



Universidade Federal  
do Rio de Janeiro  
Escola Politécnica

PRODUÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS  
POLI(3-HIDROXIBUTIRATO)/NANOPARTÍCULAS OBTIDAS A PARTIR DE  
SUBPRODUTO DA INDÚSTRIA AMILÁCEA

Diogo Yukio Fujimoto

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  
Dezembro de 2011

PRODUÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS  
POLI(3-HIDROXIBUTIRATO)/NANOPARTÍCULAS OBTIDAS A PARTIR DE  
SUBPRODUTO DA INDÚSTRIA AMILÁCEA

Diogo Yukio Fujimoto

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. Renata Antoun Simão, D.Sc.

---

Prof. Roberta Helena Mendonça, M.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

DEZEMBRO de 2011

Fujimoto, Diogo Yukio

Produção de Nanocompósitos Poli(3-Hidroxi-butirato)/Nanopartículas obtidas a partir de subproduto da indústria amilácea / Diogo Yukio Fujimoto. – Rio de Janeiro: UFRJ/ Escola Politécnica, 2011.

IX, 50 p.: il.; 29,7 cm.

Orientador: Rossana Mara da Silva Moreira Thiré

Projeto de Graduação – UFRJ/Escola Politécnica/ Curso de Engenharia de Materiais, 2011.

Referências Bibliográficas: p. 48-50.

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

I. Thiré, Rossana Mara da Silva Moreira. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola Politécnica, Curso de Engenharia de Materiais. III. Produção de Nanocompósitos Poli(3-Hidroxi-butirato)/Nanopartículas obtidas a partir de subproduto da indústria amilácea

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

PRODUÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS  
POLI(3-HIDROXIBUTIRATO)/NANOPARTÍCULAS OBTIDAS A PARTIR DE  
SUBPRODUTO DA INDÚSTRIA AMILÁCEA

Diogo Yukio Fujimoto

Dezembro/2011

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

Devido a sua alta resistência e durabilidade, os plásticos convencionais quando descartados persistem no meio ambiente por vários anos, gerando um grande volume de lixo. Para amenizar esse impacto, o desenvolvimento de polímeros biodegradáveis tem sido largamente estudado. Dentre eles, destaca-se o poli(3-hidroxitirato) (PHB). Trata-se de um poliéster microbiano e semicristalino. O objetivo deste trabalho foi a obtenção de nanocompósitos, utilizando um polímero biodegradável, PHB, como matriz e nanocargas obtidas a partir de subprodutos da indústria amilácea. Apesar do Brasil ser um dos maiores produtores de amido do mundo, a utilização industrial desta matéria-prima ainda é muito precária, sendo aplicadas tecnologias já ultrapassadas, que geram grandes quantidades de subprodutos (farelo). Na composição do farelo de milho estão presentes dois polissacarídeos, a celulose e o amido, que têm sido amplamente utilizados como cargas em polímeros, visando a melhoria de suas propriedades. As nanocargas foram obtidas por hidrólise ácida do farelo de milho. Os nanocompósitos foram preparados pela técnica de evaporação por solvente a partir de uma solução de PHB em clorofórmio, à qual foi adicionada a nanocarga liofilizada em diferentes concentrações. Os resultados mostraram que não houve interação química entre o PHB e as nanopartículas. No entanto, a adição de 0,1% de nanopartículas melhorou algumas propriedades do PHB, uma vez que diminuiu o grau de cristalinidade, reduziu o tamanho dos esferulitos e aumentou a temperatura de início da degradação e a janela de processamento do polímero.

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

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

PRODUCTION OF NANOCOMPOSITES BASED ON  
POLY(3-HYDROXYBUTYRATE)/NANOPARTICLES DERIVED FROM AMILACEOUS  
INDUSTRY WASTE

Diogo Yukio Fujimoto

December/2011

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

Due to their high strength and durability, conventional plastics when discarded, persist in the environment for several years, generating a large volume of trash. To mitigate this impact, the development of biodegradable polymers has been widely studied. Among them, poly (3-hydroxybutyrate) (PHB) can be cited. It is a semicrystalline, microbial polyester. This work aimed to produce and characterize nanocomposites using a biodegradable polymer, PHB, as matrix and nanofiller obtained from by-products of starchy industry. Although Brazil is one of the largest starch producers in the world, the industrial use of this raw material is still very poor. It is applied outdated technologies, which generate large amounts of by-products (bran). The composition of corn bran presents two polysaccharides, cellulose and starch, which have been widely used as fillers in polymers to improve their properties. The nanofillers were obtained by acid hydrolysis of corn bran. The nanocomposites were prepared by solvent evaporation technique from a chloroform solution of PHB, which has been added to lyophilized nanofiller at different concentrations. The results showed that there was no chemical interaction between the PHB and nanoparticles and that the pattern of crystallinity of PHB was not affected by the presence of load. However, the addition of 0.1% of nanoparticles improved some properties of PHB, since it reduced the degree of crystallinity, reduced the size of spherulites and increased the onset temperature of polymer degradation.

Keywords: Poly (3-hydroxybutyrate), Nanocomposites, Biodegradable Polymers, Waste management.

*Aos meus pais,  
que sempre me ensinaram  
que a concretização dos nossos sonhos,  
só depende da nossa força de vontade*

# Agradecimentos

Em primeiro lugar agradeço ao Pai Celestial que sempre iluminou o meu caminho em todas as etapas da minha vida;

Aos meus pais, Décio e Fátima, pelo incansável apoio e dedicação;

Aos meus irmãos, Junior e Dani, pelo incentivo e por terem sido grandes fontes de inspiração;

À professora Rossana Mara da Silva Moreira Thiré, por toda a sua orientação ao decorrer de minha iniciação científica e por ter me dado a oportunidade de realizar este projeto;

A todos os membros do Laboratório de BioPolímeros, que tornaram o laboratório uma família e sempre estiveram dispostos a ajudar em qualquer circunstância;

Aos amigos de turma da MetalMat, que me acompanharam durante esta jornada e com quem dividi inúmeros momentos de alegrias e de desespero perto das avaliações;

Aos amigos da época de colégio, que mesmo com o passar dos anos, sempre estiveram presentes nos momentos que necessitei;

Aos amigos de Blacksburg e Virginia Tech, por manterem os laços de amizade até hoje, mesmo com toda a distância que nos separa;

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

Aos técnicos Ana Paula (LMCM), Aline (Laboratório de Análises Químicas e Processamentos Cerâmicos), Luísa (LabPol) e Heleno (Laboratório de Caracterização de Superfícies), que sempre estiveram dispostos a me auxiliar na realização dos ensaios necessários para a concretização deste trabalho;

As técnicas Rosana (LABTeR – LADEQ) e Elizabeth (LPSM - PEQ), pela ajuda na caracterização das amostras;

Aos amigos alheios ao universo acadêmico da engenharia, que compreenderam minha frequente ausência durante épocas de provas e seminários;

A PHB Industrial pela doação do PHB.

# ÍNDICE GERAL

<b>CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO E OBJETIVO</b> .....	<b>1</b>
1.1 INTRODUÇÃO .....	1
1.2 OBJETIVO .....	3
<b>CAPÍTULO 2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>4</b>
<b>2.1 PLÁSTICOS BIODEGRADÁVEIS</b> .....	<b>4</b>
2.1.1 POLIHIDROXIALCANOATOS - PHA's .....	5
2.1.2 POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) - PHB .....	6
2.3 NANOTECNOLOGIA .....	9
2.4 MILHO .....	10
2.4.1 CELULOSE .....	12
2.4.2 AMIDO .....	13
2.5 COMPÓSITOS .....	15
2.5.1 NANOCOMPÓSITOS .....	17
<b>CAPÍTULO 3 - MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>19</b>
3.1 MATERIAIS .....	19
3.2 PREPARAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS .....	19
3.2.1 EXTRAÇÃO EM SOXHLET .....	19
3.2.2 HIDRÓLISE ÁCIDA DO FARELO DE MILHO .....	19
3.3 PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO DE PHB .....	20
3.4 PREPARAÇÃO DOS FILMES DE PHB/NANOPARTÍCULAS .....	20
3.5 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO .....	21
3.5.1 MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA (AFM) .....	21
3.5.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) .....	22
3.5.3 TAMANHO DE PARTÍCULA .....	22
3.5.4 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X (DRX) .....	23
3.5.5 CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC) .....	24
3.5.6 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA) .....	26
3.5.7 ESPECTROCOSPIA NO INFRAVERMELHO .....	26
3.5.8 MICROSCOPIA ÓPTICA .....	27
<b>CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>29</b>
4.1 CARACTERIZAÇÃO DO FARELO DE MILHO .....	29
4.1.1 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO .....	29
4.1.2 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA) .....	31



4.1.3 ANÁLISES MICROSCÓPICAS .....	32
4.1.4 TAMANHO DE PARTÍCULA .....	34
4.1.5 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X.....	36
4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPÓSITOS.....	36
4.2.1 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO .....	36
4.2.2 MICROSCOPIA ÓPTICA DE LUZ POLARIZADA .....	37
4.2.3 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X.....	40
4.2.4 DSC .....	41
4.2.5 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA .....	44
<b>CAPÍTULO 5 - CONCLUSÃO .....</b>	<b>46</b>
<b>CAPÍTULO 6 - TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>48</b>
<b>CAPÍTULO 7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>49</b>

# CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO E OBJETIVO

## 1.1 INTRODUÇÃO

O problema ambiental gerado pelo consumo e descarte de plásticos na natureza tem sido amplamente discutido devido ao grande impacto que este material causa no meio ambiente, mas por outro lado ainda existe uma grande dependência destes materiais nas áreas tecnológica e científica. O grande problema dos plásticos sintéticos convencionais é o tempo prolongado que esses materiais persistem no meio ambiente, em torno de 100 anos. Devido a este longo período, pode-se antever que a quantidade de lixo de origem plástica descartado no meio ambiente estará sempre aumentando (ROSA, FRANCO e CALIL, 2001).

Uma solução para minimizar esses problemas ambientais pode ser a substituição dos plásticos sintéticos convencionais por plásticos biodegradáveis. Em ambiente aeróbio, a degradação destes plásticos resulta primariamente da ação de microrganismos, como algas e bactérias, gerando dióxido e carbono, água e biomassa. Mesmo sendo vantajosos do ponto de vista ambiental, os plásticos biodegradáveis ainda possuem uma pequena participação no mercado mundial, pois são mais caros e algumas de suas propriedades, como a sua alta fragilidade, não os tornam materiais tão bons quanto os polímeros sintéticos convencionais (FRANCHETTI e MARCONATO, 2006).

Na década de 90 iniciou-se no Brasil o desenvolvimento de plásticos biodegradáveis utilizando derivados da cana-de-açúcar. Esse estudo consistiu na pesquisa e produção de polímeros da família dos poli(hidroxicanoatos) (PHAs), sintetizados por bactérias em biorreatores a partir dos açúcares provenientes da cana (FRANCHETTI e MARCONATO, 2006).

Um dos principais polímeros da família dos PHAs é o poli(3-hidroxiбутirato) (PHB), um polímero obtido através da fermentação bacteriana que possui propriedades físicas e mecânicas semelhantes ao polipropileno isotático. Logo, ele consegue agregar propriedades desejáveis dos polímeros sintéticos e biodegradáveis. Essa combinação permite que o PHB possua as mais diversas aplicações, desde embalagens para alimentos a arca-bouços para a engenharia de tecidos. Todavia, o seu alto grau de cristalinidade, o que torna o material duro e quebradiço, e a sua janela de processamento estreita restringem a sua utilização (SARZI e FELISBRTI, 2009). Uma forma de ampliar o campo de aplicações do PHB pode ser a introdução de

algum componente com propriedades físicas e químicas diferentes do polímero, na sua estrutura, originando assim um compósito.

Ultimamente, a área de nanotecnologia tem se tornado muito promissora, aplicada a diversas tecnologias inclusive aos materiais poliméricos. Nanopartículas têm sido incorporadas às matrizes poliméricas. Como elas apresentam uma elevada área superficial e propriedades mecânicas, químicas ou magnéticas diferentes das partículas macroscópicas, quando estas são incorporadas aos polímeros elas acabam alterando várias características da matriz, como as propriedades de barreira, resistência a chama, biocompatibilidade, propriedades mecânicas etc. A partir desse conceito surgiram os bionanocompósitos, que consiste na incorporação de nanopartículas orgânicas ou inorgânicas aos biopolímeros, e que podem ser aplicados na área médica, como matrizes para liberação de fármacos, no setor de embalagens, na agricultura, dentre outros (PAUL, 2008). A celulose, o amido e a quitina são alguns exemplos de polissacarídeos que podem ser utilizados como nanopartículas.

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de milho e um dos maiores produtores de amido do mundo (PIMENTEL *et al.*, 2010). Apesar disto a utilização industrial desta matéria-prima no país ainda é muito pequena quando comparada com outros países. No processo de obtenção de produtos provenientes do milho, as indústrias de alta tecnologia exploram o máximo do seu potencial, enquanto que as indústrias que utilizam técnicas ultrapassadas geram uma grande quantidade de subprodutos, que possuem um baixo valor agregado (ALESSI, RAUPP e GARDINO, 2003). A obtenção de nanopartículas provenientes desse material, para que possa ser utilizado como carga para os biopolímeros, pode ser um exemplo de atividade que visa aumentar o valor agregado desse subproduto.

A introdução de nanopartículas na matriz do PHB é uma medida que busca a melhoria de algumas propriedades do polímero, como a estabilidade térmica e a resistência à tração. No presente trabalho, nanopartículas obtidas a partir do subproduto do milho foram incorporadas à matriz de PHB, visando melhorar as propriedades mecânicas do PHB.

## 1.2 OBJETIVO

Este trabalho buscou o desenvolvimento de bionanocompósitos utilizando um polímero biodegradável, PHB, como matriz e nanocargas obtidas a partir de subprodutos da indústria amilácea no intuito de melhorar as propriedades do PHB.

O trabalho seguiu as seguintes etapas:

- Obtenção das nanopartículas a partir da hidrólise ácida do subproduto da indústria amilácea (farelo de milho);
- Preparo de bionanocompósitos com diferentes concentrações de nanopartículas pela técnica de evaporação do solvente;
- Caracterização das propriedades físicas e morfológicas dos filmes e das partículas obtidas.

# CAPÍTULO 2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

## 2.1 PLÁSTICOS BIODEGRADÁVEIS

Os polímeros ou plásticos biodegradáveis formam um grupo bem abrangente e podem ser definidos como aqueles materiais que sofrem alterações químicas quando estão sob a influência de fatores ambientais, principalmente pela ação de microorganismos como bactérias, fungos e algas. Durante a sua degradação o polímero passa por uma alteração na sua composição química e, conseqüentemente, mudança em algumas de suas propriedades (VINHAS, ALMEIDA e A., 2007).

Os polímeros biodegradáveis podem ser divididos em dois grupos, os naturais e sintéticos (FRANCHETTI e MARCONATO, 2006):

a) Polímeros biodegradáveis naturais: são formados durante o ciclo de crescimento de organismos vivos. Dentre eles é possível citar como exemplos os polissacarídeos, como a celulose, o amido; e os poliésteres bacterianos, que são sintetizados por bactérias, como os PHAs os quais incluem o PHB e o poli(hidroxibutirato-co-valerato) (PHBV).

b) Polímeros sintéticos: são derivados de monômeros bioderivados ou da indústria petroquímica. Nesta classe encontram-se o poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido glicólico) (PGA) e o poli( $\epsilon$ -caprolactona)(PCL).

Como o principal meio de degradação dos plásticos biodegradáveis é através da ação de microorganismos, é correto afirmar que a biodegradação é o principal fator de decomposição desses plásticos. Um material pode ser classificado como biodegradável desde que a sua decomposição resulte em dióxido de carbono, água, metano, compostos inorgânicos ou biomassa; ou seja, quando ocorre a degradação do material orgânico causada por atividade biológica, servindo como nutrientes para um determinado conjunto de microorganismos (BRITO *et al.*, 2011).

A biodegradação acontece por dois mecanismos distintos e dependerá do tipo de polímero e do meio em que ele se encontra (FRANCHETTI e MARCONATO, 2006):

a) Hidrólise biológica: é a hidrólise catalisada por enzimas, seguida pela oxidação biológica das cadeias poliméricas, a quebra delas. Por último ocorre a bioassimilação das cadeias menores pelos microorganismos, um processo que ocorre geralmente em

polímeros como a celulose, amido e poliésteres alifáticos, como os polihidroxialcanoatos (PHAs).

b) Oxidação biológica: é a reação de oxidação em presença de oxigênio. Neste processo ocorre a introdução de grupos peróxidos nas cadeias carbônicas, a quebra das cadeias e a bioassimilação dos produtos de baixa massa molar. Este processo ocorre em polímeros como o polietileno e polipropileno.

### **2.1.2 POLIHIDROXIALCANOATOS - PHA's**

Os polihidroxialcanoatos (PHA's) são poliésteres com estruturas simples e constituem uma classe de polímeros biodegradáveis que são produzidos a partir de recursos renováveis como açúcares e ácidos graxos. Apresentam boa biocompatibilidade e possuem características físicas e mecânicas semelhantes às de alguns termoplásticos derivados do petróleo. Os PHA's são sintetizados por vários microorganismos servindo como fonte de reserva energética, e nas células microbianas ficam acumulados na forma de grânulos podendo chegar até 90% do seu peso seco. A diversidade de PHAs que podem ser sintetizados por organismos naturais ou recombinantes é bem vasta, e como seus constituintes já foram identificados mais de 100 monômeros diferentes; sendo o PHB e o PHBV os mais estudados e produzidos (SQUIO e ARAGÃO, 2004).

A estrutura dos PHAs vai depender das espécies bacterianas que os sintetizam e do comprimento das cadeias de carbono que servem como fontes de alimento durante o processo de síntese. Como os precursores utilizados para o crescimento celular e produção do polímero, geralmente, apresentam uma grande variedade de grupos funcionais, é possível gerar um polímero quimicamente funcional variando as propriedades do material de acordo com o desejado. Os PHAs geralmente apresentam um alto grau de cristalinidade e são insolúveis em água. Alguns possuem resistência à radiação ultravioleta e são impermeáveis ao oxigênio, o que permite que sejam utilizados na confecção de embalagens para alimentos. Os PHAs são polímeros bastante promissores, pois além de apresentarem uma boa processabilidade, podendo ser extrudados ou injetados, eles também possuem um alto grau de degradação no meio ambiente, o que os torna substitutos em potencial dos polímeros sintéticos (FONSECA, 2003).

Mesmo com a possibilidade de substituir os plásticos de origem petroquímica por biopolímeros, o uso do PHB ainda não é viável economicamente, devido aos custos elevados de produção a partir de substratos carbônicos comuns. Diversas alternativas tem sido estudadas para diminuir o custo de produção destes plásticos, como o uso de plantas transgênicas, uma vez que elas produziram alta biomassa com alto conteúdo de PHAs. Mesmo com a barreira financeira existente alguns produtos já estão sendo fabricados como garrafas, filmes e fibras para embalagens biodegradáveis, demonstrando o potencial comercial desse material. Um exemplo mais recente é a aplicação dos PHAs no papelão, formando uma película impermeável e produzindo um material híbrido biodegradável, sendo uma alternativa para o alumínio ou polietileno, que quando combinados com o papelão formam híbridos não biodegradáveis (VIEGAS, 2005).

### 2.1.2 POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) - PHB

Em 1925 Maurice Lemoigne descreveu pela primeira vez inclusões do poli(3-hidroxi-butirato) (PHB), um poliéster alifático solúvel em clorofórmio, no citoplasma das células da bactéria *Bacillus megaterium*. O PHB chegava a representar 95% de todo o polímero armazenado nesse microorganismo; e mais tarde foi descoberto que este funcionava como uma reserva energética nas bactérias, assim como o amido e o glicogênio. A estrutura do PHB está representada na Figura 2.1. (SUDESH e ABE, 2000).

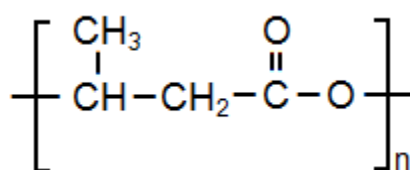


Figura 2.1: Fórmula estrutural do PHB

Existem vários processos de obtenção do PHB, dentre eles o de fermentação bacteriana, utilizado pela Metabolix, Inc., dividido em duas etapas. Na primeira fase, não limitada, a bactéria *R. Eutropha* cresce em um meio mineral, contendo glicose, como única fonte de carbono e fosfato suficiente para o crescimento celular. Quando o fosfato começa a se esgotar, a segunda fase inicia-se, na qual os microorganismos começam a produzir e estocar o PHB como fonte energética a partir do açúcar disponível. O processo continua com adições de glicose, até que a quantidade obtida do polímero seja a desejada. Depois é feita a extração do polímero da célula e a

purificação até que o produto esteja seco, o que nesse processo representa, aproximadamente, 75% do peso seco celular total em polímeros. Contudo a maior barreira para a produção do PHB está no alto custo de produção, uma vez que 40% do total deste custo estão relacionados aos substratos para a sua produção. No Brasil o principal substrato utilizado para a produção de PHB é a sacarose derivada da cana-de-açúcar, mas já existem linhas de pesquisa sobre a utilização do melão e do próprio açúcar proveniente da cana-de-açúcar, bem como do soro de leite, óleos e gorduras. A utilização de outros nutrientes limitantes na produção do PHB e de culturas com alta densidade de células são alternativas que estão sendo estudadas a fim de baratear o custo de produção do PHB e de outros PHA's (SQUIO e ARAGÃO, 2004).

O PHB é um polímero solúvel em clorofórmio e outros solventes apolares, logo não é solúvel em água. Por apresentar propriedades e processabilidade semelhantes às dos plásticos convencionais é possível fabricar embalagens, recipientes, materiais descartáveis, entre outros. A degradação do PHB no ambiente ocorre de maneira mais rápida do que a dos polímeros sintéticos derivados do petróleo, mas apresenta uma boa estabilidade quando conservado sob condições de armazenamento adequadas durante o seu uso, podendo durar mais de quatro anos em prateleiras e armários. A sua degradação só ocorre de maneira acelerada quando, por exemplo, está exposto à ambientes ricos em bactérias, como em aterros sanitários, transformando-se em água e gás carbônico. Além disso, outros fatores também irão influenciar na sua biodegradação, como a atividade microbial do ambiente, a área superficial exposta a esse meio, temperatura, pH, presença de oxigênio, umidade, nutrientes minerais, cristalinidade e o peso molecular do material (CARASCHI, RAMOS e LEÃO, 2002).

O PHB possui características que podem ser melhoradas para torná-lo um polímero com ampla aplicação tecnológica. Dentre as propriedades que dificultam a sua ampla utilização estão: sua fragilidade nas aplicações em embalagens e filmes (quebradiço e duro), o aumento de cristalinidade quando estocado à temperatura ambiente e sua baixa estabilidade térmica, o que dificulta seu processamento (ALMEIDA, ROCHA e HUI, 2009). Algumas propriedades do PHB estão indicadas na Tabela 2.1 (MELLO, 2010) (NASCIMENTO, 2009).



**Tabela 2.1 – Propriedades do PHB**

<b>Propriedades</b>	<b>Valor</b>
Densidade (g/cm <sup>3</sup> )	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/mm <sup>2</sup> )	3

A fragilidade do PHB está associada a alguns fatores como a cristalização secundária, que a sua parte amorfa sofre em temperatura ambiente durante o armazenamento, e a baixa densidade de nucleação, que gera esferulitos grandes suscetíveis a trincas (EL-HADI *et al.*, 2002).

A instabilidade térmica do PHB vem a ser um dos principais fatores que afeta a sua utilização em larga escala. O PHB possui as temperaturas de fusão e de degradação muito próximas, o que acaba prejudicando a sua processabilidade. Como a temperatura de fusão do PHB é próxima a 180°C, a temperatura de processamento do material deveria estar próxima a 190°C. No entanto, a essa temperatura, a degradação térmica já começa a atuar, o que faz com que o tempo de permanência do material no equipamento utilizado para o processamento (extrusora, por exemplo) tenha que ser o menor possível. O princípio dessa degradação envolve a quebra de cadeias por uma reação de eliminação com a formação de ácido crotônico, o que resultada em um rápido decréscimo do peso molecular (JANIGOVÁ, LACÍK e CHODÁK, 2002).

Ao longo dos anos, vários estudos foram conduzidos para aumentar a janela de processamento do PHB, dentre eles a utilização de plastificantes e/ou aditivos. Porém, a melhoria da instabilidade térmica geralmente vem acompanhada por diversas alterações em outras propriedades do material. Quando o plastificante é adicionado, por exemplo, há um aumento na ductilidade do polímero, mas também ocorre uma redução na tensão máxima que o material suporta. A produção de compósitos ou nanocompósitos de PHB é uma das alternativas utilizadas para melhorar estas propriedades (JANIGOVÁ, LACÍK e CHODÁK, 2002).

## 2.3 NANOTECNOLOGIA

Atualmente existem muitas opiniões distintas para definir a nanotecnologia, isso acontece, pois essa área engloba uma ampla área de pesquisa e requer um conhecimento multidisciplinar e interdisciplinar muito grande. Uma definição mais geral afirma que nanotecnologia é tudo aquilo que compreende o desenvolvimento, fabricação e aplicação de nanomateriais e nanoestruturas. Estes são assim denominados quando ao menos uma de suas dimensões encontra-se na escala nanométrica, ou seja, abaixo de 100 nm; o que inclui nanopartículas, nanotubos, nanofibras, filmes finos, entre outros. Os materiais quando estão na escala nanométrica apresentam propriedades distintas daqueles que possuem a mesma composição química com estruturas micrométricas ou maiores. Isso acontece pois a transição de tamanhos entre as escalas nano e micro está associada à mudança de uma estrutura atômica ou molecular, para uma estrutura mais complexa. Quando essa mudança ocorre as propriedades inerentes a essas estruturas menores não podem ser extrapoladas, pois a interação e a organização dos átomos e moléculas conferem propriedades diferentes aos materiais de maior escala (CAO, 2004).

As áreas de aplicações da nanotecnologia são as mais diversas e dentre elas é possível citar (CADIOLI e SALLA, 2006):

a) Nanoeletrônica: são utilizados materiais metálicos e cerâmicos, os quais são os principais constituintes dos componentes eletrônicos para a confecção de nanofios semicondutores e nanotubos de carbono para a fabricação de dispositivos e circuitos. Uma vez que esses materiais consigam acumular e transmitir uma maior quantidade de informações em componentes cada vez menores, é possível aumentar a capacidade de armazenamento de dados e a velocidade de processamento de computadores e outros dispositivos eletrônicos.

b) Nanobiotecnologia: vem a ser uma área extensa de aplicação da nanotecnologia que auxilia na criação de novos medicamentos, e a sua atuação nos organismos vivos. Podem ser citadas nanopartículas que atuam na liberação de fármacos nos organismos, chegando a áreas que as partículas maiores não alcançariam, como por exemplo, nas regiões intracelulares. Além dessa aplicação a nanobiotecnologia tem um papel importante na fabricação de próteses, arcabouços e no desenvolvimento de novos instrumentos utilizados na área médica.

c) Nanomateriais: o desenvolvimento de materiais na escala nanométrica busca criar novos componentes que sejam mais leves, baratos, resistentes, e que possam gerar uma redução energética durante a sua aplicação e também reduzir o consumo de matéria-prima na fabricação dessas estruturas. Dentre os exemplos existentes podem ser citados os sensores, nanorobôs, os constituintes nanométricos de células fotoelétricas, dentre outros.

## 2.4 MILHO

O milho é um grão que tem sido produzido em grande escala em todo o mundo e tem sido muito utilizado em produtos alimentícios, rações animais e na fabricação de produtos industriais. Os processamentos mais comuns do milho incluem a moagem a seco ou úmida e o processamento alcalino. A moagem a seco é utilizada para a produção de etanol, a moagem úmida, para obtenção de óleos e amido e o processamento alcalino é destinado a obtenção de alimentos voltados para o consumo humano. Os processos de moagem geram produtos secundários ricos em proteínas que podem ser reaproveitados sendo incorporados à ração animal. Os principais constituintes do milho estão indicados na Tabela 2.2 (SHUKLA e CHERYAN, 2001).

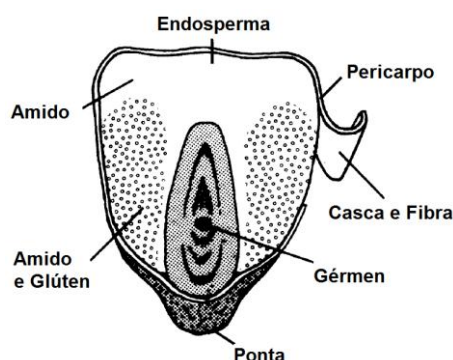
**Tabela 2.2 – Principais Constituintes do Milho**

<b>Componente</b>	<b>Constituinte do Grão (%)</b>
Amido	62,0
Proteína	7,8
Óleo	3,8
Cinza	1,2
Água	15,0
Outros*	10,2

\*Fibras, nitrogênio não protéico, pentosanas, ácido fítico, açúcares solúveis, xantofila (SHUKLA e CHERYAN, 2001).

O milho apresenta, geralmente, uma coloração amarela ou branca, com um peso médio dos grãos variando de 250 a 300 mg. Sua composição média em base seca é de 72% de amido, 9,5% de proteína, 9% de fibra e 4% de óleo. Quatro principais estruturas formam o grão de milho, sendo elas: o endosperma, gérmen, pericarpo e ponta, Figura 2.2. O milho pode ser dividido em cinco classes diferentes: dentado, doce, farináceo, pipoca e duro, sendo o duro o tipo mais produzido no Brasil;

e essa classificação é feita de acordo com a variação do tamanho das estruturas do endosperma e do gérmen (PAES, 2006).



**Figura 2.2 – Seção transversal do grão de milho e suas partes.**  
**Fonte: Adaptado de (SHUKLA e CHERYAN, 2001).**

As estruturas que compõem o milho estão distribuídas em quantidades diferentes no grão, enquanto o endosperma representa mais de 80% do grão, a ponta ocupa apenas 2% do milho. O endosperma é constituído, basicamente, de todo o amido presente no grão, já o gérmen concentra quase que a totalidade de lipídeos e minerais. O pericarpo, ou casca, é a estrutura que protege as outras estruturas do grão da umidade, insetos e microorganismos. As camadas de células que compõem a casca são formadas por polissacarídeos como a hemicelulose (67%), celulose (23%) e lignina (0,1%). A ponta é a estrutura responsável por conectar o grão ao sabugo de milho e é composto essencialmente de material lignocelulósico. A composição detalhada do milho e de suas estruturas está indicada na Tabela 2.3.

**Tabela 2.3 – Percentagem do Constituinte Total das Estruturas do Grão de Milho**

Fração	% grão	Amido	Lipídeos	Proteínas	Minerais	Açúcares	Fibras ou conteúdo celular
		% da parte (base seca)					
Endosperma	82	98,0	15,4	74,0	17,9	28,9	
Gérmen	11	1,3	82,6	26,0	78,4	69,3	12,0
Pericarpo	5	0,6	1,3	2,6	2,9	1,2	54,0
Ponta	2	0,1	0,8	0,9	1,0	0,8	7,0

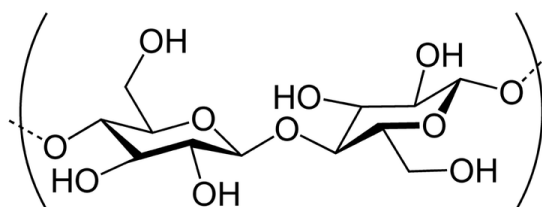
Fonte: Adaptado de (PAES, 2006)

Em um dos vários processos para a obtenção de produtos oriundos do milho, pode ser citado a obtenção da farinha de milho. Em uma etapa inicial é feita a remoção do gérmen e do pericarpo, gerando dois tipos de farelo. Em uma etapa

posterior, o endosperma é reduzido à partículas menores, gerando um farelo rico nesse material, mas também com algum material proveniente da casca. Na produção da farinha de milho, em uma indústria com pouca tecnologia, a quantidade de subprodutos (farelo de milho) pode representar até 37% da massa inicial total do milho (ALESSI, RAUPP e GARDINO, 2003).

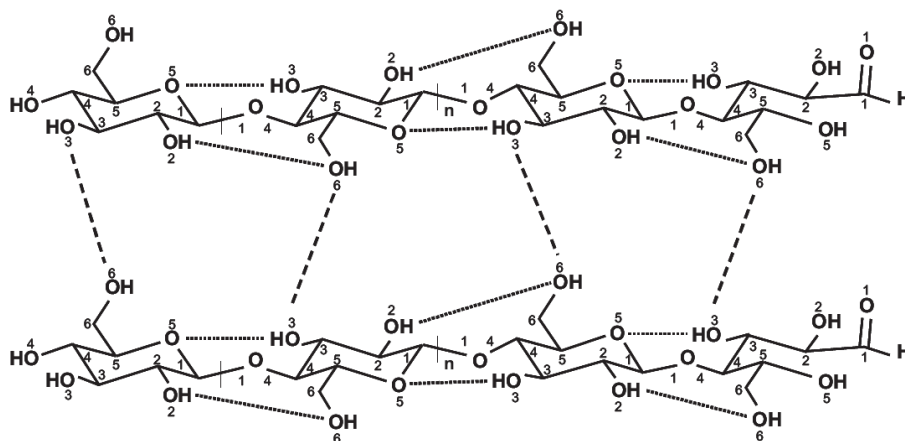
### 2.4.1 CELULOSE

A celulose é um dos principais constituintes de diversas plantas como o algodão, o sisal e o milho; chegando a representar um terço dos constituintes dos tecidos das plantas. A celulose está disposta nas paredes celulares das plantas, podendo estar na forma de microfibrilas entrelaçadas com largura variando de 100-40000 nm e diâmetro 2-20  $\mu\text{m}$ . Além dessas estruturas também é possível encontrar nanofibras de celulose de diversos tamanhos, com regiões amorfas e cristalinas, e diâmetro variando de 5-50 nm (MORÁN *et al.*, 2008). As fibras das plantas são constituídas basicamente por celulose, hemicelulose e a lignina, e é a celulose que confere as propriedades mecânicas intrínsecas a essas fibras. A celulose é composta por unidades de  $\beta$ -glicose através de ligações  $\beta$ -1,4-glicosídicas, o monômero está representado na Figura 2.3.



**Figura 2.3 - Monômero da celulose**

A ligação do tipo  $\beta$ -1,4, formada entre os monômeros de glicose, confere uma linearidade para o polímero de celulose, o que acaba formando uma rede bem forte, Figura 2.4, pois ocorre a formação de pontes de hidrogênio entre as cadeias. Essa estrutura acaba conferindo uma boa resistência a tensão e também torna a celulose insolúvel em água, mesmo ela sendo hidrofílica.



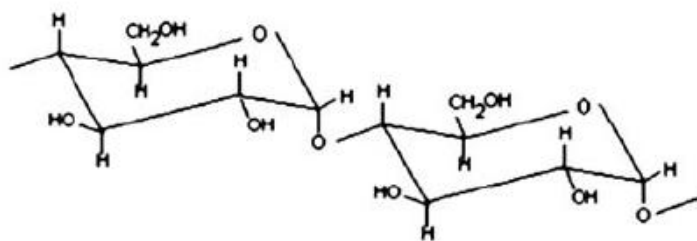
**Figura 2.4 – Estrutura da celulose onde as linhas tracejadas representam as ligações de hidrogênio dentro das cadeias e entre elas. Adaptado de (FESTUCCI-BUSELLI, OTONI e JOSHI, 2007).**

A parede celular primária das plantas é composta basicamente por hemicelulose e microfibrilas de celulose. Enquanto a celulose está disposta de maneira aleatória compondo a estrutura principal da parede, a hemicelulose atua efetuando as ligações cruzadas entre a celulose e os outros polímeros presentes. As paredes celulares secundárias também apresentam a lignina; e estão dentro das primárias, diferindo apenas pela espessura e a presença de lignina. Nessa estrutura as moléculas de celulose estão presentes na forma de nanofibras, rodeadas pela lignina e dispostas na forma de fibras, filmes, entre outros (BHATNAGAR e SAIN, 2005). Os métodos de separação das nanofibras de celulose são utilizados de acordo com as características finais desejáveis. Para a obtenção de nanofibras de celulose com alta cristalinidade, também conhecidas como *whiskers* de celulose, o processo de hidrólise ácida é o mais recomendado. Nanofibras mais amorfas, ou microfibrilas, podem ser obtidas através de um tratamento mecânico de separação (STELTE e SANADI, 2009).

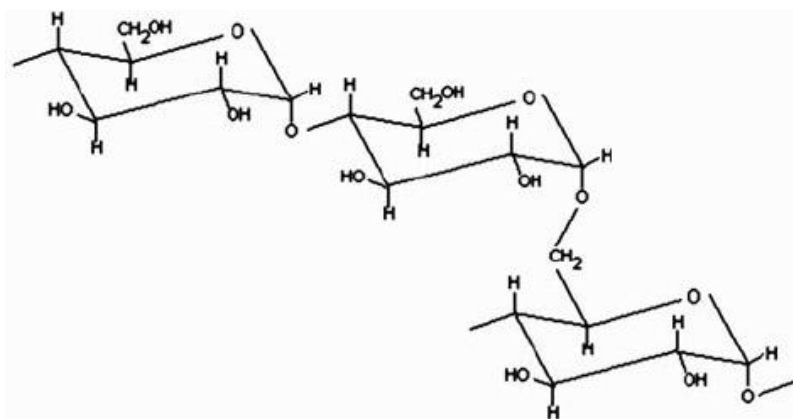
#### 2.4.2 AMIDO

Assim como a celulose, o amido também é um polissacarídeo natural encontrando na natureza e ambos são compostos por monômeros de glicose, diferindo no tipo de ligação entre essas unidades, que conferem estruturas diferentes aos polímeros. O amido serve como reserva nutricional para a maioria das plantas e como fonte de energia para os seres humanos e outras espécies de animais. Dentre as fontes comerciais mais importantes para obtenção do amido estão os cereais como

arroz, trigo, batata, batata doce, mandioca e milho; sendo os dois últimos os mais abundantes no Brasil (NASCIMENTO, 2009). O amido é composto por dois polissacarídeos, a amilose e a amilopectina; e ambas são constituídas pelo monômero  $\alpha$ -D-glicose. A diferença entre esses dois polímeros está no tipo de ligação feita entre os monômeros, enquanto a amilose apresenta somente ligações  $\alpha$ -1,4-glicosídicas, a amilopectina apresenta, além destas, ligações  $\alpha$ -1,6-glicosídicas, tornando a sua estrutura ramificada. A organização básica da amilopectina constitui-se em uma cadeia principal com inúmeras ramificações, sendo estas classificadas em externas e internas. As internas estão ligadas a duas ou mais cadeias enquanto que as externas estão ligadas somente a uma, ambas por ligações  $\alpha$ -1,6. As estruturas da amilose e da amilopectina estão representadas nas Figura 2.5 e 2.6, respectivamente (GIL e FERREIRA, 2006).



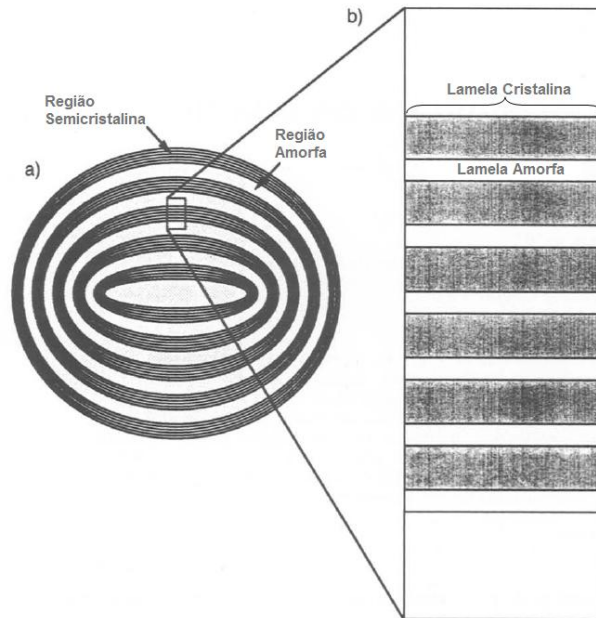
**Figura 2.5 – Estrutura da amilose**



**Figura 2.6 – Estrutura da amilopectina**

Nas plantas o amido se encontra na forma de grânulos formados por anéis concêntricos alternando entre áreas amorfas e semicristalinas, representado na Figura 2.7. Através da hidrólise ácida foi possível analisar as regiões semicristalinas que revelaram uma organização lamelar, constituída por regiões cristalinas e amorfas intercaladas. A camada cristalina é composta por hélices duplas formadas pelas

ramificações mais externas da amilopectina, ligadas entre si por pontes de hidrogênio. Já a camada amorfa é composta pela amilose e pelos pontos de ramificação da amilopectina (MURPHY, 2000) (TESTER, KARKALAS e QI, 2004).



**Figura 2.7 – Representação esquemática do grânulo de amido. Adaptado de (JERKINS e DONALD, 1995).**

## 2.5 COMPÓSITOS

Materiais híbridos são aqueles que combinam dois ou mais materiais diferentes, a fim de obter propriedades que os dois separados não apresentam. Os materiais híbridos podem ser classificados de acordo com a configuração dos materiais que os compõem, podendo ser compósitos, sanduíche, grades e estruturas segmentadas (ASHBY, 2005).

A necessidade de desenvolvimento de materiais compósitos se deu pela busca de materiais que fossem leves e apresentassem boa dureza, tenacidade e fossem resistentes à maioria das solicitações mecânicas. Essas características geralmente estão associadas aos materiais metálicos, principalmente às ligas não-ferrosas; e podem sempre ter suas propriedades modificadas e melhoradas pela alteração dos elementos químicos que os compõem e também por tratamentos térmicos ou mecânicos. Mesmo apresentando boas características as ligas metálicas apresentam uma alta massa específica, o que em muitos projetos de engenharia acaba se tornando um fator restritivo. Quando comparados aos metais, os polímeros



apresentam densidade bem menor, mas não apresentam propriedades mecânicas tão boas. Os cerâmicos, por sua vez, possuem uma alta resistência mecânica quando comparada a essas duas classes de materiais, mas apresentam tenacidade muito baixa. A combinação desses materiais tornou-se então necessária, para que as melhores propriedades intrínsecas de cada um pudessem gerar materiais novos e melhores (CALLISTER, 2002).

Os compósitos combinam dois ou mais componentes, no qual um pode estar na forma de fibras ou partículas, denominado reforço, e o outro é o material que contém esse agente, a matriz. O material compósito pode ser considerado como sendo homogêneo quando é analisado a partir de uma escala maior do que a do agente de reforço. As propriedades do compósito resultante podem ser avaliadas de várias maneiras, mas dependerão das propriedades dos materiais que o compõe, das quantidades relativas de cada um deles e também da geometria do reforço (ASHBY, 2005).

Analisando os compósitos em relação à geometria dos agentes de reforço é possível citar dois dos mais comuns. Os compósitos reforçados por fibras e os reforçados por partículas (CALLISTER, 2002).

a) Compósitos reforçados por partículas: nesse tipo de compósito é esperado que as partículas sejam mais resistentes que a matriz, a fim de restringir o movimento da matriz próximo à interface matriz-carga. A matriz transfere parte da carga que lhe é aplicada para as partículas e essas suportam uma parte da carga aplicada ao material. O grau de reforço ou a melhora no comportamento mecânico da matriz vai depender das forças das ligações estabelecidas entre os dois componentes. Quando adicionados à matriz polimérica, além de modificar várias propriedades da matriz, a carga também pode reduzir o custo do material. As partículas podem apresentar tamanhos variados, mas o desejado é que sejam o mais esférica possível. Para um reforço efetivo também é esperado que as partículas sejam pequenas, fiquem igualmente dispersas na matriz e não estejam aglomeradas.

b) Compósitos reforçados por fibras: esses materiais geralmente são desenvolvidos visando uma melhora na resistência e rigidez da matriz. O resultado final dependerá do tamanho das fibras, e da maneira como elas estão dispostas na matriz. Além disso, a transferência da carga da matriz para as fibras é muito importante, e isso está relacionado à magnitude das ligações na interface entre a matriz e as fibras, e ao tamanho das mesmas. Quando uma carga trativa é aplicada ao material é esperado que o cisalhamento entre as fibras e à matriz seja o principal responsável por suportar

a carga aplicada, por isso a importância das ligações matriz-fibra. Nas extremidades das fibras não existe transmissão de carga da matriz, logo o tamanho das fibras influencia diretamente na carga suportada pelo material. Quanto à orientação, as fibras podem estar alinhadas em ângulos cuidadosamente previstos ou dispersas de forma aleatória na matriz. A orientação das fibras deve ser planejada de acordo com a aplicação final do material.

Nos compósitos reforçados por fibras, a matriz geralmente é feita de um material polimérico ou metálico, pois são materiais que apresentam uma boa ductilidade. A matriz age mantendo as fibras próximas umas as outras, protegendo-as de eventuais danos e também atua transmitindo a carga aplicada ao material para as fibras. A interação entre os dois componentes é importante para evitar que o fenômeno de decoesão aconteça. A carga suportada pela matriz é muito pequena quando comparada à parte suportada pelas fibras, mas ela previne que a falha de uma fibra se propague para as outras e também para o resto do material. O compósito só virá a falhar quando um grande número de fibras próximas falharem. As fibras podem ser classificadas como *whiskers*, fibras ou fios. Os *whiskers* são pequenos cristais e quase não apresentam defeitos, o que faz com que sejam materiais com alta resistência. As fibras podem ser policristalinas ou amorfas, com diâmetros pequenos e os fios, por sua vez, apresentam diâmetros maiores do que as da fibra. O diâmetro da fibra é de extrema importância pois quanto menor for, menor é a probabilidade de falha do compósito nessa região (CALLISTER, 2002)

### **2.5.1 NANOCOMPÓSITOS**

Nanocompósitos são materiais cujas cargas encontram-se na escala nanométrica e são incorporadas à matriz em pequenas porções, não ultrapassando 10% em peso. Assim como nos compósitos, a geometria das nanocargas terá uma grande influência nas propriedades do material. A interação entre as nanopartículas e a matriz, bem como a dispersão dela, terá grande influência nas propriedades do nanocompósito. Os bionanocompósitos são materiais biopoliméricos aos quais são adicionados nanocargas. É esperado que esses materiais mantenham o seu caráter biodegradável, e que as suas propriedades sejam melhoradas pela incorporação das nanocargas. Os bionanocompósitos são aplicados principalmente nas áreas biomédicas e na confecção de embalagens (BORDES, POLLET e AVÉROUS, 2009).

As cargas nanométricas apresentam uma elevada área superficial, o que teoricamente aumentaria a interação entre a carga e a matriz. Contudo, a dispersão na matriz pode ficar comprometida devido à aglomeração das partículas. Os componentes utilizados como carga nos nanocompósitos podem ser de origem orgânica ou inorgânica. A utilização das nanopartículas se deve as suas propriedades singulares como o efeito quântico de dimensão, propriedades de transportes, entre outras. Além disso, a incorporação de nanocargas na matriz polimérica pode ter um baixo custo atribuído, uma vez que a quantidade de material incorporado geralmente é baixa, e mesmo assim é possível obter um material com boas qualidades (ESTEVES, BARROS-TIMMONS e TRINDADE, 2004).

# CAPÍTULO 3 - MATERIAIS E MÉTODOS

## 3.1 MATERIAIS

O farelo de milho foi fornecido pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa. O poli(3-hidroxi-butirato) (PHB) foi fornecido pela PHB Industrial S/A (São Paulo, Brasil) na forma de pó branco.

## 3.2 PREPARAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

### 3.2.1 EXTRAÇÃO EM SOXHLET

O farelo de milho foi colocado em um extrator Soxhlet visando à remoção de alguns de seus componentes, como a hemicelulose, lignina etc., conforme descrito na literatura (PIMENTEL *et al.*, 2010). Inicialmente, 15 g de farelo de milho foram divididos em três envelopes de papel de filtro e estes foram colocados dentro do soxhlet. O soxhlet foi acoplado a um balão volumétrico contendo álcool etílico sob refluxo. O procedimento durou o equivalente a quatro ciclos, onde cada ciclo correspondia ao preenchimento total do soxhlet pelo solvente e retorno do mesmo para o balão. Ao final do quarto ciclo o álcool etílico não apresentou nenhuma alteração na sua coloração, indicando o fim do processo de extração. O farelo foi retirado dos envelopes de papel de filtro e posto em placas de Petri dentro de um dessecador para que o etanol pudesse evaporar.

### 3.2.2 HIDRÓLISE ÁCIDA DO FARELO DE MILHO

A um balão de fundo redondo contendo 66,81 mL ácido sulfúrico (12 M) foram adicionados 5 g de farelo de milho. O sistema foi aquecido em banho de óleo a 50°C por 40 minutos obtendo-se uma suspensão ácida onde o sólido era o material de interesse. O sólido foi exaustivamente lavado com água destilada até pH próximo à neutralidade. As lavagens foram conduzidas em centrífuga a uma rotação de 10.000 rpm. O procedimento foi feito conforme descrito em SIQUEIRA (2009).

A solução neutralizada foi homogeneizada em um Ultra-Turrax da IKA, modelo T25 Digital, a 10.000 rpm por 3 min para dispersar as partículas que por ventura

estivessem agregadas. Imediatamente após o fim da homogeneização a solução foi congelada em nitrogênio líquido. A solução congelada foi posta em um liofilizador onde o processo de secagem por congelamento a vácuo ocorre, o solvente foi sublimado restando somente o material sólido.

### **3.3 PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO DE PHB**

Foram solubilizados 7,0 g de PHB em 80 mL de clorofórmio, sob agitação constante. O prepara da solução dividi-se em duas etapas: a primeira etapa, a de inchamento, durou 2 horas e foi feita a temperatura ambiente; a segunda etapa, a de solubilização, também durou 2 horas e foi feita com aquecimento sob refluxo a 65°C.

### **3.4 PREPARAÇÃO DOS FILMES DE PHB/NANOPARTÍCULAS**

Os filmes de PHB e nanopartículas foram obtidos pela técnica de evaporação de solvente (*casting*). A partir de uma solução de PHB 7% (p/v) em clorofórmio, os filmes foram preparados adicionando diferentes frações mássicas de nanopartículas. Para facilitar a dispersão, as partículas foram solubilizadas em clorofórmio obtendo uma solução com a concentração de 0,00025 g/ml. Essa solução foi homogeneizada no Ultra Turrax por 5 min a uma rotação constante de 6000 rpm, em seguida foi posta no Ultrassom, para garantir a dispersão das partículas. Foram obtidos filmes de PHB com nanopartículas de celulose com concentrações, em %(p/p), de 0%, 0,05%, 0,1% e 0,3%. A mistura das soluções de PHB e de nanopartículas de celulose foram levadas ao Ultra-Turrax por 5 min à rotação de 6000 rpm e em seguida ao Ultra Som aonde foram mantidas por 30 min. A solução foi então vertida em uma placa de Petri e colocada em uma superfície nivelada até a completa evaporação do solvente.

### 3.5 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

#### 3.5.1 MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA (AFM)

A Microscopia de Força Atômica (AFM) é uma técnica na qual uma haste varre a superfície da amostra, sofrendo deflexões que são medidas por um sistema de laser e fotodetectores sensíveis à posição. As hastes são feitas de silício, sílica e nitreto de silício, atuando como um tipo de mola; e na sua extremidade existe uma agulha, em forma de cone ou piramidal, que atua como um sensor de força na superfície da amostra. Diversas forças atuam na deflexão da haste podendo-se citar as forças de atração e repulsão que estão relacionadas, dentre outros fatores, à distância entre a ponta da sonda e a amostra, que podem ser de atração ou repulsão (MANNHEIMER, 2002). As principais forças atrativas são as de *Van der Waals* e as forças capilares. Já as de repulsão são geradas quando a ponta está em “contato” com a superfície da amostra, região na qual ocorre a sobreposição dos orbitais eletrônicos. O AFM atua em três modos diferentes: contato, não contato e intermitente, que diferem entre si pela força atuante entre a amostra e a agulha. No modo de contato atuam as forças de repulsão, no modo de não contato as de atração, e por último, no modo intermitente, ambas as forças estão presentes (SANTOS, 2011).

O modo intermitente é um modo dinâmico, no qual são medidas as variações das propriedades vibracionais, como amplitude, oscilação e frequência da haste quando a agulha interage com a amostra. A mudança de fase e amplitude na oscilação da haste, bem como a dissipação da energia que ocorre pela interação com a amostra, geram um mapa da superfície desta. Este mapa é denominado contraste de fase e com ele é possível ver de forma mais definida as bordas das estruturas, mostrando características finas da amostra, que poderiam estar ocultas pela rugosidade do material (SANTOS, 2011). Analisando a diferença de fase entre a oscilação da haste e do sinal padrão, responsável pela movimentação da cerâmica piezoelétrica, pode-se determinar alterações na composição da amostra e outras propriedades como o atrito, a viscosidade e a adesão (GEOFFREY et al., 2000).

A solução de nanopartículas neutralizadas, homogeneizadas em clorofórmio foram colocadas em placas de sílica, secas à temperatura ambiente e analisadas com o auxílio de um microscópio de força atômica Alpha 300AR Microscope \_ WITec. As imagens foram obtidas com o microscópio operando em modo de contato intermitente.

### **3.5.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)**

O Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) é um instrumento que permite a observação em um aumento de 10.000 vezes, podendo atingir aumentos de até 900.000 vezes. Nesse equipamento um feixe de elétrons é direcionado para a amostra, ao invés do feixe de luz como no Microscópio Óptico. Ao atingir a amostra os elétrons interagem com a superfície do material gerando uma série de radiações como elétrons secundários, elétrons retroespalhados, fótons, etc. A captação e a análise dessas radiações permite obter informações sobre a topografia da superfície, cristalografia, composição, etc. A imagem da topografia superficial da amostra é gerada pela detecção dos elétrons secundários irradiados. As amostras precisam ser eletricamente condutoras, e no caso de serem isolantes estas necessitam ser preparadas previamente, passando por um processo de metalização, o que torna possível a condução dos elétrons (MALISKA, 2003).

As micrografias das nanopartículas foram obtidas em um microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM, modelo 6460 LV; operando a 10 kV.

Dois procedimentos foram adotados para avaliar as nanopartículas liofilizadas. No primeiro as nanopartículas foram homogeneizadas em água com auxílio do Ultra Turrax (5 min a 600 rpm) e no segundo as nanopartículas foram homogeneizadas em clorofórmio sob as mesmas condições do primeiro. As amostras homogeneizadas foram postas para secar a temperatura ambiente e em seguida foram recobertas por uma fina camada de ouro obtida por pulverização a vácuo e analisadas em microscópio eletrônico de varredura.

### **3.5.3 TAMANHO DE PARTÍCULA**

Nesta análise as partículas dispersas em um meio líquido podem ter o seu tamanho determinado, pelo espalhamento que um feixe de luz sofre ao atingi-las. No espalhamento dinâmico a intensidade da luz espalhada pelas partículas irá flutuar devido ao movimento das partículas, e o detector da luz espalhada analisa a flutuação da sua intensidade ao longo do tempo. Quando estão em um meio aquoso as partículas se movimentam (movimento Browniano), as partículas menores se movem mais rapidamente enquanto as maiores se movem mais lentamente. Logo a flutuação da intensidade será mais rápida na presença de partículas pequenas, e mais lenta na presença de partículas maiores. A determinação do tamanho das partículas poderá ser

calculada através da equação de Stokes-Einstein, equação 3.1, onde é possível determinar o tamanho das partículas a partir do coeficiente de difusão, que está relacionado à velocidade de flutuação da luz espalhada (CARDOSO, 2001).

$$D = \frac{\kappa T}{3\pi\eta d_h} \quad \text{Eq. 3.1}$$

D: coeficiente de difusão

$\kappa$ : constante de Boltzmann

$\eta$ : viscosidade do líquido

$d_h$ : diâmetro hidrodinâmico das partículas

O tamanho médio das nanopartículas foi determinado pelo equipamento Malvern Mastersizer MicroPlus, MAF 5001, utilizando a técnica de espalhamento de luz. As nanopartículas foram dispersas em água e clorofórmio, e foram sendo diluídas até que fosse possível obter uma distribuição uniforme de partículas.

### 3.5.4 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X (DRX)

Nos materiais que apresentam um mínimo grau de cristalinidade, os átomos se organizam em planos cristalinos, com distâncias específicas entre si. A técnica de difração de Raios-X permite estudar as fases cristalinas de um material determinando o seu grau de cristalinidade e os planos cristalinos presentes na amostra (ALBERS et al., 2002).

Feixes de Raios-X são direcionados à amostra e ao colidir com esta, haverá uma interação com os átomos presentes, sendo difratados em diferentes direções. O espalhamento dos raios ocorre segundo a Lei de Bragg, equação 3.2, que estabelece a relação entre o ângulo de difração e a distância interplanar:

$$n\lambda = 2d\text{sen}\theta \quad \text{Eq. 3.2}$$



n: número inteiro  
 $\lambda$ : comprimento de onda dos raios-X incidentes  
d: distância interplanar  
 $\Theta$ : ângulo de difração

Pelos difratogramas é possível determinar o grau de cristalinidade dos nanocompósitos de acordo com a equação 3.3:

$$X_{C,DRX} = \frac{I_c}{I_c + KI_a} \times 100 \quad \text{Eq. 3.3}$$

$I_c$ : área cristalina

$I_a$ : área amorfa

K: constante de proporcionalidade do polímero (PHB = 0,96) (SKRBIC e DIVJAKOVIC, 1996)

As nanopartículas liofilizadas e os nanocompósitos foram analisados por difração de Raios-X. As análises foram obtidas em um difratômetro Shimadzu, modelo XRD – 6000; operado com uma fonte de radiação de  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda = 1,541 \text{ \AA}$ ), passo 0,05 e tempo de contagem de 1,5 s. A medição foi feita ao longo de uma região angular de  $2\theta$  de  $2-60^\circ$ .

### 3.5.5 CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC)

A Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) é uma técnica que permite medir a variação de entalpia de uma amostra quando esta é exposta a uma variação de temperatura controlada. A amostra é colocada no equipamento e aquecida a uma taxa de aquecimento constante. Uma amostra de referência também é colocada dentro do equipamento. Ambas possuem fontes de aquecimento individuais e a temperatura e a energia são monitoradas. O calor fornecido é mantido constante, aumentando a energia fornecida, para a amostra ou a referência, dependendo do processo envolvido ser exotérmico ou endotérmico; sempre mantendo a referência e a amostra a mesma temperatura. Assim, as áreas sob as curvas obtidas em cada transformação estarão relacionadas à variação de entalpia em cada processo. Nessa técnica também é

possível determinar quantitativamente a capacidade calorífica da amostra (LUCAS, SOARES e MONTEIRO, 2001).

As análises de DSC foram feitas em um calorímetro DSC Perkin Elmer, modelo DSC 8000. As amostras foram aquecidas a partir da temperatura ambiente até 210°C a uma taxa de 10 °C/min, para eliminar o histórico térmico do material. Depois foram resfriadas até -30°C a taxa de 150°C/min e novamente aquecidas até a temperatura de 210°C a taxa de 10°C/min. Com a curva obtida foi possível determinar as temperaturas de transição vítrea, cristalização e fusão; bem como a entalpia de fusão. As temperaturas de cristalização foram calculadas como o ponto de mínimo da curva exotérmica e a temperatura de fusão pelo ponto de máximo da curva endotérmica. A temperatura de transição vítrea foi calculada, achando o ponto médio da linha correspondente à variação de capacidade calorífica da amostra. A entalpia de fusão foi determinada pela área do pico da curva endotérmica. O grau de cristalinidade do material foi calculado pela equação 3.4.

$$X_{C,DSC} = \frac{\Delta H_{fA}}{\Delta H_{f100\%}} \times 100 \quad \text{Eq. 3.4}$$

$\Delta H_{fA}$ : entalpia de fusão

$\Delta H_{f100\%}$ : entalpia de fusão do polímero 100 % cristalino (PHB = 146 J/g) (ERCERG, KOVACIC e KLARIC, 2005)

Por ser tratar de um nanocompósito, foi possível calcular o grau de cristalinidade mássico,  $X_c$  mássico, levando em consideração somente a massa de PHB presente na amostra. Isso pode ser feito substituindo a entalpia de fusão ( $\Delta H_{fA}$ ) pela entalpia de fusão por unidade de massa de PHB presente na amostra ( $\Delta H_{fA}^*$ ), equação 3.5 (NASCIMENTO, 2009):

$$\Delta H_{fA}^* = \frac{\Delta H_{fA}}{W_{PHB}} \quad \text{Eq. 3.5}$$

$W_{PHB}$ : fração mássica de PHB na amostra

### **3.5.6 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)**

Na Análise Termogravimétrica (TGA) é analisada a variação da massa do material em função da temperatura e/ou tempo, sendo possível determinar alterações causadas na amostra sob aquecimento. O início da temperatura de decomposição, reações de oxidação e desidratação, são algumas das informações que podem ser obtidas através dessa técnica. No modo da TGA dinâmica a amostra é aquecida de maneira controlada com uma taxa de aquecimento constante, e a variação da massa da amostra é analisada em função do tempo e da temperatura. A amostra é posta sobre uma termobalança e a variação da massa é analisada quantitativamente, enquanto que outras informações podem ser obtidas a partir da curva termogravimétrica. Fazendo a derivada primeira da variação de massa em relação a temperatura ou tempo é possível obter a Termogravimetria Derivativa (DTG). A curva de DTG não apresenta informações além daquelas da TGA, apenas facilita a interpretação dos dados; por exemplo, é possível determinar com mais clareza a temperatura na qual a variação de temperatura é máxima (CANEVAROLO JUNIOR, 2004).

As curvas termogravimétricas foram obtidas em um módulo termogravimétrico TGA-7 (PerkinElmer) acoplado ao analisador Pyris (PerkinElmer). Amostras dos nanocompósitos e das nanopartículas liofilizadas foram aquecidas a partir da temperatura ambiente até 500°C a uma taxa de aquecimento de 10°C/min em atmosfera de nitrogênio.

### **3.5.7 ESPECTROCOSPIA NO INFRAVERMELHO**

A espectroscopia no Infravermelho usando Transformada de Fourier (FTIR) é uma técnica que analisa a interação de uma radiação eletromagnética com uma determinada amostra, fornecendo informações sobre o tipo de ligações químicas presentes na amostra.

A radiação infravermelha é emitida em diferentes frequências e ao atingir a amostra uma parte da radiação é absorvida, enquanto a outra é transmitida. A radiação será absorvida por interações específicas com as ligações químicas de cada amostra, essas interações vão depender dos tipos de átomos que da ligação e seus movimentos vibracionais. Quando a análise é feita por reflectância total atenuada (FTIR-ATR) o feixe infravermelho atinge um primeiro cristal localizado abaixo da

amostra, e ao se propagar por esse cristal, parte da radiação é absorvida pela amostra. A obtenção do espectro será feita analisando a parte da radiação que foi absorvida *versus* o número de onda na região do infravermelho. Com essa informação é possível identificar materiais desconhecidos ou determinar os componentes presentes em uma mistura.

Análises foram conduzidas no farelo de milho antes e após a extração no Soxhlet, bem como nas partículas liofilizadas, a fim de obter informações sobre a alteração na natureza do material após cada etapa de produção das nanopartículas. Testes também foram realizados nos nanocompósitos para detectar se houve interações entre as nanopartículas e a matriz de PHB. Os espectros foram obtidos em um espectômetro Perkin Elmer, modelo Spectrum 100; em uma faixa de varredura de  $650 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ .

### **3.5.8 MICROSCOPIA ÓPTICA**

O Microscópio Óptico, permite um aumento de até 1200 vezes, tendo a resolução máxima de  $0,1 \mu\text{m}$ . A formação das imagens obtidas por essa técnica e o contraste dependerão da interação entre a luz e o objeto em estudo. As interações mais importantes para a microscopia óptica são: a reflexão, a absorção, a fluorescência e a difração. O microscópio poderá operar em transmissão, com amostras transparentes, ou reflexão, com amostras opacas. Quando uma luz não-polarizada, passa por filtros polarizadores, obtém-se uma luz com ondas que vibram em um único plano, o que foi imposto pelos filtros. Nos microscópios são usados, dois filtros polarizadores, um entre a amostra e a fonte luminosa (polarizador) e o outro acima das lentes (analisador). A luz que sai do polarizador faz um ângulo de  $90^\circ$  com o plano de polarização permitido pelo analisador (equipamento que fica acima da lente), logo só será possível obter um campo de visão claro, caso a direção de polarização da luz se altere ao atravessar a amostra. A alteração da luz só ocorre em materiais anisotrópicos, quando a luz polarizada atravessa o material, ela será decomposta em duas direções de polarização, que são determinadas pela organização das cadeias no material. Se essas direções de polarização não coincidirem com a direção do analisador, haverá transmissão de luz e a imagem será formada, caso contrário não haverá a formação da imagem. Alguns polímeros formam estruturas esferulíticas, compostas por uma fase amorfa e outra cristalina; o que facilita a visualização dessas estruturas no microscópio óptico de luz polarizada (CANEVAROLO JUNIOR, 2004).

As amostras foram caracterizadas em um Microscópio Óptico da Zeiss, modelo Imager A1m, equipado com um sistema de vídeo, acoplado à placas de aquecimento. As amostras foram colocadas entre duas lâminas para microscópio e aquecida a uma taxa de 20°C/min até a temperatura de 190°C e mantida por 2 min para fundir o material. Em seguida a amostra foi resfriada à taxa de 25°C/min até a temperatura de 65°C, por 5 min. Nesse intervalo de tempo as imagens foram feitas a cada 15 segundos para que fosse possível determinar a taxa de crescimento dos esferulitos. Também foram feitas imagens em diversas regiões da amostra, para contabilizar a quantidade de esferulitos.

# CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 4.1 CARACTERIZAÇÃO DO FARELO DE MILHO

O farelo de milho puro e o purificado foram previamente analisados e suas composições centesimais estão indicadas na Tabela 4.1. Os resultados revelaram um alto teor de amido. Após a purificação, observa-se apenas a retirada de impurezas do material. Pela composição do farelo de milho recebido pode-se supor que este subproduto contenha resíduos de endosperma (rico em amido) e de pericarpo (casca, rico em celulose) dos grãos de milho (Figura 2.2)

**Tabela 4.1 – Composição do Farelo de Milho como recebido e purificado**

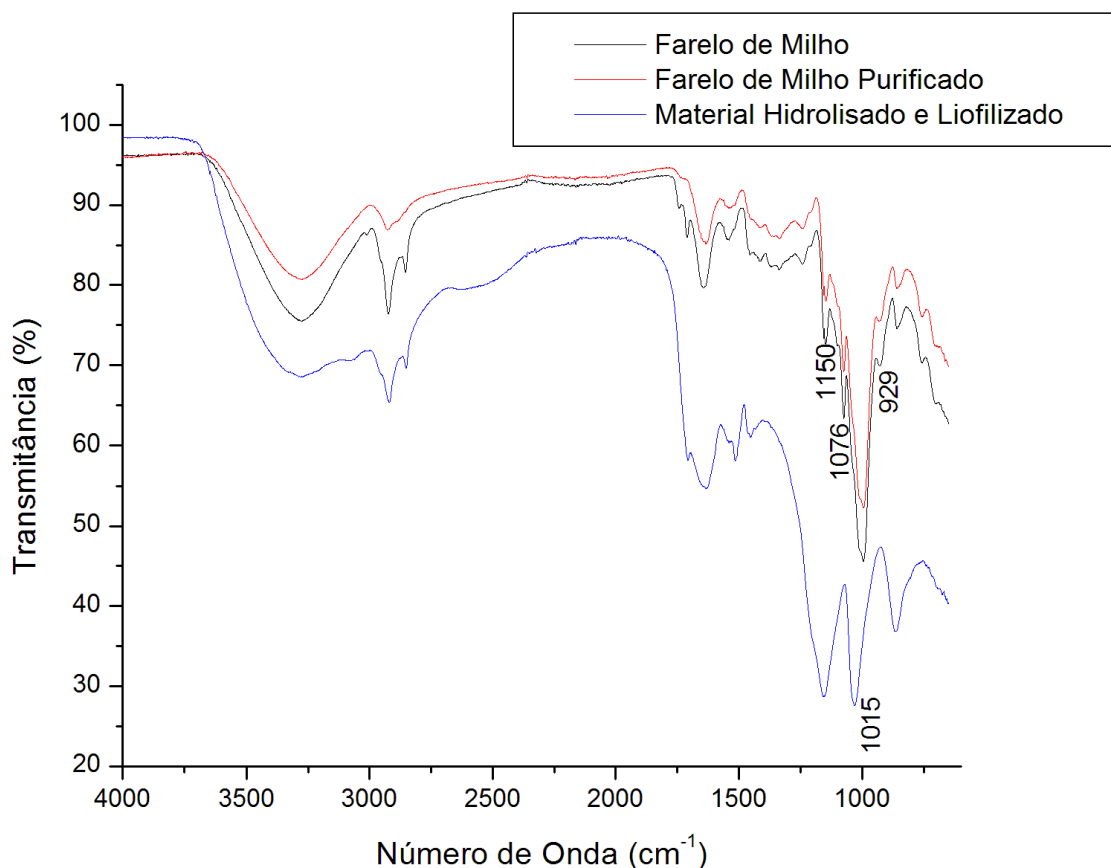
	<b>Farelo de Milho</b>	<b>Farelo de Milho Purificado</b>
Amido (%)	53,50	55,1
Proteína (%)	8,85	9,44
Fibra insolúvel (%)	19,90	20,85
Fibra solúvel (%)	0,55	0,83
Outros (%)	17,20	13,78

### 4.1.1 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

Os espectros de FTIR obtidos para o farelo de milho, o farelo de milho purificado e o material hidrolisado e liofilizado estão apresentadas na Figura 4.1. Os espectros foram obtidos na região de  $650 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ .

De acordo com PIMENTEL (2010) as bandas de  $1716$  e  $898 \text{ cm}^{-1}$  estão relacionadas aos grupamentos carbonilas e as ligações glicosídicas  $\beta$ -1,4, respectivamente. No tratamento de purificação do farelo de milho em etanol a banda relacionada ao grupamento carbonila desaparece; segundo o autor essa redução está associada à eliminação de hemicelulose. O reaparecimento da banda no material hidrolisado pode estar relacionado à oxidação do material, sendo um possível indicador que a hidrólise foi mais forte que o esperado. As bandas próximas de  $870 \text{ cm}^{-1}$  detectadas no farelo e no farelo purificado podem estar relacionadas à presença de celulose provenientes das fibras insolúveis, o que indica que não houve remoção

desse polissacarídeo durante a purificação do material. Após a hidrólise a intensidade dessa banda aumentou significativamente, indicando a obtenção de um material predominantemente celulósico.



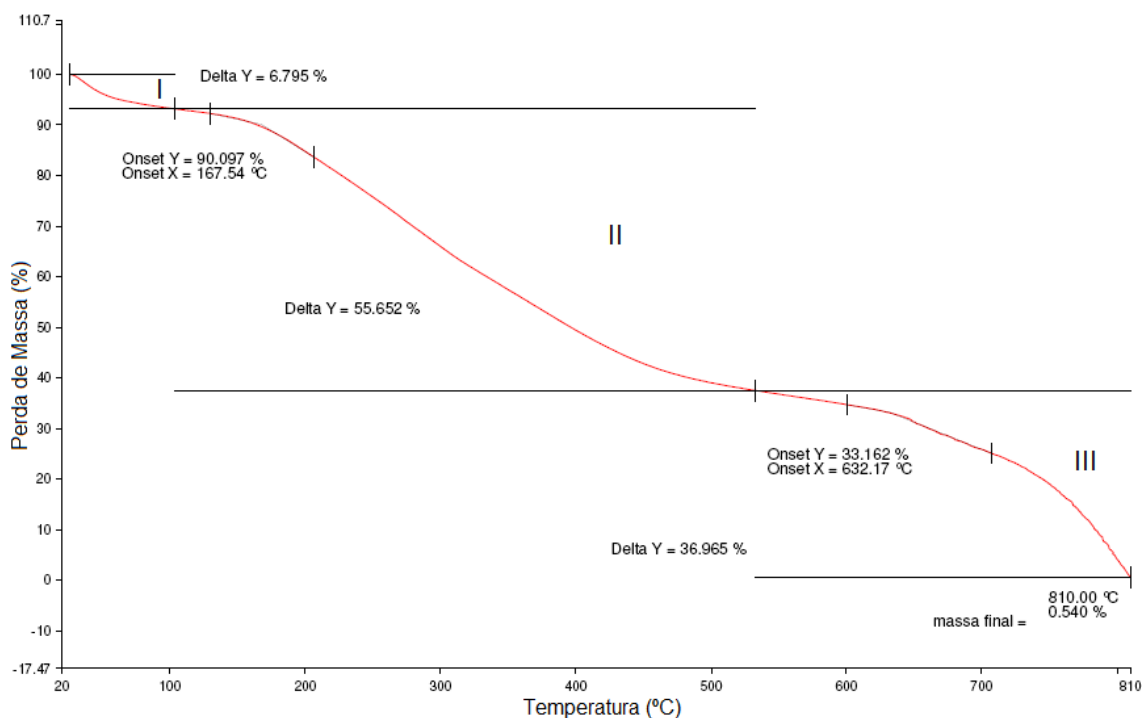
**Figura 4.1 – Espectro de FTIR do farelo de milho, farelo de milho purificado e do material hidrolisado e liofilizado.**

A presença do amido no espectro está relacionada às bandas 1150, 1076 e 1015  $\text{cm}^{-1}$ ; as duas primeiras estão relacionadas à parte cristalina da amostra e a última à parte amorfa (KHATOON *et al.*, 2009). Todas as três bandas estão presentes tanto no farelo de milho como recebido, quanto no farelo de milho purificado, o que indica que este processo não alterou as características químicas do amido. No material hidrolisado as bandas 1150 e 1015  $\text{cm}^{-1}$  apresentam uma intensidade maior, enquanto que a banda 1076  $\text{cm}^{-1}$  desaparece. Esses dados apenas confirmam a presença de amido no material hidrolisado, mas não fornecem informações suficientes para determinar o que ocorreu com a estrutura cristalina do material. As ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,4 do amido, representadas pela banda 929  $\text{cm}^{-1}$ , estão presentes nos espectros do farelo de milho e no farelo purificado. A ausência dessa banda no

espectro do material hidrolisado poderia indicar fragmentação das cadeias de amido durante a hidrólise ácida. A hidrólise é um processo de quebra da ligação glicosídica que resulta na fragmentação da cadeia polimérica. De acordo com DUFRESNE (2008), para curtos períodos de hidrólise (ou condições mais brandas), ocorre a hidrólise das zonas amorfas do grão de amido. Enquanto que para longos períodos (ou condições mais drásticas), a cinética de hidrólise é lenta e corresponde à quebra das zonas cristalinas do grão.

#### 4.1.2 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)

No gráfico obtido na análise é possível ver a degradação térmica das nanopartículas produzidas a partir do farelo de milho purificado, e está indicado na Figura 4.2.



**Figura 4.2 - Curva de TGA das nanopartículas obtidas a partir de farelo de milho purificado**

Na curva de TGA é possível verificar a existência de 3 regiões, onde a degradação do material é mais significativa. Um resumo das frações mássicas que degradaram em cada região está apresentado na Tabela 4.2.



**Tabela 4.2 – Percentual de Perda de Massa por Região**

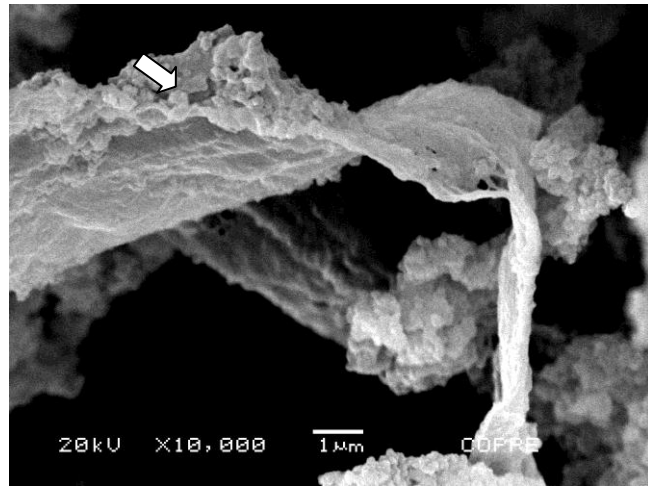
<b>Amostra</b>	<b>Perda de Massa (%)</b>
I	6,79
II	55,7
III	33,1
Resíduo	0,54

O evento de degradação que corresponde à região I ocorre em torno de 100°C e pode ser associado à perda de água. A região II apresenta um estágio de perda de massa mais intenso e pode estar associado à degradação do amido. A degradação de componentes do amido em torno de 300°C foi observada em misturas poliméricas de amido de milho com poli(3-hidroxi-butirato) (THIRÉ, RIBEIRO e ANDRADE, 2006) e em compósitos de poli(3-hidroxi-butirato) e nanocristais de amido de milho (NASCIMENTO, 2009). A região III pode estar associada à degradação das moléculas de celulose. É válido ressaltar que o percentual de perda de massa observado em cada região está de acordo com a composição centesimal do farelo de milho purificado apresentada na Tabela 4.1.

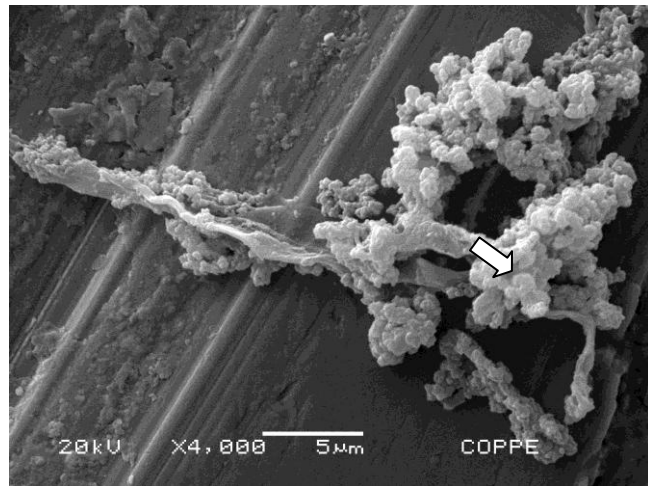
#### **4.1.3 ANÁLISES MICROSCÓPICAS**

A morfologia das partículas produzidas a partir da hidrólise do farelo de milho purificado foi observada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A Figura 4.3 apresenta as micrografias obtidas.

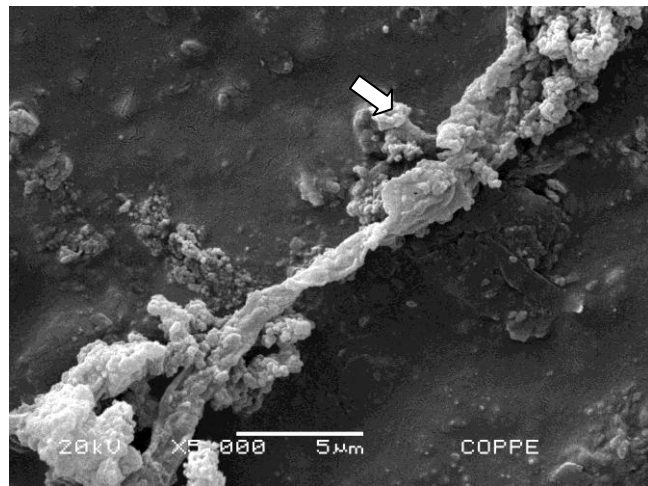
As micrografias revelam que o processo de liofilização e o meio no qual as partículas foram dispersas não alteram a sua morfologia. Em todas as imagens, observam-se partículas em formato de fibras com diâmetro em torno de 500 nm. Também é possível verificar a presença de inúmeras partículas aglomeradas, indicadas por setas, na forma de placas de tamanho micro e nanométrico agregadas às fibras. Essas partículas apresentam geometria e tamanhos muito similares às nanopartículas de amido apresentadas no trabalho de NASCIMENTO (2009). Logo, as micrografias podem indicar que o material hidrolisado pode ser constituído por fibras de celulose e nanopartículas de amido na forma de aglomerados.



(a)



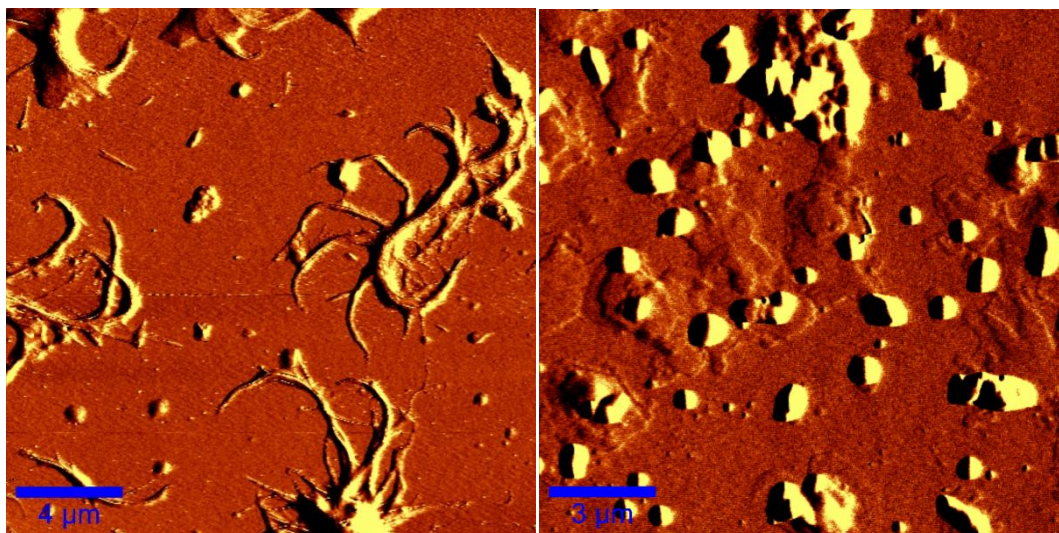
(b)



(c)

**Figura 4.3 – Partículas em pó obtidas a partir da solução hidrolisada, neutralizada e liofilizadas (a). As partículas também foram dispersas em água (b) e clorofórmio (c).**

As imagens obtidas com auxílio do microscópio de força atômica (AFM), por contraste de fase, confirmaram tanto a presença de nanopartículas de amido, quanto de fibras de celulose, Figura 4.4. Com as imagens obtidas foi observado que o diâmetro das fibras variavam de 100 – 221 nm e o tamanho das partículas variava de 100 – 1000 nm.



**Figura 4.4 – Microscopias do material liofilizado diluído em clorofórmio.**

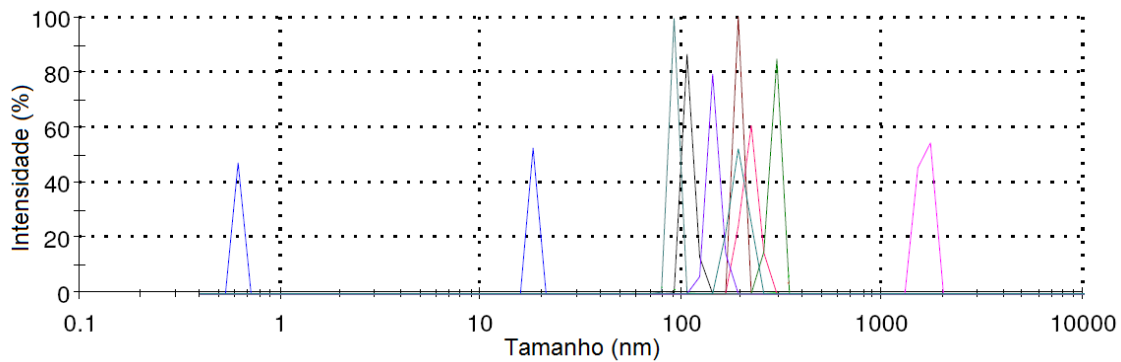
#### **4.1.4 TAMANHO DE PARTÍCULA**

Os gráficos obtidos pela análise estão apresentados na Figura 4.5 e relacionam a distribuição do tamanho de partículas pela intensidade do feixe de luz refratado. Foram feitas análises sucessivas das partículas liofilizadas dispersas em água e em clorofórmio, para determinar a faixa de tamanho na das partículas.

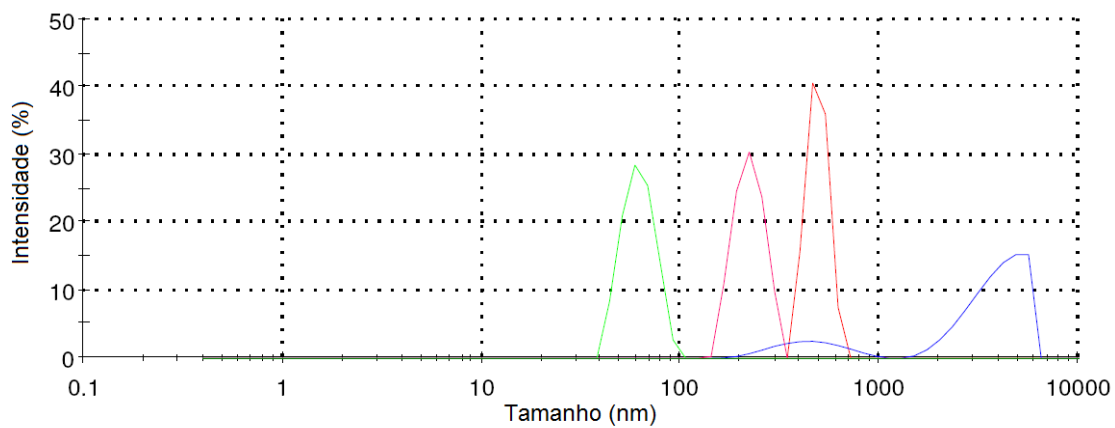
Pela Figura 4.5a, é possível verificar que na presença de água o tamanho das partículas variou de 80 a 300 nm. Picos em torno de 0,6, 20 e 1000 nm também foram verificados, indicando a presença de partículas dispersas e outras aglomeradas. Na presença de clorofórmio (Figura 4.5b), as partículas aglomeraram-se ao longo das medições. Após a quarta análise, o tamanho dos aglomerados ultrapassava a faixa de leitura do equipamento. As partículas dispersas em clorofórmio estão predominantemente na faixa de 100 a 700 nm, algumas podendo ser encontradas com tamanho em torno de 60 nm.

As partículas dispersas em água apresentaram uma variação de tamanho menor e tamanho médio em torno de 300 nm. A dispersão em clorofórmio apresentou

um tamanho médio maior, em torno de 1500 nm, não sendo possível verificar a existência de partículas dispersas.



(a)

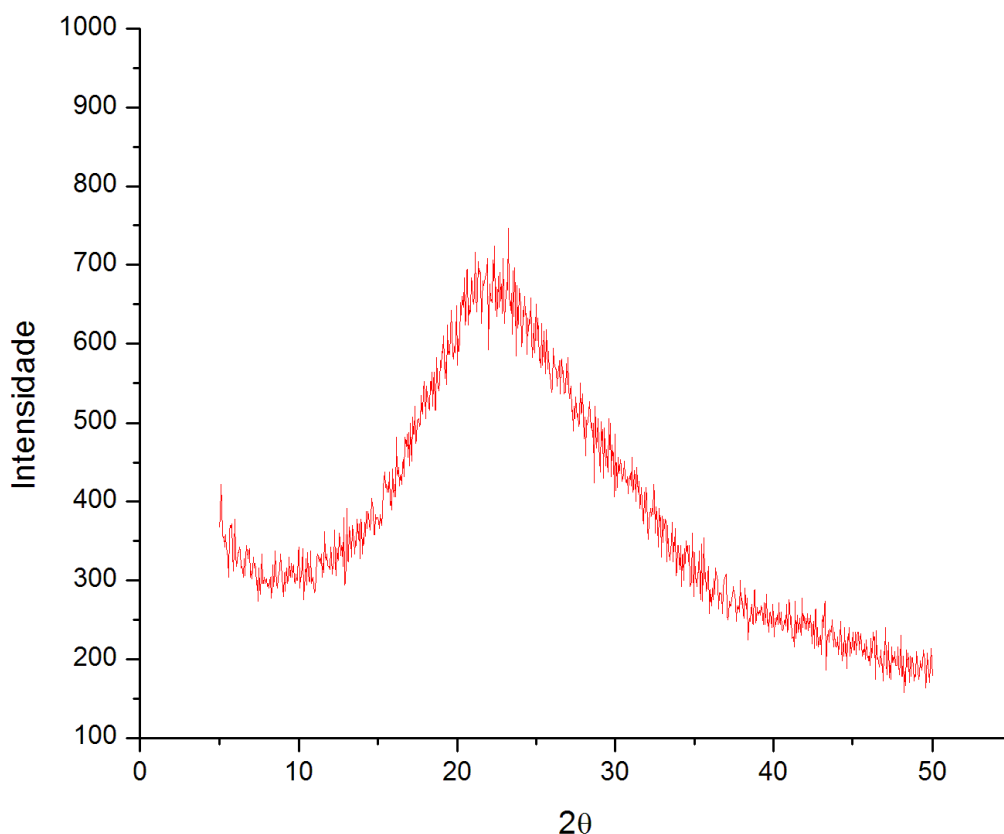


(b)

**Figura 4.5 – Gráfico de distribuição do tamanho de partículas dispersas em água (a) e clorofórmio (b).**

#### 4.1.5 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

A cristalinidade das partículas de celulose e amido foi analisada pela técnica de difração de Raios-X (DRX), a Figura 4.6 apresenta o difratograma obtido.



**Figura 4.6 – Difratograma de Raios-X das nanopartículas liofilizadas..**

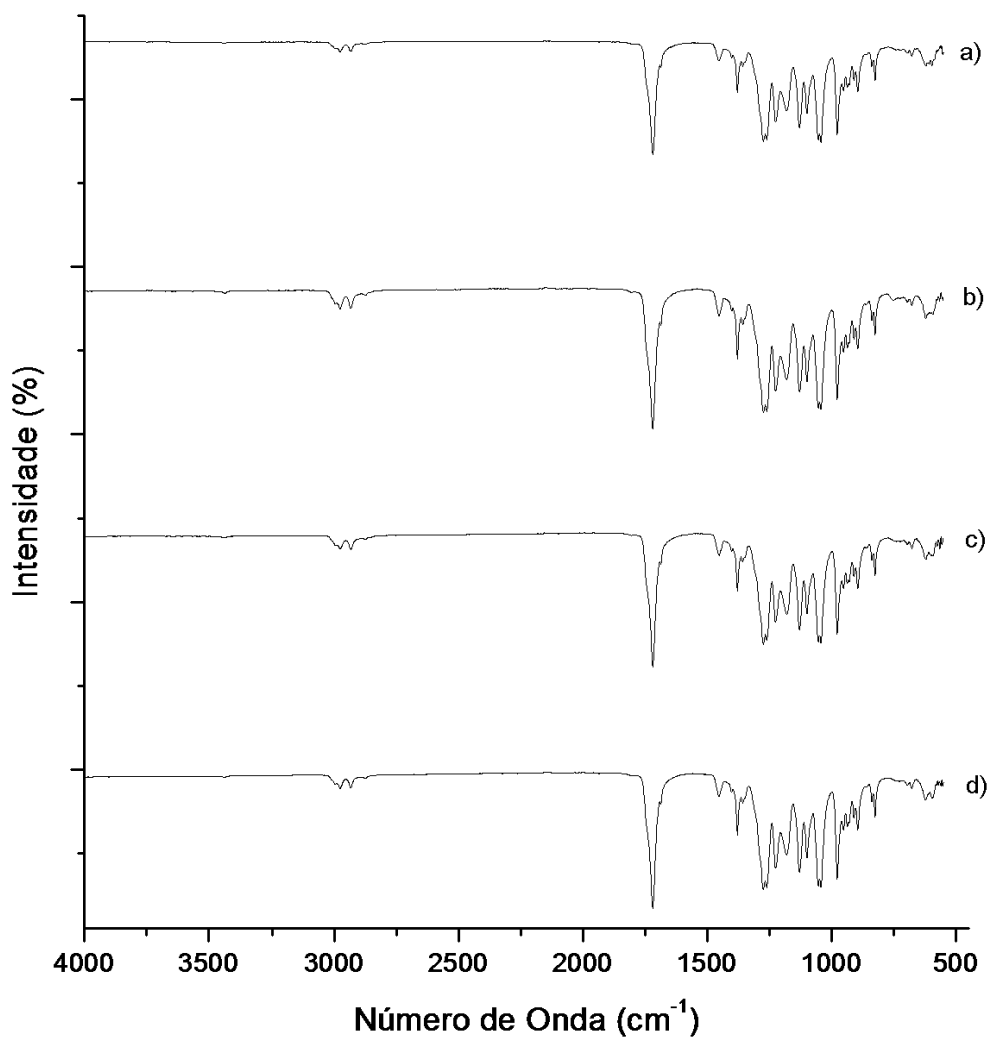
O difratograma obtido revela que a amostra estava completamente amorfa, indicando que a hidrólise foi muito intensa, o que pode ter levado também ao rompimento das regiões cristalinas.

## 4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPÓSITOS

### 4.2.1 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

Os espectros obtidos para os nanocompósitos estão apresentados na Figura 4.7. Esta análise mostrou que não houve o deslocamento das bandas nos espectros do nanocompósitos em relação ao PHB. Isto pode ser um indício de que não ocorreu

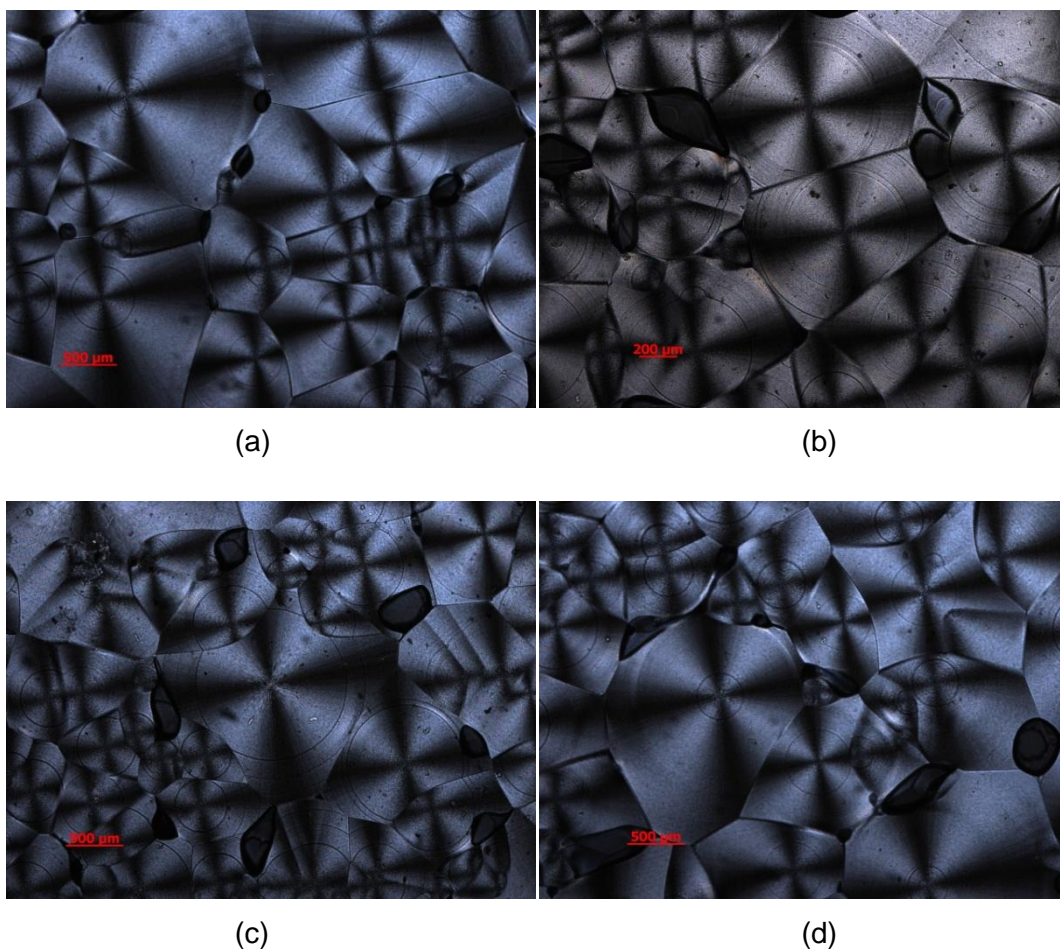
nenhuma interação química significativa entre a superfície das nanopartículas e as cadeias do polímero. Por outro lado, a técnica pode não ter tido sensibilidade suficiente para detectar a interação devido à baixa quantidade de material que foi adicionada ao material polimérico.



**Figura 4.7 – Espectros das amostras de (a) PHB puro, (b) PHB/Nanopartículas 0,05%, (c) PHB/Nanopartículas 0,10% e (d) PHB/Nanopartículas 0,30%**

#### **4.2.2 MICROSCOPIA ÓPTICA DE LUZ POLARIZADA**

As imagens obtidas na técnica, Figura 4.8, foram feitas ao final do resfriamento isotérmico, à temperatura de 65°C. Para cada amostra foram feitas dez imagens em diferentes regiões e em seguida foi contabilizado o número de esferulitos presente em cada uma delas. Para cada amostra, foi feito o cálculo do número médio de esferulitos por área. Na Tabela 4.3, estão apresentados os dados obtidos.



**Figura 4.8 – Microscopias ópticas obtidas com um polarizador de luz para amostras de (a) PHB puro, (b) PHB/Nanopartículas 0,05%, (c) PHB/Nanopartículas 0,10% e (d) PHB/Nanopartículas 0,30%**

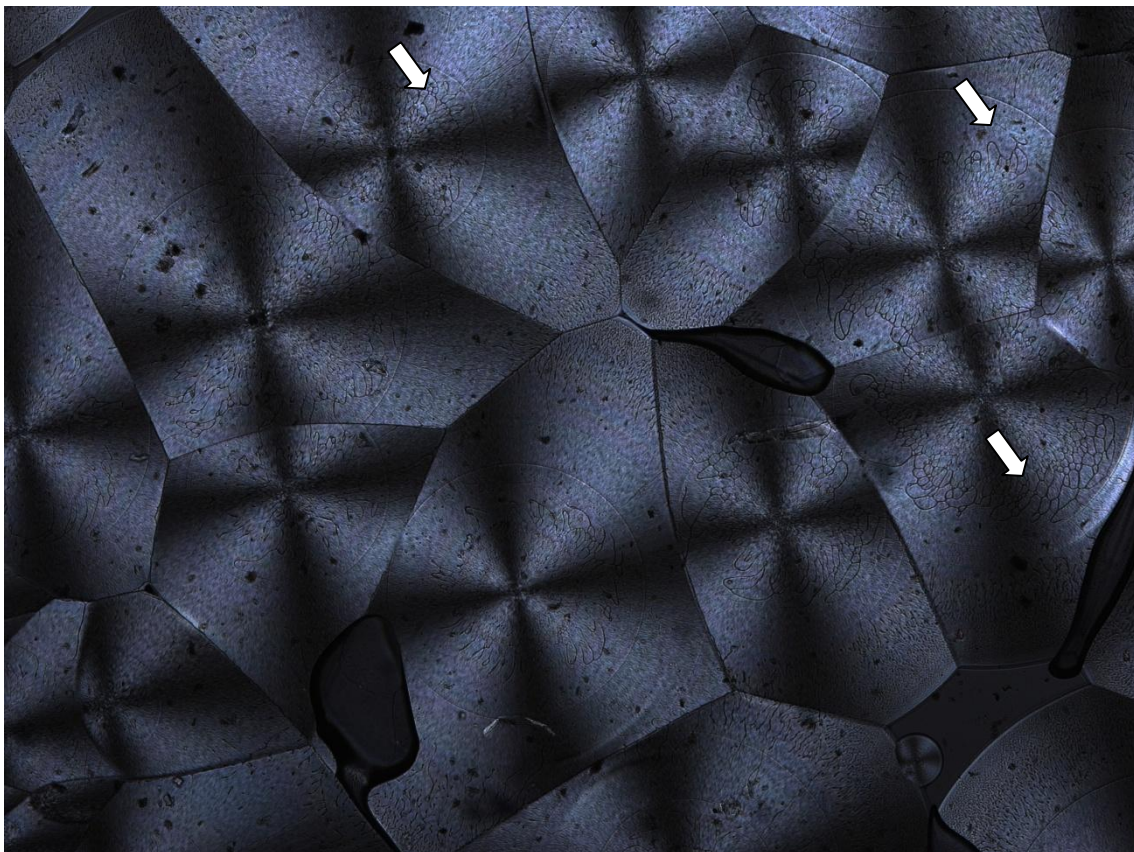
**Tabela 4.3 – Quantidade média de esferulitos por área**

<b>Amostra</b>	<b>Quantide/mm<sup>2</sup></b>
PHB	1,3 ± 0,2
PHB/Nanopartículas 0,05%	5,1 ± 0,4
PHB/Nanopartículas 0,10%	3,1 ± 0,3
PHB/Nanopartículas 0,30%	1,4 ± 0,2

Comparando o número de esferulitos por milímetro quadrado do nanocompósito contendo até 0,10% em carga com o PHB puro, é possível notar um aumento significativo na quantidade dessas estruturas. Isso se deve à presença das nanopartículas, que possivelmente atuaram como agentes nucleantes durante a cristalização do material. Com o aumento da quantidade de carga no material, houve

uma redução no número de esferulitos. Pela característica hidrofílica da celulose e do amido e pelos resultados apresentados na Figura 4.5, pode-se afirmar que o clorofórmio não é um bom dispersante como a água para as nanopartículas. Desta forma, a dispersão de maior concentração das nanopartículas liofilizadas no PHB pode ter sido prejudicada, uma vez que a solução polimérica continha clorofórmio como solvente. Desta forma, pode-se supor que com 0,3% de nanocarga, as partículas tenderam a se aglomerar, reduzindo a energia livre do sistema, e assim os aglomerados acabaram reduzindo o número de pontos de nucleação, o que, por consequência, pode ter reduzido o número de esferulitos formados.

O tamanho dos esferulitos influencia nas propriedades mecânicas. Geralmente, quanto maior for o esferulito, mais frágil será o polímero. Além disso, quando essas estruturas são muito grandes, elas geralmente apresentam trincas, o que reduz ainda mais a resistência mecânica do material (CASARIN, 2010). A presença dessas trincas foi verificada no nanocompósito com 0,30% de carga, Figura 4.9.

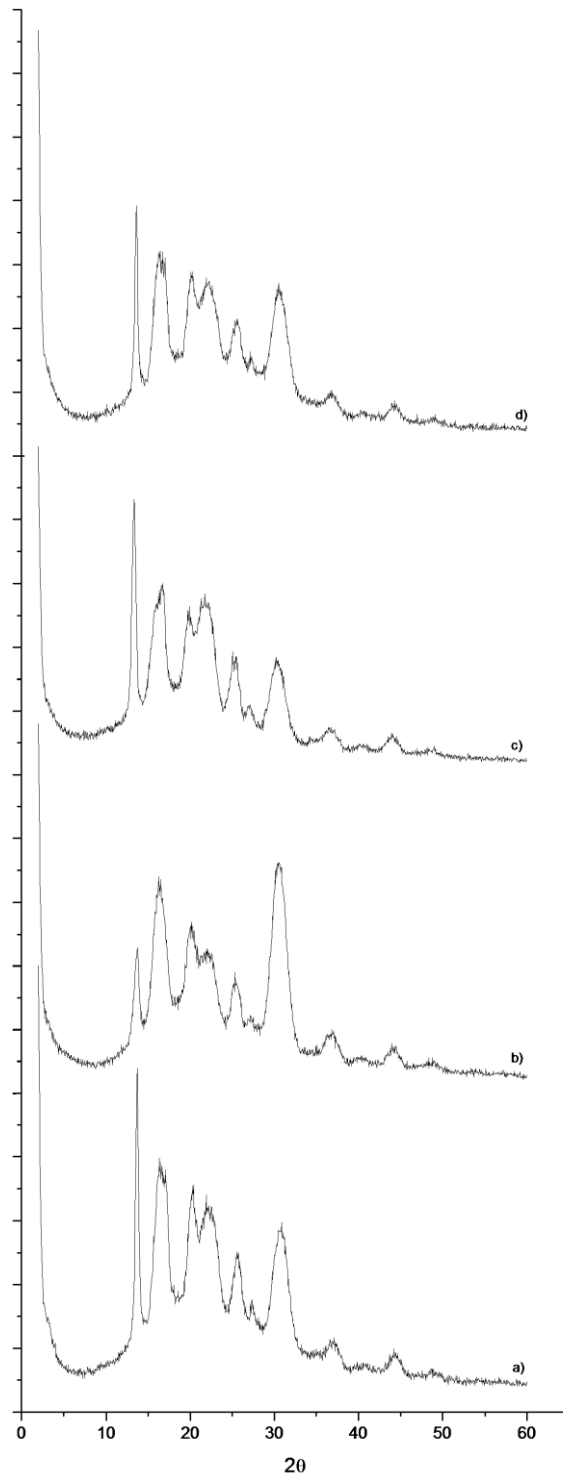


**Figura 4.9 – Esferulitos da amostra com 0,30% de nanopartículas**



### 4.2.3 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

Os difratogramas de Raios-X para o PHB puro e os nanocompósitos são apresentados na Figura 4.10.



**Figura 4.10 – Difratogramas de Raios-X para amostras de (a) PHB puro, (b) PHB/Nanopartículas 0,05%, (c) PHB/Nanopartículas 0,10% e (d) PHB/Nanopartículas 0,30%**

Para o filme de PHB puro é possível ver a presença de picos bem definidos, característicos da estrutura ortorrômbica do material. Os difratogramas dos nanocompósitos também apresentaram estes mesmos picos. Esses resultados mostram que não houve a formação de uma nova estrutura cristalina no PHB após a adição das cargas. Isso já era esperado, uma vez que o difratograma das nanopartículas mostrou que o material era completamente amorfo.

A Tabela 4.4 mostra a cristalinidade das amostras calculada com base nos difratogramas da Figura 4.10.

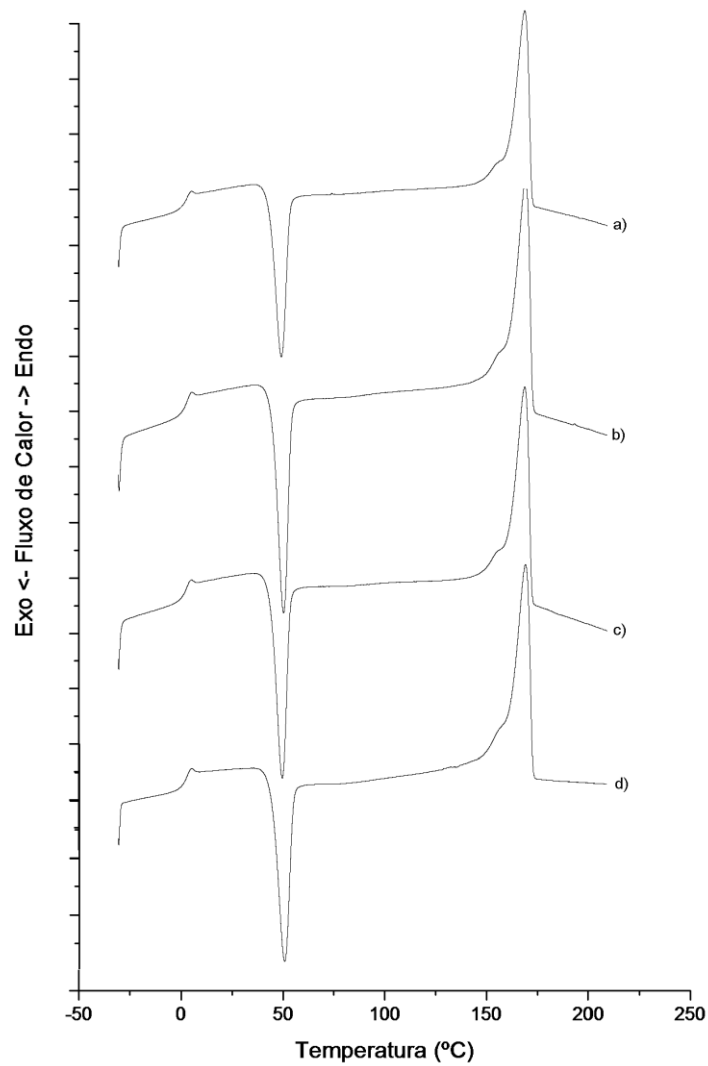
**Tabela 4.4 – Percentual de cristalinidade do PHB e dos Nanocompósitos**

<b>Amostra</b>	<b>Cristalinidade (%)</b>
PHB	47,7
PHB/Nanopartículas 0,05%	53,6
PHB/Nanopartículas 0,10%	55,3
PHB/Nanopartículas 0,30%	44,6

Para os filmes com até 0,10% de nanopartículas há um aumento na cristalinidade total em relação ao filme de PHB puro. Este aumento pode ser atribuído à presença das nanopartículas no material que servem como agentes nucleantes durante a cristalização do material, o que induziu a formação de uma maior quantidade de regiões cristalinas no material. Já o filme de PHB com 0,30% de nanopartículas apresentou um decréscimo na cristalinidade em relação ao PHB puro. Isso ocorre pois além das partículas se aglomeram, deixando de atuar como agentes nucleantes, a presença desse material amorfo em maior quantidade reduz a cristalinidade do material, em relação ao polímero puro.

#### **4.2.4 DSC**

Essa análise foi feita a fim de verificar o comportamento térmico do PHB e a influência da introdução das nanopartículas na sua matriz. Neste processo foram obtidas informações sobre as temperaturas de transição vítrea ( $T_g$ ), as temperaturas de cristalização ( $T_c$ ) e as temperaturas de fusão ( $T_m$ ), de cada material. As energias associadas a cada um desses processos também foram avaliadas. Os gráficos de DSC do segundo estágio de aquecimento da amostra são apresentados na Figura 4.11.



**Figura 4.11 – Gráficos de DSC para amostras de (a) PHB puro, (b) PHB/Nanopartículas 0,05%, (c) PHB/Nanopartículas 0,10% e (d) PHB/Nanopartículas 0,30%**

Os dados extraídos dos gráficos estão presentes na Tabela 4.5.

**Tabela 4.5 – Parâmetros térmicos do PHB e dos nanocompósitos obtidos por DSC no segundo estágio de aquecimento.**

Amostra	$T_g$ (°C)	$T_c$ (°C)	$\Delta H_c$ (J/g)	$T_f$ (°C)	$\Delta H_f$ (J/g)
PHB	1,41	49,2	-39,6	168,8	74,9
PHB/Nanopartículas 0,05%	1,59	50,3	-41,2	169,2	78,9
PHB/Nanopartículas 0,10%	1,50	49,6	-40,9	168,8	73,7
PHB/Nanopartículas 0,30%	1,87	50,8	-39,6	169,2	67,3

Avaliando as temperaturas de transição vítrea dos nanocompósitos, variações significativas não ocorreram para a inclusão de carga em até 0,10%. Para o nanocompósito com 0,30% de nanopartículas houve um aumento da temperatura de transição vítrea, que está associado à restrição de mobilidade das cadeias do polímero, provavelmente relacionado à presença de aglomerados neste material.

Na Tabela 4.6 são apresentados os valores de cristalinidade do PHB e dos nanocompósitos. Nessa Tabela também estão representados os valores de cristalinidade na qual é considerada somente a fração mássica do PHB.

**Tabela 4.6 – Valores de cristalinidade ( $X_c$ ) e cristalinidade mássica ( $X_c$  mássico) do PHB e dos nanocompósitos.**

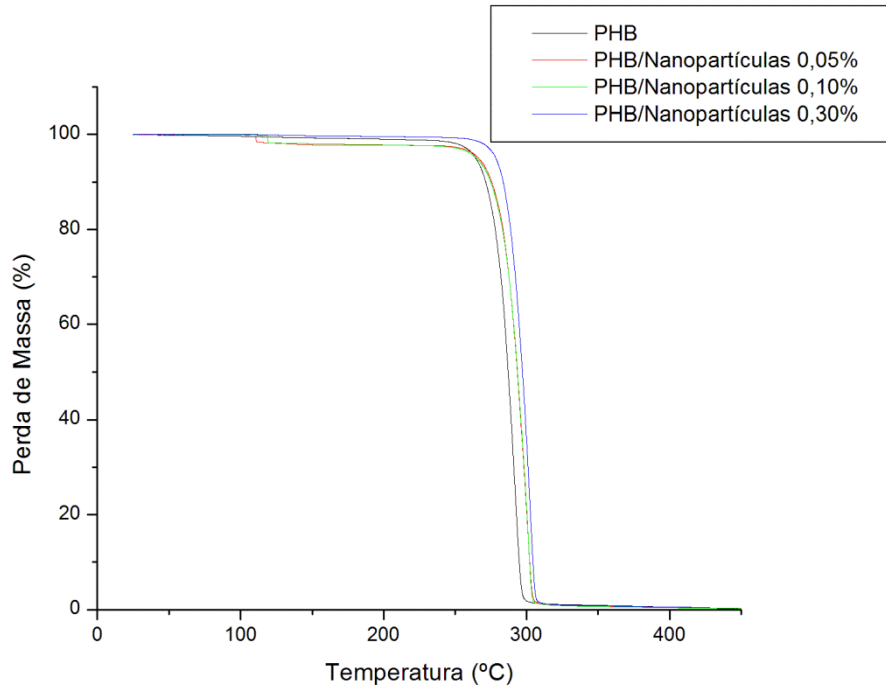
<b>Amostra</b>	<b><math>X_c</math></b>	<b><math>X_c</math> mássico</b>
PHB	51,30	51,30
PHB/Nanopartículas 0,05%	54,04	56,89
PHB/Nanopartículas 0,10%	50,51	56,12
PHB/Nanopartículas 0,30%	46,06	65,80

Assim como as cristalinidades calculadas pela técnica de DRX, os valores calculados pela técnica de DSC mostraram um aumento para os filmes de 0,05% e um decréscimo nos filmes de 0,30%. A redução da cristalinidade para o filme com 0,30% indica que, neste caso, o processo de cristalização foi inibido pela presença das nanopartículas, que se encontravam aglomeradas. Isso sugere que a presença delas diminuiu a mobilidade das cadeias de PHB nas regiões próximas a elas, o que impede que estas se organizem formando zonas cristalinas (NASCIMENTO, 2009). Essa informação está de acordo com o aumento significativo da temperatura de transição vítrea, para este material.

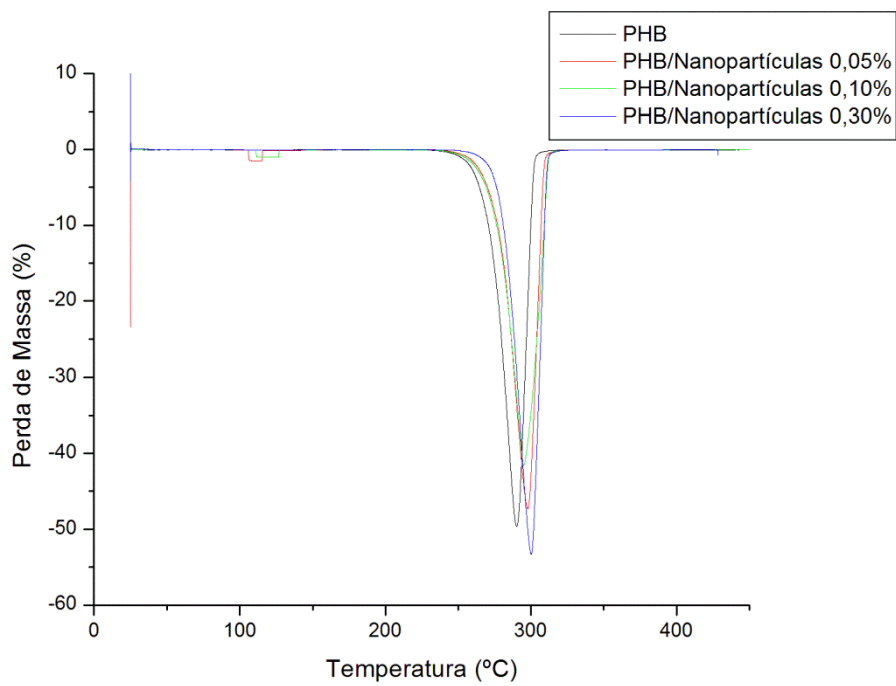
Os valores da cristalinidade mássica também apresentaram a mesma tendência, contudo para o nanocompósito com 0,30% de nanopartículas, houve um aumento da cristalinidade. Esse aumento está relacionado à presença de aglomerados, uma vez que existe um maior distanciamento entre elas, essas regiões não encontram restrições durante a cristalização.

#### 4.2.5 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

O padrão de degradação do PHB e dos filmes compósitos são mostrados de forma comparativa na Figura 4.12.



a)



b)

Figura 4.12 – a) Curvas de TGA; b) Derivadas das Curvas de TGA (DTG)

Na Tabela 4.7 estão listados os valores de temperatura de início de degradação ( $T_{onset}$ ), a temperatura máxima de degradação ( $T_{deg}$ ), a fração mássica dos resíduos das amostras analisadas; e a janela de processamento. O cálculo da janela de processamento foi determinado pela diferença entre os valores das temperaturas de fusão obtidas pela técnica de DSC, Tabela 4.5, e as temperaturas de início de degradação.

**Tabela 4.7 – Parâmetros térmicos do PHB e dos nanocompósitos obtidos por DSC no segundo estágio de aquecimento.**

<b>Amostra</b>	<b><math>T_{onset}</math> (°C)</b>	<b><math>T_{deg}</math> (°C)</b>	<b>Resíduos (%)</b>	<b>Janela de Processamento (°C)</b>
PHB	276,8	290,4	0,13	108,0
PHB/Nanopartículas 0,05%	283,5	310,7	0,28	114,2
PHB/Nanopartículas 0,10%	279,5	292,3	0,19	110,7
PHB/Nanopartículas 0,30%	289,7	301,9	0,45	120,5

A incorporação das nanopartículas no polímero aumentou tanto a sua temperatura de início de degradação quanto à temperatura de taxa máxima de degradação; isso permite um processamento do material a temperaturas mais elevadas. Houve um aumento significativo da janela de processamento do material, o que traz melhorias ao processamento do material, permitindo que ele seja trabalhado no estado fundido sem que haja perda das suas propriedades devido à sua degradação.

## CAPÍTULO 5 - CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos chegou-se as seguintes conclusões:

- Neste trabalho, foi possível obter partículas de tamanhos nano e submicrométrico a partir da hidrólise ácida de um subproduto da indústria amilácea, farelo de milho. A análise de FTIR comprovou a obtenção de um material composto por amido e celulose. Com as imagens obtidas no MEV foram observadas nanopartículas de amido aglomeradas em torno de fibrilas de celulose
- A análise de DRX mostrou a obtenção de um material amorfo, o que indica que a hidrólise ácida pode ter sido conduzida por períodos prolongados ou condições drásticas, levando à quebra das zonas cristalinas do material.
- Pela evaporação por solvente foram obtidos filmes de PHB/nanopartículas de amido e celulose com teor de até 0,3% (p/p) de nanocarga. As imagens obtidas pela análise microscópica de luz polarizada mostraram que para os biocompósitos com até 0,1% (p/p), as partículas ficaram homogeneamente dispersas na matriz polimérica e atuaram como agentes nucleantes. No entanto, as partículas no filme de 0,30% se aglomeraram, levando à formação de esferulitos grandes semelhantes aos observados nos filmes de PHB puro.
- Foi observado um aumento na cristalinidade do nanocompósito com 0,05% (p/p) de carga, em relação ao PHB puro, e uma redução para os materiais contendo 0,10 e 0,30% (p/p) de nanopartículas.
- Quando foram adicionadas 0,30% de nanopartículas e estas aglomeraram, ocorreu um aumento na temperatura de transição vítrea, indicando uma restrição à mobilidade das cadeias do polímero próximo às estruturas esferulíticas.
- As temperaturas de fusão e cristalização dos filmes não se alteraram.
- Pelo TGA, foi observado que a introdução das nanopartículas no material acarretou em um aumento tanto na temperatura de início de degradação quanto da temperatura de taxa máxima de degradação. A diferença mais significativa ocorreu no aumento da janela de processamento, uma das características que impede a maior utilização do PHB, em caráter comercial.
- Os resultados obtidos foram satisfatórios, indicando que a introdução das nanopartículas em uma concentração de até 0,10% aumentou a faixa de temperatura na qual o material pode ser processado. Esses nanocompósitos também mostram um aumento na cristalinidade e um maior número de

esferulitos pequenos, o que pode trazer uma melhoria nas propriedades mecânicas do material.



## CAPÍTULO 6 - TRABALHOS FUTUROS

Tendo em vista um aprimoramento da metodologia desenvolvida neste projeto, alguns procedimentos poderão ser realizados em trabalhos futuros:

- Aplicar técnicas de caracterização que visam a determinação de possíveis alterações nas propriedades mecânicas do material, causadas pela introdução das nanopartículas
- Determinação de um procedimento para separar o endosperma do pericarpo, presentes no farelo de milho, permitindo a obtenção individual de nanopartículas de amido e fibrilas de celulose
- Utilização de surfactantes, para evitar a aglomeração das partículas
- Verificação das condições de hidrólise, para evitar a oxidação das partículas e quebra das zonas cristalinas

## CAPÍTULO 7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERS, A. P. F.; MELCHIADES, F. G.; MACHADO, R.; BALDO, J. B.; BOSCHI, A. O. Um Método Simples de Caracterização de Argilominerais por Difração de Raios X. **Cerâmica**, v. 48, p. 34-37, 2002.

ALESSI, M. O.; RAUPP, D. S.; GARDINO, J. R. Caracterização do Processamento da Farinha de Milho Biju para o Aproveitamento dos Subprodutos. **Publication UEPG: Ciências Exatas e da Terra, Ciências Agrárias e Engenharias**, v. 9, n. 2, p. 31-39, 2003.

ALMEIDA, L. L.; ROCHA, G. A.; HUI, W. S. Modificação Química do Polímero Biodegradável Poli(3-hidroxitirato) com Poli(óxido de etileno). **Anais do 10º Congresso Brasileiro de Polímeros**, Foz do Iguaçu, PR, 2009.

ASHBY, M. F. **Materials Selection in Mechanical Design**. 3 ed. Butterworth-Heinemann, 2005.

BHATNAGAR, A.; SAIN, M. Processing of Cellulose Nanofiber-reinforced Composites. **Journal of Reinforced Plastics and Composites**, v. 24, p. 1259-1268, 2005.

BORDES, P.; POLLET, E.; AVÉROUS, L. Nano-biocomposites: Biodegradable Polyester/Nanoclay Systems. **Progress in Polymer Science**, v. 34, p. 125-155, 2009.

BRITO, G. F. et al. Biopolímeros, Polímeros, Biodegradáveis e Polímeros Verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 6.2, p. 127-139, 2011.

CADIOLI, L.; SALLA, L. Nanotecnologia: Um Estudo Sobre Seu Histórico, Definição e Principais Aplicações Desta Inovadora Tecnologia. **Revista de Ciências Exatas e Tecnologia**, v. 1, n. 1, p. 98-105, 2006.

CALLISTER, W. D. **Ciência e Engenharia de Materiais - Uma Introdução**. 5. ed. São Paulo: LTC - Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 2002.

CANEVAROLO JUNIOR, S. V. **Técnicas de Caracterização de Polímeros**. 1. ed. São Paulo: Artliber, 2004.

CAO, G. **Nanostructures & Nanomaterials - Synthesis, Properties & Applications**. 1. ed. Covent Garden: Imperial College Press, 2004.

CARASCHI, J. C.; RAMOS, U. M.; LEÃO, A. L. Compósitos Biodegradáveis de Polihidroxitirato (PHB) Reforçado com Farinha de Madeira: Propriedades e Degradação. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 6, p. 1609-1614, 2002.

CARDOSO, A. O. Espalhamento de Luz Dinâmico Aplicado no Estudo de Sistemas Micelares. **Instituto de Química - Unicamp**, Campinas, 2001. Disponível em: <<http://www.iqm.unicamp.br/~wloh/offline/qp433/seminarios/textodeapoio-atilio.pdf>>. Acesso em: 30 Novembro 2011.

CASARIN, S. A. Blendas de PHBV e PCL para Uso em Dispositivos de Osteosíntese. **Tese de D.Sc.**, UFSCAR, São Paulo, 2010.

DUFRESNE, A. **Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources**. p. 401-418, 2008.

ERCEG, M.; KOVACIC, T.; KLARIC, I. Thermal Degradation of Poly(3-hydroxybutirate) Plasticized with Acetyl Tributyl Citrate. **Polymer Degradation**, v. 90, p. 313-318, 2005.

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

ESTEVEZ, A. C. C.; BARROS-TIMMONS, A.; TRINDADE, T. Nanocompósitos de Matriz Polimérica: Estratégias de Síntese de Materiais Híbridos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 798-806, 2004.

FESTUCCI-BUSELLI, R. A.; OTONI, W. C.; JOSHI, C. P. Structure, Organization, and Functions of Cellulose Synthase Complexes in Higher Plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 19, p. 1-13, 2007.

FONSECA, G. G. Produção de Polihidroxialcanoatos por Escherichia coli Recombinante. **Tese de M.Sc.**, UFSC, Santa Catarina, 2003.

FRANCHETTI, S. M. M.; MARCONATO, J. C. Polímeros Biodegradáveis - Uma Solução para Diminuir a Quantidade dos Resíduos Plásticos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 811-816, 2006.

GEOFFREY, K.H., PANG, K.Z., BABA, K., *et al.* Topographic and phase-contrast imaging in atomic force microscopy, **Ultramicroscopy**, v. 81, p. 35-40, 2000.

GIL, M. H.; FERREIRA, P. Polissacarídeos como Biomateriais. **Química 100**, p. 72-74, 2006.

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

JERKINS, P. J.; DONALD, A. M. The Influence of Amylose on Starch Granule Structure. **International Journal of Biological Macromolecules**, 17, n. 6, p. 315-321, 1995.

KHATOON, S. et al. Properties of Enzyme Modified Corn, Rice and Tapioca Starches. **Food Research International**, 42, p. 1426-1433, 2009.

LUCAS, E. F.; SOARES, B. G.; MONTEIRO, E. E. C. **Caracterização de Polímeros - Determinação de Peso Molecular e Análise Térmica**. Rio de Janeiro: E-papers, 2001.

MALISKA, A. M. Microscopia Eletrônica de Varredura, 2003. Disponível em: <[http://www.materiais.ufsc.br/lcm/web-MEV/MEV\\_Apostila.pdf](http://www.materiais.ufsc.br/lcm/web-MEV/MEV_Apostila.pdf)>. Acesso em: 26 Novembro 2011.

MANNHEIMER, W. A. **Microscopia dos Materiais - Uma Introdução**. Rio de Janeiro: E-papers Serviços Editoriais, 2002.

MELLO, C. C. Modificação Superficial de Pó de Coco Visando a Fabricação de Compósitos Biodegradáveis com Matriz de Poli(3-hidroxi-butirato). **Tese de M.Sc.**, UFRJ, Rio de Janeiro, 2010.

MORÁN, J. I. et al. Extraction of Cellulose and Preparation of Nanocellulose from Sisal Fibers. **Cellulose**, v. 15, p. 149-159, 2008.

MURPHY, P. Starch. In: PHILLIPS, G. O. . W. P. A. (. **Handbook of Hydrocolloids**. [S.l.]: Wood Head Publishing, 2000. Cap. 3.

NASCIMENTO, A. P. S. Nanocompósitos Biodegradáveis a Base de Poli(3-hidroxi-butirato) e Nanocristais de Amigo. **Tese de M.Sc.**, UFRJ, Rio de Janeiro, 2009.

PAES, M. C. D. . **Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho**. Sete Lagoas. 2006. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

PAUL, D. R. . R. L. M. Polymer Nanotechnology: Nanocomposites. **Polymer**, v. 49, p. 3187-3204, 2008.

PIMENTEL, D. M. et al. Eco-friendly Isolation of Cellulose Whiskers from Corn Straw. **7th International Symposium on Natural Polymers and Composites**, p. 1765-1769, 2010.

ROSA, D. S.; FRANCO, B. L. M.; CALIL, M. R. Biodegradabilidade e Propriedades Mecânicas de Novas Misturas Poliméricas. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, 11, n. 2, p. 82-88, 2001.

SANTOS, A. E. F. Estudo de Filmes Biodegradáveis de Milho Modificados por Plasma de SF<sub>6</sub>, HMDSO e Acetileno. **Tese de D.Sc.**, UFRJ, Rio de Janeiro, 2011.

SARZI, A. C.; FELISBERTI, M. I. Efeito da Adição de Agentes de Nucleação na Cristalização do Poli[(R)-3-Hidroxi-butirato] PHB. **Anais do 10º Congresso Brasileiro de Polímeros**, Foz do Iguaçu, PR, 2009.

SHUKLA, R.; CHERYAN, M. Zein: The Industrial Protein from Corn. **Industrial Crops and Products**, v. 13, p. 171-192, 2001.

SIQUEIRA, G.; BRAS, J.; DUFRESNE, A. Cellulose Whiskers versus Microfibrils: Influence of the Nature of the Nanoparticle and its Surface Functionalization on the Thermal and Mechanical Properties of Nanocomposites. **Biomacromolecules**, v. 10, p. 425-432, 2009.

SKRBIC, Z.; DIVJAKOVIC, V. Temperature Influence on Changes of Parameters of the Unit Cell of Biopolymer PHB. **Polymer**, v. 37, n. 3, p. 505-507, 1996.

SQUIO, C. R.; ARAGÃO, G. M. F. Estratégias de Cultivo para Produção dos Plásticos Biodegradáveis Poli(3-hidroxi-butirato) e Poli(3-hidroxi-butirato-co-3-hidroxi-valerato) por Bactérias. **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 615-622, 2004.

STELTE, W.; SANADI, A. R. Preparation and Characterization of Cellulose Nanofibers from Two Commercial Hardwood and Softwood Pulps. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 48, p. 11211-11219, 2009.

SUDESH, K.; ABE, H. . D. Y. Synthesis, Structure and Properties of Polyhydroxyalkanoates: biological polyesters. **Progress in Polymer Science**, v. 25, p. 1503-1555, 2000.

TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch – Composition, Fine Structure and Architecture. **Journal of Cereal Science**, v. 39, p. 151-165, 2004.

THIRÉ, R. M. S. M.; RIBEIRO, T. A. A.; ANDRADE, C. T. Effect of Addition on Compression-Molded Poly (3-hydroxybutyrate)/Starch Blends. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 100, p. 4338-4347, 2006.

VIEGAS, C. P. R. Estudo da Produção de Polihidroxialcanoatos (PHAs) por *Chromobacterium violaceum*. **Tese de M.Sc.**, UFSC, Santa Catarina, 2005.

VINHAS, G. M.; ALMEIDA, Y. M. B.; A., L. M. A. G. Estudo das Propriedades e Biodegradabilidade de Blendas de Poliéster/Amido Submetidas ao Ataque Microbiano. **Química Nova**, v. 30, p. 1584-1588, 2007.