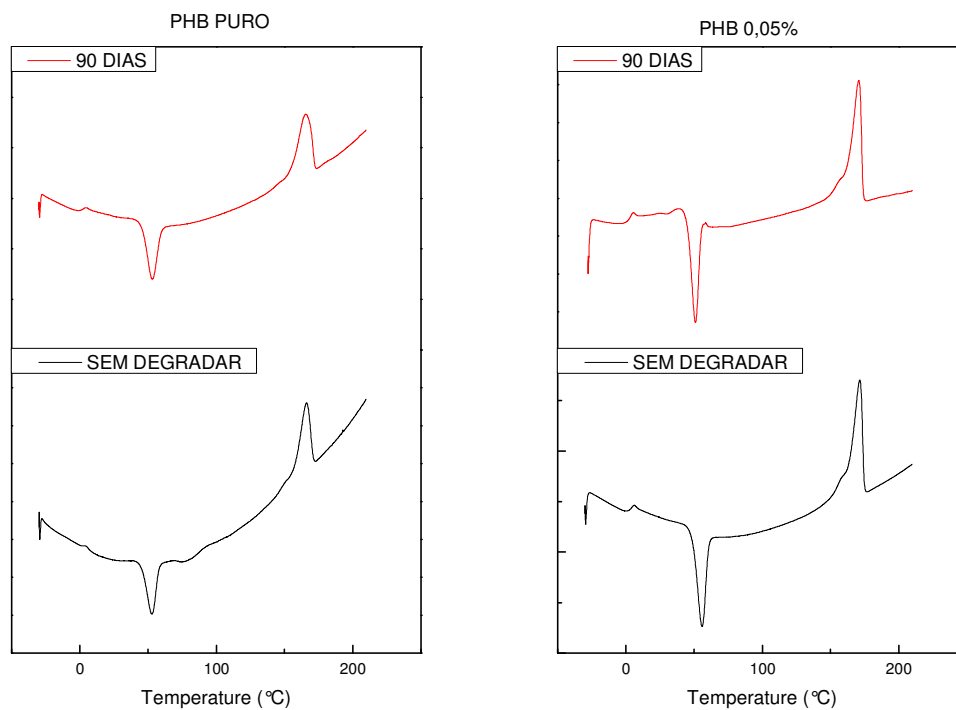


Figura 28. Picos do DSC para as amostras de PHB puro e PHB 0,05%.

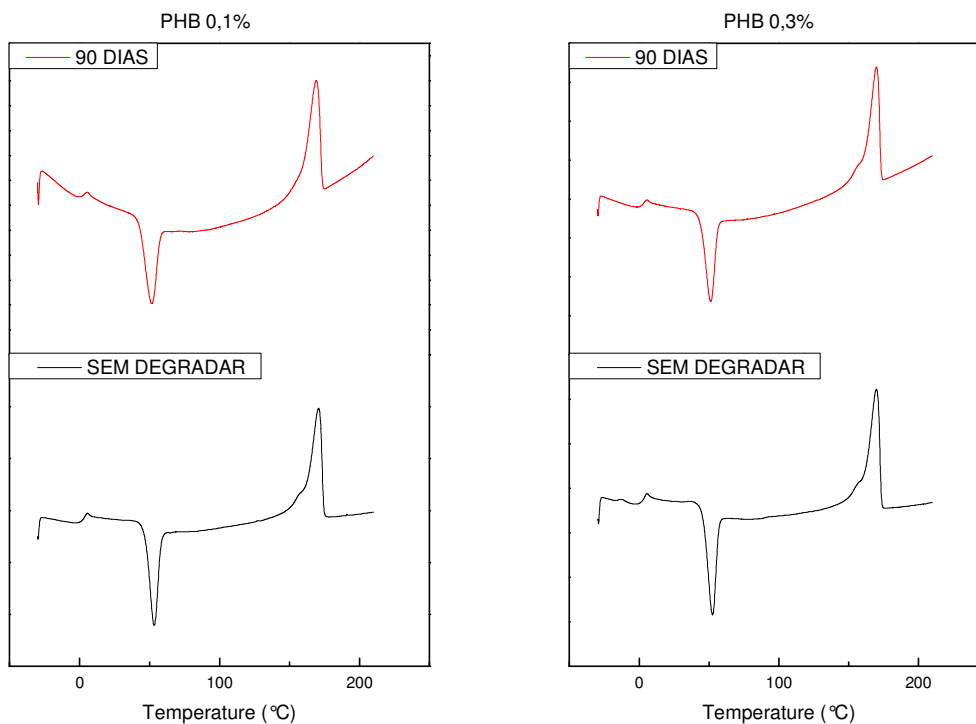


Figura 29. Picos do DSC para as amostras de PHB0,1% e PHB0,3%.

FTIR

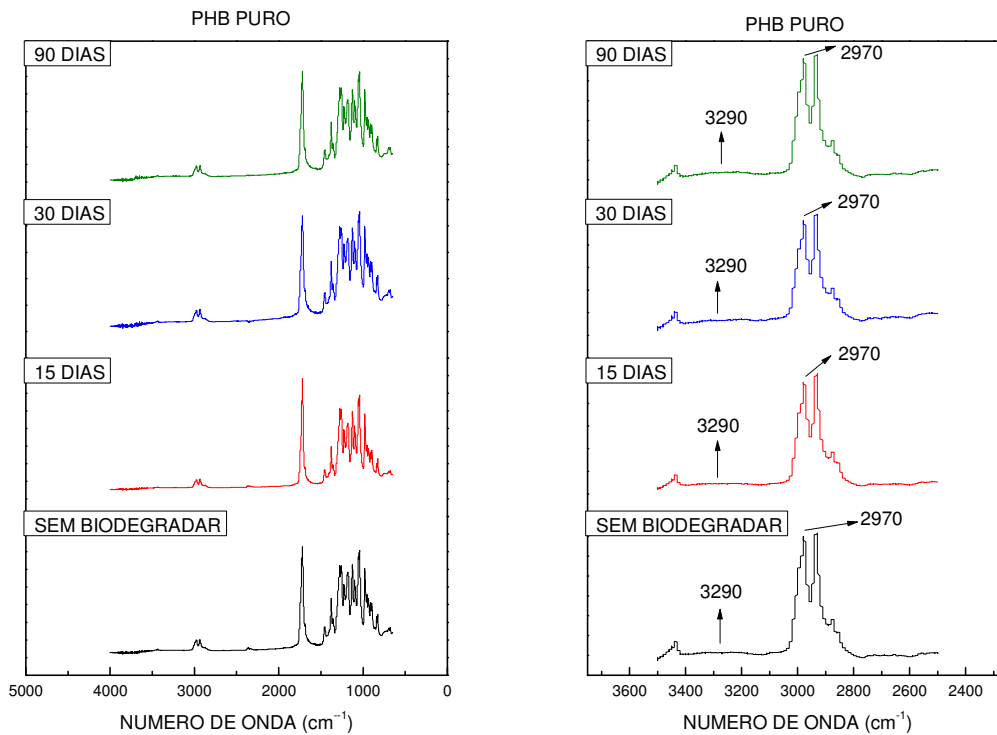


Figura 30. Picos do FTIR para a amostra de PHB puro dividido por dias.

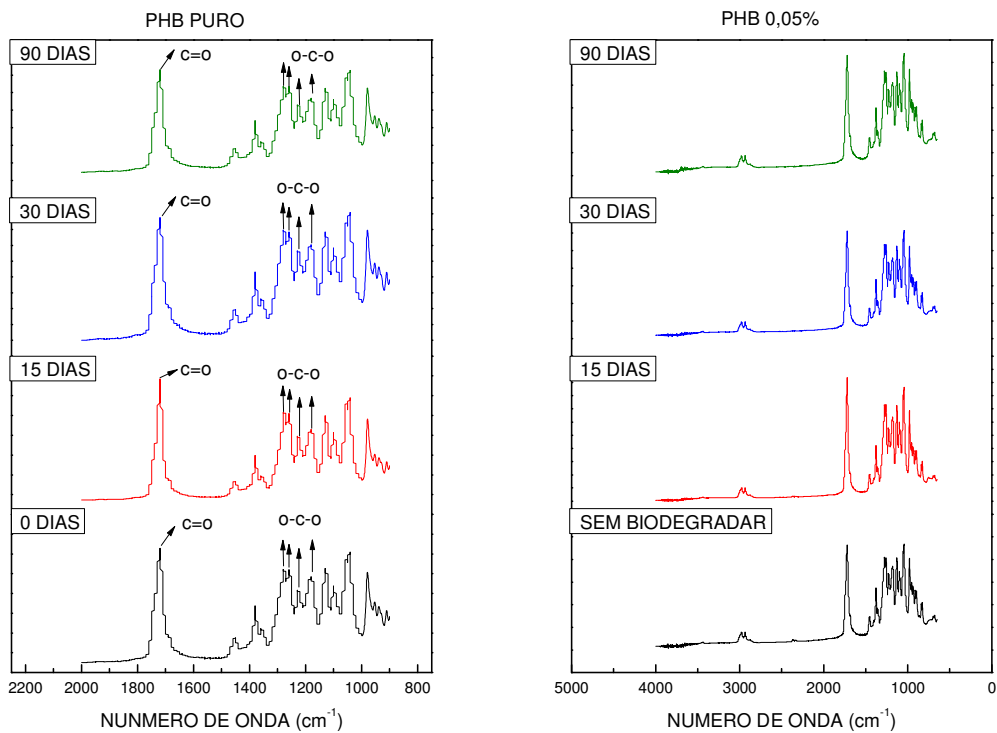


Figura 31. Picos de FTIR para as amostras de PHB puro e PHB 0,05% dividido por dias.

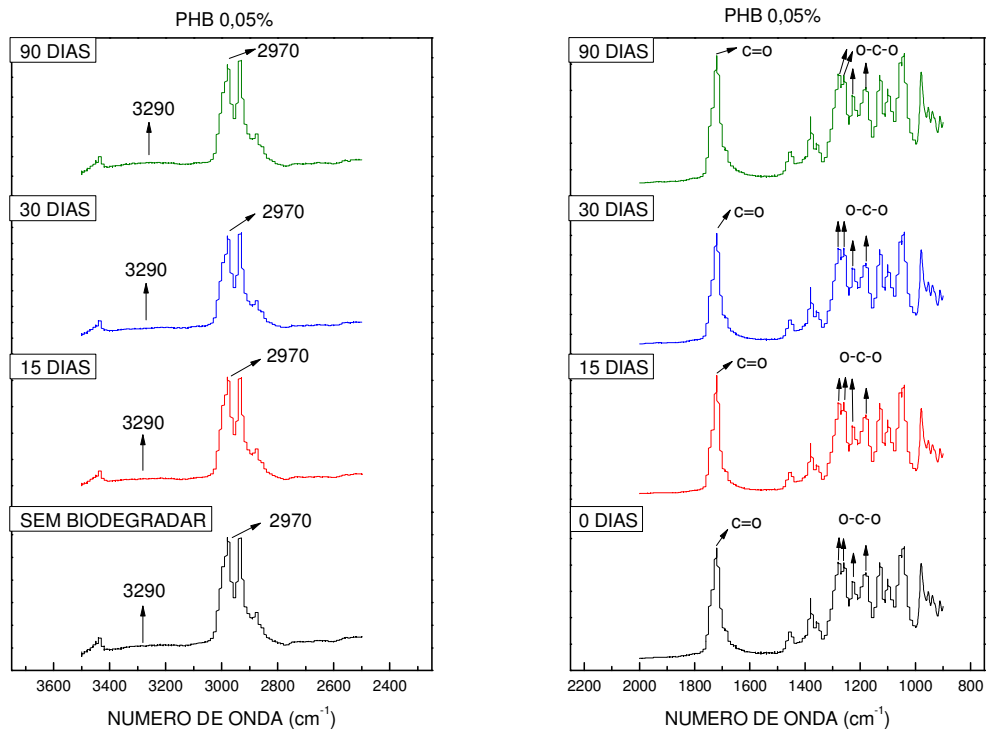


Figura 32. Picos de FTIR para a amostra de PHB 0,05% dividido por dias.

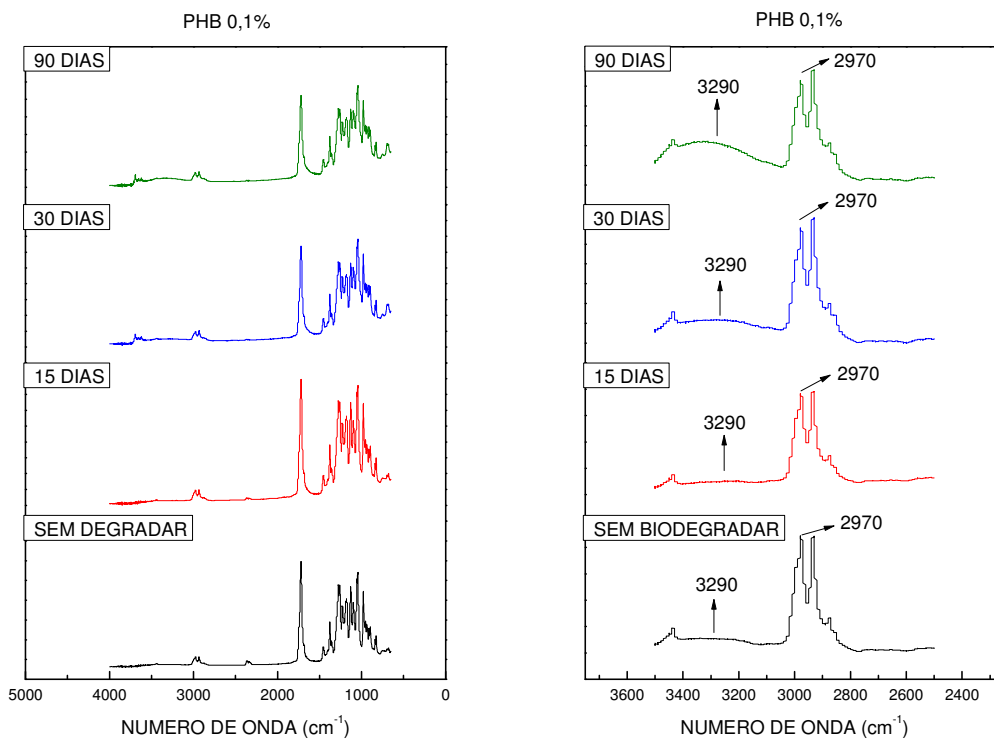


Figura 33. Picos de FTIR para a amostra de PHB 0,1% dividido por dias.

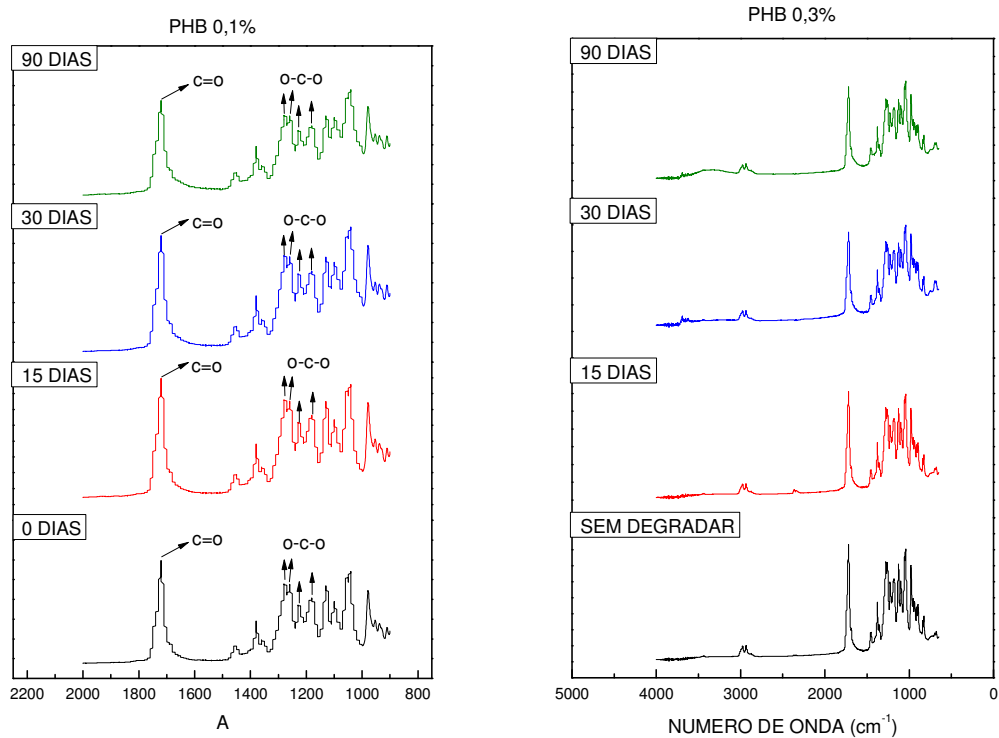


Figura 34. Picos de FTIR para as amostras de PHB 0,1% e PHB 0,3% dividido por dias.

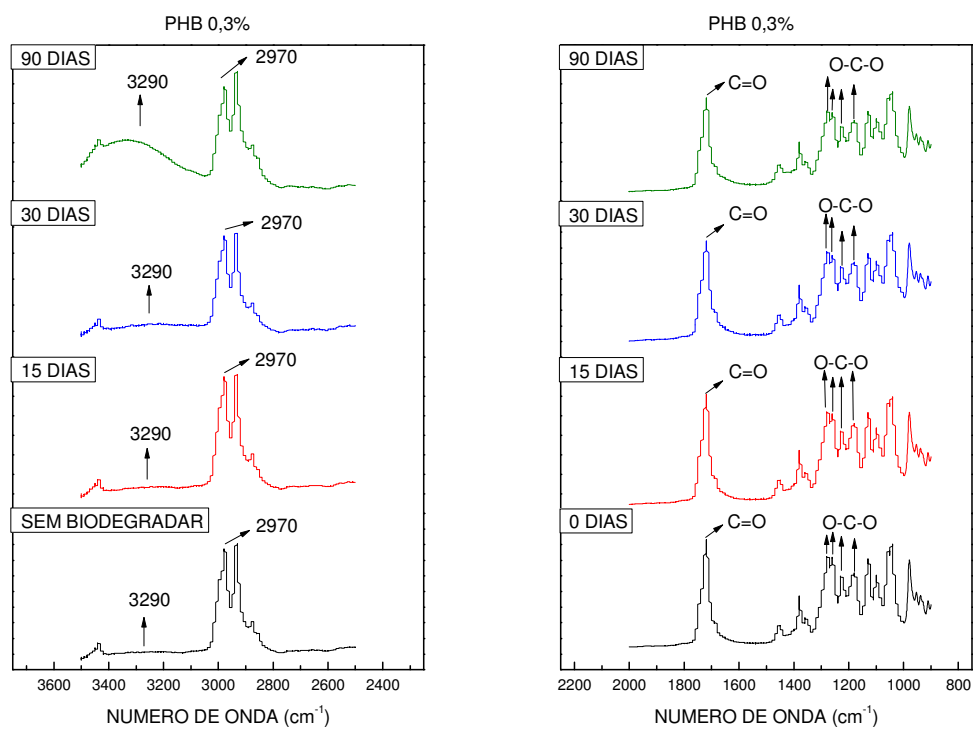


Figura 35. Picos de FTIR para a amostra de PHB 0,3% dividido por dias.

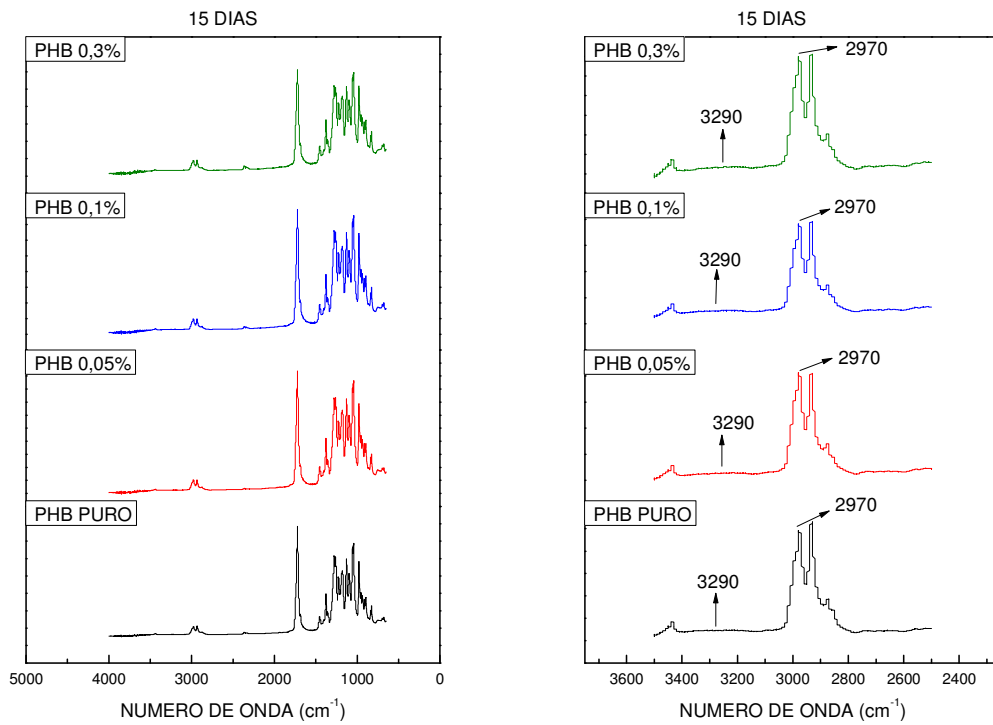


Figura 36. Picos de FTIR no tempo de 15 dias para todas as amostras.

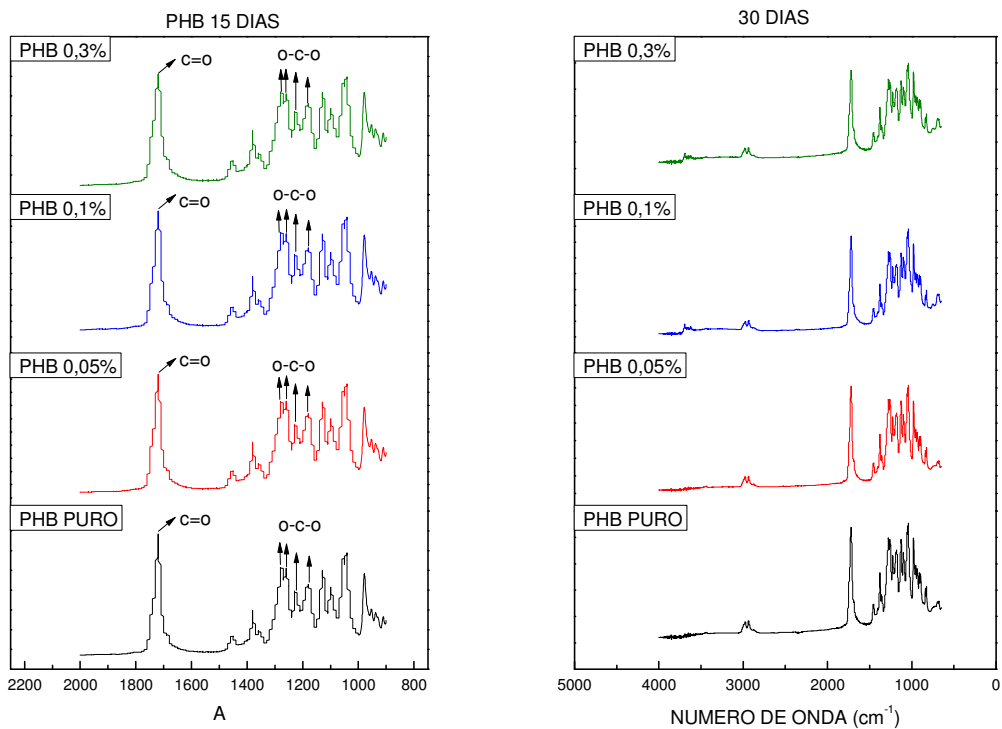


Figura 37. Picos de FTIR nos tempos de 15 dias e 30 dias para todas as amostras.

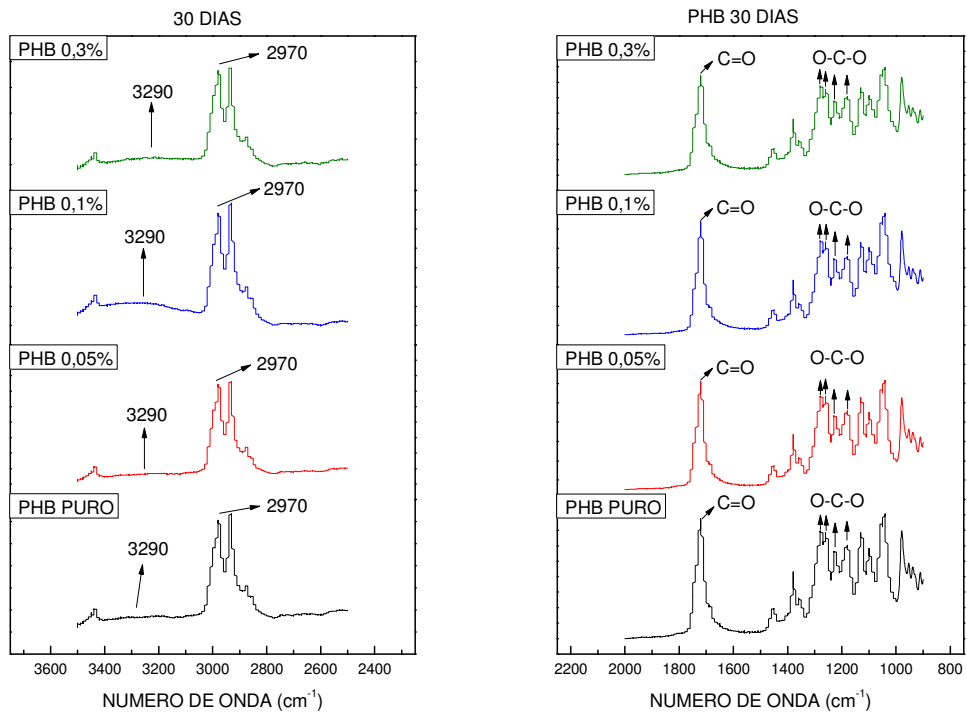


Figura 38. Picos de FTIR no tempo de 30 dias para todas as amostras.

DRX

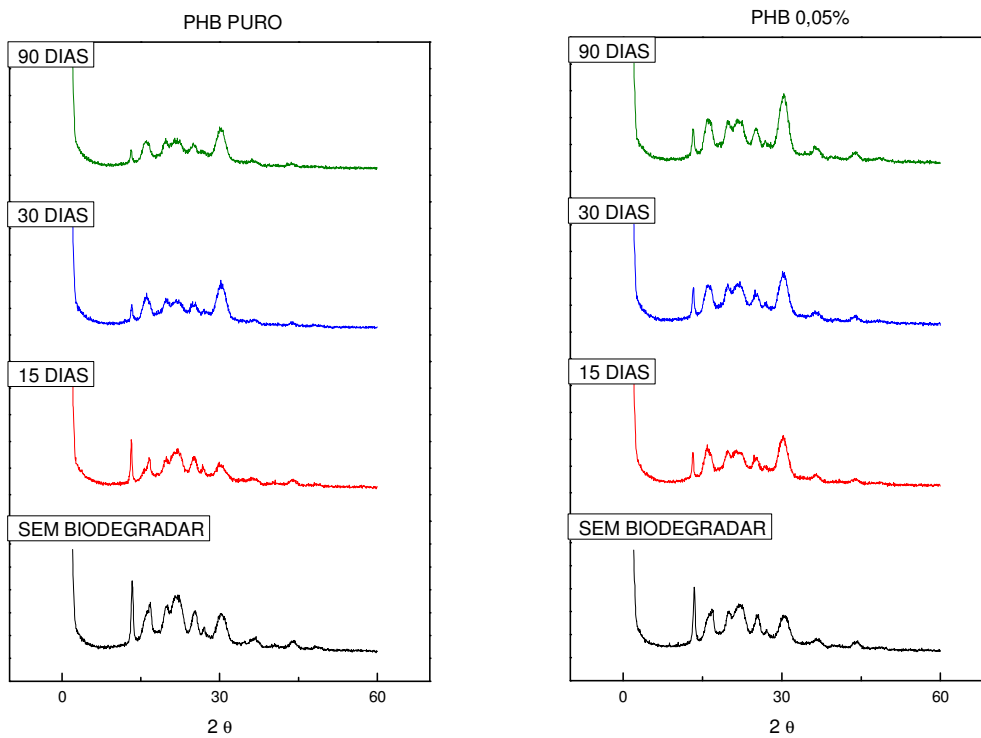


Figura 39. Picos de DRX para as amostras de PHB puro e PHB 0,05% dividido por dias.

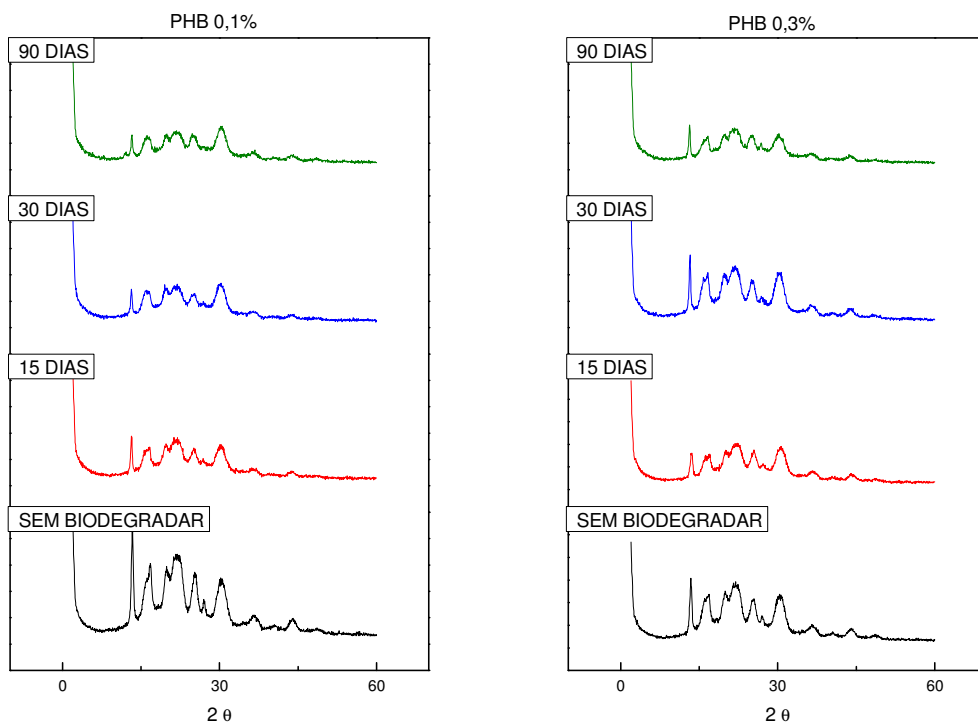


Figura 40. Picos de DRX para as amostras de PHB 0,1% e PHB 0,3% dividido por dias.

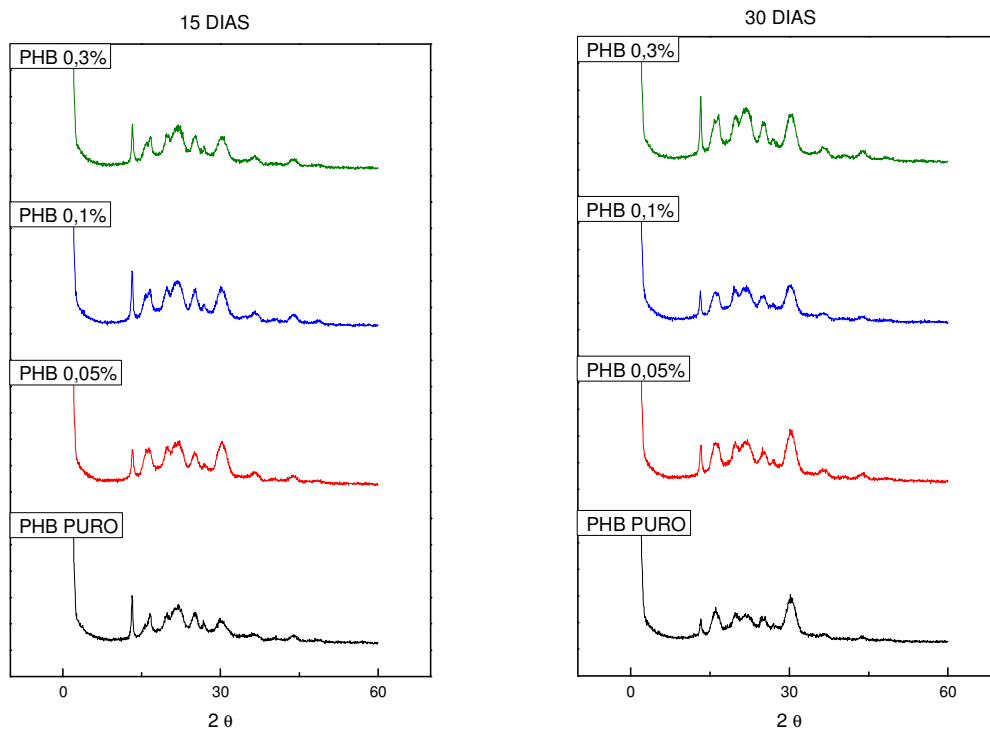


Figura 41. Picos de DRX para as amostras nos tempos de 15 dias e 30 dias.