RAFAEL SALLES KURUSU

EFEITO DO TEMPO E DO RECOZIMENTO NAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E DE BIODEGRADAÇÃO DE MATERIAIS BASEADOS EM POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) (PHB)

São Paulo 2011

EFEITO DO TEMPO E DO RECOZIMENTO NAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E DE BIODEGRADAÇÃO DE MATERIAIS BASEADOS EM POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) (PHB)

Dissertação apresentada à Escola Politécnica da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Engenharia.

São Paulo 2011

EFEITO DO TEMPO E DO RECOZIMENTO NAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E DE BIODEGRADAÇÃO DE MATERIAIS BASEADOS EM POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) (PHB)

Dissertação apresentada à Escola Politécnica da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Engenharia

Área de concentração: Engenharia Metalúrgica e de Materiais

Orientador: Prof^a. Dr^a. Nicole Raymonde Demarquette

Este exemplar foi revisado e alterado em relação à versão original, sob	
responsabilidade única do autor e com a anuência de seu orientador.	

São Paulo, de agosto de 2011.

Assinatura do autor

Assinatura do orientador

FICHA CATALOGRÁFICA

Kurusu, Rafael Salles

Efeito do tempo e do recozimento nas propriedades mecânicas e de biodegradação de materiais baseados em poli (3-hidroxibutirato) / R.S. Kurusu. -- ed.rev. -- São Paulo, 2011. 101 p.

Dissertação (Mestrado) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais.

1.PHB 2.Envelhecimento de materiais 3.Recozimento 4.Biodegradação I.Universidade de São Paulo. Escola Politécnica. Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais II.t.

"Freedom is not an ideal, it is not even a protection, if it means nothing more than freedom to stagnate (...)" Adlai Stevenson

AGRADECIMENTOS

À Mary, por ser a minha grande companheira nesses últimos 5 anos.

À minha família e aos meus amigos, pela excelente infraestrutura e por fazer o meu tempo além-mestrado muito agradável.

À professora Nicole, sempre disposta a ajudar e discutir, por provar que é possível orientar bem.

À todo o pessoal do Laboratório: Camila, Cássia, Danilo, Douglas, Fábio, Kleber, Leice, Márcio, Patrícia, Pedro, Roberta, Ticiane.

Às pessoas do PMT que me ajudaram, técnicos do hall tecnológico, Vinicius, Danilo, alunos de pós-graduação, professores Brandi, Douglas, Helio, André, Tenório, Wang.

Ao Denis do semi-industrial pelos infinitos ensaios de DSC.

À professora Denise, professor Yoshio, professor Catalani, professor Jivaldo, Alliny e Aline do Instituto de Química da USP pelas dúvidas respondidas e ensaios.

Ao pessoal do Nanostar do Instituto de Física pelos ensaios SAXS (não é saxofone).

Ao Luiz e ao Guilhermino do Mackenzie pela ajuda nos ensaios.

À professora Maria do Carmo da Unicamp pelas valiosas contribuições.

À Suzana do CCE pelo grande apoio no meu Exame de Qualificação por *skype*.

À CAPES, ao CNPq e à FAPESP pelo apoio financeiro.

Às bactérias que sintetizam e às que consomem PHB. Sem elas, esse trabalho realmente não seria possível.

EFEITO DO TEMPO E DO RECOZIMENTO NAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E DE BIODEGRADAÇÃO DE MATERIAIS BASEADOS EM POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) (PHB)

Resumo	8
Abstract	9
Lista de Figuras	10
Lista de Tabelas	14
1. Introdução	15
2. Revisão bibliográfica	17
2.1. Poli(3-hidroxibutirato) (PHB)	17
2.1.1. Aspectos Gerais	17
2.1.2. Aplicações	18
2.1.3. Biodegradabilidade	19
2.1.4. Cristalização, envelhecimento e propriedades mecânicas	22
2.2. Otimização das propriedades mecânicas do PHB	35
2.2.1. Copolímeros	35
2.2.2. Blendas	36
2.2.3. Plastificantes	38
2.2.4. Tratamento Térmico - Recozimento	38
3. Objetivos	44
4. Materiais e Métodos	45
4.1. Materiais	45
4.2. Processamento	46
4.3. Preparação de amostras	48
4.4. Tratamento térmico – recozimento	48
4.5. Caracterização	50
4.5.1. DSC (Calorimetria Exploratória Diferencial)	50
4.5.2. SAXS (Espalhamento de raios-X de baixo ângulo)	51
4.5.3. Microscopia eletrônica de varredura	53
4.5.4. Microscopia óptica	53
4.5.5. Biodegradação	53
4.5.6. Ensaios Mecânicos	55
5. Resultados e Discussão	56
5.1. Caracterização Preliminar dos Materiais	56
5.2. Envelhecimento (aging)	62
5.2.1. DSC	62
5.2.2. SAXS	64
5.2.4. Discussão	71
5.3. Recozimento	72
5.3.1. Considerações iniciais	72
5.3.2. DSC	74
5.3.3. SAXS	75
5.3.4. Microscopia Óptica	77
5.3.5. Propriedades Mecânicas	79
5.3.6. Biodegradação	82
6. Conclusões	93
7. Referências Bibliográficas	96

Resumo

O polímero Poli(3-hidroxibutirato) - PHB - é sintetizado e consumido por microorganismos, o que o torna um material muito interessante e adequado aos problemas ambientais atuais. Porém, sua baixa tenacidade e estabilidade térmica são algumas das principais desvantagens em relação aos principais polímeros de engenharia. A mistura com polímeros modificadores de impacto ou a incorporação de aditivos como plastificantes são algumas das possibilidades para melhorar certas características desse polímero. Contudo, uma razão fundamental para a fragilidade marcante desse material é o processo de envelhecimento que ele sofre mesmo durante o armazenamento, caracterizado por mudanças na estrutura cristalina que diminuem a capacidade de dissipação de energia. Esse trabalho investigou esse fenômeno e seu efeito sobre o PHB puro, a blenda com o Poli(etileno-co-acrilato de metila-co-metacrilato de glicidila) -P(EMAGMA) - e o PHB com o plastificante trietilenoglicol bis(2-etil-hexanoato) -TEG(EH). A partir desse ponto, condições de recozimento foram definidas como tentativa de corrigir os problemas conseqüentes do envelhecimento. As amostras recozidas foram caracterizadas e comparadas com amostras envelhecidas, por meio de ensaios de calorimetria exploratória diferencial (DSC), espalhamento de raios-x de baixo ângulo (SAXS), propriedades mecânicas, técnicas de microscopia e biodegradação. Os resultados mostraram que as alterações na morfologia lamelar causadas pelo recozimento melhoram significativamente as propriedades mecânicas das composições testadas e ajudam a prevenir um novo envelhecimento. A composição PHB/Plastificante se mostrou menos susceptível a esse processo de fragilização. Alterações na biodegradabilidade dos materiais também foram observadas, considerando mudanças nas morfologias esferulítica e lamelar.

Palavras-chave: PHB; envelhecimento; recozimento; biodegradação

Abstract

High biodegradability makes Poly(3-hydroxybutyrate) - PHB - interesting from an environmental point of view. However, this material presents some properties below the required for a large-scale use, especially its low toughness. Blending with polymers with higher impact strength or incorporate additives such as plasticizers can be an alternative to enhance these properties. Even so, a fundamental reason for the remarkable brittleness of PHB is the intrinsic ageing phenomenon that this polymer undergoes through time even at room temperature, marked by changes in microstructure that ultimately restrict energy dissipation. In this work, this phenomenon was investigated for pure PHB, a blend PHB/Poly(ethylene-co-methyl acrylate-co- glycidyl methacrylate) - PEMAGMA - and PHB with plasticizer Tri(ethylene glycol) bis(2ethylhexanoate) - TEG(EH). As an attempt to overcome the drawbacks caused by ageing, annealing conditions were defined and the annealed samples were characterized and compared with aged ones, using differential scanning calorimetry (DSC), small angle x-ray scattering (SAXS), tensile testing, microscopy techniques and biodegradation. The results showed a significant improvement in mechanical properties and prevention of a possible re-aging. The composition PHB/Plasticizer proved to be less susceptible to ageing. Changes in the spherulitic and lamelar morphology have also affected the biodegradability of the samples.

Keywords: PHB; ageing; annealing; biodegradation

Lista de Figuras

Figura 1 – Fórmula química geral para os poli(3-hidroxialcanoatos) - PHA [26]17
Figura 2 – Requisitos de desempenho para embalagens. Adaptado de Hänggi [29]18
Figura 3 - Fotografia dos corpos de prova antes e depois da biodegradação por 60 dias em fossa séptica
[32]
Figura 4 - Microscopia eletrônica de varredura da amostra de PHBV após 35 dias de compostagem [38]21
Figura 5 - Modelo ideal de duas fases para um polímero semicristalino [39]22
Figura 6 - Representação esquemática da morfologia lamelar, perpendicular a lamela, e a densidade
eletrônica correspondente, de acordo com o modelo de pseudo-duas-fases: L = período longo, $\langle T_c \rangle_n$
= espessura lamelar, $\langle T_a \rangle_n$ = espessura amorfa, C = núcleo lamelar, A = núcleo amorfo, E =
camada de transição [23]. Tradução: <i>electron density</i> = densidade eletrônica23
Figura 7 - Espessura lamelar do PHB em função da temperatura de cristalização [41]. Tradução: lamellar
<i>thickness</i> = espessura lamelar; <i>temperature</i> = temperatura
Figura 8 - Espessura média cristalina e amorfa do PHB em diversas condições de cristalização em função
do período longo L, para comparar os valores obtidos pelo modelo ideal de duas fases (Δ) e pelo
modelo de pseudo-duas-fases (▲) [23]. Tradução: <i>crystalline</i> = cristalino; <i>amorphous</i> = amorfo26
Figura 9 - Modelo para as mudanças morfológicas que ocorrem durante a cristalização secundária e fusão
[47]. Tradução: liquid pocket = "bolso" líquido; secondary crystallization = cristalização
secundária; low endoterm = endoterma baixa/menor; primary/secondary lamellar stack =
empilhamento lamelar primário/secundário26
Figura 10 - Modelo de distribuição da MAF, RAF e regiões cristalinas para um filme de PHBV obtido
por cristalização após a fusão. (A região amarela é a fase amorfa, na qual a área dentro das linhas
pontilhadas é RAF e a área externa é MAF; As linhas azuis são lamelas cristalinas). Adaptado de
[11]. Tradução: crystalline lamella = lamela cristalina; melt-crystallization = cristalização do
fundido27
Figura 11 - (a) representação esquemática de um esferulito e suas lamelas; (b) esquema da cruz de malta
típica que pode ser vista em microscópio óptico [39]. Tradução: entangled interlamellar links =
ligações interlamelares emaranhadas; Branch points = pontos de ramificação28
Figura 12 - Imagem detalhada de um esferulito de PHB obtido no presente trabalho por cristalização
isotérmica a 100°C. Técnica: microscopia óptica com polarizadores cruzados29
Figura 13 - Comparação entre o tamanho de uma moeda e esferulitos de PHB obtidos no presente
trabalho por cristalização isotérmica a 100°C30
Figura 14 - Raio médio dos esferulitos de PHB vs. Temperatura de cristalização [41]. Tradução: average
spherulite radius = raio médio do esferulito; crystallization temperature = temperatura de
cristalização
Figura 15 - Taxa de crescimento dos esferulitos vs. Temperatura de cristalização [41]. Tradução:
spherulite growth rate = taxa de crescimento do esferulito; temperature = temperatura de
cristalização

Figure 16 Micrografia ántica com polorizadores cruzados de um filmo fino de PUR cristolizado e 130°C
sob deformação de 0,4% na direção vertical [54]
Figura 17 - Curvas tensão-deformação para o PHB anós diferentes períodos de armazenamento. Os
tampos da armazanamento, am dias, astão indicados nas curvas [22]. Tradução: strass - tansão:
$\frac{1}{24}$
$Strain = \text{destocamento} \qquad \qquad$
Figura 18 - Curvas tensao-deformação para o (a) P(SHB- <i>co</i> -3 moi % SHH) e (b) P(SHB- <i>co</i> -12 moi %
3HH), com o periodo de enveinecimento indicado em días nas curvas. Adaptado de [65]. Tradução:
stress = tensao; strain = deslocamento
Figura 19 - Reação química entre o ácido carboxílico presente nos poliesteres e o grupo epoxi. Adaptado
de [69]
Figura 20 – Curvas tensão-deformação para amostras de PHB recozidas por (a) 0 min, (b) 60 min a 95°C,
(c) 60 min a 115° C e (d) 30 min a 128° C [23]. Tradução: <i>stress</i> = tensão; <i>strain</i> = deslocamento39
Figura 21 – Micrografias de TEM para o PHB recozido a (a) 0 min e (b) 10 min a 147°C (escala =1000Å)
[23]
Figura 22 – Características morfológicas do PHB que foi recozido por diferentes tempos t_a a diferentes
temperaturas T_a de acordo com o modelo de pseudo-duas-fases: L = período longo, $\langle T_c \rangle_n$ =
espessura lamelar, $\langle T_a \rangle_n$ = espessura amorfa, C = núcleo lamelar, A = núcleo amorfo, E = camada
de transição. Desvio padrão = $\pm 3 \text{ Å} [23]$ 40
Figura 23 - Curvas tensão-deformação para amostras de PHB que foram (a) armazenadas por 150 dias, (b)
recozidas na sequência por 10 horas a 110°C, e (c) armazenadas novamente por 150 dias [22].
Tradução: <i>stress</i> = tensão; <i>strain</i> = deslocamento
Figura 24 - Ordenamento e efeito de suavização na interface cristalino-amorfo das lamelas de acordo com
a temperatura de recozimento (T _{an}) para um polímero semicristalino. Adaptado de [77]42
Figura 25 - Perfis obtidos dos padrões de SAXS. As figuras (a), (b) e (c) representam os perfis dos
monocristais cristalizados a 60, 80 e 100°C respectivamente. Cada seta indica um novo pico de
espalhamento [79]. Tradução: <i>temperature</i> = temperatura
Figura 26 - Estruturas químicas dos materiais utilizados no estudo
Figura 27 - Esquema usado no processamento do PHB com gotejamento de plastificante diretamente nas
roscas, controlado por uma bomba peristáltica47
Figura 28 - Curva obtida por DSC evidenciando toda a endoterma de fusão, para o PHB 3h45' após a
injeção
Figura 29 - Visão esquemática de um típico experimento de espalhamento [80]. Tradução: <i>source</i> = fonte;
<i>optics</i> = sistema óptico; <i>sample</i> = amostra; <i>detection</i> = sistema de detecção
Figura 30 - Esquema do respirômetro de Bartha [83-]
Figura 31 - Espectros no Infravermelho para o PEMAGMA, o PHB e a mistura PHB/PEMAGMA na
proporção 2:1 em peso (67/33%) [26, 88]
Figura 32 - Morfologia da blenda PHB/PEMAGMA por microscopia eletrônica de varredura (MEV) em
magnitudes de (a) 3500 vezes e (b) 8000 vezes
Figura 33 - Micrografias ópticas obtidas para o (a) PHB puro. (b) PHB/Plastificante e (c)
PHB/PEMAGMA

Figura 34 - Curvas típicas de DSC para os três materiais do estudo. O valor de cristalinidade apresentado
corresponde ao valor total
Figura 35 - Curvas típicas obtidas por SAXS para as três composições60
Figura 36 - Resultado do ensaio mecânico de tração para os materiais envelhecidos por 14 dias61
Figura 37 - Algumas das curvas de DSC usadas para avaliar o envelhecimento do PHB puro. A "idade"
das amostras está indicada sobre as curvas62
Figura 38 - Grau de cristalinidade em função do tempo de envelhecimento63
Figura 39 - Temperatura de fusão em função do tempo de envelhecimento
Figura 40 - Resultado de SAXS plotado para o PHB/PEMAGMA65
Figura 41 - Variação do período longo em função do tempo pós-processamento
Figura 42 - Variação da Intensidade obtida na curva de difração em função do tempo67
Figura 43 - Variação das espessuras lamelares e das regiões amorfas em função do tempo para as três
composições
Figura 44 - Mudança do comportamento mecânico da blenda PHB/PEMAGMA em função do tempo de
envelhecimento
Figura 45 - Alongamento na ruptura em função do tempo de envelhecimento70
Figura 46 - Módulo de Elasticidade em função do tempo de envelhecimento70
Figura 47 - Esquema morfológico para o PHB envelhecido. Adaptado de [77, 81]73
Figura 48 - Variação do grau de cristalinidade com os recozimentos a 110°C e a 125°C para a fração de
PHB presente em cada um dos três materiais testados74
Figura 49 - Endotermas de fusão para o PHB/Plastificante não-recozido e recozido em duas condições de
tempo e temperatura, indicadas em cada curva75
Figura 50 - Resultado de SAXS para o PHB/Plastificante em diversas condições de recozimento
Figura 51 - Variação do período longo (L), espessura lamelar e espessura interlamelar em função do
tempo e temperatura de recozimento para o PHB/PEMAGMA77
Figura 52 - Esferulito de PHB puro cristalizado a 85° C e (a) envelhecido, (b) aquecido a 110° C e (c)
aquecido a 125°C. Aumento de 50 vezes78
Figura 53 - Imagem das bandas dos esferulitos do PHB/Plastificante cristalizado a 85°C e (a) envelhecido
ou (b) recozido por 100 minutos a 110°C. Aumento de 200 vezes
Figura 54 - Microscopia óptica da blenda PHB/PEMAGMA cristalizada a 85°C e (a) envelhecida, (b)
recozida a 110°C por 100 min e (c) recozida a 125°C por 100 min. Aumento de 100 vezes
Figura 55 - Espectro dinâmico-mecânico das amostras envelhecidas e recozidas na condição extrema de
125°C por 1000 minutos
Figura 56 - Resultados do ensaio de tração para o PHB/Plastificante não recozido e após o recozimento 81
Figura 57 - Resultados do ensaio de tração para o PHB/PEMAGMA não recozido e após o recozimento81
Figura 58 - Micrografias por microscopia ótica das amostras dos (a), (b) esferulitos grandes; (c), (d)
esferulitos pequenos. As imagens (a), (b) e (c) foram feitas com aumento de 50x, e a imagem (d)
com aumento de 500x
Figura 59 - Emissão de CO ₂ por semana para as três amostras
Figura 60 - Emissão de CO ₂ "líquida", excluindo a contribuição da terra

Figura 61 - Emissão de CO_2 acumulada durante o período total do ensaio para as amostras recozidas (rec)
ou não-recozidas
Figura 62 - Emissão de CO2 "líquida", excluindo a contribuição da terra para as amostras recozidas (rec)
ou não-recozidas
Figura 63 - Imagem das manchas observadas na superfície do PHB puro após 7 dias de contato com o
composto usado nos ensaios de biodegradação88
Figura 64 - Morfologia após 60 dias de ensaio de biodegradação do: (a) PHB não-recozido, (b) PHB
recozido, (c) PHB/Plastificante não recozido e (d) PHB/Plastificante recozido. O recozimento a
125°C por 1000 minutos. Aumento de 3500 vezes
Figura 65 - Região com degradação avançada da superfície do PHB puro recozido. Aumento de 3500
vezes
Figura 66 - Detalhe de um esferulito do PHB/Plastificante não-recozido após biodegradação90
Figura 67 - Morfologia da blenda PHB/PEMAGMA após 60 dias de ensaio de biodegradação para
amostra: (a) não-recozida, (b) recozida a 125°C por 1000 minutos. Aumento de 1000 vezes92

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Composições utilizadas no estudo	.46
Tabela 2 – Parâmetros de controle da extrusora	.47
Tabela 3 - condições de recozimento das amostras	.49
Tabela 4 – Propriedades obtidas nos ensaios de DSC, SAXS e propriedades mecânicas	.61
Tabela 5 - Características principais das amostras com dimensões esferulíticas diferentes	83

1. Introdução

O acúmulo de lixo é um dos principais problemas da crise ambiental atual. O destaque dado ao tema colocou os plásticos como vilões, pois são muito usados em aplicações de descarte rápido, como embalagens. Além disso, a maioria dos plásticos é produzida a partir do petróleo, uma fonte não-renovável de matéria-prima. Uma alternativa seria a reciclagem, mas esta ainda é cara, pouco eficiente e dificultada pelos novos materiais compósitos e aditivados. Apesar dessas questões, a versatilidade de aplicações e o baixo custo de produção sempre estarão a favor dos plásticos [1, 2, 3]. Nesse cenário surge o interesse em uma classe de materiais que vem sendo cada vez mais estudada, os chamados biopolímeros. Esses materiais são sintetizados a partir de fontes de matéria-prima renováveis como produtos de agricultura. O Poli(3hidroxibutirato) - PHB, por exemplo, é um polímero gerado por microorganismos através do consumo de sacarose da cana-de-açúcar, e apresenta alta taxa de biodegradação. Com isso o uso desse material representaria uma saída para os dois problemas anteriores, de utilização de fontes renováveis e do descarte e acúmulo de material. A biodegradação nesse caso seria uma reciclagem natural, e fecharia o ciclo do carbono [1].

A problemática passa a ser então a competitividade dos biopolímeros com os principais polímeros sintéticos. A primeira desvantagem é o custo. Depois vêm algumas deficiências técnicas. Objeto de estudo deste projeto, o PHB apresenta algumas propriedades inferiores ao necessário para uma utilização em larga escala. As mais marcantes são: sua baixa tenacidade devido a algumas características microestruturais que serão discutidas adiante; e a baixa estabilidade térmica, pois degrada em poucos graus acima da temperatura de fusão.

Existem diversas tentativas de melhorar as propriedades do PHB, como a produção de blendas com outros polímeros e incorporação de aditivos [4-9], ou a modificação química com a fabricação de copolímeros [10-14]. Entretanto nesse último caso o custo pode crescer ainda mais. Outra alternativa é a adição de argila nanométrica para produção de nanocompósitos, mas não há registro de melhora significativa na tenacidade [15-20].

É importante destacar que, independente do tipo de adição como tentativa de diminuir a fragilidade do PHB, não há garantia de que esse material não passará por um processo intrínseco desse polímero, e que é um dos grandes responsáveis pela baixa tenacidade: o envelhecimento. Mesmo durante o armazenamento a temperatura

ambiente o PHB se torna cada vez mais frágil, se comparado ao seu estado recémprocessado (injeção, por exemplo). Esse fenômeno pode durar dias, e ocorre devido a mudanças microestruturais.

O intuito desse projeto foi estudar o envelhecimento do PHB puro, de uma blenda como o Poli(etileno-*co*-acrilato de metila-*co*-metacrilato de glicidila) P(EMAGMA), e do PHB contendo o plastificante trietilenoglicol bis(2-etil-hexanoato) - TEG(EH). A caracterização do envelhecimento só é conhecida para o PHB puro, e ainda assim foi feita por poucos pesquisadores [21-23]. Este trabalho avaliou como o fenômeno acontece na presença de outro polímero ou de plastificante. Foram testadas condições de recozimento adequadas para tentar contornar a fragilização progressiva do PHB. Dessa maneira a meta foi chegar a um tratamento térmico que otimiza a microestrutura de tal forma que melhora as propriedades mecânicas e ao mesmo tempo diminui o efeito de um possível envelhecimento posterior. Foi avaliado também o tipo de microestrutura que favorece uma biodegradação mais rápida dos materiais.

2. Revisão bibliográfica

2.1. Poli(3-hidroxibutirato) (PHB)

2.1.1. Aspectos Gerais

O Poli(3-hidroxibutirato), PHB, é um produto natural de armazenamento de algumas bactérias e algas, pertencente a família dos Poli(3-hidroxialcanoatos), PHA, como mostra a Figura 1. Diferentemente de outros polímeros biológicos como proteínas e polissacarídeos, o PHB é um termoplástico com alto grau de cristalinidade e um ponto de fusão bem definido em torno de 180°C [24]. O Polímero foi isolado e caracterizado pela primeira vez por Lemoigne em 1925 no Instituto Pasteur em Paris [25].



Figura 1 – Fórmula química geral para os poli(3-hidroxialcanoatos) - PHA [26]

A versão mais simples para justificar o acúmulo de PHB por microorganismos é a de que ele age como uma reserva de carbono e energia, de maneira análoga ao papel do glicogênio para as plantas e da gordura para os animais. A quantidade de PHB em uma célula pode ser aumentada drasticamente, de uma fração baixa para até 80% do peso seco da célula, se um nutriente essencial como nitrogênio, oxigênio, fósforo ou enxofre for limitado. Sob essas condições, a célula, desprovida dos meios para crescer e multiplicar, coloca toda sua energia na produção de PHB para que, no caso de um restabelecimento dos nutrientes, ela tenha acesso imediato a uma fonte de carbono que pode ser usada para garantir que o crescimento recomece o mais rápido possível. Assim, não é de se surpreender que vários tipos de microorganismos produzam enzimas capazes de despolimerizar poliésteres alifáticos [24].

2.1.2. Aplicações

A família dos poli(hidroxialcanoatos) à qual pertence o PHB apresenta características interessantes que potencializam aplicações. A principal delas é a biodegradabilidade que será mais bem discutida no tópico a seguir. Essa característica faz com que esses materiais sejam ideais para aliviar o impacto ambiental dos polímeros não-biodegradáveis, especialmente em aplicações de descarte rápido, como embalagens, filmes para aplicações em agricultura, materiais biomédicos, sacolas plásticas, etc. Os PHA ficam entre os extremos da resistência a biodegradação das poliolefinas sintéticas que possuem alta processabilidade, e a baixa resistência a biodegradação de compostos naturais como celulose e amido, que no entanto são hidrofílicos, molháveis e incháveis [27]. O PHB é um termoplástico, resistente a água, biodegradável e pode ser processado nos mesmos equipamentos usados por exemplo para o polipropileno (PP) [28]. Há uma clara demanda por produtos resistentes a água e biodegradáveis. Um terço dos produtos plásticos que aparecem no lixo urbano são possíveis candidatos para o PHB. No entanto, para que haja um sucesso comercial desse tipo de material, vários requisitos devem ser preenchidos, tais como: demanda de mercado, infraestrutura de compostagem, desempenho do material, preço, etc. [29]. No caso de embalagens, por exemplo, alguns requisitos de desempenho são mostrados na Figura 2. O desempenho mecânico é um dos maiores empecilhos para uma maior utilização industrial desse material.

Plásticos convencionais

🗆 tenaz

- resistente ao impacto
- flexível
- resiliente
- resistente à gordura
- resistente ao calor
- resistente à água

PHB

} frágil

permeável à gordura
resistente ao calor
resistente à água

Figura 2 - Requisitos de desempenho para embalagens. Adaptado de Hänggi [29]

Quanto ao custo, este pode ser reduzido, especialmente em países com baixo preço do açúcar. Existe a possibilidade de utilizar restos de alimento como fonte de carbono para produzir PHAs, reduzindo assim o custo. Entretanto, o procedimento é ainda restrito ao laboratório [27]. Será muito difícil competir em custo com as poliolefinas tradicionais, por isso deve-se considerar o PHB como um novo produto com novas propriedades, e não como um substituto dos plásticos convencionais.

2.1.3. Biodegradabilidade

O consumo de polímeros biodegradáveis cresceu de 14 mil toneladas em 1996 para 300 mil em 2009, e espera-se que atinja aproximadamente 1,5 milhões de toneladas em 2011[30]. Esse tipo de material é uma atrativa alternativa à maioria dos polímeros sintéticos produzidos atualmente, pois pode aliviar o problema de descarte e acúmulo de polímeros [31]. Dependendo das condições do meio, espessura da amostra, etc., o PHB pode se decompor em curtos períodos de tempo, principalmente se comparado aos plásticos convencionais que podem demorar centenas de anos para se decompor. A Figura 3 mostra a imagem de pequenas placas de PHB relativamente grossas com 1,2 mm de espessura antes e depois da biodegradação por 60 dias em uma fossa séptica, meio rico em microorganismos [32].



Figura 3 - Fotografia dos corpos de prova antes e depois da biodegradação por 60 dias em fossa séptica [32]

Considera-se biodegradável qualquer material que pode ser decomposto por microorganismos e não causar efeitos nocivos ao ambiente. Existem tanto polímeros biodegradáveis sintéticos quanto naturais. O que determina a capacidade de um polímero ser biodegradável é sua estrutura química. Poliolefinas como o polietileno e o polipropileno não possuem essa propriedade porque são formados por ligações carbono-

carbono que apresentam alta estabilidade. Já estruturas com heteroátomos, como o oxigênio, são susceptíveis a hidrólise, como no caso dos diversos poliésteres biodegradáveis.

A biodegradação é um fenômeno natural complexo e difícil de ser reproduzido em laboratório devido ao grande número de parâmetros envolvidos. Entretanto, mesmo testes simplificados são necessários para estimar o impacto ambiental dos materiais industriais [33]. A ocorrência do fenômeno depende da presença de microorganismos como bactérias que utilizam matéria orgânica como alguns polímeros como fonte de energia [31, 26].

Os fatores que influenciam a taxa de ataque microbiológico em um polímero são variados. Eles incluem parâmetros do material como composição química do polímero, peso molecular, grau de cristalinidade e nível de orientação, e fatores relacionados ao crescimento microbiótico. O último grupo inclui como pré-requisito a presença de água em contato com o polímero, fatores como pH, temperatura, presença ou ausência de oxigênio, e disponibilidade de outros nutrientes essenciais para o crescimento [24]. O grau de cristalinidade do polímero, por exemplo, influe diretamente na taxa de biodegradação. Alguns trabalhos já comprovaram que uma diminuição do grau de cristalinidade aumenta a taxa de biodegradação [15, 34, 35]. Amostras com maior área superficial como pós irão biodegradar mais rapidamente do que filmes, por exemplo, pelo menos nos estágios iniciais do processo de biodegradação [36].

São diversas as etapas para a biodegradação total de um polímero. A primeira delas é a biodeterioração, que corresponde a uma deterioração resultante da atividade de microorganismos crescendo na superfície ou no interior do material. Depois vêm a biofragmentação, na qual os microorganismos secretam enzimas que catalisam a quebra das cadeias poliméricas em cadeias menores. Os principais mecanismos desse tipo de fragmentação são a oxidação e a hidrólise enzimática. As cadeias mais curtas conseguem então passar através das membranas celulares e ser realmente consumidas pelos microorganismos. Essa é a última etapa chamada de assimilação ou mineralização, quando a biomassa é transformada em gases [1, 33]. A biodegradação pode acontecer em condições aeróbias (na presença de oxigênio) ou anaeróbias, segundo as seguintes reações [26]:

(condições aeróbias)

 $C_{polimero} + O_2 \rightarrow CO_2 + H_2O + C_{residuo}$

(condições anaeróbias)

$C_{polimero} \rightarrow CO_2 + CH_4 + H_2O + C_{residuo}$

Portanto a única prova de que um polímero é realmente consumido por microorganismos é a liberação de gás carbônico [33]. As etapas anteriores de fragmentação servem apenas para tornar o polímero mais suscetível ao consumo pelas bactérias. Existem hoje no mercado polímeros sintéticos contendo pró-oxidantes que são vendidos como oxibiodegradáveis, mas cujo processo de fragmentação depende muito de uma degradação prévia como a exposição à radiação UV. E mesmo após uma fragmentação, esta pode não ser suficiente para viabilizar a assimilação por microorganismos [37]. Maiores detalhes sobre teoria de biodegradação podem ser encontrados em Stevens [1] e Lucas *et al.* [33]

Os ensaios mais utilizados para avaliar a biodegradação de polímeros consistem em simular ambientes de descarte como um determinado tipo de solo, água do mar, esgoto, etc [32]. Os parâmetros mais utilizados são a perda de massa e a quantidade de CO₂ liberada – mais informações na seção "Materiais e Métodos". A observação visual das amostras durante a biodegradação também é importante para entender o fenômeno. A Figura 4 mostra uma imagem de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície de um filme de Poli(hidroxibutirato-*co*-valerato) (PHBV) após 35 dias de compostagem. É possível notar que a biodegradação ocorre com erosão da superfície para o interior [38].



Figura 4 - Microscopia eletrônica de varredura da amostra de PHBV após 35 dias de compostagem [38]

Sob condições ótimas a taxa de degradação enzimática do PHB é extremamente alta. Por exemplo, se um tanque de fermentação com a espécie de bactérias *Alcaligenes eutrophus* tem limitação de fósforo e uma pequena quantidade de ácido fosfórico é introduzida no final da fase de acúmulo de PHB, a quantidade de polímero nas células cai de 60-70% do peso seco da célula para 10-15% dentro de poucas horas. Em ensaios feitos com solo e adubo, pesquisadores observaram a degradação quase total de PHB em poucos meses [15, 34].

2.1.4. Cristalização, envelhecimento e propriedades mecânicas

O PHB apresenta uma estrutura semicristalina típica. Durante o resfriamento do material fundido, por exemplo, as cadeias poliméricas começam a se organizar de tal maneira que formam as lamelas cristalinas, chamadas cristalitos. A microestrutura é complexa, pois as lamelas cristalinas são separadas entre si por regiões amorfas. A Figura 5 mostra o modelo morfológico mais simples; o de duas fases, onde se pode admitir que há uma alternância entre as lamelas cristalinas de espessura l_c e regiões amorfas de espessura l_a . A periodicidade é definida pelo chamado período longo $L=l_c+l_a$. A taxa de cristalinidade é dada, em volume, por $x_c=l_c/L$. As lamelas cristalinas se conectam através da fase amorfa por fragmentos de moléculas, chamadas moléculas de ligação. As moléculas entram no cristal e então formam os dobramentos [39, 40].



Figura 5 - Modelo ideal de duas fases para um polímero semicristalino [39]

A densidade eletrônica varia nas regiões amorfas e cristalinas, como ilustrado na Figura 6 por um outro modelo morfológico, o de pseudo-duas-fases, que considera núcleos cristalinos, amorfos, e regiões de transição. Essa variação permite a obtenção do valor do período longo por difração de raios-X: O perfil de espalhamento é obtido geralmente na forma de uma curva de intensidade (I) em função do vetor de espalhamento (q); O período longo médio (L) pode ser então calculado pela posição do pico de máximo, usando a Lei de Bragg, pela relação [11]:

$$L=rac{2\pi}{q_{ ext{max}}}$$

Mais detalhes sobre a técnica estão na seção Materiais e Métodos do presente trabalho.



Figura 6 - Representação esquemática da morfologia lamelar, perpendicular a lamela, e a densidade eletrônica correspondente, de acordo com o modelo de pseudo-duas-fases: L = período longo, $\langle T_c \rangle_n$ = espessura lamelar, $\langle T_a \rangle_n$ = espessura amorfa, C = núcleo lamelar, A = núcleo amorfo, E = camada de transição [23]. Tradução: *electron density* = densidade eletrônica

Os valores de período longo e espessura lamelar do PHB são pequenos em relação a outros polímeros. Já foram observados, de acordo com as condições de cristalização, valores de cerca de 7 nanômetros para o período longo, por exemplo [23, 41]. Esses valores são muito pequenos com relação aos do Polipropileno (PP), por

exemplo, que podem atingir de 20 a 30 nanômetros [42]. O PP é o termoplástico comercial geralmente comparado com o PHB, pois apresenta propriedades similares como ponto de fusão e resistência mecânica [28, 43, 44]. Porém, sua ductilidade e facilidade no processamento são muito superiores, o que pode estar relacionado com essas diferenças microestruturais.

A espessura lamelar do PHB pode variar de acordo com a temperatura de cristalização, como mostra a Figura 7 [41]. Se houver um aumento do período longo e também um aumento da temperatura de fusão, pode-se concluir que houve um aumento da espessura da lamela cristalina e não da região amorfa [11].



Figura 7 - Espessura lamelar do PHB em função da temperatura de cristalização [41]. Tradução: *lamellar thickness* = espessura lamelar; *temperature* = temperatura

O cálculo dos valores dos parâmetros separados como a espessura da lamela ou a espessura da região amorfa depende do modelo morfológico utilizado. Considerando o modelo simples de duas fases (Figura 5), o cálculo de l_c e l_a pode ser feito de maneira simples, utilizando algum valor de cristalinidade total (fornecido por DSC¹, DRX², densidade, etc.) e o valor do período longo (fornecido por SAXS³). Este método será explicado em Materiais e Métodos.

A utilização de funções de correlação é outro método para se obter as espessuras lamelares. Estas funções fornecem duas espessuras das fases constituintes (cristalina e

¹ Do inglês Differential Scanning Calorimetry

² Difração de Raios-X

³ Do inglês Small-angle X-ray Scattering

amorfa) da morfologia lamelar. No entanto, a análise não pode determinar qual espessura representa qual fase. Quando a cristalinidade é alta assume-se o maior valor de espessura como sendo o da lamela cristalina. Mas quando a cristalinidade é relativamente baixa, uma corrente de pesquisadores atribui o menor valor de espessura obtido pelos cálculos como sendo referente à lamela cristalina. A razão para isso é que o produto do período longo pelo grau de cristalinidade (por DSC ou DRX) se aproxima do valor de menor espessura. Contudo, isso implica que a morfologia resultante consiste de um espaço completamente preenchido por empilhamentos lamelares. Outra corrente de pesquisadores acredita que o valor maior de espessura obtido corresponde na verdade à lamela cristalina, pois se acredita que uma fração significativa de material fora dos empilhamentos lamelares permanece em um estado não cristalino. Essa abordagem foi reforçada pelos experimentos de Wang et al. [45]. Plivelic et al. [46] distinguiram as duas espessuras fornecidas pela função de correlação comparando o grau de cristalinidade total com o grau de cristalinidade linear dos empilhamentos lamelares $\chi =$ l_c/L , onde l_c pode ser l_1 ou l_2 , fornecidos pela função. Assim, se uma das razões l_i/L (i =1, 2) for maior e a outra menor que o grau de cristalinidade total, é possível inferir qual corresponde à lamela cristalina. χ será sempre maior ou igual ao grau de cristalinidade total, já que a morfologia não é necessariamente composta somente por lamelas.

As funções devem então ser interpretadas com um modelo morfológico adequado, com o auxílio dos resultados de outros experimentos. Diversos modelos já foram propostos. O de pseudo-duas-fases, mostrado na Figura 6, considera outros parâmetros, como uma região de transição entre o "núcleo" amorfo e o cristalino. Entretanto, uma comparação dos valores de espessura cristalina e amorfa, realizada por De Koning *et al.* [23], mostrou resultados iguais tanto para o modelo de pseudo-duas-fases com funções de correlação, quanto para o simples cálculo baseado no período longo e na cristalinidade, do modelo ideal de duas fases (Figura 8).



Figura 8 - Espessura média cristalina e amorfa do PHB em diversas condições de cristalização em função do período longo L, para comparar os valores obtidos pelo modelo ideal de duas fases (Δ) e pelo modelo de pseudo-duas-fases (Δ) [23]. Tradução: *crystalline* = cristalino; *amorphous* = amorfo

Verma *et al.* [47] propuseram um modelo lamelar de duas fases para polímeros semicristalinos. Nele, os "empilhamentos" lamelares primários se formam antes e são compostos de lamelas cristalinas mais espessas em relação às lamelas secundárias. Durante a fusão as lamelas secundárias fundem primeiro. A Figura 9 mostra um esquema desse modelo morfológico [48].



Figura 9 - Modelo para as mudanças morfológicas que ocorrem durante a cristalização secundária e fusão [47]. Tradução: *liquid pocket* = "bolso" líquido; *secondary crystallization* = cristalização secundária; *low endoterm* = endoterma baixa/menor; *primary/secondary lamellar stack* = empilhamento lamelar primário/secundário

Com relação à fase amorfa, alguns autores a dividem em duas: a fração amorfa móvel (chamada de MAF⁴) e a fração amorfa rígida (chamada de RAF⁵) [11, 49, 50]. A RAF corresponde a fração amorfa com menor mobilidade entre as lamelas, que se vitrifica com a formação dos cristais, e é de grande importância para as propriedades mecânicas finais do material [50]. A Figura 10 ilustra esse modelo usado para o copolímero PHBV.



Figura 10 - Modelo de distribuição da MAF, RAF e regiões cristalinas para um filme de PHBV obtido por cristalização após a fusão. (A região amarela é a fase amorfa, na qual a área dentro das linhas pontilhadas é RAF e a área externa é MAF; As linhas azuis são lamelas cristalinas). Adaptado de [11]. Tradução: *crystalline lamella* = lamela cristalina; *melt-crystallization* = cristalização do fundido

Os ensaios de SAXS irão portanto trazer informações sobre a morfologia lamelar, composta por lamelas cristalinas e por uma região amorfa interlamelar. Vale lembrar que uma fração de material amorfo pode encontrar-se fora dos empilhamentos lamelares. Contudo, em polímeros com alta cristalinidade como o PHB, a utilização do modelo ideal é uma boa aproximação.

⁴ MAF – do inglês Mobile amorphous fraction

⁵ RAF – do inglês Rigid amorphous fraction

Esferulitos, nucleação e crescimento

As lamelas cristalinas surgem a partir de um ponto de nucleação a partir do qual vão crescendo radialmente. A estrutura tridimensional resultante é chamada de esferulito. A Figura 11(a) ilustra essa estrutura mostrando a organização das lamelas. O padrão "cruz de malta" característico (Figura 11(b)) aparece na imagem dos esferulitos em microscópio óptico quando visto entre dois polarizadores cruzados, evidenciando a birrefringência do material. A Figura 12 mostra uma imagem de um esferulito de PHB obtida em microscópio óptico. O esferulito é formado por bandas que circundam o núcleo. O espaçamento entre bandas também pode ser medido por difração de raios-x, além da simples observação das micrografias [12]. Mais detalhes sobre a morfologia esferulítica podem ser encontrados em Basset [40], Barham [51] e Fraschini [52].



Figura 11 - (a) representação esquemática de um esferulito e suas lamelas; (b) esquema da cruz de malta típica que pode ser vista em microscópio óptico [39]. Tradução: *entangled interlamellar links* = ligações interlamelares emaranhadas; *Branch points* = pontos de ramificação



Figura 12 - Imagem detalhada de um esferulito de PHB obtido no presente trabalho por cristalização isotérmica a 100°C. Técnica: microscopia óptica com polarizadores cruzados

Devido a sua origem biológica e o extensivo processo de purificação usado para separá-lo dos fragmentos de células, o PHB é isotático e possui poucos resíduos ou impurezas que poderiam agir como centros de nucleação heterogênea. Como resultado é muito fácil obter amostras de PHB com baixa densidade de nucleação e formar assim esferulitos muito grandes durante o resfriamento ou durante uma cristalização isotérmica (Figura 12). Com o devido cuidado, esferulitos de vários milímetros de diâmetro podem aparecer, e ser vistos a olho nu, como mostra a Figura 13. Isso faz do PHB um material ideal para a investigação da morfologia do esferulito, da cristalização e da nucleação [24, 53, 54]. A desvantagem é a extrema fragilidade da estrutura. Um material com esferulitos grandes, com o mesmo grau de cristalinidade, é mais frágil do que um material com esferulitos pequenos [4, 24].



Figura 13 - Comparação entre o tamanho de uma moeda e esferulitos de PHB obtidos no presente trabalho por cristalização isotérmica a 100°C.

O tamanho dos esferulitos depende da relação entre nucleação e crescimento, que pode ser alterada pela temperatura de cristalização. Barham *et al.* [41] realizaram um amplo estudo de caracterização da morfologia semicristalina do PHB. A Figura 14 mostra o raio médio dos esferulitos em função temperatura de cristalização. Uma cristalização isotérmica a 100°C, por exemplo, pode gerar esferulitos de milímetros de diâmetro (Figura 12 e Figura 13).



Figura 14 - Raio médio dos esferulitos de PHB vs. Temperatura de cristalização [41]. Tradução: *average spherulite radius* = raio médio do esferulito; *crystallization temperature* = temperatura de cristalização

A taxa de cristalização depende tanto da taxa de nucleação quanto da taxa de crescimento dos esferulitos. Esta última é ilustrada na Figura 15 em função da temperatura de cristalização. Em temperaturas baixas, a taxa de crescimento é baixa enquanto a de nucleação é alta. A taxa de crescimento sobe até cerca de 80°C e depois começa a diminuir novamente. A partir de aproximadamente 130°C, a taxa de crescimento e de nucleação são muito baixas e a cristalização é quase desprezível [23, 55]. Para que esse processo ocorra mais rapidamente, é necessário achar um ponto ótimo entre as velocidades de nucleação e crescimento a fim de encontrar a maior taxa de cristalização.



Figura 15 - Taxa de crescimento dos esferulitos vs. Temperatura de cristalização [41]. Tradução: *spherulite growth rate* = taxa de crescimento do esferulito; *temperature* = temperatura de cristalização

A nucleação pode ser homogênea a partir da formação natural de cristais do próprio material a partir do fundido. Esse tipo de mecanismo é lento para o PHB. Já a nucleação heterogênea consiste na formação de cristais a partir de núcleos já presentes no material. Esses núcleos podem ser cristais do próprio material, como no *self-seeding*, que é um método no qual o polímero é aquecido a poucos graus acima de sua temperatura de fusão por pouco tempo e depois resfriado, sem que haja fusão completa. Esse procedimento em geral aumenta a densidade de núcleos durante a cristalização,

pois o próprio material possui sítios nucleantes [53, 56]. Outra maneira de facilitar a nucleação heterogênea é a incorporação de agentes nucleantes. No entanto, os agentes nucleantes precisam ser compatíveis para cada material, e essa compatibilidade não é sempre atingida. Na maioria dos casos, os agentes nucleantes incorporados agem apenas de maneira a estabilizar a nucleação por *self-seeding*. Dessa maneira, se as partículas forem adicionadas diretamente no fundido não terão efeito nucleante propriamente dito. Somente quando o PHB cristalizar ao redor das partículas é que essas agirão como agentes nucleantes em uma nova fusão e recristalização, como em uma espécie de *self-seeding* mais homogêneo. Segundo Barham [53], o limite para que partículas de talco atuem como núcleos corresponde a um superaquecimento acima da fusão de 20°C.

Além do talco (silicato de magnésio), diversos outros agentes nucleantes já foram utilizados para o PHB e alguns copolímeros, como nitrato de boro, benzoato de sódio, argila nanométrica, complexos de inclusão, etc. [22, 57, 58, 59]. Uma adição de apenas 0,01% em massa de um agente como nanoplaquetas de carbono, por exemplo, pode aumentar significativamente a taxa de nucleação [60]. Mesmo em blendas com matriz PHB, a fase dispersa pode aumentar a taxa de nucleação com uma conseqüente diminuição da taxa de crescimento dos esferulitos. Adicionar outro polímero seria como adicionar impurezas [13, 61, 62]. Contudo, a adição de alguns agentes nucleantes pode ser levar a efeitos adversos, como diminuir a estabilidade térmica [57].

Propriedades mecânicas e envelhecimento

As características que mais restringem as aplicações do PHB são sua baixa tenacidade e comportamento frágil. Comparado muitas vezes com o PP, a grande diferença se dá em propriedades como a resistência ao impacto e o alongamento na ruptura [28].

Algumas hipóteses já foram levantadas para justificar a marcante fragilidade do PHB. Grassie *et al.* [63] observaram uma alta susceptibilidade do PHB a degradação térmica, o que pode deteriorar as propriedades mecânicas. Já Barham e Keller [54] concluíram que a fragilidade do PHB é causada por trincas dentro dos esferulitos que surgem quando o polímero é cristalizado do estado fundido. Quando o material é tensionado as trincas crescem e se juntam, levando a fratura frágil. Essas trincas, que podem ser radiais ou circunferenciais, dependendo da temperatura de cristalização, se formam sob condições em que não há uma tensão externa aplicada. As trincas se propagam radialmente em esferulitos cristalizados em temperaturas abaixo de 120°C e circularmente naqueles cristalizados em temperaturas mais altas. Em esferulitos com apenas trincas circunferenciais (cristalizados a 130°C), porém, a parte interna não possui trincas até cerca de 35 μ m de raio, como mostrado pela Figura 16. Isso sugere que uma possível forma de evitar a formação de trincas nos esferulitos e atingir um comportamento dúctil seria cristalizar o polímero em uma temperatura mais alta, por exemplo 130°C, para evitar os defeitos radiais e garantir uma alta taxa de nucleação para que nenhum dos esferulitos atinja o diâmetro crítico para a formação de trincas circulares. Com um aumento da taxa de nucleação obtido por self-seeding, os autores obtiveram filmes de PHB com um alongamento na ruptura de 40%, o que é excepcionalmente alto para o PHB [24, 54].



Figura 16 - Micrografia óptica com polarizadores cruzados de um filme fino de PHB cristalizado a 130°C sob deformação de 0,4% na direção vertical [54]

Porém, existem também outras razões para a fragilidade do PHB. Um estudo realizado por De Koning e Lemstra [22] mostrou que durante o armazenamento as propriedades mecânicas de corpos-de-prova de PHB se deterioram drasticamente, como mostra a Figura 17 [21-23].



Figura 17 - Curvas tensão-deformação para o PHB após diferentes períodos de armazenamento. Os tempos de armazenamento, em dias, estão indicados nas curvas [22]. Tradução: *stress* = tensão; *strain* = deslocamento

Com estudos de DSC e densidade observou-se um aumento de cristalinidade ao longo do tempo de 55 para 61% e concluíram que essa cristalização secundária era responsável pelo efeito de fragilização [22]. Mais tarde, os mesmos pesquisadores observaram que esta cristalização secundária correspondia a um processo de aperfeiçoamento dos cristais, que ocorre na interface cristalino-amorfo. Os pesquisadores concluíram que a ocorrência desse fenômeno restringe bastante a movimentação da fase amorfa, que fica incapaz de dissipar energia por fluxo viscoso e assim o material se torna frágil [23, 64].

Uma característica marcante dos cristais de PHB são os baixos valores - não usuais - de espessura lamelar. Nas menores temperaturas de cristalização a partir da fusão, a espessura é cerca de 5 a 6 nanômetros, enquanto por solução é perto de 4nm. Outros polímeros também conseguem formar lamelas finas, mas sempre com uma queda significativa de cristalinidade. Já o PHB apresenta cristalinidade similar em qualquer condição de super-resfriamento, e daí pode-se inferir que há pouco espaço para "folga" na estrutura conformada [41]. Com a morfologia fina, também há uma maior quantidade de interface cristalino-amorfo, e qualquer processo que ocorra nessa interface, como o aperfeiçoamento (envelhecimento), será muito mais drástico para o PHB [23, 65]. O processo de envelhecimento do PHB virgem é análogo ao do PHB moldado, o que leva a crer que se trata de uma característica intrínseca do material, não relacionada com diferentes componentes de orientação [21].

2.2. Otimização das propriedades mecânicas do PHB

2.2.1. Copolímeros

A fabricação de copolímeros com o PHB, por meio de certos aditivos no meio de crescimento das bactérias é uma alternativa para se obter materiais com mais tenacidade [10-14]. O mais utilizado até agora é o PHBV⁶, que traz melhoras consideráveis em relação ao PHB, principalmente no caso do copolímero em bloco [10, 14].

Alata *et al.* [65] mostraram que mesmo em copolímeros como o Poli(3hidroxibutirato-*co*-3-hidroxihexanoato) – P(3HB-*co*-3HH) (ver Figura 1) - com diversos teores de 3HH, o envelhecimento ainda é marcante principalmente para as composições com menor teor de copolimerização. O alongamento na ruptura diminui, enquanto o módulo e a resistência máxima aumentam. Para as composições com maior teor de HH, o efeito do envelhecimento é menor: Considerando que a incorporação de unidades nãocristalizáveis de 3HH leva a um decréscimo na espessura lamelar, o aumento no período longo observado com o aumento do teor de HH significa que houve aumento da espessura amorfa interlamelar. Dessa maneira, quanto mais copolimerização, menos drástico será o envelhecimento. A Figura 18 compara o desempenho mecânico dos copolímeros com diferentes teores de copolimerização [65].

⁶ Poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato)



Figura 18 - Curvas tensão-deformação para o (a) P(3HB-*co*-5 mol % 3HH) e (b) P(3HB-*co*-12 mol % 3HH), com o período de envelhecimento indicado em dias nas curvas. Adaptado de [65]. Tradução: *stress* = tensão; *strain* = deslocamento

Apesar da possibilidade de melhora nas propriedades mecânicas, a produção de copolímeros aumenta os custos de produção, pois os aditivos necessários são caros e possuem toxicidade que diminuem a taxa de produção em relação ao homopolímero. Além disso, o comonômero afeta a cinética de cristalização, gerando tempos mais longos para o ciclo de processamento [23, 24].

2.2.2. Blendas

Uma mistura de dois polímeros com propriedades desejáveis é muitas vezes uma maneira mais prática e eficiente de se obter um novo produto que combine essas propriedades. É lógico inferir portanto que a fabricação de uma blenda de matriz PHB precisa de um polímero que possa fornecer a ductilidade e tenacidade. Materiais de caráter elastomérico como a borracha EPDM⁷ e o PVB⁸ já foram utilizados com esse propósito, mas a melhora de propriedades mecânicas atingida em geral é baixa [34, 43, 66]. Mesmo quando o PHB é empregado como a fase dispersa, seu efeito pode ser extremamente deletério à ductilidade do polímero se não houver miscibilidade ou compatibilidade entre eles [26].

Uma blenda entre dois ou mais polímeros pode ser miscível ou imiscível. O último caso é mais comum pois geralmente se misturam polímeros de características

⁷ Borracha de Etileno-Propileno-Dieno, sigla do inglês: Ethylene propylene diene monomer rubber

⁸ Polivinil butiral
diferentes almejando desempenho superior. A imiscibilidade é até desejada pois permite maior controle da morfologia e conseqüentemente do desempenho. As blendas imiscíveis precisam então ser compatibilizadas, e um dos métodos para isso é a compatibilização reativa. Poliésteres como o PHB possuem o grupo carboxila que reage com o grupo epóxi presente no metacrilato de glicidila por exemplo. A reação é apresentada Figura 19 e pode gerar cadeias grafitizadas na interface entre os polímeros, e assim melhorar a adesão e propriedades mecânicas da blenda [67, 68].



Figura 19 - Reação química entre o ácido carboxílico presente nos poliésteres e o grupo epóxi. Adaptado de [69]

O terpolímero de etileno, acrilato de metila e metacrilato de glicidila (PEMAGMA) ou polímeros similares são usados como modificadores de impacto [70-72], ou como agentes compatibilizantes em blendas [73] pois possuem grupos reativos. Apesar de blendas desse terpolímero com o PHB ainda não terem sido reportadas, existem diversos estudos sobre blendas com outros poliésteres como matriz. O material já foi utilizado por exemplo como agente compatibilizante para blendas PBT⁹/ABS¹⁰, e como fase dispersa em blendas com o PBT [72]. Oyama [71] estudou recentemente a blenda binária desse terpolímero com outro poliéster biodegradável que possui fragilidade, o PLA. A combinação da mistura reativa com condições de processamento adequadas gerou blendas com alta tenacidade. Blendas similares com o PLA foram reportadas também em recentes patentes [74]. No entanto, os melhores resultados de Oyama foram obtidos com tratamento térmico dos materiais, que resultou em blendas com tenacidade 40 vezes maior do que a do PLA puro [71].

Mais exemplos de blendas contendo PHB podem ser encontrados nas revisões feitas por Avella, Martuscelli e Raimo [43] e Verhoogt, Ramsay e Favis [44].

⁹ PBT – Poli(butileno tereftalato) – $(C_{12}H_{12}O_4)_n$ ¹⁰ ABS – Copolímero de acrilonitrila, butadieno e estireno - $(C_8H_8 \cdot C_4H_6 \cdot C_3H_3N)_n$

2.2.3. Plastificantes

Plastificantes são aditivos que possuem baixo peso molecular. Eles formam ligações secundárias com as cadeias poliméricas e assim aumentam as distâncias intermoleculares entre as cadeias. Em outras palavras, eles espalham as cadeias poliméricas [75]. Por esta razão, os plastificantes dão maior mobilidade às macromoléculas e assim um material mais facilmente deformável é obtido. Em polímeros semicristalinos, os plastificantes atuam principalmente na região amorfa.

Os plastificantes diminuem algumas propriedades como o módulo elástico, resistência a tração, dureza, densidade, viscosidade e temperatura de transição vítrea. Por outro lado, eles aumentam a flexibilidade, alongamento na ruptura e tenacidade, o que faz com que sejam aditivos interessantes para o PHB. Para evitar a separação de fases, os plastificantes devem ser altamente compatíveis com o polímero [75].

Diversos trabalhos sobre PHB, seus copolímeros e blendas com o uso de plastificantes já foram reportados [4-9]. Choi e Park (2004) utilizaram diversos tipos de plastificante, entre eles o citrato de trietila (TEC) e o óleo de soja (SO), ao copolímero PHBV com 6% em mol de HV. O plastificante TEC conseguiu melhorar as propriedades térmicas e mecânicas do polímero [5]. No entanto, o TEC pode também acelerar a degradação da matriz [6]. Outro tipo de plastificante que vem sendo incorporado ao PHB é o PHB-atático, com menor massa molecular. A compatibilidade polímero/plastificante é alta nesse caso, já que só possuem taticidade diferentes. Os resultados indicam melhora no alongamento na ruptura e flexibilidade [6, 8]. Trabalhos com o uso de triacetina (TAC) também resultaram em melhora de propriedades [7, 9], e o plastificante usado para o polímero PVB, o tri(etileno glicol)-2-di-etilhexanoato) também mostrou afinidade com o PHB [34].

2.2.4. Tratamento Térmico - Recozimento

Como descrito anteriormente, Barham e Keller [54] atribuíram a fragilidade do PHB a trincas que se formam nos esferulitos durante a cristalização. Eles também demonstraram que é possível produzir PHB dúctil por meio de condições especiais de cristalização. Além disso, outro método para "curar" os esferulitos de trincas foi usado: a laminação a frio. Os filmes foram laminados, a temperatura ambiente, sob diversas razões de laminação (comprimento após a laminação sobre comprimento antes). Com isso as propriedades mecânicas melhoraram abruptamente, com o aumento do alongamento na ruptura de menos de 1% para 130% em alguns casos, e ainda um aumento na resistência final a tração. Os mecanismos que provocaram a "cura" dos esferulitos, no entanto, foram deixados em aberto [54].

Já De Koning *et al.* [23] atribuíram a fragilidade e baixa tenacidade do PHB à um processo de envelhecimento. A solução proposta por eles foi fazer um tratamento térmico com o PHB, uma espécie de recozimento, de forma a aliviar as restrições impostas à fase amorfa pelos cristais [22 23]. As amostras recozidas de PHB apresentaram grande melhora de propriedades mecânicas, com mostra a Figura 20.



Figura 20 – Curvas tensão-deformação para amostras de PHB recozidas por (a) 0 min, (b) 60 min a 95°C, (c) 60 min a 115°C e (d) 30 min a 128°C [23]. Tradução: *stress* = tensão; *strain* = deslocamento

A análise morfológica realizada por microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e SAXS revelou que as amostras recozidas apresentam uma morfologia mais grosseira como pode ser observado pelas micrografias da Figura 21. Observando a imagem é possível notar que houve um aumento no período longo, o que foi confirmado com os ensaios de SAXS. Os resultados são apresentados na Figura 22 onde também estão especificadas todas as condições de recozimento (tempo, temperatura) utilizadas pelos pesquisadores.



Figura 21 – Micrografias de TEM para o PHB recozido a (a) 0 min e (b) 10 min a 147°C (escala =1000Å) [23]

T _a (°C)	t _a (min)	X, (%)	L (Å)	E (Å)	$\langle T_{\rm c} \rangle_{\rm n}$ (Å)	C (Å)	$\langle T_{a} \rangle_{n}$ (Å)	А (Å)
Original	0	58.5	69	11	41	30	29	18
95	10	60.3	80	11	49	38	32	22
	30	61.6	83	12	53	41	33	22
	60	62.2	87	11	55	44	34	23
	120	62.8	87	11	54	43	32	22
	750	62.8	86	11	55	44	33	22
115	10	62.8	96	11	61	49	36	25
	30	62.8	98	12	61	49	36	25
	60	64.1	97	12	61	50	35	23
	150	64.7	99	11	63	51	35	23
	350	65.3	102	12	69	57	37	25
	1225	65.9	102	13	67	54	35	23
128	10	64.1	107	13	69	56	39	26
	30	65.3	110	13	72	59	38	26
	60	65.3	111	13	71	58	38	25
147	3	65.3	108	12	66	55	36	24
	10	65.9	124	14	77	63	40	26
	30	67.1	128	14	81	67	40	26

Figura 22 – Características morfológicas do PHB que foi recozido por diferentes tempos t_a a diferentes temperaturas T_a de acordo com o modelo de pseudo-duas-fases: L = período longo, $\langle T_c \rangle_n$ = espessura lamelar, $\langle T_a \rangle_n$ = espessura amorfa, C = núcleo lamelar, A = núcleo amorfo, E = camada de transição. Desvio padrão = ± 3 Å [23]

A morfologia lamelar do PHB-pós-processado, com lamelas finas, apresenta uma interface cristalino-amorfo de maior extensão. Já o PHB-pós-recozido, com maior espessura cristalina e também maior espessura amorfa, apresenta menor área interfacial. Isso significa que o efeito do aperfeiçoamento dos cristais que restringe a fase amorfa é reduzido para o material recozido. Em outras palavras, apesar das amostras recozidas apresentarem desempenho semelhante às amostras recém-processadas, elas sofreram menos o efeito do envelhecimento, como mostra a Figura 23. O recozimento tenacificou o PHB e preveniu o envelhecimento [22, 76].



Figura 23 - Curvas tensão-deformação para amostras de PHB que foram (a) armazenadas por 150 dias, (b) recozidas na sequência por 10 horas a 110°C, e (c) armazenadas novamente por 150 dias [22]. Tradução: *stress* = tensão; *strain* = deslocamento

O estudo de De Koning *et al.* [23] também concluiu que a morfologia das amostras recozidas é o que se esperaria de amostras cristalizadas nas mesmas temperaturas. No entanto, como já dito, a taxa de cristalização do PHB em temperaturas maiores que 120°C é extremamente baixa, o que torna a ideia inviável. [23 41].

Anteriormente, Fontaine *et al.* [77] investigaram a morfologia semicristalina do PET^{11} e concluíram que o processo de recozimento faz com que a interface cristalinoamorfo fique mais ordenada e tem um efeito de suavização. Essa hipótese foi ilustrada por esses pesquisadores (Figura 24). Segundo Morse *et al.* [78], que estudaram o copolímero P(3HB-3HH), o espessamento das lamelas cristalinas freqüentemente

¹¹ PET – Poli(tereftalato de etileno)

envolve segmentos moleculares migrando da região amorfa adjacente, o que causa um aumento da quantidade de vazios na fase amorfa por difusão e relaxação [78].



Figura 24 - Ordenamento e efeito de suavização na interface cristalino-amorfo das lamelas de acordo com a temperatura de recozimento (T_{an}) para um polímero semicristalino. Adaptado de [77].

Sawayanagi *et al.* realizaram um estudo sobre o recozimento de monocristais de PHB usando experimentos em tempo real de SAXS e WAXD com radiação síncrotron [79]. A Figura 25 mostra os resultados para monocristais de PHB cristalizados a 60, 80 e 100°C. As curvas de SAXS têm uma mudança drástica a uma temperatura T (indicada pela seta), na qual um novo pico de espalhamento foi reconhecido em ângulo mais baixo. Isso significa que a partir dessa temperatura de recozimento houve aumento do período longo. Depois da transição, o novo pico de espalhamento de deslocou para um ângulo menor até sumir com a fusão. Foi demonstrado dessa maneira que os monocristais de P(3HB) exibem um aumento descontínuo da espessura lamelar causado, assim como no estudo anterior, por fusão parcial e recristalização [79].



Figura 25 - Perfis obtidos dos padrões de SAXS. As figuras (a), (b) e (c) representam os perfis dos monocristais cristalizados a 60, 80 e 100°C respectivamente. Cada seta indica um novo pico de espalhamento [79]. Tradução: *temperature* = temperatura

3. Objetivos

O principal objetivo foi investigar as mudanças microestruturais que ocorrem durante o envelhecimento de materiais baseados em PHB, e, a partir desse ponto, verificar a eficácia do tratamento térmico de recozimento para tentar reduzir o efeito deletério do envelhecimento sobre as propriedades. Assim espera-se conseguir materiais com maior tenacidade e ductilidade. Verificar a influência de parâmetros morfológicos na biodegradação dos materiais é outro ponto chave deste trabalho.

Etapas para atingir o objetivo final:

- o Análise da relação processamento/microestrutura;
- Estudo do fenômeno de envelhecimento para o PHB brasileiro, para a blenda PHB/PEMAGMA e para o PHB com plastificante, por meio de diversas técnicas de caracterização;
- Teste das condições de recozimento para obter um material com melhores propriedades mecânicas com uma microestrutura que sofra menos com o efeito de um novo envelhecimento;
- Avaliação do efeito de mudanças na morfologia esferulítica e lamelar sobre biodegradação dos materiais.

4. Materiais e Métodos

4.1. Materiais

Os materiais utilizados foram: PHB puro em forma de pó, produzido pela Biocycle[®]; O plastificante trietilenoglicol bis(2-etil-hexanoato) ou TEG(EH) fabricado pela Sigma-Aldrich; Terpolímero de etileno, acrilato de metila e metacrilato de glicidila ou P(E-*co*-MA-*co*-GMA), comercialmente disponível como Lotader[®] AX 8900, produzido pela Arkema. As estruturas químicas estão representadas na Figura 26. O P(EMAGMA) apresenta 24% em peso de MA e 8% de GMA.



Poli(3-hidroxibutirato) = PHB



Terpolímero de etileno, acrilato de metila e metacrilato de glicidila = P(EMAGMA)



trietilenoglicol bis(2-etil-hexanoato) = TEG(EH)

Figura 26 - Estruturas químicas dos materiais utilizados no estudo

O TEG(EH) é o plastificante encontrado em filmes comerciais de PVB, com teores de cerca de 30-45% [62]. Um estudo realizado por Calvão (34) sobre blendas

PHB/PVB revelou que tal aditivo possui afinidade com o PHB e potencial para melhorar as propriedades mecânicas [34]. O presente trabalho então decidiu investigar mais a fundo a incorporação do TEG(EH) no PHB.

4.2. Processamento

O processamento dos materiais foi realizado em uma extrusora de dupla rosca Haake, modelo Rheomix PTW 16, acoplada a um reômetro de torque Haake Polylab 900. A Tabela 1 mostra todas as composições processadas. O PHB puro, fornecido na forma de pó, foi transformado em pellets. Para o processamento da composição PHB/TEG(EH) foi utilizado um sistema de gotejamento do plastificante diretamente no PHB fundido durante a extrusão, com o auxílio de uma bomba dosadora peristáltica Milan[®] como mostra a Figura 27. Já para processar a blenda PHB/PEMAGMA foi feita uma mistura de pellets antes da extrusão.

Nome	Teor (em peso)	Rota				
РНВ	100	Pó→ extrusão				
PHB/PEMAGMA	70/30	Mistura de pellets → extrusão				
PHB/Plastificante	90/10	Pellets de PHB → extrusão + gotejamento				

Tabela 1 - Composições utilizadas no estudo



Figura 27 - Esquema usado no processamento do PHB com gotejamento de plastificante diretamente nas roscas, controlado por uma bomba peristáltica.

Os controles utilizados na extrusão foram: rotação da rosca da máquina, rotação da rosca do alimentador, e temperatura das seis zonas da extrusora, mantidas a 160°C em todos os processamentos. Estas condições foram estabelecidas através de testes prévios e são apresentadas na Tabela 2. A velocidade de alimentação é baixa para o PHB/Plastificante para controlar melhor a vazão mássica e ajustar a bomba para gotejar o plastificante.

Composição	Velocidade de alimentação (rpm)	Velocidade da rosca (rpm)		
PHB	50	110		
PHB/PEMAGMA	10	50		
PHB/Plastificante	5	100		

Tabela 2 – Parâmetros de controle da extrusora

Após a extrusão, parte do material foi injetada em uma injetora Demag Ergotech pro 35-115, com diâmetro de rosca de 25 mm e L/D de 20 para produção de corpos-deprova para ensaios mecânicos. A temperatura do molde foi de 45°C.

Os ensaios de DSC para o envelhecimento foram realizados com amostras retiradas destes corpos-de-prova para fazer um paralelo com os resultados dos testes

mecânicos. Os fragmentos de material foram retirados da região central dos corpos-deprova, a partir do centro até a superfície, com massa aproximada de cinco miligramas.

4.3. Preparação de amostras

Para alguns dos testes de caracterização descritos a seguir, foram produzidos pequenos filmes em um estágio a quente Mettler Toledo – FPHT. Os filmes consistem de alguns pellets de cada material (após processamento em extrusora) aquecidos até a fusão, prensados entre duas lâminas de vidro e folhas de Teflon[©] e depois resfriados para a cristalização a 45°C, para simular o ciclo de temperaturas do processo de injeção.

Esses filmes foram mantidos a temperatura ambiente e analisados ao longo do tempo, para o estudo do envelhecimento por SAXS, devido à maior homogeneidade da microestrutura em relação às amostras injetadas. As amostras usadas nos ensaios de Biodegradação também foram produzidas por este método, assim como as amostras recozidas utilizadas no ensaio de DSC.

4.4. Tratamento térmico – recozimento

Alguns filmes foram recozidos em uma estufa Marconi[®] MA 030. A escolha das condições de tempo e temperatura foi baseada na análise térmica dos materiais. A Figura 28 apresenta uma curva típica de DSC obtida para o PHB puro. Primeiramente é possível notar que por volta de 85 °C tem início suave a endoterma de fusão. Os resultados sugerem que existe fusão em uma faixa de 85°C a 170°C aproximadamente. Essa variação ocorre porque os cristais formados durante a cristalização apresentam uma ampla faixa de concentração de defeitos. A maioria dos cristais é relativamente perfeita, mas a concentração de defeitos em alguns cristais faz com que sejam estáveis somente até a temperatura de cristalização [23].



Figura 28 - Curva obtida por DSC evidenciando toda a endoterma de fusão, para o PHB 3h45' após a injeção.

Dessa maneira estabeleceu-se o limite inferior e superior para a escolha das temperaturas de recozimento: 85°C e 145°C. O limite de 145°C para a escolha das temperaturas de recozimento foi estabelecido por ser aproximadamente onde a taxa de variação da curva se intensifica, ponto a partir do qual começa a fusão de cristais mais estáveis, com população muito maior. Foram escolhidas então duas temperaturas intermediárias a esses limites: 110°C e 125°C. As condições de recozimento utilizadas são apresentadas na Tabela 3:

Tabela 3 - condições de recozimento das amostras

T (°C)	110	110	110	110	125	125	125	125
t (min)	10	30	100	1000	10	30	100	1000

Após o recozimento os filmes foram mantidos a temperatura ambiente até o momento dos ensaios. Foi verificado também se as amostras recozidas sofrem novo envelhecimento.

4.5. Caracterização

4.5.1. DSC (Calorimetria Exploratória Diferencial)

As curvas de DSC foram coletadas num equipamento TA Instruments. Os materiais foram aquecidos da temperatura ambiente até 195°C a taxa de 10 °C/min, sob uma atmosfera de nitrogênio (50 mL/min). Uma etapa única de aquecimento foi empregada, já que não havia interesse em apagar a história das amostras e sim analisar os efeitos do envelhecimento ou de recozimento. A quantidade de amostra analisada foi cerca de 5 mg e o calorímetro foi previamente calibrado utilizando-se um padrão de índio. A técnica permite determinar as temperaturas de transição vítrea (T_g), de fusão (T_m) e de cristalização (T_c), além da entalpia de fusão (Δ H) e a capacidade calorífica (Δ C_p). A partir dos resultados pode-se calcular o grau de cristalinidade mássico ($w_{c,h}$) através da equação abaixo:

$$w_{c,h} = \frac{\Delta H_m}{\Delta H_{m,100\%}} \tag{1}$$

Onde: ΔH_m é a entalpia de fusão medida para uma dada amostra e $\Delta H_{m,100\%}$ é a entalpia extrapolada de fusão de um hipotético material 100% cristalino (146 J/g para o PHB [41]).

Além da cristalinidade total, foram realizados os cálculos para a cristalinidade da fração de PHB em cada composição, sabendo que o P(EMAGMA) e o plastificante não são cristalizáveis. Assim, o grau de cristalinidade da equação (1) é dividido pela fração de PHB em cada composição, 70% na blenda e 90% na composição com plastificante:

$$W_{PHB} = W_{c, h} \tag{1.1}$$

$$W_{PHB/P(EMAGMA)} = W_{c, h}.(1/0,7)$$
 (1.2)

$$W_{PHB/Plastificante} = W_{c, h} (1/0, 9)$$
(1.3)

As conversões acima são importantes na hora de analisar os resultados de SAXS sobre a morfologia lamelar.

4.5.2. SAXS (Espalhamento de raios-X de baixo ângulo)

A difração de raios-X é realizada para o cálculo de parâmetros morfológicos, para avaliar possíveis mudanças microestruturais que ocorrem durante o envelhecimento do PHB, ou com tratamentos térmicos como o recozimento. Fótons interagem com elétrons, e fornecem informações sobre as flutuações da densidade eletrônica em um material heterogêneo. A Figura 29 mostra um esquema experimental típico: Um feixe monocromático de vetor de onda incidente k_i e escolhido e cai sobre a amostra. A intensidade de espalhamento é coletada em função do ângulo de espalhamento 2θ . Interações elásticas são caracterizadas por nenhuma transferência de energia, de tal maneira que o vetor de onda final k_f é igual em módulo a k_i . O parâmetro relevante para analisar a interação é o vetor de espalhamento $q = k_i - k_f$, definido pela relação $q = (4\pi/\lambda).sen\theta$. A unidade básica para q é Å⁻¹ [80, 81].



Figura 29 - Visão esquemática de um típico experimento de espalhamento [80]. Tradução: *source* = fonte; *optics* = sistema óptico; *sample* = amostra; *detection* = sistema de detecção.

A intensidade espalhada I(q) é a transformada de Fourier de g(r) – função de correlação da densidade eletrônica $\rho(r)$ – que corresponde a probabilidade de encontrar um elemento espalhador a uma posição r na amostra se outro espalhador está localizado na posição θ : Experimentos de espalhamento de raios-X elástico revelam as correlações espaciais na amostra. O espalhamento de baixo ângulo (SAXS) é projetado para medir I(q) a vetores de espalhamento q muito pequenos, com 2θ variando de poucos microradianos até um décimo de um radiano, com objetivo de investigar sistemas com tamanhos característicos variando de distâncias cristalográficas (poucos Å) a dimensões coloidais (poucos μ m) [80]. As dimensões da morfologia lamelar de polímeros semicristalinos se encaixam nessa faixa, e, portanto, o ensaio de SAXS foi utilizado. Para obter a intensidade realmente espalhada é necessário fazer algumas correções

como a subtração da intensidade parasita recolhida pelo alvo sem feixe e sem amostra [81].

De acordo com o modelo ideal de duas fases (Figura 5), uma vez que a intensidade de espalhamento em função de q é obtida, é possível atribuí-la ao período longo (L) do material, bem como às espessuras das lamelas cristalinas (l_c) e da região amorfa (l_a) entre essas lamelas. Temos que:

$$L = l_c + l_a \tag{2}$$

O período longo é obtido da relação:

$$L = \frac{2\pi}{q_{máx}} \tag{3}$$

O grau de cristalinidade em volume $(X_{c(vol)})$ é dado por:

$$X_{c(vol)} = \frac{l_c}{L} \tag{4}$$

No entanto, o grau de cristalinidade calculado por DSC é mássico ($X_{c(mássico)}$). A relação entre os dois tipos de cristalinidade é dada por:

$$X_{c(vol)} = X_{c(mássico)} \left(\frac{\rho_t}{\rho_c}\right)$$
(5)

Onde ρ_t é a densidade do material e ρ_c é a densidade da fase cristalina. Para calcular ρ_t temos:

$$\rho_t = X_{C(mássico)} \cdot \rho_c + (1 - X_{C(mássico)}) \cdot \rho_a$$
(6)

Onde ρ_a é a densidade da fase amorfa. Segundo Barham et al. (1984), os valores referentes ao PHB correspondem a $\rho_c = 1,260 \text{ g.cm}^{-3}$ e $\rho_a = 1,177 \text{ g.cm}^{-3}$ [41]. Dessa maneira podemos calcular a densidade do material (equação 6), o grau de cristalinidade volumétrico (equação 5) e por fim as espessuras das lamelas cristalinas e regiões amorfas (equações 2 e 4), desde que se tenha o valor de cristalinidade obtido neste trabalho por DSC [81].

Os ensaios de SAXS foram feitos com equipamento Nanostar, da Bruker, com radiação K_{alfa} do Cu (λ =0,15418 nm), de 1,5KW, colimado por um sistema de espelhos de Gobel e um sistema de 3 fendas.

4.5.3. Microscopia eletrônica de varredura

A microscopia eletrônica de varredura foi utilizada principalmente para avaliar a morfologia da blenda PHB/PEMAGMA e das amostras biodegradadas. Buscou-se avaliar regiões de fratura dos corpos-de-prova de ensaios mecânicos e observar os efeitos da biodegradação ao longo do tempo, para verificar quais as regiões preferencialmente consumidas pelos microorganismos, etc. Foi utilizado equipamento Philips, modelo XL 30, com imagem formada por elétrons secundários e voltagem de 10 kV.

4.5.4. Microscopia óptica

A observação da cristalização e dos esferulitos do PHB foi feita com auxílio de um microscópio óptico com luz polarizada do tipo Olympus – BX50 acoplado a um estágio a quente, Mettler Toledo – FPHT, e a uma câmera de vídeo (Hitacr – KP-M2J). De maneira análoga à preparação das amostras, o material foi fundido entre duas lâminas de vidro no interior do estágio a quente, e então cristalizado para observação qualitativa das características de cristalização, como tamanho dos esferulitos, velocidade de cristalização, defeitos como trincas nos esferulitos, etc. Para uma observação mais detalhada, foram realizadas cristalizações isotérmicas a temperaturas mais altas, o que permite uma baixa taxa de nucleação e conseqüentemente esferulitos maiores [24].

Os pequenos filmes translúcidos utilizados, por exemplo, nos ensaios de SAXS, foram também observados para verificar se é possível notar alguma diferença visual após o tratamento térmico por esta técnica de microscopia. Outro objetivo foi observar as amostras biodegradadas antes e depois do ensaio.

4.5.5. Biodegradação

Respirometria (Bartha)

A respirometria é uma técnica utilizada na determinação da biodegradação de compostos orgânicos misturados ao solo pela ação de microorganismos presentes. O tipo de solo segue o padrão da norma ASTM D 5988 – 03 [82], que prevê uma

composição dividida em três partes iguais de areia, terra e adubo para simular condições de um solo para agricultura.

Pelo método de Bartha, o CO_2 produzido pelas bactérias por biodegradação aeróbia (ver seção 2.1.3) do polímero é quantificado por meio do uso de respirômetros, segundo a norma NBR 14283 [83]. O respirômetro consiste de duas câmaras interligadas, como mostra a Figura 30. Em uma delas ocorre a biodegradação do material no solo pelos microorganismos e conseqüentemente a produção de CO_2 , que é transferido para a segunda câmara onde se dissolve em uma solução de hidróxido de potássio. O gás é quantificado pela titulação dessa solução com ácido clorídrico. Os detalhes de cada procedimento do método são descritos na norma citada acima. Foram montados três respirômetros para cada tipo de amostra. As medidas foram e estão sendo feitas com freqüência aproximada de 7 dias durante cerca de dois meses. A vantagem desse ensaio é o baixo custo [84].



Figura 30 - Esquema do respirômetro de Bartha [83-85]

Uma crítica que pode ser feita a esse método é que, sendo o solo uma matriz complexa, a liberação de CO_2 pode vir do polímero, da matriz, ou dos dois, sendo difícil diferenciar. É possível marcar o polímero com um isótopo estável, ou um elemento radioativo, mas esses métodos são de alto custo e aumentam a complexidade do ensaio [33]. Apesar dessas considerações, se existir homogeneidade do solo é possível obter resultados coerentes utilizando os chamados respirômetros de controle, que contém o solo sem a amostra. Assim pode-se estimar o real grau de biodegradação das amostras.

O primeiro objetivo desse ensaio foi analisar a diferença da biodegradação entre amostras de PHB com esferulitos grandes e outras com esferulitos pequenos.

O objetivo da segunda etapa desse ensaio foi avaliar as conseqüências das mudanças microestruturais causadas pelo recozimento sobre a biodegradação.

Mais detalhes sobre a avaliação da biodegradação pelo método respirométrico podem ser encontrados em Sadi [26] e De Mello [84].

4.5.6. Ensaios Mecânicos

Análise Dinâmico-Mecânica (DMA)

As medidas de DMA foram realizadas em um aparelho PerkinElmer DMA 8000 operado no modo de flexão em três pontos. As amostras injetadas (aproximadamente $10 \times 7,5 \times 3,3 \text{ mm}^3$) foram submetidas a uma freqüência de 1 Hz a uma razão de aquecimento de 5°C/min.

Ensaio de Tração

A resistência a tração foi medida segundo a norma ASTM D-638 [86] em uma máquina universal de ensaios Kratos K10.000MP com célula de carga de 500kgf. Os testes foram realizados com velocidade de 1 mm/min e distância entre as garras de 100 mm. Foram utilizados cerca de 10 corpos-de-prova para cada tipo de material. No caso das amostras para estudo do envelhecimento foram usados 4 corpos-de-prova.

Ensaio de Impacto

O ensaio de resistência ao impacto Izod foi realizado em uma máquina Tinius Olsen Model Impact 104. Dependendo da resistência de cada material podem ser adicionados pesos à máquina para aumentar a energia de impacto. No caso de um material frágil como o PHB geralmente não se utiliza pesos extras. Foram utilizados cerca de 15 corpos-de-prova entalhados segundo a norma ASTM D 256 [87] e pêndulo contendo energia de 2,82 J.

5. Resultados e Discussão

5.1. Caracterização Preliminar dos Materiais

Essa seção destina-se a fornecer as características básicas das três composições utilizadas no presente trabalho. Vale lembrar, porém, que os materiais são susceptíveis a um envelhecimento que altera várias propriedades, como será discutido mais adiante. Portanto, estabeleceu-se para cada material uma idade suficiente na qual o envelhecimento encontra-se praticamente estabilizado, com 14 dias.

Os espectros obtidos por Sadi *et al.* [88] por meio de Espectroscopia no Infravermelho, apresentados na Figura 31, mostram a ocorrência da reação entre o grupo carboxila do PHB e o grupo epóxi do PEMAGMA, no caso da blenda PHB/PEMAGMA. O pico em 720 cm⁻¹ apresenta alta intensidade no espectro do copolímero puro e no espectro da mistura PHB/PEMAGMA, o que indica que não houve diluição capaz de esconder os resultados. Assim, o desaparecimento dos picos característicos do grupo epóxi evidencia a reação.



Figura 31 - Espectros no Infravermelho para o PEMAGMA, o PHB e a mistura PHB/PEMAGMA na proporção 2:1 em peso (67/33%) [26, 88]

A morfologia da blenda (Figura 32) mostra as partículas da fase dispersa com diâmetro entre 1 e 4 µm e adesão inconstante, que variou de acordo com a região

analisada. Perto da superfície do corpo-de-prova, por exemplo, a adesão foi fraca como mostra a Figura 32 (c). Tal diferença pode ser causada pelas próprias heterogeneidades do processo de injeção, como diferentes taxas de resfriamento.



Figura 32 - Morfologia da blenda PHB/PEMAGMA por microscopia eletrônica de varredura (MEV) em magnitudes de (a) 3500 vezes e (b) e (c) 8000 vezes

A adição de plastificante ou a mistura com o PEMAGMA não causa alteração significativa nas dimensões dos esferulitos, como mostram as imagens da Figura 33, obtidas por microscopia óptica, por meio da fusão e cristalização de pequena quantidade entre lâminas de vidro (vide Materiais e Métodos). É possível notar apenas uma textura mais grosseira no caso da blenda PHB/PEMAGMA devido à maior quantidade de material amorfo presente. Todos os materiais passaram pelo mesmo ciclo de temperaturas, com fusão a 190°C e resfriamento contínuo até a temperatura ambiente.





(c) PHB/PEMAGMA

Figura 33 - Micrografias ópticas obtidas para o (a) PHB puro, (b) PHB/Plastificante e (c) PHB/PEMAGMA.

A Figura 34 ilustra a fusão obtida por DSC, com os valores de cristalinidade total baseados na equação (1) e as temperaturas de fusão sobre os respectivos picos para os três tipos de materiais estudados aqui. É possível observar que para a blenda PHB/PEMAGMA há uma ligeira diminuição da temperatura de fusão, em relação a o PHB puro, e uma queda de cristalinidade total devido à incorporação de 30% em peso de material amorfo. Para a composição com 10% em peso de plastificante há uma diminuição maior da temperatura de fusão e uma pequena queda de cristalinidade total. Porém, se considerarmos somente a fração de PHB, única responsável pela cristalinidade, temos praticamente a mesma cristalinidade em todos os materiais, cerca de 63%.





Figura 34 – Curvas típicas de DSC para os três materiais do estudo. O valor de cristalinidade apresentado corresponde ao valor total

Curvas típicas de um ensaio de SAXS são apresentadas na Figura 35. Os valores $q_{máx}$, usados para calcular o período longo L (equação 3), estão indicados pelas linhas pontilhadas. A incorporação de plastificante parece interferir mais na morfologia lamelar, pois altera mais o valor de $q_{máx}$ e conseqüentemente do L.



Figura 35 - Curvas típicas obtidas por SAXS para as três composições. A intensidade é dada em unidades arbitrárias (u. a.).

A Figura 36 ilustra o comportamento mecânico para os materiais envelhecidos. Todos eles apresentam um comportamento tipicamente frágil, com baixo alongamento na ruptura e sem a formação de estricção durante o ensaio. O ensaio para o PEMAGMA puro apresentou menos de 5 MPa de resistência com aproximadamente 200% de alongamento. Entretanto, a incorporação de 30% desse material ao PHB não trouxe aumento de ductilidade, em relação ao PHB puro.



Figura 36 - Resultado do ensaio mecânico de tração para os materiais envelhecidos por 14 dias

A Tabela 4 resume em valores os resultados obtidos por DSC: grau de cristalinidade total (ω_c), grau de cristalinidade da fração de PHB (ω_{PHB}) e temperatura de fusão (T_m); SAXS: Período longo (L); e propriedades mecânicas: resistência máxima (σ), alongamento na ruptura (ϵ), módulo de elasticidade (E) e resistência ao impacto Izod sem entalhe (RI).

Composição	ω	ω_{PHB}	T _m	L (Å)	σ (MPa)	£ (%)	E (GPa)	RI (J/m)
	(%)	(%)	(°C)					
PHB puro	63	63	173	57	27,4 ±1,6	2,3±0,2	1,5 ±0,1	72 ±4
PHB/PEMAGMA (70/30)	43	62	170	55	15,9 ±0,4	2,5±0,2	1,3 ±0,0	288 ±59
PHB/Plastificante (90/10)	57	64	168	63	19,0 ±0,5	3,2±0,2	1,3 ±0,0	183 ±14

Tabela 4 - Propriedades obtidas nos ensaios de DSC, SAXS e propriedades mecânicas

A incorporação de outro polímero ou aditivo que aumenta a ductilidade de uma matriz geralmente gera menor resistência máxima, menor módulo e maior alongamento e resistência ao impacto. Pelos resultados de tração se observa uma queda da resistência, mas pouca melhora no alongamento. Já a resistência ao impacto aumentou significativamente tanto para a blenda quanto para o PHB com plastificante. Para investigar o porquê da baixa ductilidade é preciso estudar o processo de envelhecimento.

5.2. Envelhecimento (aging)

5.2.1. DSC

Os ensaios de DSC foram realizados para acompanhar uma possível evolução da cristalinidade dos materiais com o armazenamento. Para isso foi realizada apenas uma corrida de fusão para cada amostra, já que o interesse era conhecer a história térmica. A razão de aquecimento foi 10°C/min. As amostras foram extraídas de corpos-de-prova de tração injetados. A Figura 37 mostra exemplos de curvas para o PHB puro. As curvas para o PHB/PEMAGMA e PHB/plastificante exibiram comportamento análogo e estão presentes na seção de Anexos do presente trabalho (Figuras A.1 e A.2).

Nas primeiras horas após o processamento, a fusão apresenta dois picos, ou seja, duas populações cristalinas distintas. Com o decorrer do tempo de armazenamento, não é mais possível observar dois picos, provavelmente devido ao processo de aperfeiçoamento dos cristais que caracteriza o envelhecimento.





Figura 37 - Algumas das curvas de DSC usadas para avaliar o envelhecimento do PHB puro. A "idade" das amostras está indicada sobre as curvas.

As Figuras 38 e 39 mostram a evolução do grau de cristalinidade e da temperatura de fusão dos três materiais estudados. O grau de cristalinidade foi calculado, para a fração de PHB em cada material, a partir do valor da entalpia de fusão durante o primeiro aquecimento, em relação ao calor de fusão calculado para um hipotético PHB 100% cristalino, que é 146 J/g [21-23] (ver seção 4.3.1). Pode-se observar pelos resultados que o fenômeno da cristalização progressiva realmente ocorre para o PHB, como já foi mostrado em literatura [21-23]. No caso do PHB utilizado nesse trabalho, a maior mudança na cristalinidade ocorre no primeiro dia de armazenamento, com o grau de cristalinidade passando de 53% para 63%. Depois o valor se estabiliza em torno dos 65%. Para a fração de PHB na blenda PHB/PEMAGMA o primeiro tempo de medida, com poucas horas após o processamento, também gerou o menor grau de cristalinidade. Os resultados estabilizaram em torno de 63%. Para o PHB/Plastificante a diferença entre a cristalinidade inicial e a das amostras envelhecidas foi pequena.



Figura 38 - Grau de cristalinidade em função do tempo de envelhecimento

Em relação às temperaturas de fusão não houve grande variação com o tempo, como pode ser observado pelas linhas de tendência da Figura 39. No início das medidas temos a presença de dois picos de fusão, característica que desaparece em algumas horas quando a temperatura de pico de estabiliza em um único valor, intermediário às temperaturas dos dois picos iniciais.

Ao comparar os materiais verifica-se um decréscimo da temperatura de fusão na ordem $T_m(PHB puro) > T_m(PHB/PEMAGMA) > T_m(PHB/Plastificante)$. A adição de plastificante aumenta a mobilidade das cadeias e em geral reduz a temperatura de fusão [75].



Temperatura de Fusão (T_m) X tempo

Figura 39 - Temperatura de fusão em função do tempo de envelhecimento

Os resultados de DSC foram então confrontados com os dados de SAXS e propriedades mecânicas.

5.2.2. SAXS

Os resultados de SAXS para avaliar o envelhecimento são apresentados a seguir. As amostras foram preparadas no estágio a quente na forma de pequenos filmes para ter maior controle das condições de cristalização. Tentou-se simular o ciclo de temperaturas da injeção, com fusão e resfriamento em molde a 45°C, como descrito na seção Materiais e Métodos. A Figura 40 ilustra os resultados plotados para a blenda PHB/PEMAGMA, com amostras de aproximadamente 2h após a preparação até 4 dias de envelhecimento. As curvas correspondentes aos outros materiais encontram-se em anexo (Figuras B.1 e B.2).



Figura 40 - Resultado de SAXS plotado para o PHB/PEMAGMA

É possível observar que o $q_{máx}$ praticamente não varia ao longo do tempo e, portanto, o período longo *L* também não varia, como mostra a Figura 41.

Em uma comparação entre os materiais, o cálculo do período longo para a blenda revelou valores praticamente iguais aos obtidos pelo PHB puro. Os resultados para o PHB/Plastificante revelam a mesma tendência de pouca alteração do período longo *L*, mas neste caso os valores são maiores. Esse resultado sugere que o aditivo, ao contrário do PEMAGMA, causou uma mudança da morfologia lamelar que será verificada adiante.



Figura 41 - Variação do período longo em função do tempo pós-processamento

Apesar da pouca alteração do período longo, a intensidade $I_{máx}$ claramente aumenta ao longo do tempo, como mostra a Figura 42. O PHB puro e a blenda PHB/PEMAGMA apresentaram grande aumento de intensidade ao final do período analisado (4 dias), enquanto o PHB/Plastificante não seguiu a mesma tendência, apresentando uma variação inicial mais rápida e um ligeiro decréscimo ao final do período. Vale ressaltar que o ponto de ebulição do plastificante é 344°C, temperatura muito acima das utilizadas em todos os tipos de processamento e tratamento térmico deste trabalho. Também não foi observado nenhum sinal de exsudação do plastificante após a injeção ou recozimento. A intensidade pode estar ligada proporcionalmente a uma maior homogeneidade dos cristais, mas geralmente é fornecida em unidade arbitrária [79].



Intensidade X tempo

Figura 42 - Variação da Intensidade obtida na curva de difração em função do tempo

Para avaliar se houve algum tipo de reorganização microestrutural, o cálculo das espessuras cristalinas e amorfas, como descrito em Materiais e Métodos, foi realizado para as três composições, como mostra a Figura 43. Os cálculos foram realizados com um valor de período longo médio para cada composição, já que não houve alteração significativa durante o envelhecimento; e com os tempos e valores de cristalinidade obtidos por DSC, apenas para a fração de PHB presente em cada composição (70% para a blenda PHB/PEMAGMA e 90% para o PHB/Plastificante). Para o PHB puro, os resultados mostram que ao longo do tempo há um aumento da espessura das lamelas cristalinas e conseqüentemente um ligeiro decréscimo da região amorfa interlamelar. Esse fenômeno pode contribuir para a fragilização do PHB. No caso da blenda PHB/PEMAGMA, a espessura das lamelas cristalinas da fração de PHB possui praticamente a mesma do PHB puro. Para essas duas composições, o valor da porção cristalina tem um aumento no início e depois permanece constante, enquanto o inverso ocorre com a porção amorfa, já que o período longo permanece constante. Já para o sistema PHB/Plastificante as lamelas cristalinas e amorfas têm espessuras da ordem de 5 Å maiores em relação às outras composições. Esses valores variaram pouco ao longo do tempo, mesmo para as primeiras medições, o que pode ser um indício do menor efeito do envelhecimento para essa composição e consequentemente uma menor deterioração de suas propriedades mecânicas como será visto adiante.



Figura 43 - Variação das espessuras lamelares e das regiões amorfas em função do tempo para as três composições

5.2.3. Propriedades Mecânicas

Os ensaios de tração foram realizados em paralelo aos estudos de DSC. A Figura 44 ilustra o comportamento mecânico da blenda PHB/PEMAGMA com o decorrer do envelhecimento - análogo aos outros materiais, em anexo (Figuras C.1 e C.2). Quando recém-processado, esse material apresenta maior ductilidade e alongamento superior a 10%. Ao longo do tempo ocorre uma fragilização que faz com que o alongamento atinja cerca de 2%, enquanto a resistência máxima e o módulo de elasticidade aumentam. Apesar de não apresentarem um comportamento tipicamente dúctil no início, o PHB puro e o PHB/Plastificante também sofrem perda de tenacidade similar quando envelhecidos.



Figura 44 - Mudança do comportamento mecânico da blenda PHB/PEMAGMA em função do tempo de envelhecimento

A diminuição do alongamento na ruptura e o aumento do módulo de elasticidade são mostrados nas Figuras 45 e 46, respectivamente. É possível notar que para todos os materiais, a queda mais brusca da ductilidade se dá no primeiro dia de armazenamento. Alata, Aoyama e Inoue [65], que estudaram o copolímero P(3HB-*co*-3HH), verificaram que o envelhecimento pode durar até 60 dias para os materiais com menor teor de 3HH, ou seja, mais parecidos com o PHB puro. Contudo, a diminuição mais brusca também se dá nos primeiros dias de armazenamento. As composições com maior teor de 3HH apresentaram maio período longo e região interlamelar menos estreita, o que reduziu significantemente os efeitos do envelhecimento [65].



Figura 45 - Alongamento na ruptura em função do tempo de envelhecimento



Figura 46 - Módulo de Elasticidade em função do tempo de envelhecimento

Para o PHB/PEMAGMA, a alteração das propriedades mecânicas ocorreu de forma mais brusca do que no PHB puro, com estabilização mais rápida. No caso do PHB/Plastificante, a alteração dessas propriedades foi menos intensa, revelando um efeito menor do envelhecimento, discutido a seguir.

5.2.4. Discussão

Os resultados de propriedades mecânicas revelam claramente a perda de tenacidade que ocorre durante o fenômeno do envelhecimento. As análises por DSC mostraram um aumento de cristalinidade que ocorre principalmente nas primeiras 24 horas de armazenamento. Esse efeito foi mais intenso para o PHB puro e menor para o PHB/Plastificante. No entanto, essa variação do grau de cristalinidade é menos intensa do que a diminuição da tenacidade para todos os materiais.

A investigação de uma possível alteração morfológica foi estudada por SAXS. Os resultados mostraram praticamente o mesmo valor de período longo tanto para o PHB puro quanto para a fração cristalina da blenda PHB/PEMAGMA. O cálculo das espessuras lamelares, baseado no modelo ideal de duas fases, revelou valores similares também. A estrutura do polímero semicristalino pode não ter sido afetada pela presença do outro componente amorfo. A incorporação do PEMAGMA, com baixa temperatura de transição vítrea (-20,9°C para o PEMAGMA [26]), pode justificar o aumento na resistência ao impacto. Entretanto, o envelhecimento deteriorou o caráter dúctil que a blenda possuía quando recém-processada.

A composição PHB/Plastificante sofre menos o efeito do envelhecimento. Há menor variação do grau de cristalinidade por DSC do que para as outras composições e suas propriedades mecânicas se deterioram em menor extensão. O maior período longo, maior espessura interlamelar, e maior espessura interlamelar obtidos para essa composição significa que há menor quantidade de interface cristalino-amorfo. Dado que é nessa interface que ocorre o envelhecimento com o aperfeiçoamento de cristais, é possível que esta composição sofra menos esse efeito. Outra possibilidade é a de que o envelhecimento pode ter ocorrido mais rapidamente: Como o plastificante dá maior mobilidade às cadeias, estas se rearranjariam mais rapidamente.

5.3. Recozimento

5.3.1. Considerações iniciais

Como descrito na escolha de condições de recozimento em Materiais e Métodos, o ponto inicial de cerca de 85°C é onde começa de maneira branda a endoterma de fusão. Isso implica que em temperaturas de recozimento acima de 85°C tem-se uma diminuição inicial da cristalinidade. Contudo, pelos casos presentes em literatura, o recozimento traz aumento da cristalinidade final total, o que indica que há recristalização. Os cristais mais perfeitos e intactos atuarão como núcleo para esta recristalização, o que significa dizer que os cristais defeituosos irão desaparecer favorecendo o espessamento das lamelas mais perfeitas. Como sugerido por De Koning *et al.* [23], a fragilidade do PHB se dá devido à grande quantidade de interface cristalino-amorfo, que faz com que o fenômeno do aperfeiçoamento seja brusco e deletério às propriedades. Com o recozimento, aumenta-se o período longo, a espessura lamelar e a espessura da região amorfa [23].

A Figura 47 ilustra a morfologia simplificada do PHB envelhecido, no início do recozimento e após o recozimento, baseada no modelo ideal de duas fases. Inicialmente o material possui cristais com diversas espessuras, como foi verificado pelos ensaios de DSC. Devido à baixa espessura das lamelas e da região amorfa, esta fica confinada pelo processo envelhecimento, resultando em fragilidade. Com o início do recozimento, os cristais mais imperfeitos irão fundir e assim aumenta a distância entre os cristais mais estáveis. Segundo Owen *et al.* [55], parte desses cristais instáveis que fundiram se recristalizam de maneira estável. Assim podemos ter ao final do tratamento lamelas mais espessas, mais distantes entre si. Esse processo de fusão e recristalização é rápido devido ao efeito nucleante do próprio PHB [23, 53, 79]. Fontaine *et al.* [77] também observaram para o PET semicristalino uma diminuição de domínios cristalinos imperfeitos com o recozimento, e concluíram que este tratamento é responsável por ordenar e suavizar a interface cristalino-amorfo [77].


Figura 47 - Esquema morfológico para o PHB envelhecido. Adaptado de [77, 81].

A idéia do recozimento nesse trabalho é, portanto, diminuir a quantidade de restrições da fase amorfa, reduzindo e suavizando a interface cristalino-amorfo, por meio da fusão dos cristais com mais defeitos, para aumentar a dissipação de energia e também diminuir o efeito do envelhecimento.

Para verificar a hipótese descrita acima, é preciso analisar em conjunto os resultados de DSC e SAXS para as amostras recozidas.

5.3.2. DSC

Como observado por outros autores, o recozimento trouxe uma tendência de aumento de cristalinidade para os três materiais, em todas as condições de tempo e temperatura (Figura 48) [23, 78, 81]. Aqui vale lembrar que os valores são referentes apenas à fração de material cristalizável, no caso o PHB, que corresponde a 70% na blenda e 90% na composição com plastificante. Em quase todos os casos o tratamento mais longo gerou a maior cristalinidade do que o material envelhecido, com valores ligeiramente maiores para os materiais tratados a 125°C.



Figura 48 - Variação do grau de cristalinidade com os recozimentos a 110°C e a 125°C para a fração de PHB presente em cada um dos três materiais testados.

Além do grau de cristalinidade, o recozimento trouxe alteração na temperatura de fusão dos materiais. A Figura 49 mostra as curvas obtidas para o PHB/Plastificante não-recozido e para o mesmo material recozido a 110°C por 1000 minutos e a 125°C por 1000 minutos. Nos picos de fusão estão indicadas as temperaturas de fusão. Nas duas condições apresentadas houve um acréscimo de cerca de 4 graus nessa grandeza. Um aumento na temperatura de fusão e um estreitamento relativo do pico de fusão da amostras recozidas são indicações de espessamento das lamelas, distribuição mais uniforme das espessuras e menor densidade de defeitos, o que em geral leva a melhores propriedades mecânicas [78].

PHB/Plastificante



Figura 49 - Endotermas de fusão para o PHB/Plastificante não-recozido e recozido em duas condições de tempo e temperatura, indicadas em cada curva.

5.3.3. SAXS

Os resultados de SAXS indicam alteração da morfologia lamelar após os tratamentos de recozimento, devido ao deslocamento do $q_{máx}$ para valores menores comparando as amostras recozidas com a envelhecida sem recozimento. As curvas mostradas na Figura 50 indicam essas alterações para o PHB/Plastificante. Os outros materiais apresentaram comportamento análogo e suas curvas encontram-se em anexo (Figuras B.3 e B.4).

Pela relação apresentada anteriormente, uma diminuição do $q_{máx}$ significa um aumento do período longo *L*, o que pode ser uma evidência da hipótese de que os pequenos cristais formados durante o envelhecimento são eliminados no recozimento e aumentam o espaçamento.



Figura 50 - Resultado de SAXS para o PHB/Plastificante em diversas condições de recozimento

A alteração do período longo, da espessura lamelar e da espessura interlamelar, de acordo com as diversas condições de recozimento é ilustrada na Figura 51 para a blenda PHB/PEMAGMA. O resultado para as outras composições foi análogo e encontra-se em anexo (Figuras B.5). O tempo *zero* corresponde ao material envelhecido antes do recozimento. Todas as condições testadas geram um aumento significativo de L, sendo que a temperatura de 125°C resultou em aumentos maiores. Como visto anteriormente, o grau de cristalinidade aumentou em praticamente todos os casos, paralelamente ao aumento do período longo. Dessa maneira, a espessura lamelar l_c seguiu tendência similar à variação desses parâmetros. Houve espessamento das lamelas, resultado que já foi observado em literatura [23, 78].



Figura 51 - Variação do período longo (L), espessura lamelar e espessura interlamelar em função do tempo e temperatura de recozimento para o PHB/PEMAGMA

Os resultados confirmam a hipótese de que o recozimento aumenta a espessura das lamelas cristalinas e com isso há aumento na cristalinidade final. Pelos cálculos não houve grande alteração nos valores da espessura interlamelar.

5.3.4. Microscopia Óptica

A técnica de microscopia óptica foi usada para observar o efeito do recozimento sobre a estrutura esferulítica dos materiais. A Figura 52 mostra um esferulito de PHB puro em seu estado envelhecido, aquecido a 110°C e aquecido a 125°C ((a), (b) e (c), respectivamente). Owen *et al.* [55] verificaram que ocorrem mudanças estruturais bem abaixo do ponto de fusão do PHB, mas que estas não podem ser observadas por microscopia óptica. Como nos resultados abaixo, há apenas uma mudança de birrefringência que altera as cores, e indica algum tipo de movimentação interna.



(a) envelhecido

(b) aquecido a 110°C

(c) aquecido a 125°C

Figura 52 - Esferulito de PHB puro cristalizado a 85°C e (a) envelhecido, (b) aquecido a 110°C e (c) aquecido a 125°C. Aumento de 50 vezes

A observação sob ampliação maior para observação das bandas dos esferulitos revelou que não há alteração após o tratamento térmico de recozimento. A Figura 53, ilustra em detalhes uma região de um esferulito do PHB/Plastificante antes e após o tratamento a 110°C por 100 minutos que revela imagens praticamente iguais. Comportamento similar foi observado para os outros materiais, o que mostra que as mudanças morfológicas não podem ser observadas pela escala "esferulítica" e se restringem ao interior da estrutura lamelar.



(a) envelhecido



(b) recozido a 110°C por 100 min

Figura 53 - Imagem das bandas dos esferulitos do PHB/Plastificante cristalizado a 85°C e (a) envelhecido ou (b) recozido por 100 minutos a 110°C. Aumento de 200 vezes

A Figura 54 mostra as mudanças ocorridas com o recozimento para a microestrutura da blenda PHB/PEMAGMA. A região amorfa escura na forma de "veios", pouco presente na amostra envelhecida, aumenta com o recozimento e com a temperatura em que o tratamento foi realizado.



Figura 54 - Microscopia óptica da blenda PHB/PEMAGMA cristalizada a 85°C e (a) envelhecida, (b) recozida a 110°C por 100 min e (c) recozida a 125°C por 100 min. Aumento de 100 vezes

5.3.5. Propriedades Mecânicas

A Figura 55 apresenta os resultados das análises de DMA para os três materiais estudados, sem recozimento e envelhecidos ou recozidos na condição extrema de 125° C por 1000 minutos. A tangente de delta (δ) e o módulo de armazenamento E' estão representados em função da temperatura. É possível observar uma queda no módulo de armazenamento das amostras recozidas em relação à amostra não-recozida. No caso do PHB/Plastificante, contudo, o módulo da amostra recozida só fica menor por volta de 40°C. A tangente de δ teve aumento significativo com o recozimento para o PHB puro e para a blenda, e menos intenso para o PHB/plastificante. As duas tendências indicam maior capacidade de relaxação [23].



Figura 55 - Espectro dinâmico-mecânico das amostras envelhecidas e recozidas na condição extrema de 125°C por 1000 minutos

Um aumento na cristalinidade geralmente resulta em um aumento no módulo de elasticidade. Ao analisar os efeitos de um recozimento sobre blendas de Poli(ácido lático) (PLA), Oyama [71] observou um aumento de cristalinidade de 5 para 40% que acarretou em queda do alongamento e acréscimo no módulo de elasticidade. Porém, pelos ensaios de tração do presente trabalho (Figuras 56 e 57) é possível observar uma diminuição do módulo das amostras recozidas, apesar do aumento da cristalinidade. Resultado análogo foi verificado para o PHB puro por de Koning *et al.* [23]. O alongamento na ruptura também segue a mesma tendência, com aumento significativo, principalmente no caso da blenda PHB/PEMAGMA. Sabendo de maneira análoga que a tangente de δ aumentou com a diminuição da fração amorfa, pode-se concluir que a região amorfa restante, apesar de estar presente em menor fração, é capaz de dissipar mais energia.

É interessante observar também a diminuição da temperatura de transição vítrea (pico da curva tangente de δ) da amostras recozidas em relação às envelhecidas, que mostra que o material recozido precisa de menos energia térmica para que suas cadeias amorfas comecem a ter mobilidade, ou seja, as cadeias possuem maior mobilidade. O valor mais baixo da T_g do PHB/Plastificante também revela uma maior mobilidade, o

que contribui para que o envelhecimento seja menos severo para essa composição. Com isso a diferença de resultados entre amostras recozidas e envelhecidas é menor nesse caso, como evidenciado pelas curvas.



Figura 56 - Resultados do ensaio de tração para o PHB/Plastificante não recozido e após o recozimento



Figura 57 - Resultados do ensaio de tração para o PHB/PEMAGMA não recozido e após o recozimento

É interessante observar também pelas Figuras 56 e 57, que após o armazenamento da amostras recozidas, pelo mesmo período de tempo no qual a amostra sem recozimento foi testada, o material sofre um efeito muito brando de um novo envelhecimento, com um pequeno aumento do módulo de elasticidade e queda no alongamento. De Koning e Lemstra [22] obtiveram resultados semelhantes para o PHB puro, quando o recozimento foi realizado por dez horas (Figura 23). Quando o tempo de tratamento foi curto (poucos minutos) a fragilização ocorreu novamente e a amostra recozida envelheceu até apresentar comportamento semelhante ao da amostra não-recozida [22]. Aoyagi, Doi e Iwata [76] estudaram o recozimento de filmes de PHB de ultra-alta massa molar obtidos via solução e uma espécie de "estiramento" (em inglês *drawing*). O estudo constatou que as propriedades mecânicas dos filmes recozidos se mantém praticamente constantes, comparando uma amostra recozida envelhecida por três dias e outra por sessenta [76].

5.3.6. Biodegradação

Morfologia esferulítica

A primeira etapa dos ensaios de respirometria foi realizada para avaliar a influência das dimensões dos esferulitos na biodegradação do PHB puro. Kumagai, Kanesawa e Doi [89] observaram que a taxa de biodegradação do PHB puro diminui com um aumento de cristalinidade, porém é pouco influenciada pelo tamanho dos esferulitos [89]. Já um estudo realizado por Calvão [34], sobre blendas de PHB com EPDM e PVB, constatou que a perda de massa durante a biodegradação foi maior nas blendas do que no PHB puro. O resultado foi atribuído à diminuição do tamanho dos esferulitos da fase PHB dentro das misturas, que causa um aumento da área interfacial nos seus contornos. Nesta região, há uma maior quantidade de fase amorfa, o que pode ter facilitado o acesso das enzimas às cadeias poliméricas [34].

A Figura 58 mostra a diferença, por microscopia óptica, entre as dimensões das duas amostras testadas, chamadas de esferulitos "grandes" ou "pequenos". Os maiores foram cristalizados isotermicamente a 100°C por 15 minutos para garantir a cristalização completa e os menores foram resfriados em água. As duas amostras foram então envelhecidas por aproximadamente 10 dias. A cristalinidade e a temperatura de fusão dos materiais foram obtidas por DSC e são apresentadas na Tabela 5.



Figura 58 - Micrografias por microscopia ótica das amostras dos (a), (b) esferulitos grandes; (c), (d) esferulitos pequenos. As imagens (a), (b) e (c) foram feitas com aumento de 50x, e a imagem (d) com aumento de 500x

Tabela 5 - Características principais das amostras com dimensões esferulíticas diferentes

Amostra	Cristalinidade (%)	T _m (° C)
Esferulito grande	61,5	167
Esferulito pequeno	61,8	171

Em cada respirômetro com amostra foi inserido apenas um filme feito no estágio a quente, como descrito na seção 4.3, de cerca de 20 mg e espessura de 0,2 mm. Esse método de produzir os filmes foi escolhido por propiciar maior controle das condições de cristalização, o que resulta em maior homogeneidade microestrutural. Isso é importante principalmente no caso da blenda PHB/PEMAGMA. Sabe-se que em misturas poliméricas injetadas em geral existe um perfil de morfologia onde as camadas externas são constituídas principalmente pelo material matriz [90]. Essa característica pode gerar interpretações errôneas dos resultados de biodegradação, já que se trata de um fenômeno superficial. Devido a pouca quantidade de material usada em cada filme, um dos possíveis problemas seria uma emissão muito parecida entre os respirômetros de controle e os respirômetros com amostra. A Figura 59 mostra os resultados brutos médios, a cada semana. Pela figura é possível notar que a diferença de emissão entre as amostras e o controle não foi muito grande, todavia os respirômetros com amostra sempre emitiram mais CO₂. Vale ressaltar também que a diferença de emissão entre as amostras e o controle diminuiu ao longo do tempo, o que pode indicar que a maior parte da amostra foi consumida. A emissão de todos os respirômetros também caiu com o passar das medidas e devido a isso o ensaio foi encerrado.



Figura 59 - Emissão de CO₂ por semana para as três amostras

A Figura 60 mostra os resultados acumulados com a exclusão dos valores do controle do valor total emitido pelas amostras. Por essa escala fica claro aqui que, apesar da diferença não ser grande, os esferulitos pequenos emitiram mais CO_2 durante o período analisado.



Figura 60 - Emissão de CO2 "líquida", excluindo a contribuição da terra

Os valores apresentados na Tabela 5 revelam que as duas amostras apresentaram valores de cristalinidade total muito próximos, o que descarta a hipótese de que a amostra com esferulitos pequenos degradaria de maneira mais rápida por possuir maior fração amorfa. A diferença deve estar ligada a características morfológicas, como a maior área interfacial [34]. A diferença de cerca de quatro graus na temperatura de fusão (Tabela 5), é uma evidência de que as lamelas cristalinas da amostra com esferulitos pequenos são em média mais espessas. Como o grau de cristalinidade é praticamente o mesmo, a fração amorfa deve ser maior nas regiões entre os esferulitos, o que pode facilitar a ação dos microorganismos.

Por esse estudo não é possível concluir sobre a influência isolada da morfologia lamelar, já que as amostras são muito distintas em escala esferulítica.

Morfologia lamelar (amostras recozidas)

A segunda etapa do estudo de biodegradação consistiu em avaliar se as diferenças na morfologia lamelar causadas pelo recozimento resultariam em diferenças mensuráveis pelo estudo de respirometria, partindo de materiais com dimensões esferulíticas semelhantes. As amostras foram recozidas na condição extrema (mil minutos a 125°C).

A Figura 61 apresenta os resultados gerais acumulados para todas as amostras estudadas: PHB, PHB/Plastificante, PHB/PEMAGMA, recozidas e não-recozidas, e respirômetros de controle sem amostra. Apesar de ter sido utilizado o mesmo tipo de composto da primeira parte do estudo de biodegradação, nessa etapa houve uma menor emissão total de CO₂. A diferença entre a quantidade emitida pelas amostras em relação ao controle também foi menor nesse caso. O composto de solo, adubo e areia apresenta alta complexidade e pode possuir maior/menor concentração de microorganismos ou nutrientes mesmo vindo da mesma fonte. Com isso, o ensaio de respirometria em geral produz desvios consideráveis mesmo entre amostras iguais [26].



Figura 61 - Emissão de CO_2 acumulada durante o período total do ensaio para as amostras recozidas (rec) ou não-recozidas

Excluindo a quantidade de CO_2 emitida pelo controle, obtêm-se os resultados apresentados pela Figura 62. Apesar dos desvios consideráveis entre as medidas para cada série de três respirômetros, é possível observar algumas tendências. O eixo de emissão zero corresponde ao controle e foi definido como o limite para todas as composições. Em algumas medidas a quantidade de CO_2 gerada nos respirômetros que contém amostras foi menor do que a gerada nos respirômetros de controle, o que pode ser atribuído à inibição da atividade microbiana do solo na presença da amostra [91]. Para as amostras PHB/PEMAGMA não-recozida, PHB/Plastificante não-recozida e PHB/Plastificante recozida, não foi possível inferir qualquer conclusão a partir destes resultados de respirometria, pois os valores de emissão foram muito semelhantes aos obtidos pelo controle. Com valores de emissão ligeiramente superiores encontram-se as amostras da blenda PHB/PEMAGMA recozida e do PHB não-recozido. E o material que apresentou maior quantidade de CO₂ emitido durante o período estudado foi o PHB puro recozido.



Figura 62 - Emissão de CO₂ "líquida", excluindo a contribuição da terra para as amostras recozidas (rec) ou não-recozidas

Morse *et al.* [78] estudaram amostras de P(3HB-3HH) em diversos teores, recozidos ou não. O estudo observou que as amostras recozidas têm taxa de biodegradação maior no início, e que as amostras não-recozidas, apesar de possuírem maior fração amorfa, apresentaram menor grau de degradação. Tal comportamento teria ocorrido devido à formação de vazios durante o recozimento que facilitariam a difusão das enzimas secretadas pelos microorganismos [78]. Por outro lado, o estudo de Abe *et al.* [92] mostrou que a taxa de biodegradação diminui para o PHB puro proporcionalmente ao aumento da espessura cristalina.Ao se considerar as diferenças entre os ensaios realizados por diferentes pesquisadores [78, 92], seus resultados

díspares e mesmo as deficiências do método respirométrico, fica claro que a análise de biodegradação não pode se basear apenas em uma medida indireta como a quantidade de CO₂ produzida.

A análise visual das amostras biodegradadas revelou, primeiramente a olho nu, regiões escuras em algumas das superfícies degradadas, como mostra a Figura 63 para uma amostra de PHB puro com esferulitos grandes, produzida especialmente para visualização em microscopia óptica (filmes translúcidos sobre placa de vidro). Características semelhantes já foram observadas por Sadi [26], que estudou blendas PP/PHB, e por Okamoto, que observou manchas na superfície de nanocompósitos de PBS após a biodegradação e as atribuiu ao ataque de fungos [93].



Figura 63 - Imagem das manchas observadas na superfície do PHB puro após 7 dias de contato com o composto usado nos ensaios de biodegradação

A Figura 64 mostra as imagens, obtidas por microscopia eletrônica de varredura, da superfície dos filmes de PHB puro e PHB/Plastificante após 60 dias de ensaio. É possível observar a erosão da superfície em todos os casos, o que indica que houve biodegradação também nas composições cujos resultados de respirometria não foram conclusivos. Apesar disso, as amostras de PHB puro apresentaram visualmente degradação em estágio mais avançado. O PHB puro recozido, que emitiu mais CO₂ no ensaio de respirometria, também foi o material que aparenta ter sofrido maior degradação, com algumas regiões altamente erodidas como mostra a Figura 65.



Figura 64 - Morfologia após 60 dias de ensaio de biodegradação do: (a) PHB não-recozido, (b) PHB recozido, (c) PHB/Plastificante não recozido e (d) PHB/Plastificante recozido. O recozimento a 125°C por 1000 minutos. Aumento de 3500 vezes

A degradação enzimática parece ocorrer primeiramente nas regiões amorfas e então se espalhar pelos domínios cristalinos [78, 92]. Como observado por Morse *et al.* [78] a biodegradação serve como mecanismo de contraste, ou seja, revela a estrutura semicristalina durante a sua ocorrência [34, 43, 78]. Em alguns casos é possível observar uma zona erodida na região central do esferulito, como na Figura 66. Esse fenômeno pode ser explicado por imperfeições no empilhamento das lamelas cristalinas

perto do ponto de nucleação, que leva a ataque enzimático preferencial nessa região [78].



Figura 65 - Região com degradação avançada da superfície do PHB puro recozido. Aumento de 3500 vezes



Figura 66 - Detalhe de um esferulito do PHB/Plastificante não-recozido após biodegradação

As características morfológicas da blenda PHB/PEMAGMA são bem distintas das dos outros materiais, como mostra a Figura 67. Não é possível observar esferulitos,

mas a superfície degradada ajuda a revelar a morfologia da blenda, em comparação com a blenda não-biodegradada, que apresenta uma superfície "plana" (Figura 67 (a)). Imagens com semelhanças às obtidas aqui foram reportadas para blendas PLA/PBAT¹² e PEAD¹³/PET quando compatibilizadas com materiais que continham o grupo metacrilato de glicidila (GMA) [94, 95]. Os vazios podem ser causados tanto pela degradação da fração biodegradável ou por uma possível fraca adesão entre fases [95]. O consumo seletivo da porção biodegradável já foi observado para blendas ou compósitos entre componentes biodegradáveis e não-biodegradáveis [26, 96]. Neste trabalho, como se trata de uma mistura reativa não é possível ter certeza pela imagem qual região corresponde ao PEMAGMA, PHB ou ao produto da reação entre eles.

 ¹² PBAT - Polibutileno adipato co-tereftalato
¹³ PEAD – Polietileno de alta densidade



Figura 67 - Morfologia da blenda PHB/PEMAGMA (a) sem biodegradação e após 60 dias de ensaio de biodegradação para amostra: (b) não-recozida, (c) recozida a 125°C por 1000 minutos. Aumento de 1000 vezes

6. Conclusões

Envelhecimento

O estudo ao longo do tempo revelou que o PHB puro sofre um processo de envelhecimento, que é uma das razões principais para a fragilidade marcante desse polímero. Os resultados de DSC revelaram que há um aumento de cristalinidade e a análise morfológica por SAXS mostrou que não há alteração no valor do período longo. Contudo, o cálculo da espessura cristalina pelo modelo ideal de duas fases revelou um aumento ao longo do tempo, como uma conseqüente diminuição da espessura amorfa, o que pode ter influenciado o desempenho mecânico, que sofreu efeito deletério à medida que o material envelheceu.

Para a blenda PHB/PEMAGMA os efeitos do envelhecimento seguiram a mesma tendência apresentada pelo PHB puro, com a diferença de que no caso da blenda o aumento de cristalinidade e a deterioração de propriedades ocorreram mais rapidamente, estabilizando antes do que no caso do PHB puro. Os valores de espessura lamelar e interlamelar, considerando apenas a fração de PHB na blenda, foram praticamente os mesmos do PHB puro.

No caso do PHB com plastificante, o efeito do envelhecimento foi claramente menos intenso. Suas propriedades mecânicas se deterioraram menos com o tempo. O maior período longo e menor cristalinidade são indícios de que o material possui menor quantidade de interface cristalino-amorfo e provavelmente região amorfa mais espessa. O cálculo a partir dos resultados de SAXS revelou que tanto a espessura lamelar e a interlamelar são maiores, o que confirma a hipótese de uma morfologia lamelar mais grosseira.

Podemos classificar os materiais em função da resistência ao envelhecimento dessa maneira: PHB/Plastificante > PHB/PEMAGMA > PHB puro.

Recozimento

O recozimento trouxe aumento de cristalinidade e aumento da temperatura de fusão para todos os materiais, o que indica um espessamento das lamelas cristalinas. Os ensaios de SAXS revelaram um aumento significativo do período longo e, com o cálculo das espessuras, confirmou-se o espessamento das lamelas cristalinas e a manutenção da espessura interlamelar. A observação dos materiais por microscopia óptica não revelou diferenças marcantes entre as amostras recozidas e não-recozidas, apenas uma mudança na birrefringência.

Os ensaios mecânicos foram realizados apenas na condição extrema de 125° por 1000 minutos. A tangente de delta aumentou significativamente para as amostras recozidas enquanto o módulo de armazenamento diminuiu. Essas alterações foram menos intensas para o PHB/Plastificante. Sabendo também que a fração amorfa diminui com o recozimento, pode-se concluir que a fase amorfa restante tem mais capacidade de dissipar energia.

Os resultados dos ensaios de tração confirmaram que as amostras recozidas apresentam desempenho mecânico superior em relação às amostras envelhecidas, com resistência semelhante e maior alongamento. A blenda PHB/PEMAGMA, em particular, apresentou comportamento dúctil após o recozimento com alongamento cerca de seis vezes maior do que a blenda envelhecida. A análise de um possível novo envelhecimento das amostras recozidas revelou uma perda muito pequena de propriedade em comparação com envelhecimento inicial. Assim, o recozimento provou ser um método eficaz para diminuir a fragilidade de materiais baseados em PHB. Após tratadas termicamente, os materiais podem ser reclassificados pelo desempenho mecânico: PHB/PEMAGMA > PHB/Plastificante > PHB puro.

Biodegradação

Testes preliminares de biodegradação revelaram que um material com morfologia esferulítica mais "fina" é degradado mais rapidamente. As duas amostras (esferulitos "grandes" e "pequenos") apresentaram valores de cristalinidade total praticamente iguais, o que descarta a hipótese de que a amostra com esferulitos pequenos degradaria de maneira mais rápida por ser menos cristalina. A diferença de biodegradação deve estar relacionada com a maior área superficial dessa amostra.

A segunda parte do estudo de respirometria revelou que o PHB puro recozido foi o material que liberou maior quantidade de CO₂, seguido pelo PHB puro não-recozido juntamente com blenda PHB/PEMAGMA recozida. Para os outros materiais não foi possível medir precisamente, pois a emissão foi similar à dos respirômetros de controle sem amostra. O ensaio apresentou desvios altos e assim esses resultados não são muito conclusivos. As imagens das superfícies degradadas por MEV mostrou níveis de erosão superficial em todas as amostras, e revelou a morfologia esferulítica para o PHB puro e PHB/Plastificante. Seguindo a tendência dos testes de respirometria, o PHB puro recozido foi o material que apresentou regiões com nível mais avançado de degradação. A morfologia da blenda PHB/PEMAGMA também foi revelada pela biodegradação e apresentou características similares às de alguns casos de compatibilização reativa [94, 95].

7. Referências Bibliográficas

³ Leblanc, N., Saiah, R., Beucher, E., Gattin, R., Castandet, M., Saiter, J.-M. Structural investigation and thermal stability of new extruded wheat flour based polymeric materials. Carbohydrate Polymers 73 (2008) 548–557

⁴ El-Hadi, A., Schnabel, R., Straube, E., Muller, G., Henning, S. Correlation between degree of crystallinity, morphology, glasss temperature, mechanical properties and biodegradation of poly (3-hydroxyalkanoate) PHAs and their blends. Polymer Testing 21 (Alemanha) (2002) 665-674.

⁵ Choi, J. S., Park, W. H. Effect of biodegradable plasticizers on thermal and mechanical properties of poly(3-hydroxybutyrate). Polymer Testing 23 (2004) 455–460.

⁶ Freier, T., Kunze, C., Nischan, C., Kramer, S., Sternberg, K., Sab, M., Hopt, U. T., Schmitz, K.-P. In vitro and in vivo degradation studies for development of a biodegradable patchbased on poly(3-hydroxybutyrate). Biomaterials 23 (2002) 2649–2657.

⁷ Janigová, I., Lacík, I., Chodák, I. Thermal degradation of plasticized poly(3-hydroxybutyrate) investigated by DSC. Polymer Degradation and Stability 77 (2002) 35–41.

⁸ Kunze, C., Bernd, H. E., Androsch, R., Nischan, C., Freier, T., Kramer, S., Kramp, B., Schmitz, K.-P. In vitro and in vivo studies on blends of isotactic and atactic poly(3-hydroxybutyrate) for development of a dura substitute material. Biomaterials 27 (2006) 192–201.

⁹ Ronqui, C. L., de Jesus, R. C., Innocentini-Mei, L. H. ESTUDO PARA ESTABELECIMENTO DAS MELHORES CONDIÇÕES DE PROCESSAMENTO DO PHB E DE SUAS BLENDAS COM FIBRAS NATURAIS À BASE DE SISAL. VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação científica 2005.

¹⁰ McChalicher, C.W.J., Srienc. F. Investigating the structure–property relationship of bacterial PHA block copolymers. Journal of Biotechnology 132 (2007) 296–302.

¹¹ Cheng, M.-L., Sun, Y.-M.Relationship between free volume properties and structure of poly(3hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) membranes via various crystallization conditions. Polymer 50 (2009) 5298–5307.

¹² Tanaka, T., Fujita, M., Takeushi, A., Suzuki, Y., Uesugi, K., Doi, Y., Iwata. T. Structure investigation of narrow banded spherulites in polyhydroxyalkanoates by microbeam X-ray diffraction with synchrotron radiation. Polymer 46 (2005) 5673–5679.

¹³ Hay, J. N., Sharma, L. Crystallisation of poly(3-hydroxybutyrate)/polyvinyl acetate blends. Polymer 41 (2000) 5749–5757

¹⁴ Pederson, E. N., McChalicher, C. W. J., Srienc, F. Bacterial Synthesis of PHA Block Copolymers. Biomacromolecules 2006, 7, *1904-1911*.

¹ Stevens, E. S. Green Plastics: an introduction to new science of biodegradable plastics. Princeton University Press, 2002.

² Evans, J. Bioplastics get growing. Plastics Engineering, February 2010. Society of Plastics Engineers.

¹⁵ Maiti, P., Batt, C. A., Giannelis, E. P. New biodegradable Polyhydroxybutyrate/Layered Silicate Nanocomposites. Biomacromolecules 2007, 8, 3393 – 3400.

¹⁶ Lim, S. T., Hyun, Y. H., Lee, C. H., Choi, H. J. Preparation and characterization of microbial biodegradable poly(3-hydroxybutyrate)/organoclay nanocomposite. Journal Of Materials Science Letters 22, 2003, 299–302.

¹⁷ Erceg, M., Kovačić, T., Klarić, I. Poly(3-hydroxybutyrate) nanocomposites: Isothermal degradation and kinetic analysis. Thermochimica Acta 485 (2009) 26–32.

¹⁸ Erceg, M., Kovačić, T., Perinović, S. Kinetic analysis of the non-isothermal degradation of poly(3-hydroxybutyrate) nanocomposites. Thermochimica Acta 476 (2008) 44–50.

¹⁹ Hablot, E., Bordes, P., Pollet, E., Avérous, L. Thermal and thermo-mechanical degradation of poly(3hydroxybutyrate)-based multiphase systems. Polymer Degradation and Stability 93 (2008) 413-421.

²⁰ Lee, S., Park, H., Lim, H., Kang, T., Li, X., Cho, W., Ha, C. Microstructure, tensile properties, and biodegradability of aliphatic polyester/clay nanocomposites. Polymer 43 (2002) 2495-2500.

²¹ de Koning, G. J. M., Lemstra, P. J., Hill, D. J. T., Carswell, T. G., O'Donnel, J. H. Ageing phenomena in bacterial poly[(R)-3-hydroxynutyrate]: 1. A study on the mobility in poly [(R)-3-hydroxybutyrate] powders by monitoring the radical decay with temperature after γ-radiolysis at 77 K. Polymer, 1992, Volume 33, number 15, 3295-3297.

²² de Koning, G. J. M. and Lemstra, P. J. Crystallization phenomena in bacterial poly[(R)-3hydroxybutyrate]: 2. Embrittlement and rejuvenation. POLYMER, 1993, Volume 34, Number 19 4089-4094.

²³ de Koning, G. J. M., Scheeren, A. H. C., Lemstra, P. J., Peeters, M., Reynaers, H. Crystallization phenomena in bacterial poly[(R)-3- hydroxybutyrate]: 3. Toughening via textures changes. POLYMER, 1993, Volume 35, Number 21 4598-4605.

²⁴ Homes, P. A. Biologically Produced (R)-3-Hydroxyalkanoate Polymers and Copolymers. Cap 1 Developments in Crystalline Polymers – 2 DC Basset. 1988 Pág 1 - 65

 25 Lemoigne, M. Études sur l'autolyse microbienne acidification par formation d'acide β -oxybutyrique. Ann. Inst. Pasteur. 1925. Vol. 39, Pag.144.

²⁶ Sadi, Roberta Kalil. Estudo da compatibilização e da degradação de blendas polipropileno/poli(3hidroxibutirato) (PP/PHB). Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, Escola Politécnica, Engenharia Metalúrgica e de Materiais. São Paulo, 2010. Disponível em www.teses.usp.br.

²⁷ Siracusa, V., Rocculi, P., Romani, S., Dalla Rosa, M. Biodegradable polymers for food packaging: a review. Trends in Food Science & Technology 19 (2008) 634-643

²⁸ Bucci, D. Z., Tavares, L. B. B., Sell, I. PHB packaging for the storage of food products. Polymer Testing 24 (2005) 564–571

²⁹ Hänggi, U. J. Requirements on bacterial polyesters as future substitute for conventional plastics for consumer goods. FEMS Microbiology Reviews 16 (1995) 213-220

³⁰ Relatório sobre bioplásticos da *Home Grown Cereals Authority (HGCA)* – presente em <u>http://www.hgca.com/publications/documents/Bioplastics_web28409.pdf</u>. Última visualização em 28/01/11.

³¹ Zhang, X., Lin, G., Abou-Hussein, R., Hassan, M. K., Noda, I., Mark, J. E. Some novel layeredsilicate nanocomposites based on a biodegradable hydroxybutyrate copolymer. European Polymer Journal 43 (2007) 3128–3135.

³² Bucci, D. Z., Tavares, L. B. B., Sell, I. Biodegradation and physical evaluation of PHB packaging. Polymer Testing 26 (2007) 908–915.

³³ Lucas, N., Bienaime, C., Belloy, C., Queneudec, M., Silvestre, F., Nava-Saucedo, J. Polymer Biodegradation: Mechanisms and estimation techniques – Review. Chemosphere 73 (2008) 429 – 442.

³⁴ Calvão, Patrícia Schmid. Tenacificação do PHB através de mistura com borracha EPDM. Tese de Doutorado. Escola Politécnica, Engenharia Metalúrgica e de Materiais. São Paulo, 2009.

³⁵ Bordes, P., Pollet, E., Avérous. Biodegradable polyester/nanoclay systems. Progress in Polymer Science 34 (2009) 125-155.

³⁶ Yang, H.-S., Yoon, J.-S., Kim, M.-N. Dependence of biodegradability of plastics in compost on the shape of specimens. Polymer Degradation and Stability 87 (2005) 131e135

³⁷ Fechine, G. J. M., Rosa, D. S., Rezende, M. E., Demarquette, N. R. Effect of UV Radiation and Pro-Oxidant on PP Biodegradability. Polymer Engineering and Science, 2009, 123-128.

³⁸ Weng, Y.-X., Wang, Y., Wang, X.-L., Wang, Y.-Z. Biodegradation behavior of PHBV films in a pilotscale composting ondition. Polymer Testing 29 (2010) 579–587

³⁹ Haudin, J.-M. Chapitre VIII – Microstructure des Polymeres. Disponível em <u>http://mms2.ensmp.fr/mat_paris/microstructure/polycop/Ch_8_Micro_Polymeres.pdf</u>. Última visualização em 28/01/11.

⁴⁰ Basset, D. C. Principles of Polymer Morphology. Cambridge University Press. 1981

⁴¹ Barham, P. J., Keller, A., Otun, E. L., Holmes, P. A. Crystallization and morphology of a bacterial thermoplastic: poly-3-hydroxybutyrate. Journal of Materials Science 19 (1984) 2781-2794

⁴² Mezghani, K., Campbell, R. A., Phillips, P. J. Lamellar thickening and the equilibrium melting point of polypropylene. Macromolecules 1994, 27, 997-1002.

⁴³ Avella, M., Martuscelli, E., Raimo, M. Review - Properties of blends and composites based on poly(3-hydroxy)butyrate (PHB) and poly(3-hydroxybutyrate-hydroxyvalerate) (PHBV) copolymers. Journal of Materials Science 35 (2000) 523–545

⁴⁴ Verhoogt, H., Ramsay, B. A., Favis, B. D. Polymer blends containing poly(3-hydroxyalkanoate)s.
Polymer Volume 35 Number 24 1994

⁴⁵ Wang, Z.-G., Hsiao, B. S., Fu, B. X., Liu, L., Yeh, F., Sauer, B. B., Chang, H., Schultz, J. M. Correct determination of crystal lamellar thickness in semicrystalline poly(ethylene terephthalate) by small-angle X-ray scattering. Polymer 41 (2000) 1791–1797

⁴⁶ Plivelic, T. S., Cassu, S. N., Gonçalves, M. C., Torriani, I. L. Structure and Morphology of $Poly(\epsilon$ caprolactone)/Chlorinated Polyethylene (PCL/PECl) Blends Investigated by DSC, Simultaneous SAXS/WAXD, and Elemental Mapping by ESI-TEM. Macromolecules 2007, 40, 253-264.

⁴⁷ Verma, R., Marand, H., Hsiao, B. Morphological Changes during Secondary Crystallization and Subsequent Melting in Poly(ether ether ketone) as Studied by Real Time Small Angle X-ray Scattering. Macromolecules 1996, 29, 7767-7775 ⁴⁸ Hsiao, B. S., Verma, R. K. A Novel Approach to Extract Morphological Variables in Crystalline Polymers from Time-Resolved Synchrotron SAXS Data. J. Synchrotron Rad. (1998). 5, 23-29

⁴⁹ El-Taweel, S. H., Höhne, G. W. H., Mansour, A. A., Stoll, B., Seliger, H. Glass transition and the rigid amorphous phase in semicrystalline blends of bacterial polyhydroxybutyrate PHB with low molecular mass atactic R, S-PHB-diol. Polymer 45 (2004) 983–992

⁵⁰ Androsch, R. Melt-crystallization, glass transition and morphology of a (R)-3-hydroxybutyrate pentamer. European Polymer Journal 43 (2007) 93–108

⁵¹ Barham, P. J., Keller, A. The Problem of thermal expansion in polyethylene spherulites. Journal of Materials Science 12 (1977) 2141-2148

⁵² Fraschini, C., Plesu, R., Sarasua, J.-R., Prud'Homme, R. E. Cracking in Polylactide Spherulites. Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics, Vol. 43, 3308–3315 (2005)

⁵³ Barham, P. J. Nucleation behaviour of poly-3-hydroxy-butyrate. Journal of Materials Science 19 (1984)3826-3834

⁵⁴ Barham, P. J., Keller, A., The Relationship between Microstructure and Mode of Fracture in Polyhydroxybutyrate. Journal of Polymer Science: Polymer Physics Edition, Vol. 24, 69-77 (1986)

⁵⁵ Owen, A. J., Heinzel, J., Škrbić, Ž., Divjaković, V. Crystallization and melting behaviour of PHB and PHB/HV copolymer. POLYMER, 1992, Volume 33, Number 7 1563

⁵⁶ Xu, J., Ma, Y., Hu, W., Rehahn, M., Reiter, G. Cloning polymer single crystals through self-seeding. Nature Materials Vol 8 (april 2009) 348-353.

⁵⁷ Sarzi, A. C., Felisberti, M. I. Efeito da adição de agentes de nucleação na cristalização do poli[(R)-3hidroxibutirato], PHB. 10° Congresso Brasileiro de Polímeros, 2009.

⁵⁸ Liu, W. J., Yang, H. L., Wang, Z., Dong, L. S., Liu, J. J. Effect of Nucleating Agents on the Crystallization of Poly(3-Hydroxybutyrate-co-3-Hydroxyvalerate). Journal of Applied Polymer Science, Vol. 86, 2145–2152 (2002)

⁵⁹ Dong, T., Mori, T., Aoyama, T., Inoue, Y. Rapid crystallization of poly(3-hydroxybutyrate-co-3hydroxyhexanoate) copolymer accelerated by cyclodextrin-complex as nucleating agent. Carbohydrate Polymers 80 (2010) 387–393

⁶⁰ Miloaga, D. G., Hosein, H-A. A., Misra, M., Dzral, L. T. Crystallization of Poly(3-hydroxybutyrate) by Exfoliated Graphite Nanoplatelets. Journal of Applied Polymer Science, Vol. 106, 2548–2558 (2007)

⁶¹ Avella, M., Martuscelli, E. Poly-D(-)(3-hydroxybutyrate)/poly(ethylene oxide) blends: phase diagram, thermal and crystallization behaviour. Polymer, 1988, Vol 29, October, 1731-1737

⁶² Calvão, P. S., Chenal, J.-M., Gauthier, C., Demarquette, N. R., Dos Santos, A. M., Cavaille, J.-Y. Influence of the rubbery phase on the cristallinity and thermomechanical properties of poly(3-hydroxybutyrate)/elastomer blends. Polymer International, 2010. 59, 851-858.

⁶³ Grassie, N., Murray, E. J., Holmes, P. A. The Thermal Degradation of Poly(-(D)-β-Hydroxybutyric Acid): Part 1 Identification and Quantitative Analysis of Products. Polymer Degradation and Stability 6 (1984) 47-61

⁶⁴ Leisen, J., Beckham, H. W., Sharaf, M. A. Evolution of Crystallinity, Chain Mobility, and Crystallite Size during Polymer Crystallization. Macromolecules 2004, 37, 8028-8034

⁶⁵ Alata, H., Aoyama, T., Inoue, Y. Effect of Aging on the Mechanical Properties of Poly(3hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate). Macromolecules 2007, 40, 4546-4551.

⁶⁶ Chen, W., David, D. J., MacKnight, W. J., Karasz, F. E. Miscibility and morphology of blends of poly(3-hydroxybutyrate) and poly(vinyl butyral). Polymer 42 (2001) 8407-8414

⁶⁷ Tsai, C.-H.; Chang, F.-C. Polymer Blends of PBT and PP Compatibilized by Ethylene-co-glycidyl Methacrylate Copolymers. Journal of Applied Polymer Science, 1996, 61, 321-332.

⁶⁸ Kalfoglou, N. K.; Skafidas, D. S.; Kallitsis, J. K.; Lambert, J.-C.; Stappen, L. V. *Comparison of compatibilizer effectiveness for PET/HDPE blends*. Polymer, 1995, 36(23), 4453-4462.

⁶⁹ Macosko, C. W.; Jeon, H. K.; Hoye, T. R. Reactions at polymer-polymer interfaces for blend compatibilization. Progress in Polymer Science, 2005, 30, 939-947.

⁷⁰ Huang, J-W., Chang, C-C., Kang, C-C., Yeh, M-Y. Crystallization kinetics and nucleation parameters of Nylon 6 and poly(ethylene-co-glycidyl methacrylate) blend. Thermochimica Acta, Volume 468, issues 1-2, 66-74, 2008.

⁷¹ Oyama, H. T. Super-tough poly(lactic acid) materials: Reactive blending with ethylene copolymer. Polymer, Volume 50 (20747-751), 2009.

⁷² Martin, P., Devaux, J., Legras, R., van Gurp, M., van Duin, M. Competitive reactions during compatibilization of blends of polybutyleneterephthalate with epoxide-containing rubber. Polymer 42 (2001) 2463–2478

⁷³ Hale, W., Keskkula, H., Paul, D. R. Compatibilization of PBT/ABS blends by methyl methacrylateglycidyl methacrylate-ethyl acrylate terpolymers. Polymer, Volume 40, Number 2, 1999, 365-377.

⁷⁴ Uradnishek et al. United States Patent n° US 7,595,363 B2. Toughened poly(hydroxyalkanoic acid) compositions. 29 Sep 2009.

⁷⁵ Fink, J. K., A concise introduction to Additives for thermoplastic polymers. Scrivener Publishing, LLC. Todos os direitos reservados (2010).

⁷⁶ Aoyagi, Y., Doi, Y., Iwata, T. Mechanical properties and highly ordered structure of ultra-highmolecular-weight poly[(R)-3-hydroxybutyrate] films: Effects of annealing and two-step drawing. Polymer Degradation and Stability 79 (2003) 209–216

⁷⁷ Fontaine, F., Ledent, J., Groeninckx, G., Reynaers, H. Morphology and melting behaviour of semicrystalline poly(ethylene terephthalate): 3. Quantification of crystal perfection and crystallinity. Polymer, 1982, Vol 23, 185.

⁷⁸ Morse, M.-C., Liao, Q., Criddle, C. S., Frank, C. W. Anaerobic biodegradation of the microbial copolymer poly(3-hydroxybutyrateco- 3-hydroxyhexanoate): Effects of comonomer content, processing history, and semi-crystalline morphology. Polymer 52 (2011) 547-556.

⁷⁹ Sawayanagi, T., Tanaka, T., Iwata, T., Abe, H., Doi, Y., Ito, K., Fujisawa, T., Fujita, M. Real-Time Synchrotron SAXS and WAXD Studies on Annealing Behavior of Poly[(R)-3-hydroxybutyrate] Single Crystals. Macromolecules 2006, 39, 2201-2208.

⁸⁰ Lyonnard, S., Spalla, O., Testard, F., Né, F., Taché, O. (<u>http://iramis.cea.fr/scm/lions/techniques/saxs/</u>). Laboratoire Interdisciplinaire sur l'Organisation Nanométrique et Supramoléculaire (LIONS). Última visualização em 28/01/11. ⁸¹ Astruz, Olivier. Optimization des propriétés mecaniques de biopolymères: Le PHB et lê PHBcoHV. Projet de Fin d'Etudes. Année Scolaire 2009-2010. Département Science et Génie des Matériaux. Institut National de Sciences Appliquées de Lyon.

⁸² ASTM D 5988 – 03. Standard Test for Determining Aerobic Biodegradation in Soil of Plastic Materials or Residual Plastic Materials After Composting.

⁸³ NBR 14283 – Resíduos em solos – Determinação da biodegradação pelo método respirométrico. ABNT, Fev 1999.

⁸⁴ Mello, Gabriela Sá Leitão de. Avaliação da viabilidade da utilização do teste respirométrico de Bartha para determinar a biodegradação de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares em solo tropical: caso do fenantreno. Dissertação de Mestrado. Escola Politécnica, Engenharia Hidráulica. São Paulo, 2005.

⁸⁵ Mello, G. S. L., Morita, D. M., Manfredini, S., Rivera, I. N. G. Viabilidade da aplicação do método respirométrico de bartha para determinação da biodegradação de poluentes ou resíduos em latossolos. Engenharia Sanitária Ambiental. Vol.12 - Nº 1 - jan/mar 2007, 71-78.

⁸⁶ ASTM D638 - 08 Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics.

⁸⁷ ASTM D 256-02. Standard Test Methods for Determining the Izod Pendulum Impact Resistance of Plastics.

⁸⁸ Sadi, R. K., Kurusu, R. S., Fechine, G. J. M., Demarquette, N. R. Compatibilization of Polypropylene/Poly(3-hydroxybutyrate) blends. Journal of Applied Polymer Science, manuscript accepted, 2011.

⁸⁹ Kumagai, Y., Kanesawa, Y., Doi, Y. Enzymatic degradation of microbial poly(3-hydroxybutyrate) films. Die Makromolekulare Chemie. 1992, 193 (1), 53-57.

⁹⁰ Walling, N. Phase morphology and properties of injection moulded Polypropylene/Ethylene Vinyl Alcohol copolymer blends. Dissertação de Mestrado, McGill University, Canadá, 1995.

⁹¹ Campos, A. Degradação de blendas poliméricas por microrganismos de solo e de chorume. Tese de Doutorado (Instituto de Biociências), Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Rio Claro, 2008.

⁹² Abe, H., Doi, Y., Aoki, H., Akehata, T. Solid-State Structures and Enzymatic Degradabilities for Melt-Crystallized Films of Copolymers of (R)-3-Hydroxybutyric Acid with Different Hydroxyalkanoic Acids. Macromolecules 1998, 31, 1791-1797.

⁹³ Okamoto, K.; Ray, S. S.; Okamoto, M. New poly(butylene succinate)/layered silicate nanocomposites. Part II. Effect of organically modified layered silicates on structure, properties, melt rheology, and biodegradability. Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics, 2003, 41(24), 3160–3172.

⁹⁴ Kumar, M., Mohanty, S., Nayak, S.K., Rahail Parvaiz, M. Effect of glycidyl methacrylate (GMA) on the thermal, mechanical and morphological property of biodegradable PLA/PBAT blend and its nanocomposites. Bioresource Technology 101 (2010) 8406–8415.

⁹⁵ Pietrasanta, Y., Robin, J.-J., Torres, N., Boutevin. B. Reactive compatibilization of HDPE/PET blends by glycidyl methacrylate functionalized polyolefins. Macromol. Chem. Phys. 200, 142–149 (1999).

⁹⁶ Pandey, J. K., Ahmad, A., Singh, R. P. Ecofriendly behavior of host matrix in composites prepared from agro-waste and polypropylene. Journal of Applied Polymer Science, 2003, 90(4), 1009-1017.