



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS

PAULA DO PATROCÍNIO DIAS

Comportamento mecânico e primeiros estudos de bioprospecção de
blendas de poli(ácido láctico)/poli(ϵ -caprolactona) reforçadas com
microfibrilas de celulose

São Carlos – SP

2021

PAULA DO PATROCÍNIO DIAS

Comportamento mecânico e primeiros estudos de bioprospecção de blendas de poli(ácido láctico)/poli(ϵ -caprolactona) reforçadas com microfibrilas de celulose

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências pelo Departamento de Engenharia de Materiais da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo.

Área de concentração: Desenvolvimento, Caracterização e Aplicação de Materiais Poliméricos.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Aparecido Chinelatto

Versão corrigida

São Carlos- SP

2021

FICHA CATALOGRÁFICA

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTA TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes da EESC/USP com os dados inseridos pelo(a) autor(a).

D541c do Patrocínio Dias, Paula
Comportamento mecânico e primeiros estudos de bioprospecção de blendas de poli(ácido láctico)/poli(e-caprolactona) reforçadas com microfibrilas de celulose / Paula do Patrocínio Dias; orientador Marcelo Aparecido Chinellato. São Carlos, 2021.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais e Área de Concentração em Desenvolvimento, Caracterização e Aplicação de Materiais -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2021.

1. Blendas poliméricas. 2. Poli(ácido láctico). 3. Poli(e-caprolactona). 4. Microfibrilas de celulose. 5. Bioprospecção de metabólitos. 6. Biodegradação por fungos. I. Título.

Eduardo Graziosi Silva - CRB - 8/8907

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: Biomédica **PAULA DO PATROCÍNIO DIAS.**

Título da tese: "Comportamento mecânico e primeiros estudos de bioprospeção de blendas de poli(ácido láctico)/poli(ε-caprolactona) reforçadas com microfibrilas de celulose".

Data da defesa: 08/12/2021.

Comissão Julgadora

Resultado

Prof. Dr. **Marcelo Aparecido Chinelatto**
(Orientador)
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC-USP)

Aprovada

Prof. Dr. **Derval dos Santos Rosa**
(Universidade Federal do ABC/UFABC)

Aprovada

Profa. Dra. **Eliane Trovatti**
(Universidade de Araraquara/UNIARA)

Aprovada

Profa. Dra. **Rosário Elida Suman Bretas**
(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

Aprovada

Profa. Associada **Marcia Cristina Branciforti**
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC-USP)

Aprovada

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais:

Prof. Associado **Rafael Salomão**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Titular **Murilo Araujo Romero**

Dedico este trabalho aos meus pais, Hugo e Mônica, ao meu irmão, Lucca, a minha vó, Marileide e as minhas madrinhas, Ana Lúcia e Fátima pelo apoio, encorajamento e companhia mesmo à distância.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, ao professor orientador Marcelo Aparecido Chinelatto pela orientação, paciência e dedicação nesses quase sete anos de convivência e desenvolvimento de trabalhos científicos. Ser-lhe-ei eternamente grata por ter me dado essa incrível oportunidade de aprender com o senhor.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) número de processo 2018/23542-7. Meus sinceros agradecimentos a ambas instituições pelo apoio financeiro.

À professora Dr^a Taícia Fill do Departamento de Química da UNICAMP pela colaboração no estudo de biodegradação, pelos ensinamentos e disponibilidade.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais do Departamento de Engenharia de Materiais da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo pela oportunidade de realização dos trabalhos desenvolvidos.

Ao técnico do laboratório de materiais poliméricos do Departamento de Engenharia de Materiais – EESC – USP, Ricardo Gomes Pereira, pelo apoio e ensinamentos.

À Suzano pela doação de polpa de celulose para o desenvolvimento desse trabalho.

Aos colegas de grupo de pesquisa, em especial Osvaldo de Souza Jr. e Lucas Staffa que em muitos momentos me auxiliaram com análises técnicas.

A Atlética CAASO e ao Vôlei CAASO pela oportunidade de me integrar à comunidade acadêmica também pelo meio do esporte e por todos momentos incríveis.

Aos meus amigos queridos que estão comigo em todos os momentos, me ajudando no crescimento pessoal.

E, finalmente, à minha família que é o lugar onde eu escolheria nascer novamente por toda a eternidade. Vocês são os grandes amores da minha vida e eu sou absurdamente grata pela nossa existência em conjunto, mesmo que por vezes em cidades diferentes. Amo muito vocês.

*“Descobre-se a luz ultrapassando as sombras”
(Adaptado do “Mito da Caverna” de Platão)*

RESUMO

DIAS, P. P. **Comportamento mecânico e primeiros estudos de bioprospecção de blendas de poli(ácido láctico)/poli(ϵ -caprolactona) reforçadas com microfibrilas de celulose** 200p. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2021.

Neste trabalho foram produzidas blendas de poli(ácido láctico) (PLA)/poli(ϵ -caprolactona)(PCL) reforçadas com microfibrilas de celulose (MFC) a partir do estado fundido por meio de extrusão dupla-rosca co-rotacional. Um grande desafio tecnológico para produção de blendas poliméricas com nanoceluloses é sua secagem pré-processamento sem que haja aglomeração irreversível das MFC. Por isso, foi proposta uma metodologia de mistura da MFC com um copolímero de baixa massa molar, em que o copolímero reveste a superfície da MFC, impedindo a aglomeração das MFC durante o processo de secagem em estufa. Por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), observou-se que o revestimento da MFC pelo copolímero ocorre em função de ligação hidrogênio entre as hidroxilas terminais do copolímero com as hidroxilas da superfície da MFC. Por microscopia eletrônica de varredura (MEV), mostrou-se que parte do copolímero reveste a MFC e parte migra para a região interfacial da gota de PCL com a matriz de PLA. Para a produção das blendas PLA/PCL foi investigada a influência dos parâmetros de ordem de extrusão, variação da velocidade de rotação de rosca em 50, 100 e 150 rpm, do teor de MFC em 2,5, 5,0 e 7,5 %m/m e do teor de copolímero na mistura MFC-copolímero de 60:40 e 40:60 %m/m na morfologia e propriedades mecânicas em tração e impacto Izod sem entalhe das blendas. As blendas produzidas em extrusão conjunta dos componentes com rotação de rosca em 150 rpm, 2,5 %m/m de MFC e mistura MFC-copolímero na proporção 40:60 %m/m apresentaram deformação na ruptura de 42 %, tensão máxima em tração de 46 MPa e resistência ao impacto Izod de 57 J.m⁻¹, enquanto que a blenda PLA/PCL sem reforço apresenta 1,3 %, 33 MPa e 15 J.m⁻¹, respectivamente. Esses resultados sugerem que o copolímero não ligado à MFC ocupa a região interfacial entre a PCL e o PLA, promovendo interação entre as fases e o aumento da contribuição da fase dúctil de PCL na matriz. Enquanto que as MFC se dispersam, formando uma rede de sustentação que confere maior resistência à tração e ao impacto à blenda. O aumento nessas propriedades permite que a blenda biodegradável PLA/PCL reforçada com MFC seja uma alternativa aos polímeros provenientes de fontes petroquímicas. Visando gerar maior valor agregado à blenda, foram realizados os primeiros ensaios de biodegradação *in vitro* da blenda PLA/PCL/MFC com os fungos *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium brasilianum* e *Penicillium citrinum*, com o objetivo de realizar a bioprospecção de metabólitos secundários de interesse comercial produzidos pelos fungos na presença da blenda polimérica. A análise putativa dos metabólitos separados por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS) e identificados com auxílio da plataforma GNPS mostrou que os fungos apresentaram produção de moléculas análogas a 5-Methoxyflavone, Brasilamide E, Methyl Orsellinate, Andrastin A, Chrysin e Roquefortine. Algumas moléculas parecem ter produção aumentada pelos fungos na presença da blenda. O reforço com MFC em blendas PLA/PCL modificou significativamente as suas propriedades mecânicas e os estudos de bioprospecção mostraram que há imenso potencial comercial nesta atividade.

Palavras-chave: Blendas poliméricas. Poli (ácido láctico). Poli (ϵ -caprolactona). Microfibrilas de celulose. Bioprospecção de metabólitos.

ABSTRACT

DIAS, P. P. **Mechanical behavior and first bioprospecting studies of poly(lactic acid)/poly(ϵ -caprolactone) blends reinforced with microfibrillated cellulose.** 200p. Thesis (Doctorate) – School of Engineering of São Carlos, University of São Paulo, São Carlos, 2021.

In this work, poly(lactic acid) (PLA)/poly(ϵ -caprolactone)(PCL) blends reinforced by cellulose microfibrils (MFC) were produced from the molten state through co-rotational twin-screw extrusion. A major technological challenge for the production of polymer blends with nanocelluloses is their pre-processing drying without irreversible MFC agglomeration. Therefore, it was proposed a mixing methodology of MFC with a low molecular weight copolymer, in which the copolymer coats the surface of the MFC, preventing agglomeration during the oven-drying process. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) showed that the coating of MFC by the copolymer occurs due to hydrogen bonding between the terminal copolymer hydroxyls with the hydroxyls on the MFC surface. Scanning electron microscopy (SEM) showed that part of the copolymer coats the MFC and part migrates to the interfacial region between the PCL droplet with PLA matrix. For the PLA/PCL blends preparation, the influence of the extrusion order, screw rotation speed at 50, 100 and 150 rpm, MFC content at 2.5, 5.0 and 7.5 w%, and copolymer content of 60:40 and 40:60 w% in the MFC-copolymer mixture was investigated on morphology and tensile and unnotched Izod mechanical properties of the blends. The blends produced in joint components extrusion with screw rotation at 150 rpm, 2.5 w% of MFC and MFC-copolymer mixture in the 40:60 w% proportion showed deformation at break of 42 %, maximum tensile strength of 46 MPa and Izod impact strength of 57 J.m⁻¹, while the PLA/PCL blend without reinforcement presents 1.3%, 33 MPa and 15 Jm⁻¹, respectively. These results suggest that the copolymer that do not bound to MFC occupies the interfacial region between PCL and PLA, promoting interaction between both phases and increasing the contribution of the PCL ductile phase in the matrix. While the MFC disperses forming a support network that gives greater traction and impact resistance to the blend. The increase in these properties allows the biodegradable PLA/PCL blend reinforced by MFC to be an alternative to polymers from petrochemical sources. Aiming to generate greater value to the blend, the first *in vitro* biodegradation tests of the PLA/PCL/MFC blend were carried out with the fungi *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium brasilianum* and *Penicillium citrinum* in order to bioprospect secondary metabolites of commercial interest produced by fungi in the presence of the polymer blend. The putative analysis of metabolites separated by liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) and identified using GNPS platform data bank showed that the fungi produced molecules analogous to *5-Methoxyflavone*, *Brasiliamide E*, *Methyl Orsellinate*, *Andrastin A*, *Chrysin* and *Roquefortine*. Some molecules seem to have increased production by fungi in the presence of the blend. The reinforcement by MFC in PLA/PCL blends significantly modified their mechanical properties and the bioprospection studies showed that there is immense commercial potential in this activity.

Keywords: Polymer blends. Poly(lactic acid). Poly(ϵ -caprolactone). Microfibrillated Cellulose. Bioprospecting metabolites.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Estrutura química da celulose.....	35
Figura 2- Estrutura da parede celular vegetal.	36
Figura 3- Resumo do processo <i>kraft</i> para a obtenção da polpa celulósica <i>kraft</i> branqueada.	38
Figura 4- Classificação dos tipos de estruturas de celulose de acordo com o tamanho proposto por Moon e colaboradores, 2011 (MOON et al., 2011).....	41
Figura 5- Métodos de incorporação de nanoceluloses em matrizes poliméricas.	43
Figura 6- Estrutura química do copolímero poli(ϵ -caprolactona- <i>b</i> -tetrahidrofurano) e esquema hipotético da interação MFC-copolímero.	47
Figura 7- Relação de compatibilidade em blendas poliméricas em função do parâmetro de interação polímero-polímero.	52
Figura 8- Esquema de mecanismo de adesão e supressão de coalescência promovidos por copolímeros em bloco atuando como compatibilizantes em blendas poliméricas.	53
Figura 9- Perfis tensão-posição quando o comprimento da fibra é (a) igual ao comprimento crítico; (b) maior que o comprimento crítico e (c) menor que o comprimento crítico.	55
Figura 10- Ilustração do possível mecanismo de reforço da (a) VL-MFC e (b) MFC na matriz de PLA proposto por (LI et al., 2021).....	63
Figura 11- Ilustração dos sistemas de emulsão.	65
Figura 12- Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura das gotas de poliestireno em água estabilizadas por nanocristais de celulose produzidos a partir de (a, d, e) algodão; (b, e, h) celulose bacteriana e (c, f, i) alga <i>Cladophora</i> ...66	
Figura 13- Micrografias de microscopia eletrônica de varredura de blendas PBAT/TPS reforçadas com nanofibrilas de celulose em que teores em massa de NFC variaram em (A) 0 %; (B) 4 %; (C) 8 % e (D) 15 %.	67
Figura 14- Resumo gráfico do delineamento experimental deste trabalho.	78
Figura 15- Mistura MFC-copolímero (a) durante o processo de mistura mecânica; (b) durante o processo de secagem em estufa e (c) após completar o processo de secagem.....	82
Figura 16- Inóculo de fungos.....	97

Figura 17- Espectro de RMN 1H referente à poli(ϵ -caprolactona- <i>b</i> -tetrahidrofurano).	105
Figura 18- Curvas DSC de (a) resfriamento e (b) segundo aquecimento da mistura MFC-copolímero e do copolímero poli(ϵ -caprolactona- <i>b</i> -tetrahidrofurano).	107
Figura 19- Curvas (a) TGA e (b) DTG da MFC, do copolímero e da mistura MFC-copolímero.	110
Figura 20- Espectros no infravermelho da MFC, do copolímero poli(ϵ -caprolactona- <i>b</i> -tetrahidrofurano) e da mistura MFC- copolímero; a) Espectros na faixa de 4000 a 500 cm^{-1} e b) espectros na faixa de 1800 a 1500 cm^{-1} . As linhas guia sinalizam os grupamentos químicos relacionados às bandas de absorção correspondentes no eixo x.	112
Figura 21- Espectros no infravermelho da MFC, do copolímero poli(ϵ -caprolactona- <i>b</i> -tetrahidrofurano) e da mistura MFC- copolímero; a) espectros na faixa de 4000 a 3000 cm^{-1} e b) espectros na faixa de 1780 a 1700 cm^{-1}	114
Figura 22- Micrografias de T1 (a, b e c) e curva com a distribuição do tamanho da fase dispersa de PCL (d). As setas amarelas indicam microfibrilas de celulose dispersas na matriz polimérica. As setas brancas apontam para o copolímero.	117
Figura 23- Micrografias e histogramas de contagem do tamanho da fase de PCL das amostras do estudo de ordem de extrusão. (a) e (a') blenda compatibilizada (controle); (b) e (b') ExCOMPAT; (c) e (c') ExPCL; (d) e (d') ExPLA e (e) e (e') ExJ. Barra de escala = 2 μm	122
Figura 24- Curva tensão-deformação do ensaio de tração das amostras ExJ com 1 % e 2,5 % em massa de MFC e ExCOMPAT com 1 % e 2,5 % em massa de MFC. (a) intervalo entre 0 e 80 % e (b) intervalo entre 0 a 5 % de deformação na ruptura.	124
Figura 25- Resistência ao impacto IZOD sem entalhe das amostras de ExJ e ExCOMPAT com 1 % e 2,5 % de MFC. Linha base em cinza.	126
Figura 26- Micrografias e histogramas das blendas extrudadas com rotação de rosca em (a) e (d) 50, (b) e (e) 100 e (c) e (f) 150 rpm. Setas em amarelo indicam espaços vazios.	128
Figura 27- (a) Curva tensão-deformação em tração e (b) relação entre a resistência ao impacto Izod com a deformação na ruptura em tração das blendas extrudadas a 50, 100 e 150 rpm.	129

Figura 28- Micrografias e os respectivos histogramas com contagem de tamanho da fase de PCL das blendas com 2,5 , 5 e 7,5 % em massa de MFC.	132
Figura 29- Propriedades mecânicas das blendas PLA/PCL reforçadas com 2,5, 5,0 e 7,5 % em massa de MFC. (a) curva tensão-deformação em tração e (b) relação da resistência ao impacto Izod com a tensão máxima em tração.	133
Figura 30- Micrografias e histograma das blendas PLA/PCL reforçadas com MFC por meio da (a) e (c) mistura MFC-copolímero com proporção 60:40 % em massa e (b) e (d) da mistura MFC-copolímero com proporção 40:60 % em massa.	136
Figura 31- (a) Curva tensão-deformação e (b) relação entre as propriedades de tensão e deformação em tração com resistência ao impacto Izod das blendas com a mistura MFC-copolímero 60:40 % e 40:60 %	137
Figura 32- Micrografias e histogramas de (a) PLA; (b) e (e) PLAC; (c), (d) e (f) PLAMFC2,5.....	140
Figura 33- Micrografias da superfície de fratura da (a) PCL; (b) blenda PCL/poli(ϵ -caprolactona- <i>b</i> -tetrahydrofurano); (c) e (d) PCL/MFC.....	141
Figura 34- Micrografias e histogramas do tamanho da fase de PCL das blendas (a) e (b) PLAPCL; (c) e (d) PLAPCLC; (e) e (f) PLAPCLMFC2,5; (g) e (h) PLAPCLMFC2,5C5.	143
Figura 35- Micrografias da blenda PLAPCLMFC2,5. (a) e (b) aglomerado de MFC; (c) deformação polimérica orientada por microfibrila de celulose; (d) nanofibrila de celulose dispersa na matriz.	145
Figura 36- Micrografias da amostra PLA/PCL/MFC2,5C5. (b) e (c) são micrografias de maior aumento da micrografia (a) e (d) rede de microfibrilas de celulose.	146
Figura 37- Curvas tensão-deformação de (a) da PCL e PCLMFC2,5 e (b) do PLA, PLAPCL, PLAMFC2,5, PCLMFC2,5, PLAPCLMFC2,5 e PLAPCLMFC2,5C5; (c) curva tensão-deformação na região de 0 a 5 % de deformação; (d) curva tensão-deformação na região de 5 a 45 % de deformação.....	147
Figura 38- Curvas de DSC (a) do resfriamento e (b) do segundo aquecimento do PLA, PLAPCL, PLAPCLC5 e PLAPCLMFC5C5.....	151
Figura 39- Curva de DSC no resfriamento da blenda PLAPCLC5MFC5 na faixa de temperatura de 0 a -20 °C.....	154
Figura 40- Culturas em ágar Czapeck de (a) corpo de prova polimérico PLAPCL; (b) controle positivo com <i>Penicillium citrinum</i> ; (c) blenda PLAPCL <i>Penicillium italicum</i> e (d) blenda PLAPCLC5 com <i>Penicillium brasilianum</i>	157

Figura 41- Cultura (a) controle positivo e (b) com corpo de prova polimérico com fungo da espécie <i>P. digitatum</i>	158
Figura 42- Micrografias dos corpos de prova da blenda PLAPCL incubadas com (a) ágar (controle negativo); (b) <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ; (c) <i>P. brasilianum</i> ; (d) <i>P. expansum</i> ; (e) <i>P. italicum</i> e (f) <i>Penicillium citrinum</i> . As setas amarelas indicam sulcos, ranhuras e outros defeitos que sinalizam biodegradação do polímero pelo fungo. As setas brancas indicam os fungos.....	159
Figura 43- Micrografias dos corpos de prova da blenda PLAPCLC5 incubadas com (a) ágar Czapeck (controle negativo); (b) <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ; (c) <i>P. brasilianum</i> ; (d) <i>P. expansum</i> ; (e) <i>P. italicum</i> e (f) <i>P. citrinum</i> . As setas amarelas indicam sulcos, ranhuras e outros defeitos que sinalizam biodegradação do polímero pelo fungo. As setas brancas indicam os fungos.....	160
Figura 44- Rede molecular dos metabólitos produzidos pelo fungo <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> incubados na ausência de polímero, em amarelo, e com filmes da blenda PLAPCLMFC5C5, em rosa. Metanol foi utilizado como parâmetro branco, em azul. O aro azul indica correlação com moléculas documentadas na plataforma GNPS.....	163
Figura 45- Espectros das moléculas de interesse comercial destacados da rede molecular do <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> com espectro da molécula anotada na plataforma GNPS em espelho.	166
Figura 46- Rede molecular dos metabólitos produzidos pelo fungo <i>Penicillium brasilianum</i> incubados na ausência de polímeros, em amarelo e na presença de filmes da blenda PLAPCLMFC5C5, em rosa. Metanol foi utilizado como parâmetro branco, em azul. O aro azul indica correlação com moléculas anotadas no GNPS.	167
Figura 47- Espectros das moléculas de interesse comercial destacados da rede molecular do <i>Penicillium brasilianum</i> com espectro da molécula anotada na plataforma GNPS em espelho.	169
Figura 48- Rede molecular dos metabólitos produzidos pelo fungo <i>Penicillium citrinum</i> incubados na ausência de polímero, em amarelo e na presença de filmes da blenda PLAPCLMFC5C5, em rosa. Metanol foi utilizado como parâmetro branco, em azul. O aro azul indica correlação com moléculas documentadas no GNPS.	171

Figura 49- Espectros das moléculas de interesse comercial destacados da rede molecular do *Penicillium citrinum* com espectro da molécula anotada na plataforma GNPS em espelho..... 172

LISTA DE TABELA

Tabela 1- Propriedades mecânicas das diferentes classes de celulose.	42
Tabela 2- Principais propriedades físicas e mecânicas do PLA e da PCL.	77
Tabela 3- Protocolo de extrusão para o estudo de ordem de extrusão das blendas PLA/PCL/MFC.....	88
Tabela 4- Composição das blendas ExJ e ExCOMPAT com 1,0 e 2,5 % em massa de MFC.....	89
Tabela 5- Composição das blendas do estudo de variação da velocidade de rotação de rosca.....	90
Tabela 6- Composição das blendas do estudo de variação do teor de MFC.	90
Tabela 7- Composição das blendas do estudo de variação do teor de copolímero na mistura MFC-copolímero.	91
Tabela 8 - Composições das blendas PLA/PCL e compósitos baseados em PLA, PCL e MFC.....	93
Tabela 9- Correlação do valor de δ , cuja intensidade de deslocamento químico foi definida em 4,000 para 3,6 ppm, com a estrutura química do copolímero.	106
Tabela 10- Valores de transições térmicas e entalpias do copolímero e da mistura de MFC-copolímero.....	108
Tabela 11- Resultados da extração Soxhlet.....	111
Tabela 12- Tamanho médio e desvio padrão da fase de PCL.	122
Tabela 13- Média de valores de tensão máxima, deformação máxima e módulo elástico em tração das amostras ExJ e ExCOMPAT com 1 e 2,5 % de MFC.	125
Tabela 14- Propriedades mecânicas das blendas extrudadas a 50, 100 e 150 rpm.	129
Tabela 15- Propriedades mecânicas em tração e de resistência ao impacto Izod das blendas PLA/PCL reforçadas com 2,5, 5,0 e 7,5 % de MFC.....	133
Tabela 16- Propriedades mecânicas em tração e de resistência ao impacto Izod sem entalhe das blendas PLA/PCL reforçadas com a mistura MFC-copolímero nas proporções 60:40 e 40:60 % em massa.....	137
Tabela 17- Propriedades mecânicas em tração e de resistência ao impacto Izod sem entalhe dos materiais puro, blendas PLA/PCL e misturas baseadas em PLA, PCL e MFC.	148

Tabela 18- Valores de temperatura de transição vítrea (T_g), temperatura de cristalização (T_c), temperatura de fusão (T_m) e entalpias de cristalização (ΔH_c), de cristalização à frio (ΔH_{cc}) e de fusão (ΔH_m) do PLA, PLAPCL, PLAPCLC5 e PLAPCLMFC5C5.....	152
Tabela 19- Comparação entre as blendas produzidas neste trabalho e polímeros comumente utilizado em embalagens plásticas e outros descartáveis.....	155

ABREVIAÇÕES E SÍMBOLOS

ΔG_m : variação molar da energia livre de Gibbs
 ΔH_c : entalpia de cristalização
 ΔH_{cc} : entalpia de cristalização a frio
 ΔH_m : entalpia de fusão
 ΔH_m : variação molar da entalpia da mistura
 ΔS_m : variação molar da entropia da mistura
A: área
AC: nanoceluloses provenientes de algas
BC: nanocelulose bacteriana
CH₄: metano
Cl₂: dicloro
ClO₂: dióxido de cloro
CMC: carbometilcelulose
CN: nanopartículas de celulose
CNC: nanocristais de celulose
CO₂: dióxido de carbono
COOH: ácido carboxílico
DMF: dimetilformamida
DSC: calorimetria diferencial exploratória
E: módulo elástico
FFA: ácido flufenâmico
FITR: espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier
GPa: gigapascal
H₂O: água
H₂O₂: peróxido de hidrogênio
HexAs: ácidos hexenurônicos
HRMN: ressonância magnética nuclear de prótons
KMnO₄: permanganato de potássio
L/d: razão entre comprimento e diâmetro
M: média
MCC: celuloses microcristalinas
MEV: microscopia eletrônica de varredura
MFC: microfibrilas de celulose
MPa: megapascal
N₂: nitrogênio
Na₂S: sulfeto de sódio
NaClO: hipoclorito de sódio
NaOH: hidróxido de sódio
NFC: nanofibrilas de celulose
O₂: oxigênio
O₃: ozônio
OH: hidroxila
 ϕ : fração volumétrica
p: intervalo de confiança
p: pressão
PCL: poli(ϵ -caprolactona)
PF: fibras de plantas

PHBV: poli(3-hidroxi-butirato-co-3-hidroxi-valerato)
PLA: poli(ácido láctico)
POSS: silsesquioxano oligomérico poliédrico
PVA: álcool polivinílico
SDS: dodecil sulfato de sódio
SEM: erro da média
T(x): tamanho amostral
T: processo de emulsificação
T: temperatura absoluta
T_c: temperatura de cristalização
t-CNC: nanocristais de celulose de tunicados
TEM-in-SEM: microscopia eletrônica de transmissão no microscópio eletrônico de varredura
T_{endset}: temperatura final de decomposição térmica
T_g: transição vítrea
TGA: termogravimetria
T_m: temperatura de fusão
T_{onset}: temperatura inicia de decomposição térmica
VL: laurato de vinil
WF: fibras de madeira
x_C%: índice de cristalinidade
y: tensão superficial
ε: deformação na ruptura em tração
σ: tensão máxima em tração

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO.....	29
1 INTRODUÇÃO	31
2 FUNDAMENTAÇÃO E REFERENCIAL TEÓRICO	35
2.1 CELULOSE VEGETAL.....	35
2.1.1 Estrutura	35
2.1.2 Processo <i>kraft</i>	37
2.1.3 Classificação da celulose.....	40
2.1.4 Formas de incorporação de nanocelulose em polímeros – estado da arte 42	
2.2 BLENDA E COMPÓSITOS POLIMÉRICOS BIODEGRADÁVEIS	48
2.2.1 Conceitos de blendas poliméricas	48
2.2.2 Conceitos de compósitos poliméricos.....	53
2.2.3 Importância da blenda PLA/PCL.....	58
2.2.4 Aspectos do reforço de matrizes poliméricas por nanoceluloses.....	60
2.2.5 Efeito estabilizante da MFC em emulsões água/óleo	64
2.3 SUSTENTABILIDADE E PRODUÇÃO DE NOVOS MATERIAIS.....	68
2.3.1 Fungos em processos biotecnológicos	70
3 OBJETIVOS	75
3.1 Objetivo Geral	75
3.2 Metas:	75
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	77
4.1 MATERIAIS.....	77
4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	78
4.3 MÉTODOS.....	81
4.3.1 ETAPA 1 – Produção e caracterização da mistura MFC-copolímero	81
I. Produção da mistura MFC-copolímero na proporção 60:40 % em massa	81

II.	Produção da mistura MFC-copolímero na proporção 40:60 % em massa.....	82
III.	Caracterização da mistura MFC-copolímero	82
4.3.2	ETAPA 2 – Investigação dos parâmetros de processamento	86
I.	Produção das blendas com variação de parâmetros de processamento.....	86
(a)	Ordem de extrusão	87
(b)	Rotação de rosca.....	89
(c)	Variação do teor de MFC.....	90
(d)	Variação do teor de copolímero na mistura MFC-copolímero	91
II.	Caracterização das blendas com variação de parâmetros de processamento	91
4.3.3	ETAPA 3 – Produção e caracterização das blendas PLA/PCL reforçadas com MFC.....	92
I.	Produção das blendas PLA/PCL reforçadas com MFC e outras misturas	93
II.	Caracterização das blendas PLA/PCL reforçadas com MFC e outras misturas	93
4.3.4	ETAPA 4 – Bioprospecção	95
I.	Triagem das condições de biodegradação <i>in vitro</i>	96
II.	Métodos para identificação putativa de metabólitos	98
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	101
5.1	ETAPA 1 – Caracterização da mistura MFC-copolímero.....	101
5.1.1	Reversão da alvura	101
5.1.2	Ressonância magnética nuclear de prótons (HRMN).....	104
5.1.3	Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)	107
5.1.4	Termogravimetria (TGA).....	109
5.1.5	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	111
5.1.6	Caracterização morfológica da blenda T1	116
5.2	ETAPA 2 – Investigação dos parâmetros de processamento.....	119
5.2.1	Ordem de extrusão.....	119
5.2.2	Rotação de rosca	126

5.2.3	Variação do teor de MFC	131
5.2.4	Variação do teor de copolímero na mistura MFC-copolímero.....	135
5.3	ETAPA 3 – MORFOLOGIA E PROPRIEDADES DE PLA, PCL E BLENDA PLA/PCL REFORÇADAS COM MFC	139
5.4	ETAPA 4 - BIOPROSPECÇÃO	156
5.4.1	Triagem das condições de biodegradação <i>in vitro</i>	156
5.4.2	Identificação putativa de metabólitos de interesse comercial	161
I.	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	162
II.	<i>Penicillium brasilianum</i>	167
III.	<i>Penicillium citrinum</i>	170
6	CONCLUSÕES	175
7	TRABALHOS FUTUROS.....	177
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	179

APRESENTAÇÃO

Esta tese é fruto da continuação do trabalho de mestrado, que visava tenacificar blendas de poli(ácido láctico) (PLA) e poli(ϵ -caprolactona) (PCL) a partir da utilização de um copolímero tribloco, derivado de ϵ -caprolactona e tetrahidrofurano, como agente compatibilizante da blenda. O compatibilizante atuou de modo a promover melhor interação entre a matriz de PLA, rígida e frágil, com as gotas dispersas de PCL, flexíveis e dúcteis. O principal resultado desse trabalho aponta o copolímero denominado de poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahidrofurano) como um compatibilizante capaz de promover o aumento de 2 % para 85 % da propriedade de deformação da ruptura de blendas PLA/PCL.

Motivados pelo sucesso dessa modificação e visando agregar maior resistência a essa blenda, surgiu a ideia deste trabalho. O objetivo é obter blendas PLA/PCL, que exibam equilíbrio entre as propriedades de deformação na ruptura e resistência mecânica. Portanto, propôs-se a dispersão de microfibrilas de celulose (MFC) na blenda com o objetivo de melhorar sua resistência mecânica que, mesmo na sua versão compatibilizada com 5 % em massa de poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahidrofurano), ainda apresentava valores aquém do esperado para que um material biodegradável seja competitivo com os polímeros não biodegradáveis que lideram o mercado. Esse compósito polimérico sustentável e biodegradável tem potencial para se tornar competitivo com os materiais ecologicamente nocivos já encontrados no mercado no ramo de embalagens, utensílios domésticos e decoração. Por ser biodegradável e biocompatível também apresenta grande potencial como material de uso biomédico.

As contribuições científicas desse trabalho envolvem o ciclo completo desse material, desde a sua produção até uma alternativa de destino para mercadoria produzida com PLA/PCL/MFC descartada ao final do seu tempo de vida. Por isso, o trabalho foi escrito de forma a evidenciar as quatro grandes etapas de contribuição para a comunidade científica. Na primeira etapa foi proposta uma metodologia inovadora para possibilitar a secagem em estufa e dispersão de MFC em matrizes poliméricas a partir da produção de uma mistura de MFC com o copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahidrofurano). De forma inovadora simples, barata e passível de ser reproduzida em escala industrial, essa mistura visa promover a redispersão de MFC em matrizes poliméricas após secagem em estufa. A segunda etapa consistiu

na investigação da influência da variação dos parâmetros de ordem de extrusão, velocidade de rotação de rosca, teor de MFC e teor de copolímero na mistura MFC-copolímero na morfologia e propriedades das blendas PLA/PCL. A terceira etapa consistiu na produção e avaliação da morfologia, propriedades mecânicas em tração e impacto Izod sem entalhe e transições térmicas de blendas PLA/PCL reforçadas com MFC. Por fim, foi realizada a etapa de biodegradação *in vitro* das blendas PLA/PCL reforçadas com MFC pelos fungos filamentosos *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium brasilianum* e *Penicillium citrinum*, objetivando a identificação putativa dos metabólitos produzidos pelos fungos. Ou seja, foi realizada a identificação dos metabólitos produzidos, por meio da comparação entre os cromatogramas obtidos com os cromatogramas disponíveis em bases de dados online de moléculas. De forma inovadora, propõem-se a atividade de bioprospecção, utilizando os polímeros biodegradáveis como substrato para obtenção de substâncias de interesse industrial. Dessa forma, após descartado, o produto pode se tornar matéria-prima para outros processos industriais.

1 INTRODUÇÃO

A celulose é uma fibra polimérica natural muito abundante na natureza por ser componente estrutural da parede celular das plantas. Ela é uma excelente candidata a fazer parte de compósitos biodegradáveis, uma vez que apresenta alta razão de aspecto, grande área superficial e boas propriedades mecânicas, como alto módulo de elasticidade (~100 GPa) (DUFRESNE, 2013; MOOHAN et al., 2020; NEVILLE, 1993). Devido a sua morfologia em forma de microfibrilas semicristalinas e sua capacidade de sustentar com bastante resistência as estruturas biológicas das quais participa, a celulose tem sido alvo de pesquisas para compor compósitos de matriz polimérica, cujo objetivo é de aumentar sua resistência mecânica (HUBBE; GRIGSBY, 2020; KLEMM et al., 2005; SANDQUIST, 2018).

Incorporar as microfibrilas de celulose (MFC) em matrizes poliméricas de baixa polaridade é um grande desafio, pois a diferença de polaridade entre esses materiais é grande e as MFC tem grande tendência a se aglomerarem. As MFC são normalmente comercializadas em meio aquoso para evitar a sua aglomeração (SHARMA et al., 2019a). Por sua vez, os polímeros geralmente são macromoléculas de baixa polaridade e insolúveis em água. A presença de água no sistema pode prejudicar a estabilidade das cadeias poliméricas, a exemplo dos poliésteres, que podem sofrer degradação por hidrólise (WANG; DRZAL, 2012). Portanto, para dispersar MFC apropriadamente em matrizes poliméricas de baixa polaridade, faz-se necessário promover a diminuição da polaridade da MFC e prevenir sua aglomeração. Além disso, é preciso transferi-las do meio aquoso para um meio que seja compatível com os polímeros ou secá-las (GARDNER et al., 2008).

Por isso, uma importante contribuição desse trabalho é a proposta de uma metodologia de recobrimento da superfície das MFC em meio aquoso com o copolímero tribloco poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) e posterior secagem em estufa. O objetivo é reduzir a atração dessas microfibrilas entre si, recobrando a superfície das MFC com o copolímero de forma a evitar sua aglomeração, por meio da interação das suas hidroxilas superficiais com as hidroxilas terminais do copolímero, o que promove um impedimento estérico. Além de evitar a aglomeração, visa-se estabelecer a melhor interação entre as microfibrilas e a matriz polimérica, de forma que, uma vez que o sistema seja submetido a um esforço mecânico, as

microfibrilas atuam como reforço, transferindo a tensão da matriz para as MFC e, conseqüentemente, elevando a resistência mecânica do sistema.

A blenda PLA/PCL é a matriz polimérica desse trabalho. Trata-se de um material versátil, biodegradável, biocompatível e biorreabsorvível, que tem potencial para substituir os materiais convencionais utilizados tanto nas áreas de embalagens plásticas, móveis, peças e utensílios domésticos, como também na área de biomédica (SUNDAR et al., 2020). Por ser uma blenda imiscível, as propriedades mecânicas são diretamente proporcionais ao nível de interação entre a fase contínua, rígida e frágil de PLA e a fase dispersa, dúctil de PCL (MARKOVIC; VISAKH, 2017; NOFAR; SALEHIYAN; SINHA RAY, 2019).

A escolha da poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) como agente dispersor da MFC na matriz da blenda PLA/PCL justifica-se pela presença de hidroxilas terminais na sua estrutura, capazes de interagir com as hidroxilas presentes na cadeia polimérica da celulose. Esse copolímero foi utilizado em um trabalho prévio como compatibilizante da blenda PLA/PCL, onde foi observado o aumento de 2 % para 85 % da deformação na ruptura da blenda. Isso denota o seu potencial para promover interação entre os componentes da matriz e a MFC (DIAS; CHINELATTO, 2019). Portanto, a poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) tem potencial para atuar como agente compatibilizante da blenda PLA/PCL e para evitar a aglomeração da MFC durante o processo de secagem em estufa.

O desenvolvimento de materiais sustentáveis, com boas propriedades mecânicas e que tenham características de biodegradabilidade se faz bastante importante diante do cenário mundial de acúmulo de resíduos poliméricos (THUSHARI; SENEVIRATHNA, 2020). A maioria dos polímeros utilizados pelas diferentes áreas de produção demora milhares de anos para se decompor, o que gerou um acúmulo grande de resíduos poliméricos no mundo (DENG et al., 2020). No entanto, produzir materiais biodegradáveis não é suficiente. Para ocorrer a biodegradação, é necessária a presença de fatores bióticos e abióticos adequados para que esse materiais também não se acumulem na natureza (LUCAS et al., 2008). Portanto, propõe-se neste trabalho a investigação do potencial fúngico de produção de metabólitos de interesse industrial com o objetivo de transformar o produto polimérico descartado após uso em matéria-prima para outro setor industrial. Dessa forma, emprega-se valor econômico ao descarte dos produtos

baseados em blendas PLA/PCL e nos compósitos PLA/PCL/MFC, o que é uma proposta para diminuir o descarte polimérico inadequado e seu impacto ambiental.

2 FUNDAMENTAÇÃO E REFERENCIAL TEÓRICO

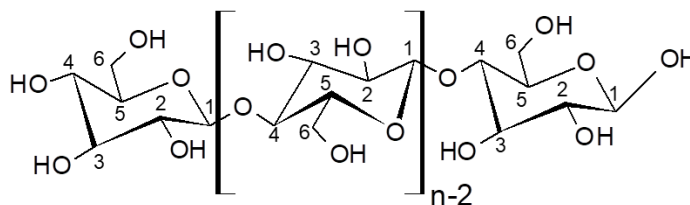
2.1 CELULOSE VEGETAL

2.1.1 Estrutura

A celulose é um dos polímeros naturais mais abundantes no planeta. Ela pode ser produzida por algumas espécies de bactérias e fungos, mas sua abundância se dá por ser um importante componente estrutural da parede celular de todas as células vegetais e de algumas algas. Sua principal função é conferir rigidez e tenacidade à célula, impedindo seu rompimento (TAIZ et al., 2017).

A celulose é um homopolissacarídeo linear e tem como unidade de repetição a β -glicose, que se unem por meio de ligações glicosídicas do tipo β -1,4 (**Figura 1**). Devido à distribuição espacial alternada das ligações glicosídicas, alguns autores reportam o mero da celulose como sendo o dissacarídeo gerado a partir da ligação β -1,4 entre duas moléculas de β -glicose (FARINAS, 2011). No entanto, French e colaboradores, 2017 argumentam contra essa corrente de pensamento e defendem que para polimerizar celulose faz-se necessário apenas que unidades de β -glicose estejam ligadas por ligações glicosídicas do tipo β -(1 \rightarrow 4) (FRENCH, 2017).

Figura 1- Estrutura química da celulose.

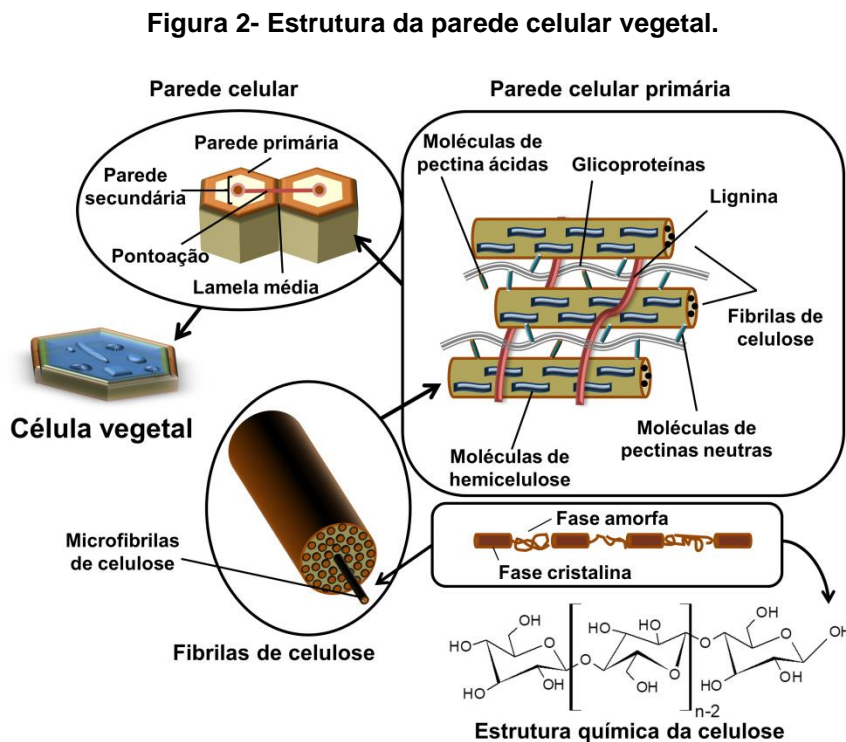


Fonte: Adaptado de (FRENCH, 2017).

A celulose é representada pela fórmula química $(C_6H_{10}O_5)_n$, onde n é o grau de polimerização (GP) que varia de 300 a 1700 a depender da sua origem (KLEMM et al., 2005). Cada unidade de repetição faz ligações covalentes intramoleculares com outras e tem três grupos hidroxilas que possuem tendência de formar ligações de hidrogênio intermoleculares. Essas ligações são responsáveis pela estrutura semicristalina das microfibrilas de celulose, assim como pela sua insolubilidade na maioria dos solventes orgânicos e em água (LAVOINE et al., 2012; SINQUEFIELD et al., 2020).

As regiões cristalinas são mais resistentes à ação de solventes devido à alta compactação conferida pelas ligações hidrogênio intermoleculares e a consequente dificuldade do solvente em penetrar o espaço entre as cadeias. Também necessitam de maior esforço para que as cadeias se deformem. Já as regiões amorfas são mais susceptíveis à deformação, ao inchamento promovido por solventes e a estabelecer ligações químicas e interações físicas com outras moléculas (DUFRESNE, 2013).

A **Figura 2** esquematiza a organização estrutural da parede celular de células vegetais e o papel desempenhado pelas microfibrilas nessa estrutura.



Fonte: Adaptado de (FLORES, 2020; RAVEN; EVERT; EICHHORN, 1996).

A parede celular vegetal é composta por várias subunidades que possuem três camadas e contém não só microfibrilas de celulose, mas também outras estruturas como hemicelulose, lignina, pectina, entre outras proteínas. Como pode ser observado na **Figura 2**, longas cadeias de celulose em uma organização semicristalina constituem as microfibrilas de celulose. Um conjunto de microfibrilas organizadas compõem as fibrilas e estruturas complexas das fibrilas juntamente com outros sacarídeos - chamadas *bundles* - presentes nas paredes primária e secundária da parede celular (FLORES, 2020; PENNELLS et al., 2020).

As fibrilas são envolvidas por hemiceluloses, que são macromoléculas heterogêneas constituídas de pentoses (D-xilose e L-arabinose), hexoses (D-

galactose, D-glicose e D-manose) e ácidos urônicos, cuja função é conferir elasticidade e impedir que as fibrilas de celulose se aglomerem (SILVA et al., 1998). A lamela média é uma matriz rica em lignina e pectina, cuja função é unir as paredes primárias das subunidades. Lignina associada às fibrilas confere rigidez, impermeabilidade e resistência a microrganismos. Portanto, a parede celular é um conjunto complexo e interligado de fibrilas de celulose com moléculas de pectina, glicoproteínas, lignina e hemicelulose, cuja função é conferir resistência à estrutura celular (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 1996).

As microfibrilas de celulose têm sido alvo de pesquisa para serem utilizadas como reforço de matrizes, principalmente em compósitos poliméricos devido a sua estrutura e propriedades. A maioria das suas propriedades varia bastante, pois são dependentes da origem da celulose e os tipos de processos empregados na fibrilação podem determinar suas dimensões e outras propriedades físicas. Em geral apresentam alta resistência à tração combinada com módulo elástico que pode variar entre 10 a 150 GPa a depender da sua origem, baixa densidade ($1,6 \text{ g.m}^{-3}$), grande área superficial (centenas de $\text{m}^2.\text{g}^{-1}$) e alta reatividade superficial. Biodegradabilidade e sustentabilidade são as características que tornam as MFC um material atraente para a fabricação de compósitos (KLEMM et al., 2005; MOOHAN et al., 2020).

A extração das microfibrilas de celulose e sua utilização para produção de bens de consumo faz parte do setor econômico de papel e celulose. No Brasil, esse setor tem bastante importância na economia, envolvendo mais de 450 municípios e capacidade de produção de 14,3 milhões de toneladas por ano. O país produz e exporta o maior volume de polpa de celulose obtida pelo processo a base de sulfato, conhecido como processo *kraft*, “forte” em alemão (SILVA, 2020).

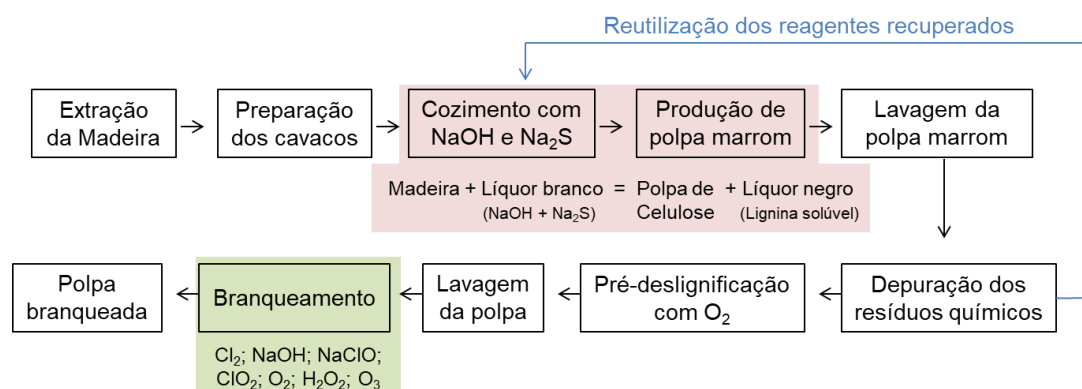
As microfibrilas de celulose utilizadas nesse trabalho como agente de reforço de matrizes poliméricas são provenientes da polpa *kraft* branqueada de eucalipto fabricadas pela Suzano, que utiliza o processo *kraft* para sua produção. Portanto, alguns aspectos deste processo serão abordados a seguir.

2.1.2 Processo *kraft*

O processo *kraft*, também conhecido como processo sulfato, é o principal método para obtenção de celulose a partir da madeira atualmente no Brasil. O método visa extrair a celulose a partir da desconstituição da lamela média da parede

celular utilizando hidróxido de sódio (NaOH) e sulfeto de sódio (Na₂S), causando danos mínimos às cadeias poliméricas da celulose e hemicelulose (FAVERO et al., 2014). A **Figura 3** mostra um esquema das etapas do processo *kraft* para a obtenção da polpa celulósica *kraft* branqueada.

Figura 3- Resumo do processo *kraft* para a obtenção da polpa celulósica *kraft* branqueada.



Fonte: Adaptado de (DARÉ ALVES et al., 2015).

Como pode ser observado na **Figura 3**, o processo *kraft* ocorre após as etapas de extração florestal, descascamento da madeira e picagem da madeira em cavacos. Em seguida, os cavacos são colocados em digestores com NaOH e Na₂S, resultando na dissolução da lignina e liberação das microfibrilas de celulose na forma de polpa marrom, cuja coloração está relacionada à lignina solúvel e aos produtos cromóforos resultantes do processo de polpação (CORREIA; D'ANGELO; JÚNIOR, 2019; DARÉ ALVES et al., 2015).

A grande vantagem do processo *kraft* está relacionada à possibilidade de recuperar os reagentes químicos utilizados durante o processo de cozimento. As principais desvantagens são o alto custo de implantação das fábricas com maquinários específicos, emissões de fortes odores de enxofre, rendimento entre 40-50 % de obtenção da polpa e baixa alvura após o processo de cozimento, o que faz necessário investir em processo de branqueamento (CORREIA; D'ANGELO; JÚNIOR, 2019; DARÉ ALVES et al., 2015).

A maioria das aplicações industriais da celulose exige que a polpa marrom seja branqueada, portanto o processo *kraft* inclui etapas de pré-deslignificação e de branqueamento. A etapa de pré-deslignificação é muitas vezes considerada uma etapa de deslignificação adicional ao cozimento e tem como objetivo diminuir o

número kappa a partir da remoção da lignina residual (CORREIA; D'ANGELO; JÚNIOR, 2019; RABELO et al., 2009; ZANÃO et al., 2019).

O número *kappa* é a metodologia indireta de quantificação do teor de lignina residual ou da capacidade de embraquecimento da polpa, pois é mensurado pela medida de solução de permanganato de potássio (KMnO_4) que a polpa tem capacidade de consumir (CORREIA; D'ANGELO; JÚNIOR, 2019). Durante a etapa de cozimento são gerados resíduos solúveis de lignina e várias outras estruturas, principalmente os ácidos hexenurônicos (HexAs), resultantes de degradação de algumas cadeias de hemicelulose, em especial das cadeias compostas por D-xilose, a partir da desmetilação de ácidos 4-O-metil-glucurônico presentes nelas (LI; GELLERSTEDT, 1997).

Os HexAs são essenciais para o número *kappa*, uma vez que são capazes de interagir com permanganato de potássio (KMnO_4) e outros reagentes usados no branqueamento como cloro, dióxido de cloro, ozônio ou perácidos, que são contabilizados no número *kappa* das polpas *kraft*. Os HexAs são substâncias leucocromóforas, ou seja, substâncias incolores que são capazes de se tornarem cromóforos. Eles possuem grupos carboxílicos e grupos enol-éter que podem sofrer hidrólises e complexar com íons metálicos (Mn, Cu, Fe, Co etc.) tornando-se cromóforos, ou seja, estruturas que absorvem energia e, portanto, apresentam coloração específica (CORREIA; D'ANGELO; JÚNIOR, 2019). Por isso, podem contribuir juntamente com os resíduos de lignina para o amarelamento da polpa celulósica.

Em condições alcalinas, os grupos enol-éter são praticamente inertes. Porém nas condições ácidas da etapa de branqueamento, eles são altamente reativos e susceptíveis a agentes químicos oxidantes atraídos por zonas ricas em elétrons como oxigênio (O_2), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), hipoclorito de sódio (NaClO), dióxido de cloro (ClO_2), dicloro (Cl_2) e ozônio (O_3) (RABELO et al., 2009). Os agentes de branqueamento oxidantes tem a função de remover lignina e HexAs e também de oxidar os cromóforos presentes nas estruturas provenientes da degradação dos HexAs. Portanto, na etapa de branqueamento a polpa marrom é sujeita a diversos ciclos de exposição a diferentes agentes de branqueamento intercalados com lavagens que visam a retirada e inativação dos agentes

cromóforos, originando a polpa *kraft* branqueada (VENTORIM; CARASCHI; SANSIGOLO, 2009).

2.1.3 Classificação da celulose

A classificação das estruturas de celulosas ainda não está oficialmente organizada. Porém alguns autores propõem classificações e nomenclaturas baseadas na origem e tamanho das partículas, que foram adotadas pela grande maioria dos estudiosos da área e serão apresentadas nesta seção.

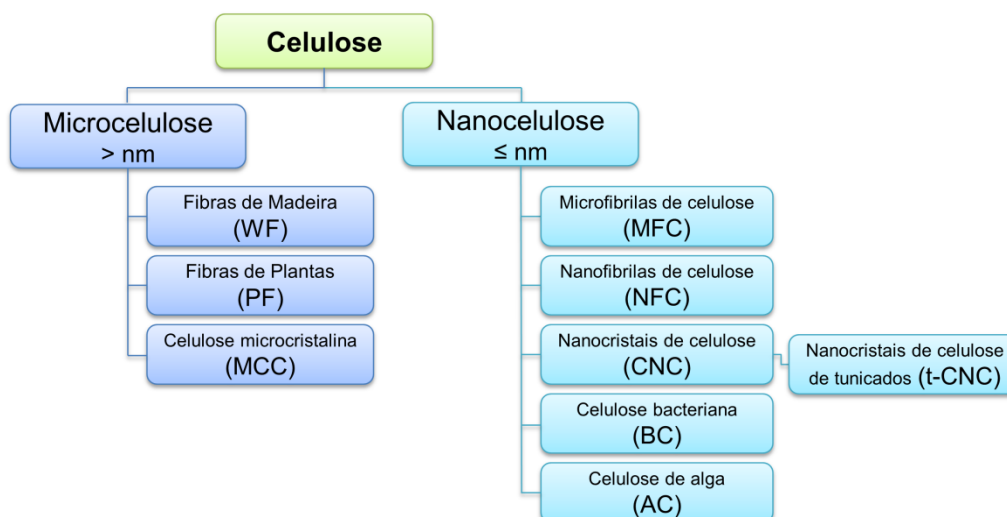
As estruturas de celulose são mais comumente classificadas de acordo com seu tamanho, sendo divididas em microcelulose e nanocelulose (OMRAN et al., 2021). Os termos nanocelulose e nanopartículas de celulose, abreviados como CN (*cellulose nanoparticles*, em inglês), são utilizados para se referirem a diversas classes de celulose que possuem pelo menos uma das suas dimensões na escala nanométrica, normalmente até 100 nm. Em contrapartida, as microcelulosas são estruturas de celulose que possuem todas as suas dimensões na escala micrométrica (MOON et al., 2011; OMRAN et al., 2021).

A **Figura 4** sumariza a classificação dos tipos de estrutura de celulose de acordo com Moon e colaboradores, 2011 que propõem uma classificação a partir do tamanho das estruturas, levando em consideração também a origem da celulose na nomenclatura. Dentro das microcelulosas estão as fibras de madeira (*wood fibers*, em inglês) (WF) e as fibras de plantas (*plant fibers*, em inglês) (PF), que são os maiores tipos de fibras de celulose, as quais possuem diâmetros na ordem de dezenas de microns, comprimento na ordem de milímetros e são mais comumente utilizadas na indústria têxtil e papelreira. Já as celulosas microcristalinas (MCC) são fibras preparadas a partir da hidrólise ácida das WF, o que gera fibras porosas, com maiores porções cristalinas e com diâmetro e comprimento entre 10-50 μm (MOON et al., 2011).

Dentro da classe de nanocelulosas há estruturas que podem ter diversas origens. As nanocelulosas provenientes de algas (AC) e bactérias (BC) possuem características morfológicas parecidas e variam o comprimento ($> 1\mu\text{m}$) e diâmetro (6-50 nm) de acordo com o microrganismo que as deu origem (MOON et al., 2011; SIRÓ; PLACKETT, 2010). As microfibrilas de celulose (MFC) são outro tipo de nanocelulose obtidas a partir do refinamento mecânico de polpas de WF ou PF purificadas. Elas variam o comprimento entre 0,5 - 99 μm , possuem diâmetro dentro

da escala nanométrica e apresentam segmentos amorfos e cristalinos, sendo consideradas um polímero semi-cristalino (OMRAN et al., 2021). As nanofibrilas de celulose (NFC) são mais um tipo de nanocelulose que se caracterizam por fibrilas mais refinadas que as MFC, obtidas a partir de técnicas específicas incorporadas ao refinamento mecânico das polpas de WF e PF que facilitam a fibrilação e produzem fibrilas de tamanhos menores. Elas possuem diâmetro de até 20 nm e comprimento de até 2 μm . Alguns autores não fazem diferenciação entre MFC e NFC e classificam as fibrilas de celulose com diâmetro entre 10-100 nm como nanofibrilas de celulose (MOON et al., 2011). Por fim, a última classe de nanoceluloses são os nanocristais de celulose (CNC), comumente chamados de *whiskers*, tem formato de bastões com até 5 nm de diâmetro e até 0,5 μm de comprimento e são obtidos por hidrólise ácida, principalmente de MFC e NFC. A hidrólise ácida é realizada com o objetivo de eliminar os segmentos amorfos das cadeias de celulose, deixando os CNC com cristalinidade superior a 50 %, justificando assim sua nomenclatura de nanocristal. Quando obtidas a partir de tunicados, os nanocristais de celulose são conhecidos como t-CNC (MOON et al., 2011; SHARMA et al., 2019a).

Figura 4- Classificação dos tipos de estruturas de celulose de acordo com o tamanho proposto por Moon e colaboradores, 2011 (MOON et al., 2011).



Fonte: Autoria própria.

Seguindo a classificação de Moon *et al.*, 2011 as celuloses provenientes do eucalipto utilizadas neste trabalho são classificadas de acordo com seu tamanho como nanocelulose do tipo microfibrilas de celulose (MFC), pois apresentam diâmetro dentro da escala nanométrica, porém o seu comprimento tem valores

bastante variados dentro da escala micrométrica. Essa nomenclatura foi adotada para evitar possíveis divergências, uma vez que o conceito de nanofibrila de celulose possui diferentes interpretações e o material utilizado é melhor descrito quando classificado como microfibrilas de celulose.

As propriedades mecânicas das celuloses variam de acordo com a sua classificação. A **Tabela 1** apresenta as propriedades de módulo elástico (E), tensão máxima (σ) e deformação (ϵ) em tração das diferentes classes de celulose.

Tabela 1- Propriedades mecânicas das diferentes classes de celulose.

Material	E (GPa)	σ (GPa)	ϵ (%)	Técnica	Referência
WF	14 - 27	0,3 - 1,4	4 -23	Tração	(MOON et al., 2011)
PF	5 - 45	0,3 - 0,8	1,3 - 8	Tração, Raman	(MOON et al., 2011)
MCC	25 \pm 4	-	-	Raman	(MOON et al., 2011)
BC e AC	78 \pm 17	-	-	AFM- flexão em 3 pontos	(MOON et al., 2011)
MFC e NFC	12,5 \pm 0,4	-	-	Nanoindentação	(SIMÃO et al., 2015)
CNC	57 - 150	-	-	AFM- flexão em 3 pontos	(MOON et al., 2011)

Fonte: Adaptado de (MOON et al., 2011; SIMÃO et al., 2015).

As principais propriedades mecânicas da celulose são dependentes da sua origem e modo de fabricação. Da mesma forma, o sucesso do uso de celulose como reforço depende do tipo de celulose utilizada, mas também modo de produção do compósito, uma vez que ele vai determinar a dispersão das fibras e adesão fibra-matriz (SIQUEIRA; BRAS; DUFRESNE, 2010a).

Os principais métodos de incorporação de nanoceluloses em matrizes poliméricas serão apresentados a seguir.

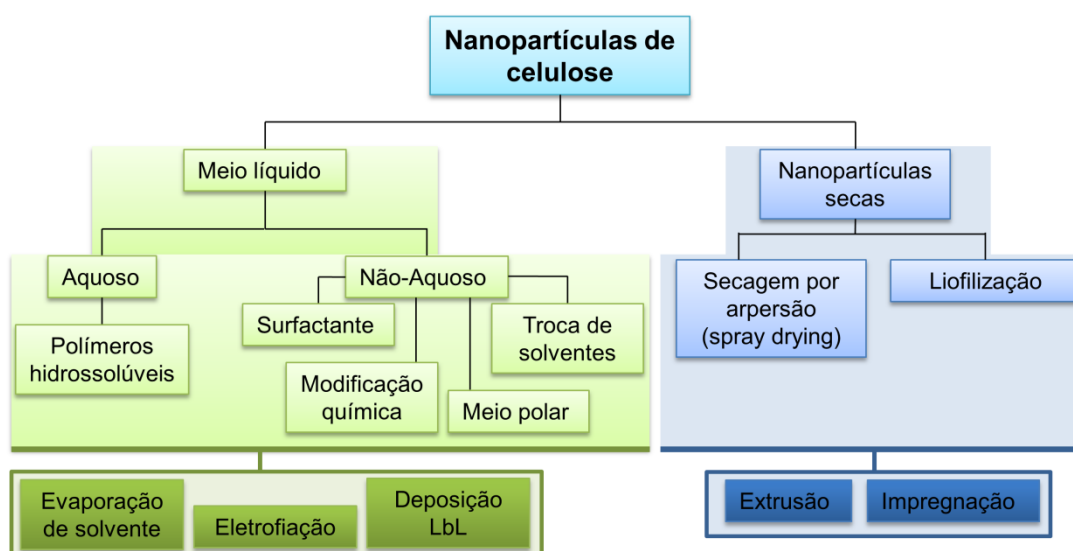
2.1.4 Formas de incorporação de nanocelulose em polímeros – estado da arte

A demanda por desenvolvimento tecnológico com sustentabilidade e o crescimento da nanotecnologia tem contribuído para que as nanoceluloses sejam alvo de estudo de diversos pesquisadores para a produção de materiais eco-amigáveis que apresentem alto desempenho mecânico. No entanto, as nanoceluloses são materiais polares com grandes tendências a aglomeração devido à presença de hidroxilas reativas ao longo da sua cadeia polimérica, o que representa um grande desafio para a dispersão delas em matrizes apolares, como a

grande maioria dos polímeros (DUFRESNE, 2013). Portanto, são necessárias estratégias de modificação da nanocelulose para incorporação em matrizes poliméricas que possibilitem a dispersão e adesão das fibras na matriz para que o material resultante apresente as propriedades mecânicas desejadas.

As técnicas utilizadas para a modificação de nanoceluloses com o objetivo de processá-las com matrizes poliméricas são apresentadas na **Figura 5**. Como as nanoceluloses são normalmente produzidas e comercializadas em meio aquoso, elas necessitam ser modificadas em meio aquoso e/ou transferidas para outro meio antes do processamento com as matrizes poliméricas (KLEMM et al., 2011).

Figura 5- Métodos de incorporação de nanoceluloses em matrizes poliméricas.



Fonte: Adaptado de (DUFRESNE, 2013).

Uma das formas comumente utilizadas por diversos pesquisadores é a mistura em solução aquosa das nanoceluloses com polímeros hidrossolúveis para posterior secagem da água ou utilização de técnicas como eletrofiação e deposição camada a camada (SIRÓ; PLACKETT, 2010).

O estudo de Allafchain, Hosseini e Ghoreishi, 2020 é um exemplo de dispersão de nanocelulose em matrizes hidrossolúveis. Eles propõem o desenvolvimento de suportes poliméricos para sistemas de liberação controlada de fármacos que contém grupos funcionais aminas. Foram produzidas blendas por solução aquosa de álcool polivinílico (PVA) com carboximetilcelulose (CMC) e com o fármaco ácido flufenâmico (FFA) com a posterior produção dos dispositivos por

eletrofiação. Os grupos carboxílicos da CMC interagem com os grupos amina do fármaco e na medida em que o dispositivo de PVA/CMC é biodegradado, o fármaco é liberado no meio (ALLAFCHIAN; HOSSEINI; GHOREISHI, 2020).

Poucos polímeros são hidrossolúveis, o que limita a utilização dessa técnica e, conseqüentemente, os produtos desenvolvidos. Em vista disso, foram desenvolvidas diversas estratégias para dispersão de nanocelulose em polímeros não-hidrossolúveis (SIRÓ; PLACKETT, 2010).

Dasan, Bhat e Faiz, 2017 utilizaram a técnica de troca de solventes para dispersar nanocristais de celulose (CNC) em blendas poliméricas de PLA/Poli(3-hidroxi-butirato-co-3-hidroxi-valerato) (PHBV) com o objetivo de obter melhores propriedades de barreira para aplicação como embalagem plástica. Após um processo de funcionalização dos CNC via (N-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina) (TEMPO)-oxidação, a água é removida da suspensão por meio de sucessivas adições de solvente (acetona → dimetilformamida → clorofórmio) seguida de centrifugação e do descarte do sobrenadante. Em seguida, a produção da blenda PLA/PHBV/CNC ocorreu pela dissolução e mistura dos componentes em clorofórmio e um filme foi gerado após a secagem do solvente (DASAN; BHAT; AHMAD, 2017).

Já Nozaki e Lona, 2021 propuseram uma polimerização *in situ* via emulsão como método de dispersão de nanocelulose em matriz polimérica não-hidrossolúvel. Eles acrescentaram o surfactante dodecil sulfato de sódio (SDS) à suspensão aquosa de MFC e de CNC para viabilizar a emulsão e, em seguida, realizaram a polimerização *in situ* de poli(acetato de vinila) (PVAc) (NOZAKI; LONA, 2021).

A técnica mais utilizada para viabilizar a dispersão de nanocelulose em matrizes poliméricas é a modificação química das hidroxilas reativas da superfície das nanoceluloses. Essas modificações podem ser acetilações, grafitações de cadeias poliméricas, esterificações, entre outras e, em geral, visam dificultar a aglomeração entre as partículas e aumentar a interação da celulose com a matriz, de forma a viabilizar as propriedades desejadas (TRACHE et al., 2020).

Deng e colaboradores, 2018 funcionalizaram micro e nanofibrilas de celulose com cadeias de PCL com o objetivo de dispersá-las na matriz de PCL por meio de dissolução em dimetilformamida (DMF). Eles observaram melhores propriedades mecânicas nos compósitos em que as nanofibrilas foram funcionalizadas e concluíram que a funcionalização, além de garantir melhor dispersão, também promoveu melhor interação da celulose com a matriz de PCL (DENG et al., 2018).

Outra técnica para dispersão de nanoceluloses em matrizes poliméricas é a secagem a partir das técnicas de spray (*spray drying*, em inglês), liofilização (*freeze drying*, em inglês) ou em estufas (*oven drying*, em inglês) (KLEMM et al., 2018; POSADA et al., 2020). A grande limitação dessas técnicas está relacionada ao processo de hornificação, ou seja, aglomeração irreversível ocasionada pela retirada da água do sistema. No processo de hornificação, as fibras estabelecem ligações hidrogênio intermoleculares irreversíveis, que afetam a dispersão, a flexibilidade, a capacidade higroscópica e a permeabilidade das fibras (CASTANHO; OLIVEIRA, 2000; KATO; CAMERON, 1999). Por apresentarem menores índices de aglomeração durante a desidratação, as técnicas de liofilização e secagem por *spray* foram bastante exploradas por pesquisadores para utilização de nanoceluloses secas nas mais diversas aplicações (POSADA et al., 2020).

Özdemir e Nofar, 2021 produziram, por dissolução em diferentes solventes, compósitos de PLA com nanocristais de celuloses secos por secagem por *spray* ou liofilização. Eles notaram que solventes que possuem baixas constantes dielétricas interferem negativamente na dispersão das CNCs na matriz do PLA. Além disso, observaram que, apesar de não ser uma diferença estatística significativa, há algum favorecimento da dispersão de nanocristais secos por secagem por *spray* em relação aos secos por liofilização (ÖZDEMIR; NOFAR, 2021).

Apesar dessas técnicas de secagem se mostrarem bastantes eficazes na dispersão de nanocelulose, a secagem por *spray* e a liofilização são técnicas caras e que apresentam um impacto ambiental considerável, uma vez que dependem do uso de diversos solventes orgânicos. Além disso, para tornar esses materiais competitivos na indústria de materiais poliméricos, seria necessário que eles pudessem preferencialmente ser processados por meio da técnica de mistura no estado fundido por extrusão e as peças finais pudessem ser moldadas por injeção. Isso porque a maioria das indústrias trabalha com extrusão e moldagem por injeção e, portanto, possuem maquinário instalado específico para elas (JAAFAR et al., 2019). Dessa forma, desenvolver métodos de dispersão que possibilitem trabalhar com partículas secas e sem uso de solventes é essencial no cenário industrial.

A secagem por estufa é uma técnica que permite a produção em larga escala com baixo custo. No entanto, é a técnica em que se observa maior taxa de hornificação (POSADA et al., 2020). Sob o ponto de vista molecular da interação celulose-água, a celulose tem uma natureza anfifílica, uma vez que é insolúvel em

água, mas também é capaz de interagir fortemente com ela. Essa dualidade se deve às três hidroxilas reativas ligadas aos carbonos 2, 3 e 6 presentes na celulose (**Figura 1**), que promovem ligações hidrogênio intermoleculares no *bulk* polimérico, conferindo o carácter de insolubilidade. Já a interação entre a água e a celulose ocorre por meio de ligações hidrogênio que ocorrem na região superficial da celulose e são responsáveis pela dispersão da celulose em meio aquoso (SINQUEFIELD et al., 2020). Portanto, se faz necessário impedir que as hidroxilas das MFC interajam com as hidroxilas de outra MFC para que não haja aglomeração durante a desidratação (POSADA et al., 2020).

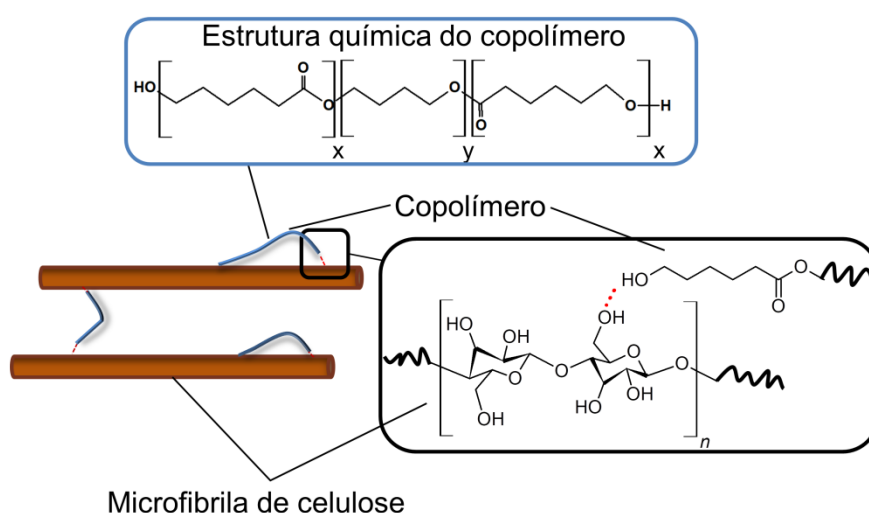
Diversas técnicas de modificação da superfície das nanoceluloses são reportadas na literatura, no entanto, ainda são poucos os pesquisadores que optaram por fazer a secagem em estufas. Portanto, avaliar o efeito dessa metodologia de secagem na dispersão das MFC e, conseqüentemente nas propriedades mecânicas das matrizes poliméricas é uma área pouco abordada. Outra grande lacuna dentro dessa área de pesquisa são propostas que não envolvam reações químicas na superfície da celulose e que ocorram em meio aquoso sem utilização de solventes (WANG et al., 2019; ZINGE; KANDASUBRAMANIAN, 2020).

Li e colaboradores, 2021 relataram sucesso em uma modificação na superfície de microfibrilas de celulose com laurato de vinil (VL) por um processo de transesterificação em meio aquoso. Posteriormente, houve a secagem em estufas e a preparação de um compósito com matriz de PLA por mistura a partir do estado fundido. Eles observaram aumento de até 38 % na tensão máxima em tração com até 30 % em massa de VL-MFC na matriz de PLA em relação ao PLA puro, enquanto que a inserção de até 30 % em massa de MFC não modificada causa redução de até 25 % na tensão máxima em tração na matriz de PLA. A diferença de comportamento mecânico entre as matrizes de PLA com a MFC não modificada e a VL-MFC foi creditada à diminuição do grau de hidrofiliabilidade da MFC, que permitiu melhor dispersão dela na matriz e a formação de uma rede de celuloses (LI et al., 2021).

Diante do contexto da falta de mais trabalhos que proponham alterações na polaridade da MFC em meio aquoso para posterior secagem em estufa, que é vantajoso por ser eco-amigável, economicamente viável e reproduzível em escala industrial, neste trabalho propõe-se reduzir a aglomeração das MFC durante a

secagem em estufa por meio da promoção de impedimento estérico. Para isso, as MFC foram secas juntamente com um copolímero em bloco de baixa massa molar que possuem hidroxilas terminais. Portanto, é possível que com secagem da água, as hidroxilas superficiais das microfibrilas de celulose sejam capazes de interagir com as hidroxilas terminais do copolímero em bloco, que por sua vez poderá impedir as MFC de se aglomerarem por estarem entre as microfibrilas, conforme esquematizado na **Figura 6**.

Figura 6- Estrutura química do copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahidrofurano) e esquema hipotético da interação MFC-copolímero.



Fonte: Autoria própria.

Até onde se tem conhecimento, não há artigos na literatura de uma metodologia parecida em meio aquoso de impedimento de aglomeração da MFC utilizando copolímeros em bloco de baixa massa molar. A escolha do copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahidrofurano) está relacionada a sua natureza química, pois é um copolímero de baixa massa molar que apresenta hidroxilas terminais reativas. Portanto, hipotetiza-se que as hidroxilas terminais do copolímero sejam capazes de interagir com as hidroxilas reativas presentes na superfície das microfibrilas de celulose, diminuindo sua hidrofiliçidade, o que diminuiria o processo de hornificação durante a secagem em estufa. Além disso, foi atestado em trabalhos anteriores que esse copolímero tem capacidade em compatibilizar a blenda PLA/PCL, apresentando potencial em melhorar a interação fibra-matriz das MFC modificadas com ele e dispersas em PLA, PCL ou na própria blenda PLA/PCL.

A importância e limitações da blenda PLA/PCL no cenário de materiais biodegradáveis e biocompatíveis serão discutidos na próxima seção.

2.2 BLENDA E COMPÓSITOS POLIMÉRICOS BIODEGRADÁVEIS

2.2.1 Conceitos de blendas poliméricas

A ciência de materiais tem evoluído bastante nas últimas décadas e o surgimento de novas combinações de materiais é cada vez mais comum. Dessa forma, a unificação da nomenclatura de materiais compostos por múltiplas fases é sempre um assunto confuso, mesmo em publicações científicas renomadas. Em vista disso, esse trabalho utiliza as recomendações de nomenclatura da IUPAC de 2004 como guia.

De acordo com Work *et al.*, 2004, blendas poliméricas são definidas como “misturas macroscopicamente homogêneas de duas ou mais espécies diferentes de polímeros” em que os constituintes da blenda não apresentam ligações químicas entre si e podem “ser separados por meios físicos”. Uma definição mais de blendas poliméricas é de Robenson, 2007 que diz que “blendas poliméricas são misturas físicas de dois ou mais polímeros e/ou copolímeros, sem que haja elevado grau de reações químicas entre eles” (ROBENSON, 2007). As blendas podem ser classificadas como miscíveis, quando formam apenas uma fase caracterizada por única temperatura de transição vítrea, ou imiscíveis, quando apresentam heterogeneidade de fases, caracterizada pela presença de mais de uma temperatura de transição vítrea (WORK *et al.*, 2004).

A termodinâmica da miscibilidade de blendas poliméricas é regida pela equação da Energia Livre de Gibbs (**Equação 1**).

$$\Delta G_m = \Delta H_m - T \cdot \Delta S_m \quad (\text{Equação 1})$$

Em que ΔG_m é a variação molar da energia livre da mistura; ΔH_m é a variação molar da entalpia da mistura; ΔS_m é a variação molar da entropia da mistura e T= temperatura absoluta. Para que ocorra miscibilidade, ΔG_m ter de ser menor que zero. Apesar de ser uma condição necessária, o valor de ΔG_m negativo não é a única condição para miscibilidade. É necessário que, além de ΔG_m negativo, a derivada segunda de ΔG_m em relação à composição com temperatura e pressão constantes (**Equação 2**) seja positiva. A fração volumétrica do polímero é representada por Φ_i (DE LOOS, 2008; ROBESON, 2007; WORK *et al.*, 2004).

$$\left(\frac{\partial^2 \Delta G_m}{\partial \Phi_i^2} \right)_{T,p} > 0 \quad (\text{Equação 2})$$

A variação molar da entropia da mistura está relacionada à desordem do sistema. Em blendas poliméricas, supõe-se que a disposição molecular das cadeias ocorra na forma de uma rede de entrelaçamento entre as cadeias que ocupam um mesmo volume. A entropia combinatória de uma mistura binária pode ser simplificada pela **Equação 3**, onde k é a constante de Boltzmann, V é o volume total ocupado pelas moléculas, V_i é o volume molecular do componente i e Φ_i é a fração volumétrica do componente i da mistura (ROBENSON, 2007).

$$\Delta S_m = -kV \left[\frac{\Phi_1}{V_1} \ln \Phi_1 + \frac{\Phi_2}{V_2} \ln \Phi_2 \right] \quad (\text{Equação 3})$$

Em um processo de mistura, a variação de entropia tende a ser sempre positiva, uma vez que o sistema tende ao aumento da desordem. No caso de cadeias longas, as combinações possíveis de posições de segmentos são limitadas. Portanto, a entropia combinatória da mistura apresenta valor de $\ln \Phi_i$ negativo, por isso ΔS_m é positivo. Assim, verifica-se que o termo $(T \cdot \Delta S_m)$ da Equação da Energia Livre de Gibbs leva a uma contribuição negativa para ΔG_m , pois a temperatura absoluta também é sempre positiva. Como polímeros apresentam alta massa molar e portanto baixa variação da entropia combinatória da mistura, esta contribuição torna-se insignificante. Portanto, a variação de energia livre do sistema (ΔG_m) depende prioritariamente de ΔH_m (ROBENSON, 2007).

A variação molar da entalpia da mistura é determinada pela variação de energia de contato entre os segmentos das cadeias e o parâmetro de interação entre o componente 1 e o componente 2 (X_{12}) determina a troca de energia entre segmentos que interagem entre si. Para interações dispersivas e não polares ou fracamente polares, como no caso da maioria dos polímeros, a troca de energia entre segmentos é regida pelo parâmetros de solubilidade (δ) de Hidelbrand entre os componentes da mistura. Portanto, a variação molar da entalpia da mistura binária é dada pela **Equação 4** (ROBENSON, 2007).

$$\Delta H_m = kTV \frac{X_{12}}{v_r} = (\delta_1 - \delta_2)^2 \Phi_1 \Phi_2 = \Phi_1 \Phi_2 V B_{12} \quad (\text{Equação 4})$$

Em que T é a temperatura absoluta, X_{12} é o parâmetro de interação Flory-Huggins, v_r é o volume molar de um segmento específico, δ_i o parâmetro de solubilidade para o componente i e $B_{12} = (RT\chi_{12}/v_r)$ é o parâmetro de densidade de interação binária, onde R é a constante universal dos gases. Por isso, a miscibilidade em blendas poliméricas depende prioritariamente do grau de interação entre as cadeias poliméricas de cada componente da mistura (ROBENSON, 2007).

Quando ΔG_m é positiva e/ou o resultado da Equação 2 é negativo, tem-se uma blenda imiscível. Nas blendas imiscíveis, a energia de interação entre os segmentos dos polímeros da mistura (B_{12}) na equação específica que controla a miscibilidade em blendas poliméricas apresentada na **Equação 5** é maior que a energia de interação limite para miscibilidade entre as fases ($B_{crítico}$).

$$\Delta G_m = B\Phi_A\Phi_B + RT \left[\frac{\rho_A\Phi_A \ln\Phi_A}{M_A} + \frac{\rho_B\Phi_B \ln\Phi_B}{M_B} \right] \quad (\text{Equação 5})$$

Os parâmetros da **Equação 5** são a energia de interação entre os segmentos dos polímeros da mistura (B), constante dos gases (R), temperatura absoluta (T), densidade (ρ_i), fração volumétrica (Φ_i) e massa molar (M_i) do componente (i) da mistura. O parâmetro $B_{crítico}$ é dado pela **Equação 6** e é expresso em função do parâmetro de interação Flory-Huggins polímero-polímero (HIEMENZ; LODGE, 1973).

$$B_{crítico} = \frac{RT}{2} \left(\sqrt{\frac{\rho_A}{(M_w)_A}} + \sqrt{\frac{\rho_B}{(M_w)_B}} \right)^2 \quad (\text{Equação 6})$$

, onde M_w é a massa molar média ponderal do componente i . Quando a energia de interação polímero-polímero é maior que o valor crítico ($B_{crítico}$), a blenda será termodinamicamente imiscível. O valor de $B_{crítico}$ é determinado da massa molar ponderal média, por consequência, a imiscibilidade em blendas poliméricas depende predominantemente da massa molar dos componentes da mistura. Segmentos longos de cadeias poliméricas tendem a favorecer o emaranhamento com segmentos de cadeias da mesma natureza. Devido às longas cadeias poliméricas e a baixa tendência de interação polímero-polímero que as longas cadeias apresentam, a grande maioria das blendas poliméricas é imiscível (ROBENSON, 2007).

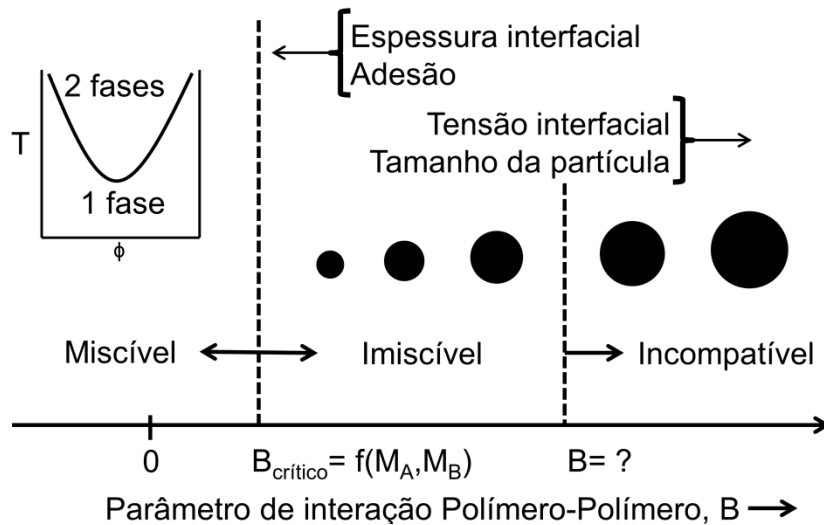
As blendas imiscíveis são caracterizadas pela separação das fases da mistura em que a fase majoritária é denominada matriz, onde está dispersa a fase

minoritária, normalmente na forma de gotas e que é chamada de fase dispersa. Portanto, a separação de fases resulta obrigatoriamente na existência de uma região interfacial entre a matriz e a fase dispersa. A tensão interfacial é uma propriedade física em que as forças de atração e repulsão entre as moléculas determinam as características da interface entre as fases da blenda. Quando a tensão interfacial é alta, as forças repulsivas atuam em predominância, o que gera menor grau de interpenetração entre as cadeias poliméricas, conseqüentemente menor adesão entre as fases com separação clara entre elas. Quando a tensão interfacial é baixa, as forças atrativas atuam em predominância, o que resulta em algum nível de interação entre as fases, conseqüentemente maior adesão e região interfacial mais refinada (LUCIANI; CHAMPAGNE; UTRACKI, 1998; ROBENSON, 2007; SARATHCHANDRAN, 2019).

As blendas imiscíveis podem ser compatíveis ou incompatíveis. A **Figura 7** ilustra que a compatibilidade em blendas poliméricas é determinada pela distância dos valores de energia de interação entre os segmentos dos polímeros da mistura (B_{12}) e o valor crítico ($B_{\text{crítico}}$). Quanto mais distante do $B_{\text{crítico}}$ for o valor de B_{12} , menor é o potencial de compatibilidade da blenda, pois a energia de interação se torna maior, aumentando a tensão interfacial e conseqüentemente os domínios da fase dispersa também se tornam maiores. As blendas incompatíveis apresentam gotas grandes em que a baixa adesão entre as fases é evidenciada pela clara separação entre as fases e região interfacial espessa (LUCIANI; CHAMPAGNE; UTRACKI, 1998; ROBENSON, 2007).

A morfologia das blendas imiscíveis é resultado do equilíbrio entre eventos físicos que promovem a quebra da fase dispersa, como a tensão de cisalhamento imposta pelo campo de fluxo às partículas, estimulando sua quebra e a tensão interfacial que promove a coalescência das gotas. Quando os polímeros se encontram no estado fundido e são misturados, a fase dispersa sofre inicialmente um estiramento e posteriormente a quebra das fibras formadas em gotas menores. As gotas menores podem coalescer para formar gotas maiores a depender da tensão interfacial entre as fases. Esses processos dependem de fatores como a composição das misturas, a razão de viscosidade entre a fase dispersa e a matriz, tensão de cisalhamento imposta à mistura e a tensão interfacial entre as fases (SHOKOOHI; AREFAZAR, 2009; TUCKER III; MOLDENAERS, 2002).

Figura 7- Relação de compatibilidade em blendas poliméricas em função do parâmetro de interação polímero-polímero.



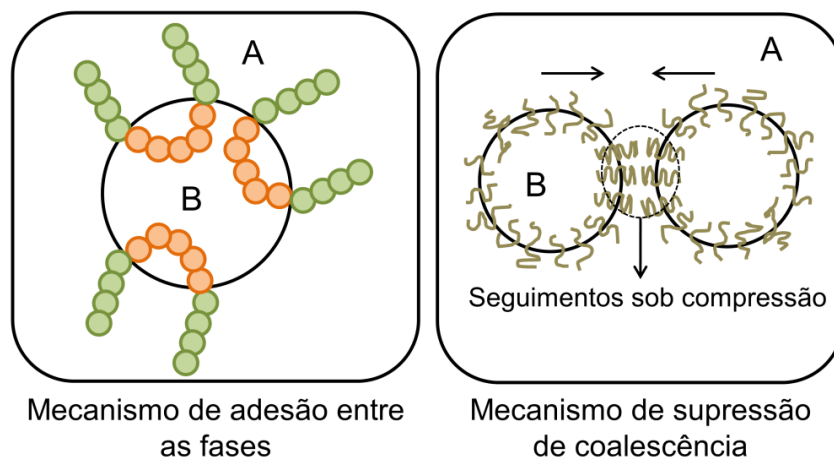
Fonte: Adaptado de (PAUL; BUCKNALL, 2000).

Blendas poliméricas imiscíveis podem ser compatibilizadas com a finalidade de diminuir a tensão interfacial entre as fases da mistura, melhorar a dispersão das gotas e evitar o processo de coalescência. A compatibilização é feita por meio de substâncias que interagem quimicamente com ambas as fases da mistura, chamadas de agentes compatibilizantes. Os agentes compatibilizantes podem ser reativos, quando são miscíveis em uma das fases e reagem quimicamente com a outra fase da mistura. Quando os compatibilizantes não são reativos, normalmente são copolímeros em bloco em que um bloco é miscível em uma fase da blenda e o outro é miscível na outra fase (**Figura 8**). Mais recentemente, nanoestruturas tem sido utilizadas com o objetivo de impedir a coalescência das gotas da fase dispersa, sendo chamados de compatibilizantes sólidos. De forma geral, adicionar compatibilizante à mistura pode induzir a redução da tensão interfacial entre as fases e à supressão da coalescência, o que resulta em redução do tamanho da fase dispersa (KONING et al., 1998; LIPATOV, 2002; UTRACKI, 2002).

Copolímeros em bloco são normalmente uma alternativa barata e prática para a compatibilização de blendas poliméricas imiscíveis. Geralmente, um dos blocos do copolímero possui afinidades químicas que permitam a miscibilidade em uma das fases, enquanto o outro bloco possui afinidades com a outra fase da blenda. Assim, quando localizados na região interfacial entre as fases da mistura, os copolímeros em bloco são responsáveis por promover a adesão entre as fases por atuarem como

pontes e por impedir a coalescência das gotas, conforme mostrado na **Figura 8** (KONING et al., 1998).

Figura 8- Esquema de mecanismo de adesão e supressão de coalescência promovidos por copolímeros em bloco atuando como compatibilizantes em blendas poliméricas.



Fonte: Adaptado de (KONING et al., 1998; LYU et al., 2002).

Mais recentemente pesquisadores tem utilizado nanopartículas para promover o impedimento da coalescência da gotas da fase dispersa em blendas poliméricas. As nanopartículas utilizadas como compatibilizantes tem naturezas diversas, podendo ser nanotubos de carbono, nanopartículas de dióxido de titânio, partículas de Janus, nanocelulose e etc (BAHRAMI et al., 2014; DE AGUIAR et al., 2019; DECOL; PACHEKOSKI; BECKER, 2018; WU et al., 2011; YONG et al., 2018). Por vezes, as partículas formam uma rede de percolação que além de conferir estabilidade às gotas da fase dispersa de blendas imiscíveis, também conferem maior resistência mecânica à blenda polimérica. Por isso, são tratados por alguns autores como compósitos poliméricos.

Alguns conceitos sobre compósitos poliméricos serão abordados na próxima seção.

2.2.2 Conceitos de compósitos poliméricos

Os compósitos são definidos como “*material multicomponente compreendendo vários domínios de fase diferentes (não gasosos) em que pelo menos um tipo de domínio de fase é uma fase contínua*”, também chamada de matriz (WORK et al., 2004). De forma mais didática, diz-se que os compósitos são compostos por dois ou mais componentes imiscíveis de natureza estrutural

diferentes, em que a fase contínua geralmente é a fase mais dúctil e menos resistente, que transmite o esforço para a fase dispersa, responsável pela absorção da energia e conseqüentemente promoção de reforço. Um exemplo clássico desse sistema são os termoplásticos reforçados com fibras de vidro (DE PAOLI, 2009).

As matrizes dos compósitos podem determinar sua classificação. Portanto, quanto a matriz é um polímero, esse compósito é classificado como compósito de matriz polimérica (*polymer matrix composite*, em inglês) (PMC). Eles ainda podem ser de matriz metálica (MMC) ou cerâmica (CMC) (THOMAS et al., 2012). Os compósitos também podem ser classificados de acordo com o tipo de reforço utilizado, que podem ser particulados, fibrosos ou estruturais. Portanto, os compósitos representam um conjunto de vastas possibilidades de misturas de materiais, cujas propriedades finais serão determinadas pela combinação das propriedades da sua matriz juntamente com o tipo de reforço utilizado. Além das propriedades intrínsecas dos materiais das fases, as propriedades finais dos compósitos são influenciadas pelo processo de fabricação, a interação matriz-fase dispersa, a distribuição, dispersão e tamanho do reforço (BHATTACHARYA; KAMAL; GUPTA, 2006; CALLISTER, 1999; OSSWALD; MENGES, 2012).

Como as propriedades dos materiais compósitos dependem de fatores intrínsecos dos materiais e também de condições de processamento e interação entre as fases, calcular teoricamente as propriedades mecânicas do compósito resultante é um desafio. No entanto, é possível estimar os módulos de elasticidade mínimo e máximo do compósito com base na regra das misturas. Dessa forma, obtém-se uma faixa de valores em que o módulo de elasticidade do material resultante pode ter. A **Equação 7** calcula o limite inferior (u) e a **Equação 8** o limite superior (l) do módulo de elasticidade (E) do compósito, em função da fração volumétrica (Φ) do compósito (c), matriz (m) e reforço (r) (CALLISTER, 1999; IWAMOTO et al., 2014).

$$E_c(u) = E_m \Phi_m + E_r \Phi_r \quad (\text{Equação 7})$$

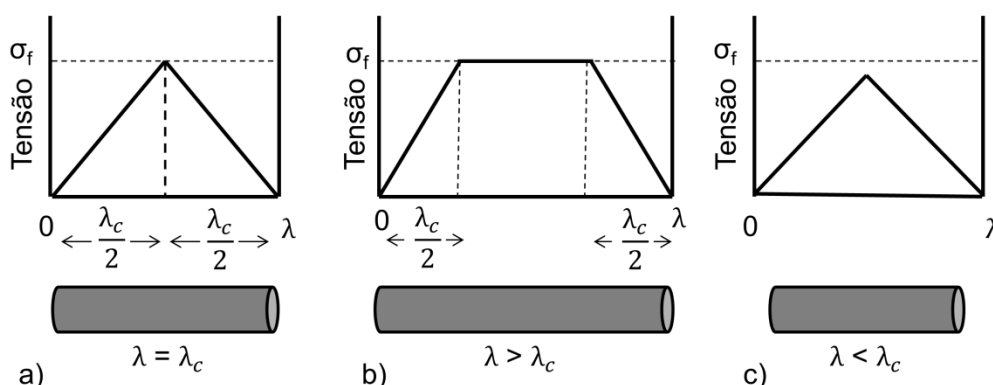
$$E_c(l) = \frac{E_m E_r}{\Phi_m E_r + \Phi_r E_m} \quad (\text{Equação 8})$$

Compósitos, cujo reforço são fibras, são tecnologicamente os compósitos mais importantes e também os mais antigos. O comprimento da fibra tem influência direta nas propriedades mecânicas do compósito, uma vez que um comprimento crítico é necessário para que haja aumento efetivo da resistência por meio da transferência tensão da matriz para a fibra, conforme mostrado na **Figura 9** (CALLISTER, 1999).

O comprimento crítico (λ_c) depende do diâmetro da fibra (d), do seu limite de resistência à tração (σ_f) e da força de ligação entre a fibra e a matriz (τ_c) ou da tensão limite do escoamento cisalhante da matriz, o que for menor, conforme a **Equação 9** (CALLISTER, 1999).

$$\lambda_c = \frac{\sigma_f d}{2\tau_c} \quad (\text{Equação 9})$$

Figura 9- Perfis tensão-posição quando o comprimento da fibra é (a) igual ao comprimento crítico; (b) maior que o comprimento crítico e (c) menor que com comprimento crítico.



Fonte: Adaptado de (CALLISTER, 1999).

Quando o comprimento da fibra é igual ao comprimento crítico, a fibra apresenta capacidade de suportar a tensão máxima apenas na posição central, conforme mostrado na **Figura 9 (a)**. Quanto maior for o comprimento da fibra em relação ao comprimento crítico, maior é região da fibra que suporta a tensão máxima (**Figura 9 (b)**). No entanto, quando a fibra é menor que o comprimento crítico, a tensão suportada é menor que a tensão máxima mesmo no ponto médio do seu comprimento, como mostrado na **Figura 9 (c)**.

As dimensões da fase dispersa também determinam a classificação dos compósitos em nanocompósitos ou microcompósitos, mais comumente referido apenas como compósitos. Os nanocompósitos poliméricos são materiais formados por dois ou mais domínios de fases. A matriz, ou seja, a fase contínua e majoritária é

um homopolímero, copolímero ou uma blenda polimérica onde estão dispersas partículas, cargas ou fibras, que possuem pelo menos uma das suas dimensões menor ou igual a 100 nm. As fases dispersa e matriz devem ser insolúveis entre si e apresentar clara interface, que irá determinar as propriedades do compósito juntamente com a dispersão e distribuição do reforço (BHATTACHARYA; KAMAL; GUPTA, 2006).

Em nanocompósitos poliméricos, o sucesso do reforço é relacionado a diversos aspectos, entre eles estão: a razão de aspecto da nanoestrutura e a capacidade de percolação da matriz. Entende-se por razão de aspecto (L/d) a relação entre o comprimento (L) e o diâmetro (d) da nanoestrutura. Já a capacidade da matriz percolar está relacionada a capacidade de interpenetração das cadeias poliméricas entre as nanoestruturas. Quando há boa percolação da matriz, as nanoestruturas tendem a formar uma rede de sustentação que é responsável por aumentar a resistência do nanocompósito. Para que haja transferência de tensão da matriz para a fase dispersa, além da formação de uma rede de sustentação cuja matriz está bem percolada, a dispersão e distribuição da fase dispersa deve ser homogênea e faz necessário que haja compatibilidade entre a matriz e a fase dispersa. Por isso, materiais com naturezas químicas parecidas normalmente apresentam maior sucesso em termos de combinações de propriedades (BHATTACHARYA; KAMAL; GUPTA, 2006).

Takayanagi *et al.*, 1964 propuseram uma forma de calcular o módulo de elasticidade (E) do nanocompósito cujo reforço tem estrutura fibrilar, mostrado na **Equação 10**, em que Φ_r é a fração volumétrica da fase dispersa e ψ é um parâmetro ajustável e os subscritos *m* e *r* se referem à matriz e reforço, respectivamente (TAKAYANAGI; UEMURA; MINAMI, 2007).

$$E_c = \frac{(1-2\psi + \psi\Phi_r)E_m E_r + (1-\Phi_r)\psi E_r^2}{(1-\Phi_r)E_r + (\Phi_r - \psi)E_m} \quad \text{(Equação 10)}$$

Quando o módulo de elasticidade da fase dispersa é muito maior que o módulo da elasticidade da matriz, ou seja, $E_r \gg E_m$, a **Equação 10** pode ser escrita como:

$$E_c = \psi E_r \quad \text{(Equação 11)}$$

Com o objetivo de inserir a teoria da percolação como fator determinante para o módulo de elasticidade do nanocompósito, Ouali *et al.*, 1991 propuseram a adaptação em que ψ seria a fração volumétrica da fase dispersa que atuaria efetivamente na percolação, que pode ser estimado por (OUALI; CAVAILLE; PEREZ, 1991):

$$\psi = 0 \quad \Phi_r \leq \Phi_p$$

$$\psi = \Phi_r \left(\frac{\Phi_r - \Phi_p}{1 - \Phi_p} \right)^b \quad \Phi_r \geq \Phi_p \quad \text{(Equação 12)}$$

Onde Φ_p é o limite de percolação e b é o expoente de percolação crítico, calculado em 0,4 para sistemas de três dimensões (OUALI; CAVAILLE; PEREZ, 1991; ZARE; RHEE, 2017). O limite de percolação varia de acordo com o material estudado e sua orientação. Para fibras, o limite de percolação (Φ_p) está relacionado com a razão de aspecto (L/d) por:

$$\Phi_p = \frac{0,7}{L/d} \quad \text{(Equação 13)}$$

Segundo a teoria da percolação, quando o limiar de percolação é excedido, há a formação de uma rede contínua de nanoestruturas, resultando na elevação dos valores das propriedades mecânicas dos nanocompósitos se comparados com a matriz polimérica não reforçada (OUALI; CAVAILLE; PEREZ, 1991).

O material proposto neste trabalho consiste em uma mistura mecânica de quatro componentes, sendo eles dois polímeros termoplásticos, um copolímero em bloco e uma fibra polimérica natural com pelo menos uma dimensão na escala nanométrica. Portanto, trata-se de um nanocompósito de matriz polimérica. No entanto, é preciso ressaltar que a matriz polimérica em que a celulose está dispersa é uma blenda polimérica imiscível. Por isso, é importante pensar nesse material como uma blenda polimérica imiscível PLA/PCL reforçada com microfibrilas de celulose.

Em razão da matriz do material proposto ser uma blenda PLA/PCL, abordam-se alguns aspectos importantes da blenda PLA/PCL na próxima seção.

2.2.3 Importância da blenda PLA/PCL

A blenda PLA/PCL é alvo de estudo de diversos pesquisadores principalmente pelas características de biodegradabilidade, biocompatibilidade e biorreabsorbabilidade tanto do PLA, quanto da PCL. Isso torna elevada a possibilidade de aplicação da blenda tanto como materiais eco-amigáveis para embalagens, utensílios domésticos, móveis e artigos de decoração, quanto como dispositivos biomédicos biocompatíveis (FORTELNY et al., 2019). Por essa, razão são materiais bastantes interessantes de serem modificados para possibilitar a sua aplicação nas mais diversas áreas de produção, principalmente por ser uma alternativa viável e eco-amigável aos demais materiais já estabelecidos no mercado.

O apelo de misturar PLA e PCL se deve às limitações inerentes aos materiais puros e às propriedades mecânicas complementares que eles apresentam; por exemplo, enquanto o PLA é inerentemente frágil, a PCL é extremamente dúctil.

O PLA é um polímero termoplástico de fonte natural renovável originado a partir da polimerização do ácido láctico, que possui isomeria óptica. A depender do teor de monômero D-ácido láctico, o PLA é um poliéster semi-cristalino que possui módulo de elasticidade em torno de 3 GPa, resistência à tração entre 50- 70 MPa, módulo de flexão em torno de 5 GPa, resistência à flexão de cerca de 100 MPa e alongação na ruptura em torno de 4 %. Sua temperatura de transição vítrea (T_g) situa-se por volta de 60 °C e sua temperatura de fusão (T_m) por volta de 180 °C (SINGHVI; ZINJARDE; GOKHALE, 2019).

Já a PCL é um polímero semi-cristalino derivado da polimerização da ϵ -caprolactona, produto de origem petroquímica. A PCL é um poliéster alifático, tenaz e flexível que possui T_g em torno de -60 °C e T_m em torno de 60 °C . Possui propriedades mecânicas como baixo módulo elástico em torno de 0,4 GPa, 15 MPa de resistência à tração e alongação na ruptura > 500 % (ESPINOZA et al., 2020; ZHONG et al., 2020).

A blenda PLA/PCL é imiscível para a grande maioria das composições e temperaturas (FORTELNY et al., 2019). A maioria das blends imiscíveis apresenta uma baixa adesão interfacial entre as fases, resultando em propriedades mecânicas limitadas devido à baixa interação entre as fases, alta tensão interfacial, baixa adesão e má dispersão da fase minoritária. Por isso, faz-se necessário o uso de

métodos de compatibilização para superar essas limitações e dessa forma atingir o equilíbrio desejado entre as propriedades mecânicas (UTRACKI, 2002).

Conforme abordado em sessão anterior, existem duas metodologias mais comumente utilizadas para promover a compatibilização em uma blenda imiscível. Os métodos por compatibilização reativa utilizam grupos funcionais reativos para promover a interação entre as fases, seja por formação de copolímeros *in situ* ou pela promoção de ligações químicas entre as fases. Enquanto que os métodos de compatibilização não-reativa usam um terceiro componente, normalmente um copolímero em bloco, que seja capaz de estabelecer interações físicas com ambas as fases da blenda e dessa forma promover melhor interação entre elas (SPIEGEL, 2018).

Em trabalho anterior, foi realizada a investigação do efeito compatibilizante de um copolímero em bloco comercial derivado de ϵ -caprolactona e tetrahydrofurano em blendas PLA/PCL na composição fixa de 80:20 % em massa. O copolímero de 2000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ tem a configuração de blocos “ABA”, em que o bloco A é um bloco de ϵ -caprolactona e o bloco B é um bloco de tetrahydrofurano. Por se tratar de um copolímero comercial, as massas molares e os tamanhos dos blocos não foram fornecidos pelo fabricante. O estudo revelou que ao adicionar 5 % em massa do copolímero em bloco há mudança no perfil de comportamento mecânico de frágil para dúctil, uma vez que a blenda PLA/PCL apresentava 2 % de deformação na ruptura e a blenda compatibilizada PLA/PCL apresentou 85 % de deformação na ruptura (DIAS, 2016; DIAS; CHINELATTO, 2019).

Essa mudança no perfil de comportamento mecânico da blenda PLA/PCL abriu a possibilidade de promover outras modificações para superar outras limitações intrínsecas da blenda, como por exemplo, a baixa resistência ao impacto e a baixa tensão máxima suportada. Uma forma de superar essas baixas resistências ao impacto e à tensão em tração é inserir nessa mistura um quarto componente que pudesse melhorar essas propriedades mecânicas desse material, perdendo o mínimo possível em capacidade de deformação. Como essa blenda é conhecidamente biodegradável e biocompatível, o agente de reforço ideal precisaria manter essas características, já que o grande apelo do uso dessa blenda nas diversas áreas de aplicação está nessas características de biodegradabilidade, biocompatibilidade e biorreabsorbabilidade (CARVALHO et al., 2020; CONDE et al., 2021). Por isso, o principal objetivo desse trabalho é viabilizar a dispersão de

microfibrilas de celuloses para que atuem como agente de reforço nas blendas PLA/PCL.

Por isso, alguns aspectos sobre reforço de matrizes poliméricas por nanoceluloses serão abordados na próxima seção.

2.2.4 Aspectos do reforço de matrizes poliméricas por nanoceluloses

Historicamente, fibras de origem vegetal e animal compõem materiais de construção, vestimentas e ferramentas desde o princípio da humanidade. No entanto, mais recentemente, com o desenvolvimento da nanociência, o uso de nanomateriais como fase de reforço em nanocompósitos é um tópico de estudo crescente e a criação de novos materiais com propriedades peculiares para cada aplicação específica é para onde a ciência de materiais tem se direcionado (MONDAL, 2018; MONTEIRO et al., 2009; TIMBÓ et al., 2020). Diante desse contexto e da necessidade de produção de materiais que sejam mais sustentáveis tanto em termos de produção, quanto em relação à sua durabilidade e forma de degradação, a utilização de nanoestruturas de celulose como reforço de matrizes poliméricas tem tido grande destaque nas últimas décadas (SIRÓ; PLACKETT, 2010).

As bases teóricas desses sistemas de reforço com nanoceluloses ainda estão em construção, e se baseiam muito nas observações de estudos experimentais. Por causa desse momento de construção do conhecimento, a identificação dos mecanismos de fratura já conhecidos pela ciência de polímeros que sejam predominantes em polímeros reforçados com nanopartículas é, no momento, a forma mais acessível de estabelecer como funcionam os mecanismos de reforço.

Hsieh *et al.* 2010, estudaram as melhorias na tenacidade de blendas epóxi/borracha a partir da inclusão de nanopartículas de sílica. Eles contribuíram bastante nessa área de pesquisa, pois identificaram que os mecanismos de fratura causados pelo reforço por nanoestruturas da matriz polimérica são os mesmos identificados em matrizes poliméricas: (a) escoamento por bandas de cisalhamento localizadas; (b) descolamento da fase dispersa seguida pelo (c) aparecimento e crescimento de vazios na matriz polimérica (HSIEH et al., 2010).

No escoamento por meio de bandas de cisalhamento, uma tensão aplicada é escoada formando uma distorção do formato do material sem mudança significativa no volume da amostra. Isso ocorre, pois durante o processo de escoamento, não há

a perda da coesão entre as moléculas da cadeia polimérica. As bandas de cisalhamento localizadas são caracterizadas por regiões finas e planas de deformação por cisalhamento em áreas da amostra onde há uma concentração diferentes estruturas, seja ela causada por imperfeições intrínsecas ao material ou pela presença de outra estrutura que promovem concentração de tensão no local (CANEVAROLO, 2013; HSIEH et al., 2010).

O processo de descolamento da fase dispersa com aparecimento de espaços vazios é um processo parecido com o chamado fissuramento ou *crazing*. O fissuramento é um mecanismo de deformação em que são formadas microfissuras em um plano perpendicular à tensão aplicada, produzindo uma trinca inicial. No entanto, as trincas originadas são estabilizadas por fibrilas de material polimérico orientado. Essa região de interpenetração de fibrilas poliméricas orientadas é capaz de sustentar as tensões (CANEVAROLO, 2013; HSIEH et al., 2010).

Em reforços de matrizes poliméricas com nanoestruturas, a alta concentração de tensão hidrostática em torno de uma nanoestrutura pode induzir o desprendimento desta fase da matriz polimérica, originando o aparecimento de espaços vazios na matriz. Esses espaços vazios são estabilizados por fibrilas de material polimérico e, sugere-se que sejam também estabilizados pela organização em rede nas nanoestruturas, tornando o material mais resistente. Isso ocorre, pois a matriz polimérica escoar nos espaços vazios, o que alivia a tensão triaxial nas regiões adjacentes. O alívio da tensão dificulta o descolamento de outras nanoestruturas, fazendo com que nem todas as nanoestruturas dentro da zona de fratura inicial sofram o descolamento (QUARESIMIN; SALVIATO; ZAPPALORTO, 2015).

Favier e colaboradores, 1995 são apontados na literatura como os primeiros a mostrarem que o sistema de reforço por nanoceluloses está relacionada a sua capacidade de percolação, que forma uma rede rígida de nanopartículas de celulose dentro da matriz polimérica, o que confere resistência a ela (FAVIER; CHANZY; CAVAILLÉ, 1995). Poucos anos depois, Dufresne e Vignon, 1998 promoveram a dispersão de microfibrilas de celulose em matriz de amido. Eles observaram, assim como Favier *et al.*, 1995, que as microfibrilas de celulose formaram uma grande rede na matriz, a qual foram atribuídas a melhora das propriedades de resistência do compósito resultante (DUFRESNE; VIGNON, 1998).

A partir de então, muitos trabalhos focaram em reforços de matrizes poliméricas por nanoceluloses. Diante das observações empíricas, notou-se que três fatores têm papel essencial no sucesso em reforçar matrizes poliméricas com nanoceluloses: (1) as propriedades intrínsecas da matriz e do reforço; (2) a interação interfacial entre a matriz e o reforço e (3) a dispersão e a distribuição homogênea do reforço na matriz (MONDAL, 2018).

No que diz respeito às características intrínsecas das nanoceluloses, a alta relação entre comprimento e espessura (L/d), chamada de razão de aspecto, é essencial para o sucesso no reforço. Estudos mostram que quanto maior for a razão de aspecto da nanocelulose, maior o reforço apresentado. A alta razão de aspecto pode impor efeitos de aprisionamento em pequenas cadeias da matriz polimérica. Isso causa uma espécie de confinamento da cadeia polimérica, aumentando a capacidade de transferência de tensões entre a matriz e o reforço (KARGARZADEH et al., 2017).

As nanoceluloses apresentam também propriedades intrínsecas a nanomateriais, como a presença de grande área superficial. No caso das nanoceluloses, a grande área superficial apresenta hidroxilas reativas que podem ser modificadas para aumentar a interação interfacial com a matriz, favorecendo a adesão do reforço na matriz e a transferência de esforço da matriz para o reforço (HUBBE; GRIGSBY, 2020; HUBER et al., 2012; MONDAL, 2018; THOMAS et al., 2020).

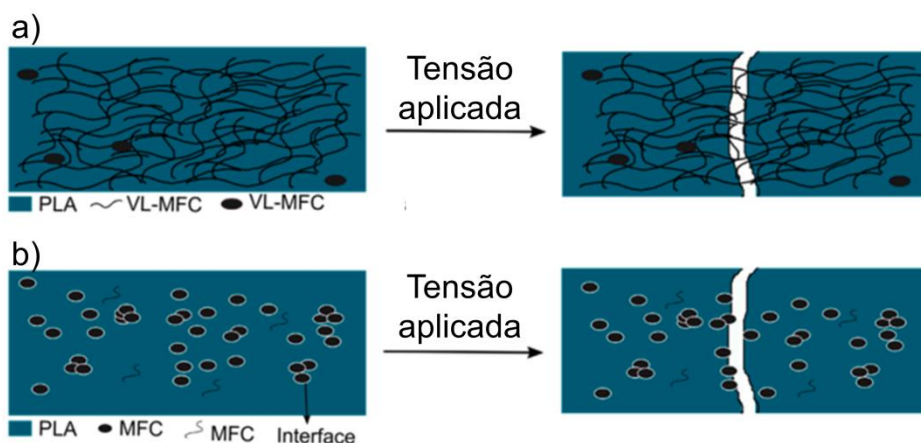
A grande dificuldade encontrada para que a nanocelulose atue como reforço da matriz ainda reside primordialmente na dificuldade em dispersar as nanoceluloses nas matrizes poliméricas. Essa dificuldade também está fortemente correlacionada com a grande área superficial apresentada pelas nanoceluloses e pela presença das hidroxilas reativas que possuem grande afinidade com as hidroxilas de outras cadeias da própria celulose. Isso culmina na grande propensão das nanoceluloses em se aglomerarem (DUFRESNE, 2013; GARDNER et al., 2008; HUBER et al., 2012; KLEMM et al., 2011, 2018).

No entanto, alguns autores reportam aumento de resistência à tensão em tração, de resistência ao impacto e de módulos de elasticidade de matrizes poliméricas a partir de técnicas que permitam a dispersão e distribuição homogênea de algumas classes de nanoceluloses, como MFC, NFC, BC e AC (BARBI et al.,

2021; HE et al., 2020; JONJAROEN; UMMARTYOTIN; CHITTAPUN, 2020; KIM et al., 2021; LEE et al., 2012; LI et al., 2021; SUCINDA et al., 2021).

Li e colaboradores, 2021 propuseram a modificação da superfície da MFC com valerato (VL-MFC) com o objetivo de diminuir a polaridade superficial da MFC e facilitar a dispersão da MFC em uma matriz de PLA, visando obter melhores propriedades mecânicas. Os autores reportaram aumento em 38 % na tensão em tração e aumento de 70 % no módulo de elasticidade dos compósitos PLA/VL-MFC com até 30 % em massa de VL-MFC. Eles atribuíram o aumento das propriedades mecânicas à formação de uma rede de microfibrilas de celulose que conferem maior resistência ao material quando submetido a uma tensão, conforme mostrado na **Figura 10**. De acordo com os autores, a modificação na superfície da MFC evitou a formação de aglomerados de MFC e possibilitou que as VL-MFC ficassem bem dispersas e bem distribuídas na matriz de PLA, o que proporcionou a formação de uma rede de sustentação, resultando em melhoria nas propriedades mecânicas (LI et al., 2021).

Figura 10- Ilustração do possível mecanismo de reforço da (a) VL-MFC e (b) MFC na matriz de PLA proposto por (LI et al., 2021).



Fonte: Adaptado de (LI et al., 2021).

Além da capacidade de reforço conferida por microfibrilas de celulose em diversos tipos de matriz, trabalhos como o de Andresen e Stenius, 2007 evidenciam a capacidade de estabilização de emulsões água/óleo (A/O) das microfibrilas de celulose. Eles relataram que a polidispersividade do tamanho da fase dispersa diminuiu com a diminuição do diâmetro médio da gota a partir da inserção da MFC como estabilizante da emulsão (ANDRESEN; STENIUS, 2007). Essa é uma propriedade interessante da MFC e outros tipos de nanoceluloses. Na discussão do

trabalho de revisão de Kedzior e colaboradores, 2021 foi abordada a necessidade de se explorar melhor a pluralidade de papéis exercidos pelas nanoceluloses em sistemas poliméricos (KEDZIOR et al., 2021). Recentemente, alguns pesquisadores reportaram que além de promoverem melhoria em propriedades mecânicas, a adição de nanocelulose em blendas poliméricas promove diminuição do tamanho da fase dispersa em blendas imiscíveis (FOURATI et al., 2021; HE et al., 2020; MOUSAVI et al., 2021).

Por esse motivo, na próxima seção são apresentados alguns aspectos do efeito estabilizante da MFC em emulsões.

2.2.5 Efeito estabilizante da MFC em emulsões água/óleo

Uma blenda polimérica imiscível possui comportamentos muito similares aos modelos de emulsões líquido-líquido como o sistema água/óleo (A/O), ou seja, sistemas em que não há miscibilidade entre as fases. Essas emulsões são sistemas de dispersão água/óleo, que são termodinamicamente instáveis devido às fracas interações químicas estabelecidas entre as fases que são ocasionadas pela diferença de polaridade (GOODARZI; ZENDEHBOUDI, 2019; RAVERA et al., 2021). Em termos termodinâmicos, o processo de emulsificação (T) é relacionado ao aumento da área superficial (A) e é diretamente proporcional à tensão superficial (γ) (**Equação 14**). Portanto, quanto maior é a energia empregada no processo de mistura e menor é a tensão interfacial, maior será a área superficial da fase dispersa (RAVERA et al., 2021).

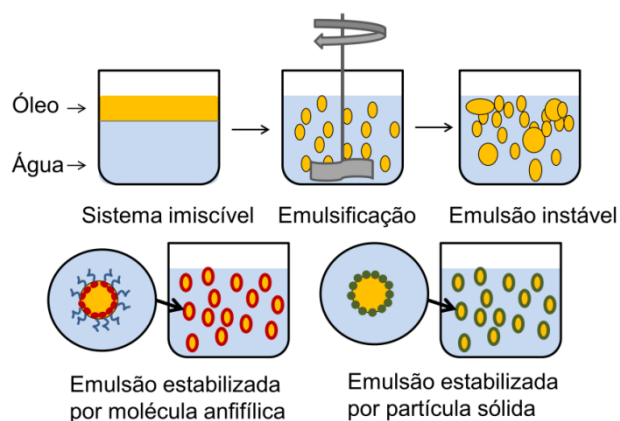
$$T = \gamma \Delta A \quad (\text{Equação 14})$$

Moléculas anfifílicas podem ser utilizadas com o objetivo de evitar a coalescência das gotas, reduzindo a tensão interfacial e proporcionando estabilidade ao sistema. Quando os agentes estabilizantes de uma emulsão são partículas sólidas, essas emulsões são chamadas de emulsão de *Pickering*, nomeadas em homenagem ao cientista Frederick Brian Pickering, pioneiro em soluções estabilizadas por sólidos (CHEVALIER; BOLZINGER, 2013).

O processo de emulsificação, de estabilização por moléculas anfifílicas de emulsões clássicas e as emulsões de *Pickering* caracterizadas pela estabilização por partículas sólidas são mostradas na **Figura 11**. Os agentes estabilizantes de emulsão são usados para serem adsorvidos na interface das duas fases e inibir os

mecanismos de desestabilização, como por exemplo floculação e coalescência. Esses mecanismos de desestabilização são inibidos pelos agentes estabilizantes que promovem a repulsão estérica e/ou eletrostática entre as gotas dispersas (BOUHOUTE et al., 2021; CHEVALIER; BOLZINGER, 2013).

Figura 11- Ilustração dos sistemas de emulsão.



Fonte: Autoria própria.

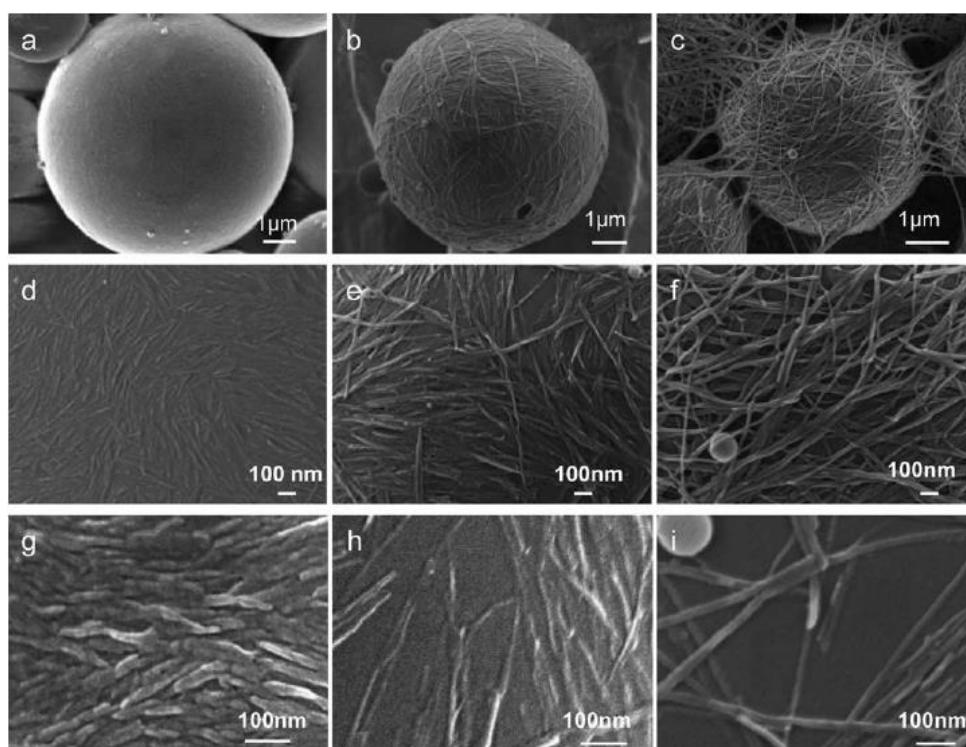
Os agentes emulsificantes convencionais são moléculas anfifílicas, ou seja, elas contêm grupos polares e apolares em sua estrutura química. Cada extremidade interage com a fase de maior afinidade, formando uma película interfacial que define as propriedades de todo o sistema. Quando essas moléculas tensoativas são adsorvidas na interface, elas promovem a diminuição da tensão interfacial e estabilizam a fase dispersa (COX et al., 2021). Compostos derivados de fontes fósseis são os mais comumente usados como agentes emulsificantes. No entanto, os surfactantes derivados de petróleo geralmente são caros e obtidos de fontes não renováveis. Por isso, é importante que sejam desenvolvidos novos agentes emulsificantes que sejam ecologicamente amigáveis e de baixo custo (MCCLEMENTS; JAFARI, 2018).

Dentro desse contexto, as nanoceluloses são um substituto renovável para os emulsificantes derivados do petróleo, uma vez que elas podem adsorver na interface do sistema, formando uma barreira estérica durante o processo de emulsificação. Isso previne as gotas da fase dispersa de flocular ou de coalescer. Além disso, a nanocelulose pode ser utilizada como estabilizante alimentar e farmacêutico, pois produz menos efeitos alergênicos e citotóxicos que os emulsificantes sintéticos

(AAEN et al., 2019; ANDRESEN; STENIUS, 2007; MCCLEMENTS; JAFARI, 2018; NOZAKI; LONA, 2021; YU et al., 2019).

Em sistemas água-polímero, foi reportado que as nanoceluloses têm a capacidade de exercer o papel de estabilizante da fase polimérica. Kalashnikova e colaboradores, 2013 avaliaram a influência da razão de aspecto (L/d) de nanocristais de celulose de três fontes diferentes na estabilização de poliestireno em água. Os nanocristais de celulose produzidos a partir de algodão, celulose bacteriana e alga *Cladophora* têm comprimentos diferentes, sendo os de algodão mais curtos e os de alga *Cladophora* mais longos. Eles observaram que os nanocristais mais curtos promovem uma cobertura mais densa das gotas de poliestireno, enquanto que os nanocristais mais longos formam uma rede interligada de CNC nas gotas de poliestireno com cobertura menos densa, conforme mostrado na **Figura 12** (KALASHNIKOVA et al., 2013).

Figura 12- Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura das gotas de poliestireno em água estabilizadas por nanocristais de celulose de produzidos a partir de (a, d, e) algodão; (b, e, h) celulose bacteriana e (c, f, i) alga *Cladophora*.



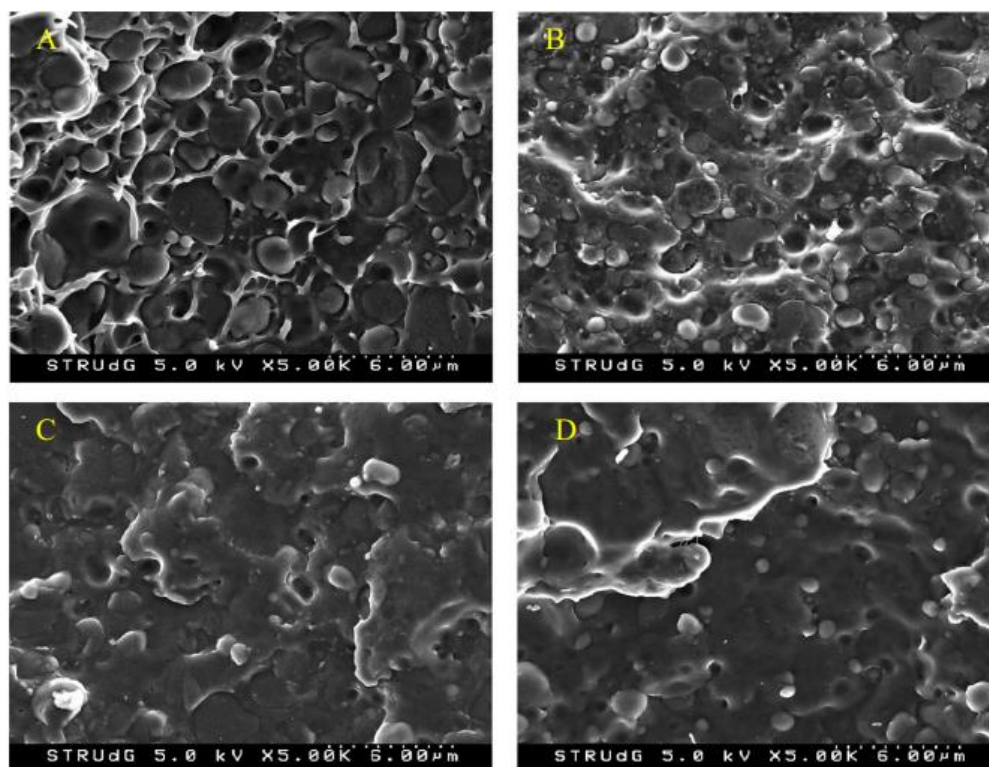
Fonte: (KALASHNIKOVA et al., 2013).

Em blendas poliméricas, as nanoceluloses também foram reportadas como estabilizadores da fase dispersa. Por consequência, as nanoceluloses também foram apontadas como agentes compatibilizantes de blendas poliméricas imiscíveis,

pois a redução do tamanho da fase dispersa é uma estratégia de compatibilização para melhoria de propriedades mecânicas (FOURATI et al., 2021; MOUSAVI et al., 2021).

O estudo de Fourati e colaboradores, 2021 avaliou o efeito da inserção de diferentes teores em massa de nanofibrilas de celulose (NFC) na microestrutura e propriedades mecânicas da blenda imiscível Poli(butileno adipato-co-tereftalato)/Amido termoplástico (PBAT/TPS). Eles observaram que quanto maior o teor de NFC, menores foram os tamanhos das gotas de TPS e maior foi a adesão entre as fases, conforme mostrado na **Figura 13**. Os autores observaram que apesar da melhor adesão com o aumento do teor de NFC, houve aumento de resistência à tração com manutenção da deformação na ruptura apenas na blenda reforçada com 4 % em massa de NFC. As blendas reforçadas com 8 % e 15 % em massa de NFC apresentaram ganho de resistência à tração, porém diminuíram significativamente sua capacidade de deformação na ruptura (FOURATI et al., 2021).

Figura 13- Micrografias de microscopia eletrônica de varredura de blendas PBAT/TPS reforçadas com nanofibrilas de celulose em que teores em massa de NFC variaram em (A) 0 %; (B) 4 %; (C) 8 % e (D) 15 %.



Fonte: (FOURATI et al., 2021).

Este trabalho propõe inserir microfibrilas de celulose em blendas poliméricas imiscíveis como a blenda PLA/PCL e investigar sua contribuição para a diminuição do tamanho da gota de PCL e para a formação de uma morfologia mais estável. Em consequência do efeito estabilizador da MFC na blenda imiscível, espera-se que a blenda PLA/PCL reforçada com MFC deva apresentar menores tamanhos médios da gota de PCL e propriedades mecânicas superiores que a blenda PLA/PCL sem adição de MFC. Portanto, espera-se que se a MFC estiver bem distribuída na matriz, ela pode atuar como agente estabilizante da fase dispersa na blenda imiscível PLA/PCL e também como agente de reforço da matriz. Dessa forma, o material resultante seria um material com propriedades otimizadas, em que todos os componentes são conhecidamente biodegradáveis, biocompatíveis e biorreabsorvíveis. Portanto, pode ser um material de escolha para ser usado como matéria-prima para produtos de bens de consumo descartáveis ou para produtos de uso biomédicos.

A necessidade de produção de materiais para bens de consumo que atendam a demanda de sustentabilidade e suas implicações são abordados na próxima seção.

2.3 SUSTENTABILIDADE E PRODUÇÃO DE NOVOS MATERIAIS

Diversos produtos de materiais poliméricos, muito comumente chamados de plásticos, fazem parte do cotidiano das pessoas desde o século passado. Os materiais poliméricos estão presentes na construção civil, em produtos eletrodomésticos, eletrônicos, em automóveis, aviões, mas principalmente em embalagens plásticas. Essa última tem um papel importante na preservação de alimentos e contribuem para a diminuição de desperdício de alimentos, bebidas e etc. No entanto, uma vez que o alimento é consumido, a embalagem é rapidamente descartada, gerando lixo. A maioria dos materiais poliméricos utilizados como matéria-prima para embalagens são resistentes à biodegradação e tem uma taxa de decomposição muito baixa no meio ambiente. Juntamente com essas características intrínsecas dos materiais, o descarte inadequado e a falta de políticas públicas de recuperação e tratamento dos rejeitos fez com que o acúmulo de lixo polimérico se tornasse um problema ambiental que tem se agravado com o passar dos anos (BARLOW; MORGAN, 2013; WURM et al., 2020).

O acúmulo de lixo polimérico gera problemas ecológicos e socioeconômicos. Um dos problemas da poluição ambiental causada por materiais poliméricos está relacionado com a ingestão por animais de microplásticos, que são pequenos fragmentos de materiais poliméricos. Ocorre, então, o acúmulo sucessivo de microplásticos nos organismos dos animais na cadeia alimentar, sendo mais graves naqueles que ocupam o topo da cadeia alimentar, entre os quais, estão os seres humanos (DENG et al., 2020; ZHANG et al., 2020b). Dentre os problemas socioeconômicos que o acúmulo de lixo polimérico causa estão a diminuição do turismo para as áreas mais afetadas; o impacto econômico do consumo de peixes e animais marinhos, que são os principais afetados pelo descarte polimérico em mares e oceanos; e os prejuízos gerados à saúde dos seres humanos. Dessa forma, diminuir o acúmulo de lixo na natureza, não é apenas uma solução ambiental, mas também de importância econômica e de saúde pública (THUSHARI; SENEVIRATHNA, 2020).

Diante disso, algumas medidas foram propostas em tratados ambientais ao longo dos últimos 30 anos. As medidas são pautadas em reciclagem dos rejeitos, reutilização dos produtos e redução da produção de insumos com materiais poliméricos provenientes de fontes petroquímicas e não-biodegradáveis. A substituição da matéria-prima para polímeros provenientes de fontes naturais renováveis e biodegradáveis é uma solução para diminuir a geração de microplásticos, assim como suprir a demanda ambiental por decomposição mais rápida dos rejeitos poliméricos (DENG et al., 2020; THUSHARI; SENEVIRATHNA, 2020).

Biodegradação é a decomposição química associada a microrganismos vivos, como bactérias, fungos, leveduras e algas a partir da secreção de suas enzimas no substrato a ser degradado (ALBERTSSON; KARLSSON, 1994). A transformação química promovida por microrganismos leva à reciclagem do carbono a partir da degradação de materiais biodegradáveis em metano, dióxido de carbono e biomassa (GU, 2003; LUCAS et al., 2008).

Alguns autores classificam a biodegradação como um processo que ocorre em quatro etapas dependentes de fatores bióticos e abióticos, no qual a primeira etapa é chamada de biodeterioração. Nela ocorre a colonização de microrganismos na presença de fatores como calor, umidade e luz. Na segunda etapa, chamada de despolimerização, os microrganismos secretam enzimas capazes de quebrar em

nível molecular as cadeias do polímero, acarretando na diminuição de sua massa molecular. Em seguida ocorre a assimilação que é o reconhecimento de algumas moléculas pelos receptores microbianos, com sua conseguinte internalização para o citoplasma. No citoplasma dos microrganismos, as moléculas internalizadas integram o metabolismo microbiano para produzir energia, biomassa e vesículas de armazenamento. Simultaneamente, ocorre a última etapa denominada de mineralização, na qual metabólitos simples como CO₂, H₂O, CH₄, N₂ e outros mais complexos são excretados para o ambiente (LEJA; LEWANDOWICZ, 2010; LUCAS et al., 2008).

A criação de novos materiais com características de biodegradabilidade se faz importante diante do cenário atual de acúmulo de rejeitos poliméricos no planeta. No entanto, sem as condições apropriadas para a biodegradação, os materiais biodegradáveis também apresentam tempos longos de existência na natureza. Por isso, este trabalho propõe também um estudo de biodegradação *in vitro* dos materiais produzidos por fungos. Esse estudo tem o objetivo de avaliar o potencial fúngico em utilizar a blenda PLA/PCL/MFC como substrato com o objetivo de propor uma nova metodologia para a bioprospecção de moléculas de interesse industrial. Dessa forma, após o produto ter cumprido sua função, pode ser descartado e o rejeito pode ser aproveitado como matéria-prima em outro ramo industrial. Isso agrega valor ao produto original, assim como incentiva a coleta dos rejeitos pelas empresas que têm interesse nele como matéria-prima.

O uso de microrganismos para produzir insumos é uma atividade biotecnológica consolidada. No entanto, até onde se tem conhecimento, o uso de polímeros biodegradáveis como substrato para produção de insumos por microrganismos é uma proposta inovadora.

2.3.1 Fungos em processos biotecnológicos

O uso consciente de fungos filamentosos e leveduras para a produção de alimentos como cerveja, vinho, pão e queijo é uma atividade milenar. Atualmente, a área da ciência e tecnologia que aplica organismos vivos e seus componentes a produtos e processos industriais é denominada de biotecnologia (HAMLYN, 1998). A biotecnologia está em franco crescimento nas últimas décadas devido ao desenvolvimento de novas ferramentas de manipulação genética. Essas ferramentas possibilitam a adaptação dos microrganismos para otimização da produção de

metabólitos consolidados ou novos e que são de interesse industrial em processos biotecnológicos. Assim, o uso de fungos deixou de ser restrito às aplicações alimentícias e passou a ser disseminado também na indústria farmacêutica, têxtil, de produtos químicos, pigmentos, combustíveis, em processos de recuperação de biomassa e mais recentemente como substitutos de processos industriais antigamente realizados com produtos químicos, como por exemplo o “bioembranquecimento” de polpas de celulose (ADRIO; DEMAIN, 2003; HAMLIN, 1998; MEYER et al., 2020).

Os produtos metabólicos e substratos modificados por organismos fúngicos são interessantes para a pesquisa e para diversos setores industriais. Normalmente, a atividade tecnológica se dá pelo cultivo de fungos em resíduos vegetais ou animais que são utilizados pelo fungo como substrato. A depender da aplicação, os metabólitos produzidos ou o substrato modificado pelo fungo são aproveitados. Um exemplo de substrato modificado é a produção de materiais lignocelulósicos obtidos por meio da biodegradação por fungos de vegetais. O substrato biodegradado forma redes emaranhadas de estruturas de celulose que são reaproveitadas para aumentar a resistência mecânica em materiais de construção, entre outros. Já a indústria farmacêutica, por exemplo, se utiliza de metabólitos produzidos pelos fungos e induzidos por substratos específicos para a produção de medicamentos (AZIZAN et al., 2016; CERIMI et al., 2019).

Os tipos de substrato variam e podem ser definidos de acordo com o que se deseja produzir. Eles podem ter composição definida com certos ingredientes que induzem o metabólito visado ou podem ser substratos complexos cuja origem é conhecida, mas sua composição química não. De forma geral, os substratos são uma ou mais fontes de carboidratos, nitrogênio e fósforo. Exemplos de substratos usados são plantas, palha, bagaço, madeira e substratos contendo madeira, como serragem ou lascas de madeira, lã, cânhamo e seda. Portanto, a grande maioria dos substratos naturais contém celulose, lignina ou ambos. Basicamente, todos os materiais orgânicos e não-tóxicos que permanecem como resíduos agrícolas e industriais podem ser aplicados como substrato para a produção fúngica de outros insumos (CERIMI et al., 2019; MANOHARACHARY; KUNWAR; RAJITHASRI, 2014).

Da mesma forma que cada substrato pode ser utilizado para induzir a produção de um metabólito específico, as atividades biotecnológicas fazem uso da grande diversidade biológica de microrganismos existentes para a produção de diferentes insumos. Os fungos são muito estudados e utilizados como produtores de

insumos devido a grande variedade de metabólitos complexos capazes de serem produzidos pelo seu maquinário celular (ADRIO; DEMAIN, 2003).

Os fungos são seres vivos eucarióticos uninucleares ou multinucleares que podem se desenvolver formando colônias do tipo leveduriformes ou filamentosas. As colônias leveduriformes são formadas por microrganismos unicelulares, enquanto que as colônias filamentosas são formadas em maior quantidade por elementos multicelulares que se organizam para formar as hifas. Um conjunto de hifas é denominado de micélio. O micélio superficial se desenvolve acima do substrato e é responsável pela reprodução dos organismos. A parte que se desenvolve no interior do substrato e que funciona como elemento de sustentação e de absorção de nutrientes é chamada micélio vegetativo. Devido a sua capacidade de penetração no substrato para obtenção de nutrientes, os fungos filamentosos tem papel significativo em ciclos biodegradativos e processos biotecnológicos que dependem da biodegradação dos substratos. Além disso, a capacidade metabólica de fungos filamentosos é bastante diversa (LOPES, 2006; MEYER et al., 2020).

Diversos metabólitos primários e secundários e enzimas são utilizados na produção de medicamentos, produtos de limpeza, pigmentos, papel, entre outros. Alguns exemplos são: as lipases, enzimas que tem como alvo moléculas de lipídios são bastante utilizadas pela indústria de detergentes e produtos de limpeza; alguns metabólitos secundários dos fungos que apresentam potenciais antibacterianos são utilizados como antibióticos; outros metabólitos secundários podem apresentar ainda atividades no metabolismo de outros seres vivos e serem utilizados como medicamentos; diversas enzimas podem ser aplicadas como catalizadores químicos em processos industriais, entre tantas outras aplicações (MEYER et al., 2020).

Segundo Azizan e colaboradores, 2016, as principais classes de metabólitos de uso industrial são (AZIZAN et al., 2016):

(1)Ácidos orgânicos: a produção de ácidos orgânicos pelos fungos tem o objetivo de baixar o pH do meio, o que pode inibir algumas espécies competidoras e favorecer a captação de nutrientes pelo fungo. Essas moléculas podem ser utilizadas como inseticidas, antibióticos, estabilizadores, saborizantes entre outros;

(2)Alcalóides: geralmente são metabólitos intermediários dentro dos ciclos metabólicos;

(3) Terpenóides: geralmente são compostos de substâncias naturais ou produtos metabólicos secundários, que podem ser utilizadas como inseticidas ou antibióticos;

(4) Riboflavinas: são classes de vitaminas e são utilizadas majoritariamente pela indústria farmacêutica e alimentícia;

(5) Peptídeos não-ribossomais: são uma classe de moléculas bioativas que agem em processos metabólicos, por isso são normalmente usadas como medicamentos;

(6) Gorduras ácidas poli-insaturadas: são estruturas essenciais para o desenvolvimento humano e por isso podem ser utilizadas como suplementos e medicamentos.

Os fungos também podem ser utilizados em processos de biorremediação que visam tratamento e recuperação de determinados ecossistemas. Desde o crescimento do consumo de produtos plásticos descartáveis, eles também têm sido utilizados em estudos e de forma prática com o objetivo de acelerar a decomposição química dos resíduos gerados pelo descarte de materiais poliméricos. Porém, até onde se tem conhecimento, os metabólitos gerados por esses microrganismos ao degradar esses substratos ainda não foram explorados (ALMEIDA et al., 2021; CERIMI et al., 2019; MEYER et al., 2020).

A bioprospecção por meio da biodegradação de substratos poliméricos por fungos é uma atividade que tem potencial para induzir a produção de moléculas já conhecidas de interesse comercial e para o descobrimento de novas moléculas. Por isso, é proposta neste trabalho a investigação por identificação putativa de metabólitos de interesse comercial produzidos por fungos do gênero *Colletotrichum* e *Penicillium* incubados em meio nutritivo com filmes poliméricos da blenda PLA/PCL/MFC.

Os fungos dos gêneros *Colletotrichum* e *Penicillium* são fungos filamentosos conhecidos por serem saprofíticos, ou seja, obtém os nutrientes vitais a partir de matéria orgânica em decomposição. O último é bastante explorado na literatura, uma vez que é responsável pela produção do primeiro antibiótico descrito, a penicilina. As espécies do gênero *Colletotrichum* são normalmente fitoparasitas e bastante comuns em áreas tropicais (DA SILVA et al., 2020b; MADY; HAGGAG, 2020). Ambos os gêneros são bastante explorados em termos de produção de metabólitos e por isso foram selecionados para esse estudo de avaliação de

potencial de produção de metabólitos de interesse industrial por meio da degradação de polímeros biodegradáveis.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho é reforçar a blenda compatibilizada PLA/PCL com microfibrilas de celulose de forma a promover maior resistência à tração e ao impacto mantendo a alta capacidade de deformação na ruptura do sistema.

3.2 Metas:

- Promover a mistura em meio aquoso das microfibrilas de celulose com o copolímero tribloco poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) nas proporções 60:40 % e 40:60 % em massa e posterior secagem em estufa da água do sistema;
- Produzir blendas compatibilizadas PLA/PCL reforçadas com microfibrilas de celulose a partir da extrusão dupla-rosca co-rotacional do PLA com a PCL, o copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) e as misturas MFC-copolímero nas proporções 60:40 % e 40:60 % em massa, com o objetivo de avaliar as propriedades mecânicas e morfologia das blendas;
- Avaliar a influência da sequência de extrusão dos componentes na morfologia das blendas PLA/PCL reforçadas com MFC.
- Investigar a influência da variação velocidade de rotação da rosca em 50, 100 e 150 rpm e a influência da variação do teor de MFC em 0,0, 1,0, 2,5, 5,0 e 7,5 % em massa de MFC na morfologia e propriedades mecânicas de tração e impacto Izod das blendas PLA/PCL reforçadas com MFC;
- Estabelecer as condições ótimas de biodegradação *in vitro* para determinar os fungos com maior potencial de crescimento em meio de cultura artificial na presença da blenda PLA/PCL não compatibilizada e da blenda PLA/PCL compatibilizada;
- Investigar o potencial de biodegradação *in vitro* e produção de metabólitos secundários com possível valor agregado das espécies de fungos *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium brasilianum* e *Penicillium citrinum* incubados na presença de filmes poliméricos da blenda PLA/PCL reforçada com MFC;

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

A MFC usada nesse trabalho foi a MFC HD 2000, gentilmente doada pela Suzano. A MFC fornecida é uma suspensão aquosa que contém 3,5 % em massa de fibra seca proveniente da polpa kraft branqueada de eucalipto.

O copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) é um copolímero tribloco comercial fornecido pela Perstorp® que possui massa molar de 2000 g.mol⁻¹. A estrutura tribloco do copolímero é do tipo “ABA”, em que a porção A é constituída por blocos de ϵ -caprolactona e a porção B blocos de tetrahydrofurano. A massa molar e tamanho dos blocos não são fornecidos pela Perstorp.

O PLA utilizado nesse trabalho é o PLA Ingeo®3251D, um biopolímero grau de injeção produzido pela NatureWorks®. Ele possui teor do isômero D variando entre 1,2 e 1,6 % em massa e índice de fluidez (MFI) de 30 g.10min⁻¹ (190 °C/2,16 kg). O PLA 3251D foi desenvolvido especificamente para a extrusão e utilizada como embalagem de alimentos ou bens de consumo, tais como bacias de plástico e copos.

A PCL utilizada é a PCL Capa™ 6500 produzida pela Perstorp®. Ela é um homopolímero não tóxico e biodegradável com índice de fluidez de 28 g.10min⁻¹ (190 °C/2,16 kg). Esse par PLA 3251D e PCL 6500 foi selecionado para este estudo por apresentar razão de viscosidade próxima de 1, o que favorece o processo de mistura entre as fases.

Os valores de massa molar média ponderal (\overline{M}_w), temperatura de fusão (T_m), temperatura de transição vítrea (T_g), grau de cristalinidade (%C), deformação na ruptura (ϵ_r), tensão de tração na ruptura (σ_r) e resistência ao impacto Izod do PLA Ingeo3251D e da PCL CAPA6500 são apresentados na **Tabela 2**.

Tabela 2- Principais propriedades físicas e mecânicas do PLA e da PCL.

	\overline{M}_w (g.mol ⁻¹)	T_m (°C) ⁽³⁾	T_g (°C) ⁽³⁾	% C (%) ⁽³⁾	ϵ_r (%) ⁽³⁾	σ_r (MPa) ⁽³⁾	Resistência ao impacto Izod (J.m ⁻¹) ⁽³⁾
PLA	55000 ⁽¹⁾	168	64	46	1,8	47	52
PCL	50000 ⁽²⁾	56	-59	53	> 500	12	15

Fontes: (1) (FRINÉ et al., 2019); (2) (PERSTORP, 2013a); (3) (DIAS, 2016).

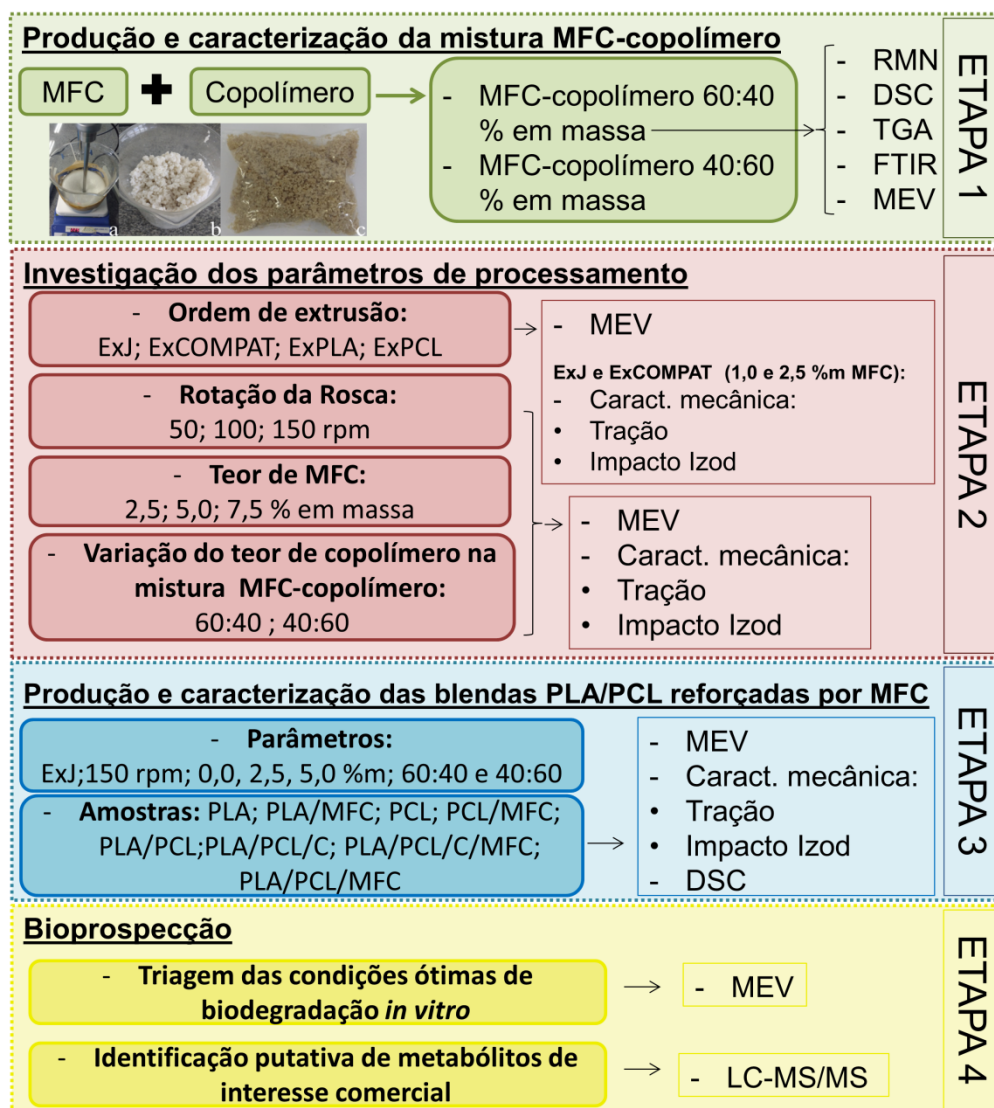
O meio de cultura utilizado para o cultivo dos fungos foi o Czapeck. A composição do meio é: Água Mili-Q 1L; Nitrato de Sódio (NaNO₃) 3 g; Sulfato de

Magnésio (MgSO_4) 0,5 g; Cloreto de Potássio (KCl) 0,5 g; Sulfato Ferroso (FeSO_4) 0,01 g; Difosfato de Potássio (K_2HPO_4) 1 g; Glicose 30 g e 2 % de água.

4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O resumo gráfico do delineamento experimental é mostrado na **Figura 14**.

Figura 14- Resumo gráfico do delineamento experimental deste trabalho.



Fonte: Autoria própria.

O trabalho foi subdividido em quatro etapas principais. Na **ETAPA 1** foi realizada a produção da mistura MFC-copolímero. Essa etapa tem como objetivo promover interações entre as hidroxilas terminais do copolímero em bloco com as hidroxilas presentes na superfície das cadeias poliméricas das MFC de forma que durante a secagem em estufa da água do sistema, o copolímero previna a

aglomeração das MFC. O produto dessa mistura, chamado de MFC-copolímero é a forma proposta para a dispersão da MFC nas blendas PLA/PCL por extrusão dupla-rosca co-rotacional.

Na **ETAPA 2** foram determinadas as condições ótimas de produção das blendas PLA/PCL reforçadas com MFC por meio da investigação de parâmetros como:

(1) *Ordem de extrusão dos componentes da blenda.* Blendas PLA/PCL na proporção 80:20 % em massa com 5 % em massa de copolímero e 5 % em massa de MFC foram produzidas em quatro sequências de extrusão diferentes. O nome dado às sequências de extrusão tem o prefixo “Ex” referentes à técnica de extrusão e os sufixos fazem alusão à forma como foram extrudadas. Na sequência ExJ todos os componentes foram extrudados juntos em única etapa, por isso o sufixo usado é o J de juntos. As demais blendas foram extrudadas em duas etapas. Na primeira etapa de extrusão da sequência ExCOMPAT foram extrudados PLA, PCL e copolímero, ou seja, a blenda compatibilizada. A MFC foi adicionada à blenda compatibilizada por meio da extrusão conjunta do produto da primeira extrusão com a mistura MFC-copolímero em uma segunda etapa de extrusão. Na sequência ExPLA foi realizada a extrusão da mistura MFC-copolímero com o PLA na primeira etapa e os demais componentes na segunda. Por fim, na sequência ExPCL foi realizada a extrusão da mistura MFC-copolímero com a PCL na primeira etapa e os demais componentes na segunda.

Essas blendas foram analisadas de forma comparativa por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Como os resultados das blendas ExJ e ExCOMPAT tiveram resultados de tamanho médio da gota de PCL muito próximos, fez-se necessária a avaliação das propriedades mecânicas em tração e impacto Izod das blendas ExJ e ExCOMPAT com 1,0 e 2,5 % em massa de MFC para determinar o melhor protocolo de mistura para o seguimento do trabalho.

(2) *Rotação da rosca.* Foi realizada a investigação da influência da variação da velocidade de rotação da rosca em 50, 100 e 150 rpm na morfologia e propriedades mecânicas em tração e impacto Izod.

(3) *Teor de MFC.* Foi realizada a avaliação da influência na morfologia e propriedades mecânicas em tração e impacto Izod do teor de MFC nas blendas PLA/PCL com proporção PLA:PCL fixa em 80:20 % em massa, 5 % em massa de copolímero e variação de MFC em 2,5, 5,0 e 7,5 % em massa.

(4) *Variação do teor de copolímero na mistura MFC-copolímero.* Avaliou-se a influência do teor de copolímero na mistura MFC-copolímero na morfologia e propriedades mecânicas em tração e impacto Izod das blendas PLA/PCL com proporção PLA:PCL fixa em 80:20 % em massa e teor de MFC fixo em 2,5 %.

A partir dos resultados obtidos nos estudos da segunda etapa foram determinadas as condições ótimas para a preparação das blendas PLA/PCL reforçadas com MFC que são objetivo principal do desenvolvimento desse trabalho.

Portanto, na **ETAPA 3** foram produzidas as blendas por extrusão em uma única etapa com rotação de rosca em 150 rpm e teor de MFC em 2,5 % em massa. Foi realizada a avaliação da morfologia, das propriedades mecânicas em tração e impacto Izod e de propriedades térmicas por DSC das amostras com os seguintes componentes: PLA; PLA/MFC; PCL; PCL/MFC; PLA/PCL; PLA/PCL/MFC; PLA/PCL/Copolímero; PLA/PCL/Copolímero/MFC.

Por último, na **ETAPA 4** foi realizado o estudo da investigação do potencial de bioprospecção de moléculas de interesse comercial produzidas por fungos ao utilizarem os filmes poliméricos de PLA/PCL/MFC como substrato. Foi realizada inicialmente a triagem das condições ótimas de biodegradação *in vitro* de fungos das espécies *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium brasilianum*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium expansum*, *Penicillium digitatum* e *Penicillium italicum*, com filmes poliméricos de PLA/PCL e PLA/PCL/Copolímero. Depois de definidas condições de biodegradação, as espécies de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium brasilianum* e *Penicillium citrinum* foram incubados com PLA/PCL/MFC/Copolímero e os metabólitos secundários produzidos pelos fungos após 30 dias de incubação foram analisados por espectrometria de massas acoplada à cromatografia líquida. Os espectros de massas dos cromatogramas obtidos no estudo foram tratados e comparados com dados moleculares da plataforma online GNPS para identificação putativa de moléculas de interesse comercial.

4.3 MÉTODOS

4.3.1 ETAPA 1 – Produção e caracterização da mistura MFC-copolímero

A mistura MFC-copolímero é uma proposta inovadora para viabilizar a dispersão de MFC em matrizes poliméricas apolares pelo método de extrusão. Por ser uma proposta nova, não se tinha na literatura respaldo para quais teores de MFC e de copolímero utilizar na mistura. Necessitava-se obter o máximo de MFC possível e ao mesmo tempo, altos teores do copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) também eram desejados na blenda PLA/PCL, já que esse copolímero proporcionou compatibilização da blenda PLA/PCL e aumento da sua propriedade de deformação na ruptura em trabalhos anteriores. Portanto, foram produzidas misturas MFC-copolímero nas proporções 60:40 e 40:60 % em massa.

Os métodos de produção e avaliação dessas misturas são apresentados nesta seção.

I. Produção da mistura MFC-copolímero na proporção 60:40 % em massa

Para produzir 756 g da mistura MFC-copolímero com proporção em massa de 60:40 %, que representa a quantidade total do composto necessária para atender o desenho experimental deste estudo, foram necessários 12,857 kg de suspensão aquosa de MFC e 306 g do copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano). Como não houve acesso a um reator que tivesse tamanho suficientemente grande para promover essa mistura de uma vez só, houve a necessidade de produzi-la de forma padronizada em escala menor. Esse processo é descrito a seguir.

Em um béquer de 1000 mL foram colocados 17 g do copolímero Poli(ϵ -CL-THF) e 714,29 g de suspensão aquosa com 3,5 % em massa de MFC. O béquer foi colocado em um agitador mecânico acoplado a uma placa aquecedora a 104 °C na velocidade 2000 rpm por 3 horas. Esse processo é demonstrado pela **Figura 15 (a)**. A mistura resultante foi mantida em estufa a 110 °C e foi submetida a mistura mecânica manual a cada 1 hora até que secasse por completo. A **Figura 15 (b)** mostra o aspecto físico do material durante o processo de secagem na estufa e a **Figura 15 (c)** mostra o aspecto físico da mistura após a completa secagem do material na estufa.

Figura 15- Mistura MFC-copolímero (a) durante o processo de mistura mecânica; (b) durante o processo de secagem em estufa e (c) após completar o processo de secagem.



Fonte: Autoria própria.

O produto final contém 42 g da mistura nos quais, 60 % da massa é constituída por MFC e 40 % pelo copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano). Foram produzidos 882 g da mistura MFC-copolímero. Esse produto final foi submetido à peneiragem com malha de 2 mm para eliminar partículas sólidas de grandes aglomerados.

II. Produção da mistura MFC-copolímero na proporção 40:60 % em massa

Em um béquer de 1000 mL foram colocados 37,5 g do copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) e 714,28 g de suspensão aquosa com 3,5 % de MFC. O béquer foi colocado em um agitador mecânico acoplado a uma placa aquecedora a 104 °C na velocidade 2000 rpm por 3 horas. A mistura resultante foi mantida em estufa a 110 °C e foi submetida à mistura mecânica manual a cada 1 hora até que secasse por completo. O produto final contém 62,5 g da mistura nos quais, 40 % da massa é constituída por MFC e 60 % pelo copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano). Foram produzidos 250 g da mistura MFC-copolímero 40:60 %. Esse produto final foi submetido à peneiragem com malha de 2 mm para eliminar partículas sólidas de grandes aglomerados.

III. Caracterização da mistura MFC-copolímero

a) Ressonância Magnética Nuclear de Prótons (HRMN)

A análise de ressonância magnética nuclear de prótons (HRMN) foi realizada com o objetivo de determinar o tamanho dos blocos de ϵ -caprolactona e tetrahydrofurano do copolímero. Foi feita em um espectrômetro Bruker Avance DRX500 operando a 400,13 MHz para observação de ^1H a uma temperatura de 20

°C e uma taxa de rotação de 5 kHz. O solvente utilizado foi o clorofórmio deuterado (CDCl₃). Para a aquisição de espectros ¹H 1D, foram realizadas 16 varreduras em 64 K pontos de dados usando uma sequência de pulsos padrão 1D: *relaxation delay* 90° - T₁ 90° - T₂ 90° - *free induction decay* (FID). Foi utilizada uma largura espectral de 5804 Hz. Os dados foram processados aplicando a função *window* de multiplicação exponencial, seguido de transformada de Fourier, por fim colocado em fase e os desvios químicos foram referenciados ao sinal do padrão de referência interna de trimetilsilano (TMS) em 0 ppm. O valor de integração para o quarteto em 3,6 ppm, relativo aos hidrogênios pertencentes ao CH₂ ligados às hidroxilas terminais, foi configurado para 4,000.

A **Equação 15**, proposta por Izunobi e Higginbotham foi utilizada para calcular a massa molar e o tamanho dos blocos de ε-caprolactona e tetrahydrofurano do copolímero. Ela correlaciona a intensidade do deslocamento (a_y), a quantidade de hidrogênios em uma unidade de repetição relacionada a esse deslocamento (m_y) e o número de unidades de repetição (n_y) das estruturas que se deseja caracterizar com a intensidade do deslocamento no espectro de RMN da estrutura terminal do copolímero (a_x), a quantidade de hidrogênios em na unidade de repetição da estrutura terminal do copolímero (m_x) e ao número de unidades de repetição da estrutura terminal do copolímero (n_x) (IZUNOBI; HIGGINBOTHAM, 2011).

$$n_x = \frac{a_x m_y n_y}{a_y m_x} \quad \text{(Equação 15)}$$

b) Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As análises de DSC foram realizadas no equipamento Pyris-DSC 8000 da Perkin Elmer, em atmosfera dinâmica de nitrogênio com fluxo de 20 ml.min⁻¹, com resfriamento controlado por Intracooler II/DSC system range, onde a temperatura mínima atingida é -70 °C. O equipamento é calibrado com Índio (In). As amostras foram aquecidas de -70 °C até 60 °C a 10 °C.min⁻¹ e em seguida mantidas em isoterma, por 2 min. Após esse tempo, as amostras foram resfriadas até -70 °C a 10 °C.min⁻¹, mantida nessa temperatura por 2 min. Por fim, foram novamente aquecidas seguindo as mesmas condições utilizadas na etapa de aquecimento anterior. A massa das amostras foram de aproximadamente 6,5 mg ± 0,5 mg. As temperaturas de transição vítrea (T_g), de fusão (T_m) e de cristalização (T_c) e entalpias de

cristalização (ΔH_c) e de fusão (ΔH_m) foram analisadas a partir das curvas de resfriamento e segundo aquecimento obtidas.

c) Termogravimetria (TGA)

As análises de TGA foram realizadas em um equipamento da TA Instruments, modelo TGA Q50 com atmosfera de nitrogênio com fluxo $60 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ e faixa de temperatura de aquecimento de $25 \text{ }^\circ\text{C}$ a $750 \text{ }^\circ\text{C}$ com taxa de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. A massa das amostras foram de aproximadamente $7,5 \text{ mg} \pm 1,0 \text{ mg}$. As curvas de TGA e DTG foram analisadas para determinar os valores de decomposição térmica e massa residual.

d) Extração Soxhlet

Esse ensaio foi realizado com o objetivo de averiguar o peso em massa da MFC presente na mistura MFC-copolímero. A extração foi realizada com um extrator do tipo Soxhlet com 250 ml de clorofórmio como solvente. Uma amostra de 3 g da mistura MFC-copolímero 60:40 % foi colocada em um papel filtro da marca Unifil, modelo C40, cujo teor de cinza é de 0,00012 g. O papel filtro com a amostra foi fechado com grampos metálicos e colocado no extrator. O tempo de ensaio foi de 4 h, nos quais foram realizados 8 ciclos. O ensaio de extração Soxhlet foi feito em triplicata. Após 8 ciclos, o conteúdo de dentro do papel filtro foi colocado em estufa a $80 \text{ }^\circ\text{C}$ para secagem do solvente por 1 h. Após a secagem, o extraído sólido foi pesado em balança analítica digital com precisão de 0,0001 g. Por isso, esperava-se que após a extração a massa de MFC extraída fosse de 1,8 g.

e) Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

As análises de FTIR foram realizadas em um equipamento da marca Perkin Elmer, modelo Spectrum 100, equipado com um acessório de reflectância atenuada com cristal de seleneto de zinco. As análises foram realizadas com números de onda variando entre 4000 e 550 cm^{-1} com 16 varreduras e resolução de 4 cm^{-1} no modo de reflectância total atenuada (ATR). Antes de se iniciar os ensaios, foi realizado o background de leitura da máquina com os mesmos parâmetros adotados para ensaio.

A amostra do copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahidrofurano), em temperatura ambiente, tem aspecto viscoso e foi colocada diretamente sobre o cristal sem aplicação de força. A amostra de MFC foi seca em estufa a 110 °C para a formação de um filme. O filme de 1 cm² com 0,5 mm de espessura foi colocado diretamente sobre o cristal, com aplicação de força de aproximadamente 50 N. A amostra da mistura de MFC-copolímero tem aspecto parecido com areia. Os grãos foram depositados sobre o cristal até que o cobrissem por completo e foi aplicada força de aproximadamente 50 N para compactar o material.

f) Análises morfológicas por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Foi produzida uma amostra denominada T1 que é uma blenda PLA/PCL reforçada por MFC utilizando a mistura MFC-copolímero 60:40 % como modo de dispersão da MFC na blenda. A amostra T1 foi analisada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) para determinar como a mistura MFC-copolímero se comportaria na blenda.

Antes do processamento foi realizada a secagem do PLA 3251D à 80 °C por no mínimo oito horas em estufa com circulação de ar e da PCL 6500 à 40 °C em estufa à vácuo pelo menos 16 horas. Após a secagem dos polímeros, foi realizada uma pré-mistura manual dos grânulos de PLA e PCL secos com a mistura MFC-copolímero.

A extrusão da blenda T1 foi realizada em uma mini-extrusora de rosca simples da AX-Plásticos, modelo LAB-16 com diâmetro de rosca de 16 mm, L/d = 25, elemento Maddock na zona de dosagem, com rotação da rosca de 60 rpm e torque de 30 N.m. O perfil crescente de temperatura adotado foi de 170 a 190 °C e foram extrudados 60 g total de material, 60 % em massa de PLA, 27 % em massa de PCL e 13 % em massa de MFC-copolímero, totalizando 8 % em massa de MFC.

A análise morfológica foi realizada nas superfícies de corpos de prova transversais e longitudinais obtidos por fratura criogênica em nitrogênio líquido dos filamentos extrudados da amostra T1. Os filamentos obtidos como resultado da extrusão foram imersos em nitrogênio líquido por 30 minutos e, então, fraturados. Em seguida, a superfície fraturada foi submetida à deposição de platina por pulverização catódica (Sputtering). As análises foram realizadas em um microscópio eletrônico de varredura modelo FEG XL50 da marca Phillips - Scanning Electron

Microscope, operando a 5 kV para os cortes transversais e a 20 kV para os cortes longitudinais. As imagens foram obtidas via detector de elétrons secundários.

Uma análise de MEV no modo *STEM-in-SEM*, que é um método de microscopia eletrônica de transmissão realizada com filmes finos no microscópio eletrônico de varredura. Para a realização dessa análise, as amostras de T1 foram ultramicrotomadas em condições de criogenia com espessura de 100 μm . As amostras foram submetidas ao tingimento com 2 % de acetato de uranila por tempos de 30, 60 e 90 segundos e analisadas no microscópio eletrônico de varredura FEI Magellan 400L a 25 kV. O tingimento com acetato de uranila foi realizado com o objetivo de tingir o copolímero e elucidar como ocorre o recobrimento da MFC pelo copolímero na mistura MFC-copolímero.

Todas as micrografias foram examinadas com o auxílio do programa de análise de imagens Fiji ImageJ 1.50i. Pelo menos 300 gotas foram medidas para a análise de tamanho da fase dispersa da blenda PLA/PCL reforçada com MFC.

4.3.2 ETAPA 2 – Investigação dos parâmetros de processamento

I. Produção das blendas com variação de parâmetros de processamento

Nesta etapa, fez-se a investigação das condições ótimas de extrusão para a produção de blendas PLA/PCL reforçadas com MFC. Para isso, variou-se os parâmetros de ordem de mistura, velocidade de rotação de rosca, teor de MFC na blenda e teor de copolímero na mistura MFC-copolímero. Os métodos utilizados estão descritos nesta seção.

Todas as blendas desta etapa foram preparadas a partir do estado fundido pela técnica de extrusão na extrusora dupla-rosca co-rotacional AX16:40DR da marca AX-Plásticos, que tem o $L/d = 40$.

Antes de realizar os processos de extrusão, os materiais passaram por processo de secagem. O PLA foi seco em estufa a 80 °C por 6h, PCL foi seco em estufa a vácuo a 40 °C por 16h. A PCL após seca na estufa e a mistura MFC-copolímero permaneceram em dissecador a vácuo por pelo menos duas semanas antes do processamento.









(a) Ordem de extrusão

O estudo de ordem de extrusão foi realizado com o objetivo de avaliar se a variação ordem de mistura dos componentes influencia na redispersão da MFC e na morfologia e comportamento mecânico das blendas PLA/PCL. Para avaliar a influência da sequência de extrusão na morfologia e propriedades da blenda, a composição da blenda foi mantida igual para todas as amostras e variou-se apenas a ordem de extrusão dos componentes. Os protocolos de extrusão, o perfil de temperatura e a rotação de rosca são mostrados na **Tabela 3**.

A composição das blendas foi: 70,3 % em massa de PLA, 16,4 % em massa de PCL, 5 % em massa de poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) e 8,3 % em massa de MFC-copolímero. Essa composição foi escolhida, pois em um trabalho prévio foi observado aumento na deformação na ruptura de blendas PLA/PCL na proporção 80:20 % com adição de 5 % em massa de poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano). Além da importância da manutenção do teor de compatibilizante para a compatibilização da blenda, manteve-se constante o teor de MFC em 5 % em massa. O valor de 5 % em massa de MFC é reportado na literatura como um teor que permite a observação dos efeitos da MFC em matrizes poliméricas e também permite avaliar o potencial de redispersão de MFC. Em teores maiores que 5 % em massa, a presença de aglomerados na matriz pode ser provocada pela quantidade em excesso de MFC na mistura e não apenas por falha no impedimento da formação de aglomerado durante o processo de secagem.

As amostras foram identificadas como: (1) ExJ para a amostra em que todos os componentes foram extrudados juntos em uma única etapa; (2) ExCOMPAT para a amostra em que na primeira etapa foi realizada a extrusão da blenda compatibilizada PLA/PCL e na segunda etapa foi realizada mais uma extrusão o MFC-copolímero com o resultado da primeira; (3) ExPLA para a amostra em que na primeira etapa o MFC-copolímero foi extrudado com PLA e na segunda etapa foi realizada mais uma extrusão da PCL e do copolímero com o resultado da primeira; (4) ExPCL para a amostra em que na primeira etapa a mistura MFC-copolímero foi extrudado com PCL e na segunda etapa foi realizada mais uma extrusão do PLA e do copolímero com o resultado da primeira. Além disso, foi extrudada uma blenda PLA/PCL com 5 % em massa de poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) para servir como controle na comparação da contagem de gotas.

Tabela 3- Protocolo de extrusão para o estudo de ordem de extrusão das blendas PLA/PCL/MFC.

Ordem de extrusão		
Identificação	Primeira etapa	Segunda etapa
ExJ Rotação de rosca: Temperatura:	 <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">PLA + PCL + C + MFC-C</div> 100 rpm 175/185/180/180/180/175 °C	
ExCOMPAT Rotação de rosca: Temperatura:	 <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">PLA + PCL + C</div> →	 <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">PLA/PCL/C + MFC-C</div> 100 rpm 175/185/180/180/180/175 °C
ExPLA Rotação de rosca: Temperatura:	 <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">PLA + MFC-C</div> →	 <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">PLA/MFC + PCL + C</div> 100 rpm 175/185/180/180/180/175 °C
ExPCL Rotação de rosca: Temperatura:	 <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">PCL + MFC-C</div> →	 <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">PCL/MFC + PLA + C</div> 100 rpm 175/185/180/180/180/175 °C

Fonte: Autoria própria.

As amostras foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura, com o objetivo de avaliar a dispersão da MFC de forma indireta por meio do tamanho da fase dispersa de PCL. Como abordado na sessão **2.2.5**, a MFC é capaz de estabilizar a fase dispersa em blendas poliméricas quando bem dispersa na matriz. Essa análise foi realizada de forma indireta devido à falta de contraste entre a matriz polimérica e as microfibrilas de celulose. A descrição da preparação das amostras e parâmetros adota no ensaio de MEV são descritos no item **II (d)** desta seção **4.3.2**. A análise estatística Teste T pareado foi conduzida usando o software IBM SPSS Statistics 23 com o objetivo de estabelecer a relevância estatística da diferença entre as amostras ExJ, ExCOMPAT, ExPLA e ExPCL. A média (M) da amostra, o erro padrão da média (SEM), o tamanho da amostra dado por T (tamanho amostral) e o intervalo de confiança dado por $p < 0,05$ são apresentados na descrição dos resultados.

As amostras de ExJ e ExCOMPAT obtiveram melhores resultados em relação às blendas ExPLA e ExPCL, porém a diferença morfológica entre as blendas ExJ e ExCOMPAT foi mínima. Portanto, foram realizadas as caracterizações das propriedades mecânicas de blendas ExJ e ExCOMPAT com 1,0 e 2,5 % de MFC. Os

ensaios de resistência à tração e ao impacto Izod sem entalhe das blendas com ExJ e ExCOMPAT com 1,0 e 2,5 % em massa de MFC foram realizados para que se pudesse estabelecer a sequência de mistura que resultava em melhores propriedades. Os teores de 1,0 e 2,5 % em massa de MFC foram utilizados para possibilitar a avaliação da influência da MFC nas propriedades mecânicas da blenda compatibilizada PLA/PCL. Era importante manter teores baixos de MFC devido à limitação de quantidade de MFC-copolímero em relação ao desenho do estudo.

A composição das blendas ExJ 1%, ExJ 2,5 %, ExCOMPAT 1% e ExCOMPAT 2,5% é apresentada na **Tabela 4**.

Os protocolos de extrusão seguiram a ordem, perfil de temperatura e rotação de rosca indicadas na **Tabela 3** de acordo com a nomenclatura ExJ e ExCOMPAT.

Tabela 4- Composição das blendas ExJ e ExCOMPAT com 1,0 e 2,5 % em massa de MFC.

Amostras	Percentual em massa					
	PLA	PCL	Compatibilizante	MFC-copolímero 60:40 %	Total de MFC	Total de copolímero
ExJ 1%	74,7	18,7	5	1,6	1	5,6
ExJ 2,5%	72,7	18,2	5	4,1	2,5	6,6
ExCOMPAT 1%	74,7	18,7	5	1,6	1	5,6
ExCOMPAT 2,5%	72,7	18,2	5	4,1	2,5	6,6

Fonte: Autoria própria.

Os resultados do estudo de ordem de extrusão determinaram que a sequência de extrusão que produzia blendas com melhores as propriedades mecânicas foi a sequência ExJ, que representa a extrusão de todos os componentes juntos em uma única etapa de extrusão. Por isso, as blendas produzidas na sequência desse trabalho foram produzidas em uma única etapa de extrusão.

(b) Rotação de rosca

O objetivo desse estudo foi de estabelecer se a rotação de rosca contribui para maior dispersão da MFC e menor tamanho de gota da PCL, conseqüentemente, para as melhores propriedades mecânicas das blendas. Por isso, foi realizada a extrusão em única etapa em extrusora dupla-rosca co-rotacional das blendas com perfil de temperatura de 175 – 185 – 180 – 180 – 180 – 175 °C e rotação de rosca variando em 50, 100 e 150 rpm. A **Tabela 5** mostra a composição das blendas produzidas para este estudo.

Tabela 5- Composição das blendas do estudo de variação da velocidade de rotação de rosca.

Amostra	Percentual em massa					
	PLA	PCL	Compatibilizante	MFC-copolímero 40:60 %	Total de MFC	Total de copolímero
50 rpm	71	17,75	5	6,25	2,5	8,75
100 rpm	71	17,75	5	6,25	2,5	8,75
150 rpm	71	17,75	5	6,25	2,5	8,75

Fonte: Autoria própria.

Os resultados deste estudo mostraram que a velocidade de rotação de rosca de 150 rpm produziu as blendas com melhores propriedades mecânicas. Por isso, as blendas produzidas na sequência desse trabalho foram produzidas com velocidade de rotação de rosca de 150 rpm.

(c) Variação do teor de MFC

O estudo de variação do teor de MFC foi realizado com o objetivo de avaliar a capacidade da mistura MFC-copolímero em promover adesão das microfibrilas de celulose na matriz polimérica. Os resultados dos estudos de ordem de extrusão e rotação de rosca conduziram a produção das blendas deste estudo para a extrusão em única etapa em extrusora dupla-rosca co-rotacional com rotação de rosca em 150 rpm. O perfil de temperatura foi de 175 – 185 – 180 – 180 – 180 – 175 °C. Foram produzidos três blendas variando o teor em massa de MFC em 2,5, 5,0 e 7,5 %. A composição das blendas é apresentada na **Tabela 6**. O cálculo de limite de percolação (Φ_p) foi realizado de acordo com a **Equação 13**, em que o L/d foi considerado de 33, de acordo com a média da razão de aspecto de pelo menos 100 microfibrilas de celulose medidas manualmente com auxílio do software Fiji ImageJ 1.50i. A razão de aspecto medida está de acordo com os valores encontrados na literatura (MORELLI et al., 2012; SHARMA et al., 2019b; TONOLI et al., 2012).

Tabela 6- Composição das blendas do estudo de variação do teor de MFC.

Amostra	Percentual em massa					
	PLA	PCL	Compatibilizante	MFC-copolímero 60:40 %	Total de MFC	Total de copolímero
2,5 %	72,7	18,2	5	4,1	2,5	6,6
5 %	69,3	17,3	5	8,3	5	8,3
7,5 %	66	16,5	5	12,5	7,5	10

Fonte: Autoria própria.

(d) Variação do teor de copolímero na mistura MFC-copolímero

Nesse estudo, duas blendas PLA/PCL reforçadas com 2,5 % em massa de MFC foram produzidas. Em uma amostra foi utilizada a mistura MFC-copolímero 60:40 % e na outra foi utilizada a mistura MFC-copolímero 40:60 % como agente dispersor de MFC. O objetivo foi avaliar a influência do teor de copolímero na mistura MFC-copolímero na morfologia e propriedades mecânicas das blendas.

As blendas foram produzidas por extrusão dupla-rosca co-rotacional a 150 rpm e perfil de temperatura de 175 – 185 – 180 – 180 – 180 – 175 °C. A composição das amostras é apresentada na **Tabela 7**.

Tabela 7- Composição das blendas do estudo de variação do teor de copolímero na mistura MFC-copolímero.

Amostra	Percentual em massa						
	PLA	PCL	Compatibilizante	MFC-copolímero 60:40 %	MFC-copolímero 40:60 %	Total de MFC	Total de copolímero
60:40	72,7	18,2	5	4,1	-	2,5	6,6
40:60	71	17,75	5	-	6,25	2,5	8,75

Fonte: Autoria própria.

II. Caracterização das blendas com variação de parâmetros de processamento

a) Injeção dos corpos de prova

Os corpos de prova para os ensaios de resistência à tração e ao impacto Izod foram produzidos via moldagem por injeção na injetora Battenfeld Plus 35 com molde nos padrões da norma ISO 527 que tem dimensões de 170 x 10 x 4 mm. Os parâmetros de injeção foram desenvolvidos experimentalmente. O perfil de temperatura de injeção foi de 170 a 175 °C, pressão de injeção 30 bar, tempo de injeção de 3,6 s, pressão de empacotamento de 35 bar, tempo de empacotamento de 11 s, tempo de resfriamento de 15 s e temperatura do molde em 30 °C.

b) Ensaio de resistência à tração

O ensaio de resistência à tração foi realizado em uma máquina Universal de Ensaios Modelo 5969 da Instron. A célula de carga utilizada no ensaio foi de 5 kN e a velocidade de 5 mm.min⁻¹. Foram determinados os valores de módulo elástico (E), tensão no escoamento (σ_y), deformação no escoamento (ϵ_y), deformação na ruptura (ϵ_r) e tensão na ruptura (σ_r). Foram utilizados pelo menos seis corpos de prova por

formulação. Os valores médios com dispersão das propriedades em tração foram apresentados nos resultados. As curvas deformação-tensão apresentadas são as curvas do corpo de prova que mais se aproxima dos valores médios para cada uma das amostras.

c) Ensaio de resistência ao impacto Izod sem entalhe

O ensaio de resistência ao impacto Izod sem entalhe foi realizado de acordo com a norma ISO 180 na máquina de ensaio de impacto modelo X-50Z da XJ Series Impact Testing Machine. Os corpos de prova possuem dimensões de 80 x 10 x 4 mm e não foram entalhados. Foi utilizado o martelo de 2 J cuja velocidade de impacto é de 5 m.s^{-1} e a energia residual de 0,016 J. Os resultados apresentados neste trabalho representam valores médios e respectivos desvios padrão de pelo menos 10 corpos de prova para cada amostra.

d) Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A análise morfológica foi realizada nas superfícies dos corpos de prova injetados que foram imersos em nitrogênio líquido por 30 minutos e, então, fraturados. As amostras foram submetidas à deposição de ouro por pulverização catódica (Sputtering). As amostras de MEV foram mantidas sob vácuo até a realização das análises. As análises foram realizadas em um microscópio eletrônico de varredura modelo FEG XL50 da marca Phillips - Scanning Electron Microscope, operando a 10 e 15 kV. As imagens foram obtidas via detector de elétrons secundários. Foi realizada a contagem de pelo menos 300 gotas por amostra com auxílio do software Fiji ImageJ 1.50i para a produção dos histogramas apresentados nos resultados. Foram apresentados também os valores de diâmetro médio com dispersão.

4.3.3 ETAPA 3 – Produção e caracterização das blendas PLA/PCL reforçadas com MFC

Após a definição das melhores condições de extrusão, foram produzidas blendas compatibilizadas e não compatibilizadas PLA/PCL reforçadas com MFC por extrusão dupla-rosca co-rotacional com velocidade de rosca em 150 rpm, em uma única etapa de extrusão, teor de MFC em 2,5 e 5,0 % em massa, com as misturas MFC-copolímero 60:40 e 40:60 % em massa. Também foram produzidas blendas

PLA, PLA/MFC, PCL, PCL/MFC e blendas PLA/PCL sem adição de MFC para fins de comparação da morfologia e propriedades mecânicas obtidas. Os métodos para produção e caracterização dessas amostras são descritos nesta seção.

I. Produção das blendas PLA/PCL reforçadas com MFC e outras misturas

A extrusão foi realizada em extrusora dupla-rosca co-rotacional com perfil de temperatura de 175 – 185 – 180 – 180 – 180 – 175 °C, rotação de rosca de 150 rpm de e alimentação manual, com exceção da blenda PCL/MFC2,5 foi produzida com perfil de temperatura de 70 – 75 – 80 – 85 – 90 – 90 °C. A **Tabela 8** mostra as composições das amostras produzidas.

Tabela 8 - Composições das blendas PLA/PCL e compósitos baseados em PLA, PCL e MFC.

Amostras	Percentual em massa						
	PLA	PCL	MFC-copolímero 40:60 %	MFC-copolímero 60:40 %	Compatibilizante	Total de MFC	Total de copolímero
PLA	100	-	-	-	-	-	-
PLAC	93	-	-	-	7	-	7
PLAMFC2,5	93,75	-	6,25	-	-	2,5	3,75
PCL	-	100	-	-	-	-	-
PCLC	-	93	-	-	7	-	7
PCLMFC2,5	-	93,75	6,25	-	-	2,5	3,75
PLAPCL	80	20	-	-	-	-	-
PLAPCLC5	76	19	-	-	5	-	5
PLAPCLMFC2,5	75	18,75	6,25	-	-	2,5	3,75
PLAPCLMFC2,5C5	72,6	18,24	-	4,16	5	2,5	6,66
PLAPCLMFC5C5	69,3	17,3	-	8,3	5	5	8,3

Fonte: Autoria própria.

As amostras PLAC e PCLC foram produzidas por extrusora rosca simples com perfil de 170 a 190 °C para PLAC e 70 a 90 °C para PCLC e rotação de rosca em 60 rpm. Essas amostras foram produzidas em outro momento, por isso tiveram processamento diferente das demais.

II. Caracterização das blendas PLA/PCL reforçadas com MFC e outras misturas

a) Injeção dos corpos de prova

Os corpos de prova para os ensaios de resistência à tração e ao impacto Izod foram produzidos via moldagem por injeção na injetora Battenfeld Plus 35 com

molde nos padrões da norma ISO 527 que tem dimensões de 170 x 10 x 4 mm. Os parâmetros de injeção foram desenvolvidos experimentalmente.

Os parâmetros de injeção foram os mesmos para PLA, PLA/MFC, PLA/PCL, PLA/PCL/MFC, PLA/PCL/Copolímero e PLA/PCL/Copolímero/MFC. O perfil de temperatura de injeção foi de 170 a 175 °C, pressão de injeção 30 bar, tempo de injeção de 3,6 s, pressão de empacotamento de 35 bar, tempo de empacotamento de 11 s, tempo de resfriamento de 15 s e temperatura do molde em 30 °C.

Na injeção da PCL e da mistura PCL/MFC, a temperatura de injeção foi de 90 °C, pressão de injeção 60 bar, tempo de injeção de 3,6 s, pressão de empacotamento de 35 bar, tempo de empacotamento de 11 s, tempo de resfriamento de 20 s e temperatura do molde em 30 °C.

b) Ensaio de resistência à tração, Impacto Izod sem entalhe e microscopia eletrônica de varredura

Foram realizados os ensaios de resistência à tração, impacto Izod sem entalhe e microscopia eletrônica de varredura conforme descritos no item **4.3.2- II (b), (c) e (d)**.

c) Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As análises de DSC foram realizadas no equipamento Pyris-DSC 8000 da Perkin Elmer em atmosfera dinâmica de nitrogênio com fluxo de 20 ml.min⁻¹, com resfriamento controlado por Intracooler II/DSC system range, onde a temperatura mínima atingida é -70 °C. O equipamento é calibrado com Índio (In). As amostras foram aquecidas de -70 °C até 190 °C a 10 °C.min⁻¹ e em seguida mantidas em isoterma, por 2 min. Após esse tempo, as amostras foram resfriadas até -70 °C a 10 °C.min⁻¹, mantida nessa temperatura por 2 min. Por fim, foram novamente aquecidas seguindo as mesmas condições utilizadas na etapa de aquecimento anterior. A massa das amostras foram de aproximadamente 6,5 mg ± 0,5 mg. As temperaturas de transição vítrea (T_g), de fusão (T_m) e de cristalização (T_c) e entalpias de cristalização (ΔH_c) e de fusão (ΔH_m) foram analisadas a partir das curvas de resfriamento e segundo aquecimento obtidas.

O índice de cristalinidade foi calculado de acordo com a **Equação 16**, onde ΔH_m é a entalpia de fusão do polímero e ΔH_{m100} é a entalpia de fusão do polímero

100 % cristalino e w é a fração mássica do polímero na composição. Considerou-se que a entalpia de fusão do PLA 100 % cristalino é $93,6 \text{ J.g}^{-1}$ e do PCL 100 % cristalino é 136 J.g^{-1} (CONG, 2007; WANG; CHEUNG; MI, 2002).

$$xC \% = \left(\frac{\Delta H_m}{\Delta H_{m100} \times w} \right) \times 100 \quad \text{(Equação 16)}$$

No caso do cálculo do índice de cristalinidade da fração de PLA, a entalpia de cristalização a frio foi subtraída do valor de entalpia de fusão do PLA.

4.3.4 ETAPA 4 – Bioprospecção

A etapa de bioprospecção propõe avaliar o potencial de bioprospecção de moléculas de interesse comercial por meio da biodegradação *in vitro* de filmes poliméricos dos materiais produzidos neste trabalho com espécies de fungos conhecidas por produzirem metabólitos secundários com potencial comercial. Esse estudo foi estruturado em duas etapas, sendo a primeira caracterizada pela a triagem das condições de biodegradação. Portanto, se estabeleceu as espécies de fungos que apresentaram bom crescimento na presença do filme polimérico e em que os filmes poliméricos apresentaram sinais de biodegradação após 30 dias de incubação.

Com as condições de biodegradação estabelecidas, foram realizados os ensaios de biodegradação *in vitro* com filmes de PLA/PCL/MFC. Em seguida, foi realizada a investigação dos metabólitos produzidos pelos fungos, em que foi feita a comparação dos espectros de moléculas produzidas com espectros documentados em bancos de dados online.

O estudo de bioprospecção foi realizado no Laboratório de Biossíntese e Bioprospecção de Produtos Naturais (IQ- B-200) no Instituto de Química – Departamento de Química Orgânica da UNICAMP sob a coordenação da Professora Dr^a. Taicia Fill.

Este estudo foi realizado em dois momentos. O primeiro foi a triagem dos fungos que foi realizada com blendas PLA/PCL em 2018. Nessa oportunidade, ainda não se havia conseguido desenvolver a técnica de secagem da MFC e dispersão da MFC em matrizes poliméricas para a produção da blenda PLA/PCL/MFC. Por isso, a etapa de triagem dos fungos e condições para cultura foi realizada com blendas PLA/PCL. No entanto, o estudo que visa a identificação de metabólitos de interesse

industrial por cromatografia líquida acoplada com espectrometria de massas (LC-MS/MS) tem como objetivo analisar a biodegradação da blenda PLAPCLMFC5C5 e foi realizado em um segundo momento em 2020.

I. Triagem das condições de biodegradação *in vitro*

Esta etapa do trabalho teve o objetivo de estabelecer as condições ótimas de biodegradação *in vitro* para determinar os fungos com maior potencial de crescimento em meio de cultura artificial na presença dos polímeros produzidos.

a) Produção dos corpos de prova poliméricos

Os filmes poliméricos, inicialmente das blendas PLAPCL e PLAPCLC5 e posteriormente da blenda PLAPCLMFC5C5, foram produzidos pela prensagem a quente em temperatura de 190 °C com carga de 5 kN dos corpos por 5 min de prova injetados de tração com espaçador de 1 mm de espessura. Em seguida foram cortados em corpos de prova quadrados de 1 cm². Os corpos de prova desinfectados por meio da imersão em álcool etílico 70 % por 15 min.

b) Produção do meio de cultura

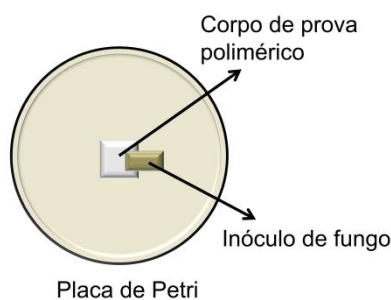
O meio de cultura Czapeck é um meio pouco nutritivo para o cultivo de fungos que são capazes de utilizar o nitrato de sódio como fonte de Nitrogênio. Por ser um meio não seletivo e pouco nutritivo, que poderia levar o fungo a consumir os polímeros por falta de nutrientes, foi utilizado como meio de cultura para este trabalho. O meio de cultura foi preparado com os seguintes nutrientes nas seguintes proporções para produzir 1,5L de meio: Água Mili-Q 1,5 L; Nitrato de Sódio (NaNO₃) 4,5 g; Sulfato de Magnésio (MgSO₄) 0,75 g; Cloreto de Potássio (KCl) 0,75 g; Sulfato Ferroso (FeSO₄) 0,015 g; Difosfato de Potássio (K₂HPO₄) 1,5 g; Glicose 45 g e 2 % de ágar para tornar o meio sólido. As substâncias foram misturadas até a solubilização dos componentes na água Mili-Q e em seguida esterilizadas por calor úmido em autoclave a 120 °C e 1 kgf.cm² por 15 minutos. Em seguida, o meio foi distribuído em 60 placas de Petri, com cerca de 25 ml de meio para cada placa. O meio distribuído nas placas foi deixado em temperatura ambiente para solidificar.

c) Cultura das blendas com fungos

Nesta etapa foi realizada a cultura de seis espécies diferentes de fungos com corpos de prova de 1 cm² de área e 1 mm de espessura blendas PLAPCL e PLAPCLC5 com o objetivo de observar as espécies de fungos que eram capazes de crescer no meio Czapeck e de colonizar a superfície dos corpos de prova poliméricos. As espécies de fungos que fizeram parte dessa etapa do experimento foram: *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium brasilianum*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium expansum*, *Penicillium digitatum* e *Penicillium italicum*.

Em placas de Petri com o meio Czapeck, foram feitas a inoculação das blendas PLAPCL e PLAPCLC5 com cada uma das espécies dos seis fungos supracitados. Foram realizadas tréplicas de cada inoculação. Os fungos foram inoculados entre o meio de cultura e o corpo de prova do polímero, conforme a **Figura 16**. Além disso, foram feitas tréplicas da incubação das blendas em meio Czapeck sem fungos inoculados como controle negativo e tréplicas de incubação de cada fungo em meio Czapeck sem polímeros como controle positivo. As blendas incubadas sem fungo e os fungos incubados sem as blendas foram os parâmetros de controle desse estudo. O período de incubação foi de 30 dias em temperatura ambiente.

Figura 16- Inóculo de fungos.



Fonte: Autoria própria.

O critério de seleção para os fungos foi o crescimento no meio Czapeck e a análise de colonização fúngica da superfície dos corpos de prova por MEV em busca de sinais de biodegradação.

d) Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Após 30 dias de incubação os corpos de prova dos polímeros foram retirados das placas de petri e lavados com álcool 70 % exaustivamente durante 5 dias, com a finalidade de inativar os fungos da superfície dos corpos de prova e desativar

possíveis esporos. Não foi feito nenhum tipo de fricção mecânica na superfície de análise, para não gerar defeitos que pudessem ser mal interpretados. Os corpos de prova das blendas foram submetidos à deposição de platina por pulverização catódica (Sputtering) e a face transversal foi analisada.

As análises foram realizadas em um microscópio eletrônico de varredura modelo FEI XL50 da marca Phillips Scanning Electron Microscope, operando a 5 kV. As imagens foram obtidas via detector de elétrons secundários e examinadas com o auxílio do programa de análise de imagens Fiji ImageJ 1.50i.

II. Métodos para identificação putativa de metabólitos

O resultados do estudo da triagem das condições de biodegradação mostrou maior potencial das espécies de fungos de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium brasilianum* e *Penicillium citrinum* para a participação na investigação dos metabólitos secundários. Por isso, os filmes da blenda PLAPCLMFC5C5 foram incubados com *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium brasilianum* e *Penicillium citrinum* por 30 dias conforme descrito no item 4.3.4 - I (c). Após esse período o polímero foi retirado do meio de cultura e uma alíquota de 500 mg do meio de cultura foram extraídos com 5 ml de metanol (MeOH) por uma hora em banho ultrassônico. Os extratos obtidos foram filtrados e secos sob fluxo de nitrogênio e ressuspendidos em 1 ml de metanol para cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e filtrados através filtro de 0,22 µm.

As análises de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS) foram realizadas em cromatografia líquida de ultra-alta performance - UHPLC da UltiMate 3000 acoplado a espectrômetro de massa Orbitrap Q-Exactive de alta resolução da Thermo Fisher Scientific® com fonte de *electrospray* de ionização aquecida da RESI-II ajustada para 3500 V. As análises foram realizadas no modo positivo com faixa m/z de 100–1200, tensão capilar em 3 kV, tensão no cone em 25 V, temperatura capilar de entrada de 150 °C e temperatura do gás de nebulização de 200 °C. A fase estacionária foi a coluna Thermo Scientific Accucore C18 (2,1 mm x 100 mm x 2,6 µm). A fase móvel foi 0,1 % de ácido fórmico (A) e acetonitrila (B). Perfil de eluente (A/B): 95/5 até 2/98 em 10 min, mantido por 5 min, até 95/5 em 1,2 min e mantido por 3,8 min. O tempo total de execução foi de 30 min para cada execução e a taxa de fluxo de 0,2 ml.min⁻¹. O volume de injeção foi de 5 µl.

Os dados obtidos do equipamento foram convertidos para o formato .mzML por meio do software MSConvert. A rede molecular para os ensaios com cada espécie de fungos foi criada usando o fluxo de trabalho online no GNPS (<http://gnps.ucsd.edu>). Os cromatogramas foram pré-tratados (deconvoluídos, deisotipados, alinhados e filtrados) por meio do software MZmine 2.53. Na plataforma GNPS, os espectros de MS/MS foram filtrados por janela escolhendo apenas os 6 picos superiores na janela de +/- 50 Da em todo o espectro. Os dados foram então agrupados com MS-Cluster com uma tolerância de massa parental de 2,0 Da e uma tolerância de íon de fragmento de MS/MS de 0,5 Da para criar espectros de consenso. Uma rede foi então criada onde as arestas foram filtradas para ter uma pontuação de cosseno acima de 0,6 e mais de 6 picos correspondentes. As arestas entre dois nós eram mantidas na rede apenas se cada um dos nós fosse correspondente com os respectivos 10 nós mais semelhantes. Os espectros na rede foram pesquisados nas bibliotecas espectrais do GNPS. Os espectros da biblioteca foram filtrados da mesma maneira que os dados de entrada. Todas as correspondências mantidas entre os espectros da rede e os espectros da biblioteca deveriam ter uma pontuação acima de 0,6 e pelo menos 6 picos correspondentes (WANG et al., 2016b).

As redes moleculares foram exportadas da plataforma GNPS para o software Cytoscape para gerar as imagens relacionadas na seção de resultados.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ETAPA 1 – Caracterização da mistura MFC-copolímero

No decorrer do processo de produção da mistura MFC-copolímero, durante a etapa de secagem em estufa a 110 °C, pode-se observar um processo evidente de descoloração da polpa celulósica na medida em que a água era retirada da mistura. Como o processo de mistura da MFC-copolímero foi desenvolvido de forma experimental e não há precedentes na literatura, fez-se necessária a investigação sobre as propriedades térmicas da mistura, assim como investigar a estrutura da celulose e do copolímero após o processo. A descoloração de polpas celulósicas, quando submetidas a altas temperaturas, é um aspecto já conhecido na literatura e suas causas são discutidas a seguir.

5.1.1 Reversão da alvura

Foi notável a mudança de cor de branco para bege na medida em que a mistura MFC-copolímero secava na estufa (**Figura 15**). Segundo informações do fornecedor, essa mudança de coloração da MFC ocorre quando ela é secada em temperaturas superiores a 80 °C, pois ocorre o processo de reversão de alvura.

O processo de alvura ocorre quando são promovidas reações químicas a partir de agentes branqueadores na polpa marrom com o objetivo de remover principalmente a lignina solúvel e os ácidos hexenurônicos (HexAs) provenientes da etapa de cozimento do processo de polpação química kraft. Como o processo de alvura também agride e destrói as cadeias de celulose, a eliminação total dessas moléculas não é possível, sendo necessária a inativação dos cromóforos restantes na polpa para que se atinja um nível de aceitável de alvura, mantendo-se íntegras as cadeias de celulose (COLODETTE; GOMES, 2015).

O processo de reversão de alvura parece estar correlacionado com a reversão da inativação dos cromóforos já existentes e com o alto teor de hemicelulose de cadeias ricas em xilanas presentes nas polpas de eucalipto que, quando sofrem desmetilação, causa a conversão de ácido 4-O-metil glucurônico em HexAs. Os HexAs contém grupos enol-éter que possuem a habilidade de quelar metais, formando estruturas cromóforas. Os agentes de branqueamento e sua sequência de utilização influenciam significativamente na eficiência de eliminação dos HexAs da polpa celulósica durante o processo de branqueamento. Apesar dos

processos de branqueamento livres de cloro serem ecologicamente amigáveis, as polpas branqueadas por outras substâncias apresentam alto teor de grupos oxidados e pequenas cadeias de carboidratos, originadas da degradação das cadeias de hemicelulose, o que impacta na capacidade de reversão de alvura dessas polpas. Portanto, quando a polpa branqueada é sujeita a altas temperaturas, energia luminosa ou outros processos de envelhecimento, torna-se susceptível a degradação de hemicelulose, formação de HexAs e cromóforos e, conseqüentemente, reversão da alvura (GELLERSTEDT; DAHLMAN, 2003; VENTORIM; CARASCHI; SANSIGOLO, 2009).

Os autores Chirat e De La Chapelle estudaram reversão de branqueamento da polpa e notaram que quando a polpa kraft de MFC branqueada é submetida a temperaturas maiores que 80 °C por mais de 24h há um aumento na formação de grupos carbonila, principalmente de cetonas e de grupos carboxílicos C2-C3. As cetonas não tem influência significativa na reversão da alvura da MFC. No entanto a formação dos grupos carboxílicos parece ser responsável pela reversão da alvura (CHIRAT; DE LA CHAPELLE, 1999).

Segundo Beyer, Koch e Fischer, 2005 a descoloração induzida por tratamento térmico em polpas kraft branqueadas está associada à presença de componentes de polissacarídeos termicamente menos estáveis, provavelmente originados da degradação das hemiceluloses. Em polpas provenientes de eucalipto, esses pequenos polissacarídeos contém a maior parte de grupos carboxílicos oxidados da polpa, que são considerados a principal fonte de precursões cromóforos (BEYER; KOCH; FISCHER, 2005).

Korntner e colaboradores, 2015 postulam que três compostos são os “cromóforos chave” (*key chromophores*, em inglês) responsáveis por mais de três quartos da massa de compostos que promovem a descoloração em polpas celulósicas de qualquer natureza. Os compostos são: (1) 2,5-dihidroxi-1,4-benzoquinona; (2) 5,8-di-hidroxi-1,4-naftoquinona e (3) 2,5-dihidroxi-acetofenona. Os compostos 1 e 3 tem provavelmente origem na oxidação de cadeias de celulose danificadas e, principalmente de xilanas, enquanto o composto 2 possivelmente se origina apenas de cadeias degradadas de celulose (KORNTNER et al., 2015).

As teorias sobre os mecanismos moleculares da reversão da alvura são diversos na literatura e alguns um pouco contraditórios. No entanto, mais recentemente, Ahn e colaboradores, 2019 propuseram responder definitivamente

“quem, entre grupos carbonila e carboxila, é o responsável pelo amarelamento e reversão da alvura em polpas celulósicas?”. Segundo eles, os grupos carbonila são cromóforos por excelência e, portanto, fundamentais para a reversão da alvura. Os grupos carboxila por si só não são responsáveis pelo amarelamento da celulose, mas os grupos carboxila podem causar quebra de cadeias, que origina grupos carbonila terminais redutores. Na presença de grupos carbonila, os grupos carboxila podem catalisar a condensação de cromóforos. Como os grupos carbonila e carboxila coexistem nas polpas celulósicas, eles têm um efeito sinérgico na formação dos cromóforos e, conseqüentemente, na reversão do brilho à medida que a polpa celulósica é exposta à luz, irradiação, atmosfera oxidativa ou altas temperaturas (AHN et al., 2019).

Portanto, pode-se inferir que o processo de descoloração, sofrido pela polpa kraft branqueada durante o processo de produção da mistura MFC-copolímero, está relacionada ao processo de reversão de alvura induzido pela secagem em estufa em temperaturas superiores a 80 °C.

O protocolo do processo de produção da mistura MFC-copolímero foi desenvolvido experimentalmente e o processo envolveu mistura mecânica na temperatura em torno de 104 °C e secagem em estufa a 110 °C. Diante da descoloração sofrida durante o processo de produção da mistura MFC-copolímero e dos relatos de possíveis modificações nas cadeias celulósicas por processos térmicos acima de 80 °C, fez-se necessário avaliar o impacto da descoloração no comportamento térmico e na estrutura química da mistura MFC-copolímero em relação aos materiais puros. Os métodos empregados têm o objetivo de avaliar se os processos térmicos empregados promoveram modificações químicas significativas para impactar nas propriedades térmicas da MFC. Além disso, os experimentos realizados visaram compreender a interação entre o copolímero e as MFC e suas conseqüências para o comportamento térmico da mistura e estrutura química dos componentes da mistura.

O ensaio de ressonância magnética nuclear foi realizado com o objetivo elucidar a estrutura química do copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) em relação a massa molar e tamanho dos blocos de ϵ -caprolactona e tetrahydrofurano.

5.1.2 Ressonância magnética nuclear de prótons (HRMN)

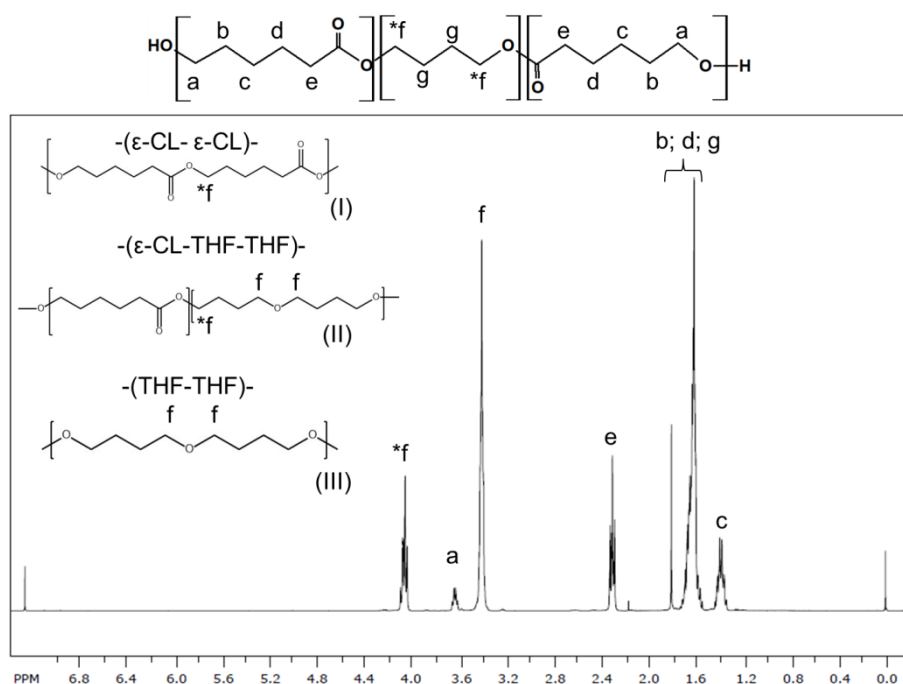
A estrutura química do copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) disponibilizada pelo fornecedor mostra uma estrutura de copolímero do tipo ABA, onde a letra “A” está relacionada a blocos de ϵ -caprolactona (ϵ -CL) tamanhos desconhecidos com grupamentos hidroxilas (OH) nas terminações das cadeias. A letra “B” está relacionada ao bloco de tetrahydrofurano (THF) que também tem tamanho desconhecido. O copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) tem massa molar média de $2000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (PERSTORP, 2013b). Uma unidade de repetição de ϵ -CL ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_2$) possui massa molar de $114 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, enquanto uma unidade de repetição de THF ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$) possui massa molar de $72 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. O polímero constituído por várias unidades de repetição de THF é comumente referido na literatura como politetrametileno éter glicol (PTMEG) (ZENG et al., 2013).

Conhecer o tamanho dos blocos do copolímero é importante para essa pesquisa uma vez que se propõe utilizá-lo como agente dispersor da MFC na matriz polimérica e como agente compatibilizante da blenda PLA/PCL reforçada por MFC. O tamanho dos blocos do copolímero pode ser essencial na promoção do emaranhamento entre as cadeias do PLA e da PCL na região interfacial entre as gotas de PCL e a matriz de PLA e na adesão das microfibrilas de celulose à matriz polimérica. Portanto, a fim de estabelecer o tamanho dos blocos de ϵ -caprolactona e tetrahydrofurano, foi realizado um teste de ressonância magnética nuclear de prótons (RMN ^1H). O espectro de RMN e a correlação entre as bandas δ em ppm com a estrutura química do copolímero é apresentado na **Figura 17**.

O sinal em 1,4 ppm é um sexteto correlacionado com hidrogênios (H) pertencentes a um grupo metileno (CH_2) que se encontra entre dois outros grupos metilenos ($-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_2-$), indicado como “c” na estrutura química da **Figura 17** e é um sinal típico das cadeias de poli(ϵ -caprolactona) (BAGHERI; MAHMOODZADEH, 2020). O sinal multiplete entre 1,6 - 1,8 ppm é atribuído aos hidrogênios tanto das cadeias de poli(ϵ -caprolactona), sinalizados como “b” e “d”, quanto das cadeias de tetrahydrofurano, sinalizado como “g”, pois indicam hidrogênios pertencentes a grupos metilenos com distância de um carbono de um oxigênio ($-\text{O}-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_2-$), no caso dos hidrogênios “b” e “d” estão próximos a oxigênios pertencentes aos grupamentos carboxílicos (BAGHERI; MAHMOODZADEH, 2020; BOUCHAMA; FERRAHI; BELBACHIR, 2012).

O sinal sexteto “e” em 2,3 ppm está associado aos hidrogênios pertencentes a grupos metilenos que estão ligados à carbonila do grupamento carboxílico ($-\text{CH}_2-\text{COO}-$), típico da poli(ϵ -caprolactona) (BABAIE; REZAEI; SOFLA, 2019). O sinal designado por “f” em 3,4 ppm está correlacionado a hidrogênios pertencentes a grupos metilenos que estão ligados ao oxigênio do grupo funcional éter ($-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$), típicos do tetrahydrofurano (ÇIÇEK; ERGÜN; GENÇER, 2012; OIKE; YAGUCHI; TEZUKA, 1999; VAN CAETER et al., 1997).

Figura 17- Espectro de RMN 1H referente à poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano).



Fonte: Autoria própria.

O sinal quarteto “a” em 3,6 ppm é associado aos hidrogênios dos grupos metilas que estão ligados às hidroxilas terminais do copolímero ($-\text{CH}_2-\text{OH}$) (BAGHERI; MAHMOODZADEH, 2020). O sinal septeto “*f” em 4,08 é associado aos hidrogênios pertencentes a grupos metilenos ligados ao oxigênio do grupo carboxílico ($-\text{COO}-\text{CH}_2-$), característicos da poli(ϵ -caprolactona) (BABAIE; REZAEI; SOFLA, 2019; BAGHERI; MAHMOODZADEH, 2020). É necessário ressaltar que os hidrogênios do grupo metileno das duas moléculas de tetrahydrofurano que estão diretamente ligadas aos blocos de ϵ -caprolactona, vão apresentar sinal em 4,08 ppm, como pode ser visto na **Figura 17 (II)**. A **Figura 17 (II)** representa a parte da estrutura química do copolímero em que ocorre a ligação entre o bloco de ϵ -

caprolactona e o bloco de tetrahydrofurano. Analogamente, as **Figura 17 (I) e (III)** mostram a ligação entre as moléculas de ϵ -caprolactona e a ligação entre as moléculas de tetrahydrofurano, respectivamente.

Apesar de outros autores terem trabalhado com estruturas parecidas que fundamentaram e corroboraram com os resultados obtidos nesse ensaio de RMN, até onde se tem conhecimento, essa é a primeira vez que se caracteriza o copolímero tribloco de configuração ABA chamado poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano), onde A representa os blocos de ϵ -caprolactona e B o bloco de tetrahydrofurano.

A **Tabela 9** mostra a correlação entre o valor de δ em ppm, o valor de integração da intensidade de cada deslocamento químico, que foi configurado em relação à quantidade de quatro hidrogênios totais dos dois grupos metilas “a” ligados às hidroxilas terminais e as respectivas estruturas químicas de cada deslocamento.

Tabela 9- Correlação do valor de δ , cuja intensidade de deslocamento químico foi definida em 4,000 para 3,6 ppm, com a estrutura química do copolímero.

Letra	δ (ppm)	Intensidade (a_y)	Estrutura (m_x)	Nº de meros terminais (n_x)
a	3,6	4,000 (a_x)*	HOCH ₂ - (m_x)*	2
b;d;g	1,6-1,8	98,721	-OCH ₂ CH ₂ -	-
c	1,4	18,618	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	-
e	2,3	18,031	-CH ₂ (O=C)O-	-
f	3,4	50,595	-CH ₂ OCH ₂ -	2
*f	4,08	17,959	-(O=C)OCH ₂ -	-

* A estrutura designada pela letra “a” é a ligada às hidroxilas terminais do copolímero, por isso a elas são atribuídas os valores de a_x e m_x .

Fonte: Autoria própria.

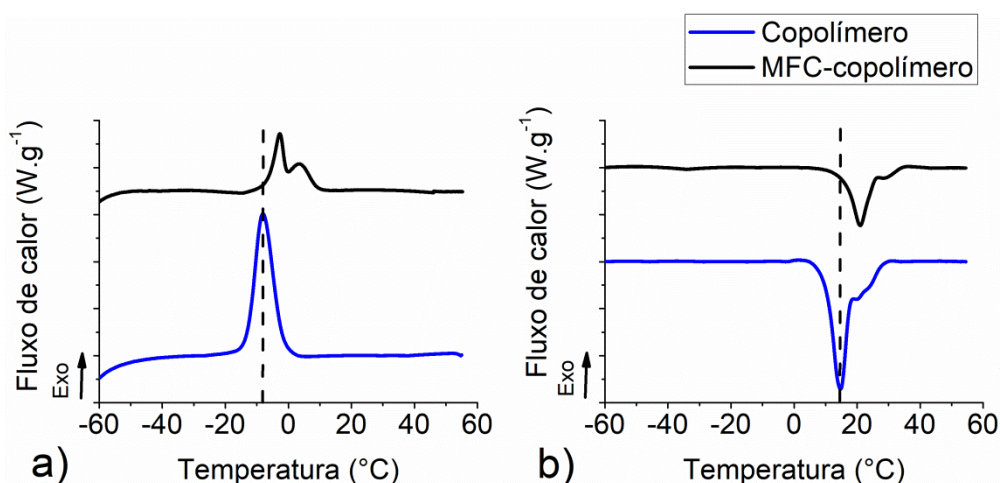
A partir **Equação 15** de Izunobi e Higginbotham, 2011 e da integração do espectro de RMN, assumiu-se que a estrutura atribuída como “a” está relacionada aos hidrogênios pertencentes aos grupos metilas (CH₂) ligadas às duas hidroxilas (OH) terminais do copolímero para calcular o tamanho dos blocos de ϵ -caprolactona e tetrahydrofurano. O deslocamento do espectro em 3,6 ppm é referente à 2 hidrogênios (H) por molécula e tem intensidade de deslocamento de 4,000, por isso foi possível afirmar que o número de unidades de repetição (n_y) da estrutura “e”, relacionada aos blocos de ϵ -CL, é igual a 9,0155. Como existem 2 blocos de ϵ -caprolactona, cada bloco tem 4,507, ou seja, 5 moléculas de ϵ -caprolactona ligadas entre si. O tamanho do bloco de tetrahydrofurano (n_y) foi determinado a partir do

deslocamento em 3,4 ppm, referente a 4 H dos 2 CH₂ ligados ao oxigênio da molécula de THF, ou seja, n_y é igual a 12,648. Portanto o bloco de THF possui 12 moléculas de tetrahydrofurano ligadas entre si. Assim, cada bloco de ϵ -caprolactona têm 570 g.mol⁻¹, enquanto o bloco de tetrahydrofurano tem 864 g.mol⁻¹, totalizando a massa molar do copolímero em 2004 g.mol⁻¹.

5.1.3 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)

As **Figura 18 (a)** e **(b)** mostram as curvas DSC referentes ao resfriamento e segundo aquecimento da mistura MFC-copolímero e do copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) puro. Na faixa de temperatura adotada, as curvas DSC da MFC pura não apresentam nenhuma transição térmica e por isso não foram apresentadas.

Figura 18- Curvas DSC de (a) resfriamento e (b) segundo aquecimento da mistura MFC-copolímero e do copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano).



Fonte: Autoria própria.

A **Figura 18 (a)** mostra a curva DSC referente ao resfriamento do copolímero em que um pico exotérmico entre -20 e 0 °C está relacionado com a cristalização do copolímero. A mistura MFC-copolímero apresenta a mesma transição térmica, porém deslocada para o intervalo de temperatura de -10 e 10 °C e na forma de pico duplo. O deslocamento do pico indica que a MFC interfere na cinética de cristalização do copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano), acelerando-a, o que indica que a MFC pode facilitar a etapa de nucleação heterogênea do copolímero. O aparecimento de um segundo pico sugere que a presença da MFC altera a cinética de cristalização podendo gerar fases cristalinas diferentes; ou

favorecer a cristalização de um dos blocos do copolímero; ou até mesmo acelerar o aparecimento de uma fase cristalina que na mesma taxa de cristalização no copolímero puro precisaria de mais tempo para se formar. Na **Figura 18 (b)** a curva DSC referente ao segundo aquecimento do copolímero puro tem um pico relativo à fusão do copolímero entre 5 e 30 °C, enquanto o pico de fusão do copolímero na mistura MFC-copolímero é levemente deslocamento para temperaturas entre 15 e 35 °C. Ambos os picos tem base larga e presença de um ombro terminal que indicam heterogeneidade de forma e tamanho dos cristalitos, o que é esperado uma vez que se trata de um copolímero compostos por blocos de diferentes estruturas químicas, ambas cristalizáveis, porém com cinéticas de cristalização diferentes (SCHICK, 2009).

A **Tabela 10** mostra aos valores referentes às temperaturas do pico de cristalização (T_c) e de fusão (T_m) e as entalpias de cristalização (ΔH_c) e de fusão (ΔH_m) do copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) e da mistura MFC-copolímero.

Tabela 10- Valores de transições térmicas e entalpias do copolímero e da mistura de MFC-copolímero.

Amostra	T_c (°C)	ΔH_c (J/g)	T_m (°C)	ΔH_m (J/g)
Copolímero	- 8	- 42	14	43
MFC-copolímero	0	- 19	21	24

Fonte: Autoria própria.

Li e colaboradores, 2020 fizeram compósitos de PCL com nanocristais de celulose e observaram que os nanocristais aumentam a temperatura de cristalização da PCL, por causa do efeito heterogêneo de nucleação do nanocristal de celulose, ou seja, a solidificação da PCL começa a ocorrer a partir do contato com a superfície do nanocristal. Portanto, o nanocristal de celulose proporcionou uma densidade de nucleação mais alta e uma taxa de cristalização da PCL mais rápida, o que resultou em arranjos menos perfeitos com cadeias moleculares empilhadas. Devido ao alto número de esferulitos que colidiram e limitaram seu crescimento, houve a diminuição da entalpia de cristalização, assim como do percentual de cristalinidade da PCL (LI et al., 2020).

Os dados de DSC obtidos corroboram com as conclusões de Li e colaboradores, 2020 pois observa-se que a presença da MFC diminuiu a entalpia de

cristalização do copolímero e provocou um deslocamento de 8 °C a mais da T_c do copolímero, acelerando sua cinética de cristalização. Da mesma forma, houve a diminuição da entalpia de fusão do copolímero na mistura MFC-copolímero e um aumento de T_m . Portanto, sugere-se que a MFC atue como agente nucleante, acelerando a cinética de cristalização do copolímero, porém interferindo na organização das cadeias e, portanto, diminuindo o percentual de cristalinidade do copolímero, o que resulta na diminuição da entalpia de cristalização da mistura MFC-copolímero. O surgimento do pico duplo de cristalização pode ser um indicativo de formação de estruturas cristalinas diferentes das estruturas geradas na cristalização do copolímero puro.

Em continuidade das investigações sobre interação entre o copolímero e a MFC na mistura MFC-copolímero e com o intuito de verificar se durante o processo de produção da mistura a integridade das propriedades térmicas dos materiais puros é garantida, foram realizadas as análises termogravimétricas.

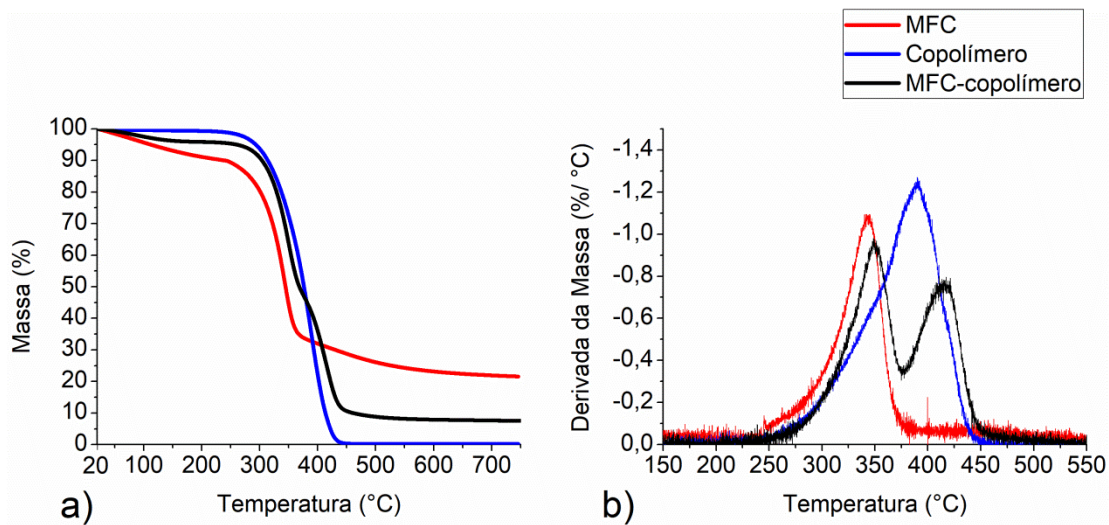
5.1.4 Termogravimetria (TGA)

A **Figura 19** mostra as curvas (a) de TGA e (b) de DTG das amostras de MFC, copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) e da mistura MFC-copolímero. Os experimentos foram realizados no intervalo de temperatura entre a temperatura ambiente e 750 °C. Como é possível observar na **Figura 19 (a)**, a decomposição térmica do copolímero ocorre em uma única etapa, cuja temperatura inicial da decomposição térmica (T_{onset}) está em 270 °C e temperatura final (T_{endset}) em 435 °C. A massa do resíduo final é de 1 %.

A curva DTG do copolímero, vista na **Figura 19 (b)**, possui um único pico cuja temperatura é 388 °C. A MFC também apresenta apenas um evento de perda de massa com T_{onset} de 241 °C e T_{endset} de 383 °C e massa final de 23 %. A curva de DTG correspondente possui um único pico cuja temperatura é 342 °C.

Já a amostra da mistura MFC-copolímero apresenta curva de TGA com dois eventos de perda de massa sobrepostos. O T_{onset} começa em 270 °C e T_{endset} ocorre em 450 °C, e o resíduo final é de 10,5 %. A curva correspondente de DTG da mistura MFC-copolímero apresenta dois picos, cujas temperaturas são de 348 °C e 415 °C. As temperaturas de decomposição máxima dessa curva são bem próximas com as de temperatura de decomposição máxima da MFC e do copolímero puros, respectivamente.

Figura 19- Curvas (a) TGA e (b) DTG da MFC, do copolímero e da mistura MFC-copolímero.



Fonte: Autoria própria.

Lönnberg e seus colaboradores, 2008 ao modificarem a superfície da MFC com PCL identificaram mudança no padrão de decomposição térmica das amostras puras em relação ao MFC modificado. Nos resultados, as curvas de TGA da MFC modificada apresentaram padrão com duas etapas de decomposição térmica sobrepostas. Confirmando que a decomposição térmica ocorreu em duas etapas, foi possível observar que as curvas de DTG das amostras de MFC modificadas apresentaram formato bimodal. Com esses resultados, os autores concluíram que eles conseguiram enxertar a PCL na superfície da MFC com sucesso (LÖNNBERG et al., 2008).

Zuppolini e seus colaboradores, 2020 grafitezaram a celulose com cadeias de PCL e avaliaram o comportamento térmico desse copolímero resultante. Os espectros de TGA mostraram curvas semelhantes que observavam a presença de uma decomposição em dois picos de temperatura diferentes. Um pico mínimo de decomposição na zona de 340 - 440 °C foi detectado e relacionado a uma quantidade desprezível de cadeias de PCL desligadas da estrutura principal da celulose e que sofreu decomposição nesta faixa de temperatura (ZUPPOLINI et al., 2020).

Os resultados obtidos estão de acordo com os reportados na literatura, portanto é possível afirmar que tanto o copolímero, quanto a MFC estão presentes na mistura MFC-copolímero. Sugere-se que durante o processo de produção da mistura não houve a decomposição térmica de nenhum dos componentes, uma vez que a temperatura inicial de decomposição térmica da mistura ocorre na mesma

faixa de temperatura dos componentes individuais e que os picos de temperatura de decomposição máxima, obtidos na curva DTG, são muito próximos aos dos componentes individuais. Além disso, o trabalho de Zuppolini e colaboradores, 2020 mostra que cadeias soltas de PCL sofrem decomposição máxima entre 350 °C e 450 °C. Esse resultado sugere que não há ligação química entre a MFC e o copolímero, uma vez que a curva de DTG mostra um perfil bimodal com um pico de decomposição na faixa de 370 - 450 °C, relacionada a cadeias livres do copolímero.

Como houve a sobreposição dos eventos de decomposição da MFC e do copolímero, não foi possível calcular a composição de cada componente da mistura MFC-copolímero. Por isso, foram realizados testes de extração Soxhlet para averiguar se a proporção 60 : 40 % de MFC seca e de copolímero foi mantida após a sua produção. Os resultados da extração Soxhlet são apresentados na **Tabela 11**.

Tabela 11- Resultados da extração Soxhlet.

Amostra	MFC-copolímero (g)	MFC extraída (g)	Copolímero extraído (g)
1	3,04	1,82	1,21
2	3,03	1,87	1,16
3	3,00	1,80	1,20

Fonte: Autoria própria.

Os resultados comprovam que as proporções entre o copolímero e a MFC foram mantidas e que as interações químicas entre a MFC e o copolímero podem ser desestabilizadas com solubilização de uma das fases. Dessa forma, foi necessária a realização de análises de FTIR para determinar se houve modificações químicas ocasionadas pelo processo de produção da mistura MFC-copolímero.

5.1.5 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

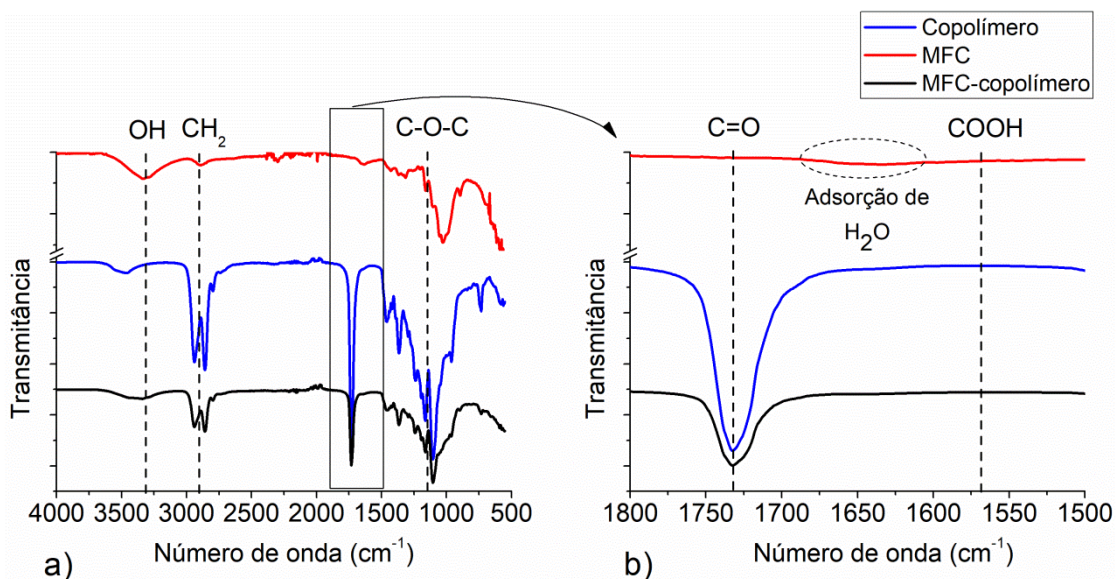
Com o objetivo de avaliar se houve promoção de ligação hidrogênio entre as hidroxilas terminais do copolímero com as hidroxilas presentes na cadeia das microfibrilas de celulose e se o processo de produção da mistura MFC-copolímero produziu degradação por hidrólise na cadeia do copolímero foram realizados os ensaios de FTIR.

Cada mero da celulose possui três grupamentos OH, sendo um de álcool primário e dois de álcoois secundários, que conferem a característica de alta reatividade da celulose (**Figura 1**). Os grupamentos OH dos álcoois secundários, principalmente o do carbono 2, são os responsáveis pelas ligações intramoleculares

que garantem o arranjo cristalino das MFC. O grupamento hidroxílico do carbono 6, isto é, o álcool primário, é o mais reativo devido seu menor impedimento estérico, o que torna a hidroxila capaz de promover ligações com grupos externos (ABIDI; CABRALES; HAIGLER, 2014; THOMAS et al., 2020).

Como o processo de produção da MFC-copolímero constituiu uma mistura física da MFC em estado aquoso e da poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahidrofurano), é provável que tenha havido interação do tipo ligação de hidrogênio entre as hidroxilas presentes em ambos componentes da mistura. Bandas de absorção largas entre $3400-3200\text{ cm}^{-1}$ são características de grupamentos OH que fizeram ligações hidrogênio intra e intermoleculares (CUELLO et al., 2020; DONG et al., 2017). A **Figura 20 (a)** mostra os espectros no infravermelho da MFC, do copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahidrofurano) e da mistura MFC-copolímero entre 4000 a 500 cm^{-1} .

Figura 20- Espectros no infravermelho da MFC, do copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahidrofurano) e da mistura MFC- copolímero; a) Espectros na faixa de 4000 a 500 cm^{-1} e b) espectros na faixa de 1800 a 1500 cm^{-1} . As linhas guia sinalizam os grupamentos químicos relacionados às bandas de absorção correspondentes no eixo x.



Fonte: Autoria própria.

As bandas de absorção de 3460 a 3330 cm^{-1} estão relacionadas às deformações axiais de grupos hidroxilas (OH) pertencentes a ligações hidrogênio. As bandas de absorção 2945 cm^{-1} e 2860 cm^{-1} estão relacionadas à deformação axial simétrica e assimétrica de grupos metila (CH_2) e deformações vibracionais de CH e CH_2 , comumente presentes em cadeias poliméricas (AHMED; MENAZEA;

ABDELGHANY, 2020). A banda em 1735 cm^{-1} é relativa à deformação axial da carbonila (C=O), estrutura química característica dos ésteres (YEO; HWANG, 2017). Em 1635 cm^{-1} a absorção no espectro de MFC está relacionada a moléculas de água (H_2O) adsorvidas. Em 1460 cm^{-1} ocorre a deformação assimétrica dos grupos metil (CH_3). As deformações de CH do tipo *rocking* ocorrem em 1315 cm^{-1} (MOOSAVINEJAD et al., 2019; SHARMA; KAUR; KUMAR, 2020). Entre $1300\text{-}1050\text{ cm}^{-1}$, os grupamentos éter (C-O-C) exibem deformação axial simétrica e assimétrica (AHMED; MENAZEA; ABDELGHANY, 2020).

É possível observar um alargamento da banda 3470 até 3330 cm^{-1} na mistura MFC-copolímero, que pode ocorrer devido à sobreposição das bandas de absorção da MFC e copolímero nessa faixa. Pode também estar relacionada ao aumento de ligações hidrogênio entre hidroxilas, sugerindo que houve ligação hidrogênio entre as hidroxilas terminais do copolímero com as hidroxilas reativas da cadeia de celulose.

Os estudos de Wang e colaboradores, 2016 com filmes de poli(etileno glicol) (PEG) e acetato de celulose preparados por extrusão mostraram que a intensidade da absorção na faixa de $3500 - 3300\text{ cm}^{-1}$ é afetada pelo número de ligações de hidrogênio, enquanto sua posição é afetada por sua força. A formação de ligações de hidrogênio desloca a banda de absorção de deformação axial de OH para um número de onda mais baixo. Mudanças desse tipo fornecem informações com relação à formação de ligações de hidrogênio. Eles observaram que houve deslocamento da banda de absorção em 3478 cm^{-1} no acetato de celulose puro para 3464 cm^{-1} no acetato de celulose com 25 % em massa de PEG (WANG et al., 2016a).

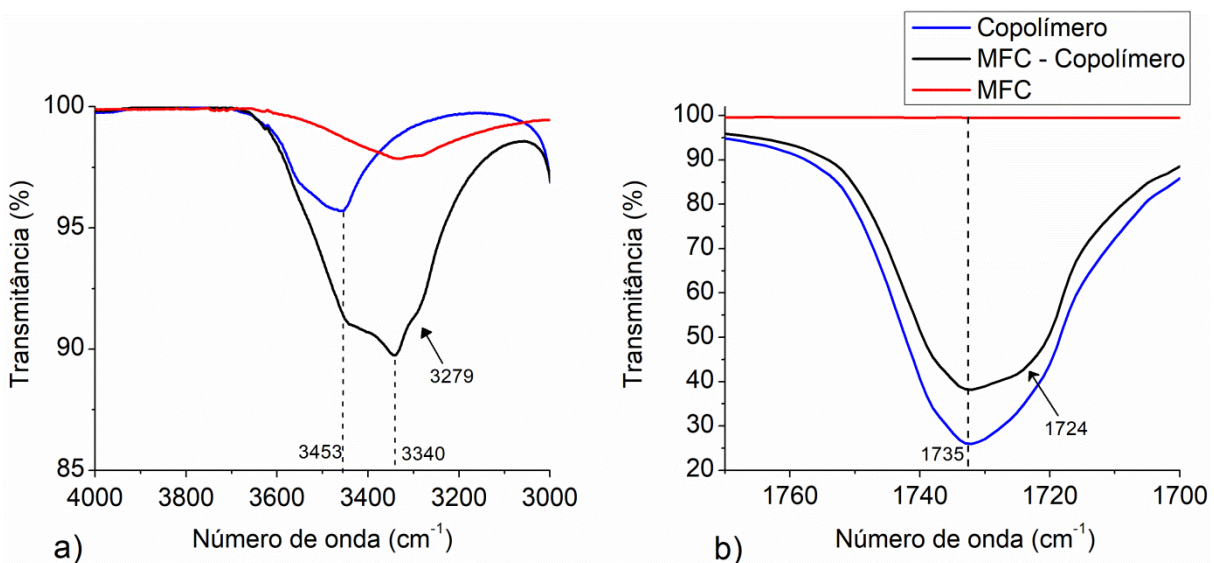
Meier e colaboradores, 2004 observaram o mesmo efeito das ligações hidrogênio em filmes de poli(caprolactona triol) (PCL-T) com acetato de celulose. Eles relataram que a banda de absorção relativa à deformação axial de OH em 3485 cm^{-1} do acetato de celulose foi deslocada para 3455 cm^{-1} com adição de 25 % em massa de PCL-T à mistura (MEIER et al., 2004).

Chai e colaboradores, 2018 em seus estudos de miscibilidade de poli(ácido láctico) (PLA) com álcool polivinílico (PVA) mostraram que quando há ligação hidrogênio envolvendo uma hidroxila e uma carbonila (OH...O=C), há deslocamento das bandas de absorção de OH entre $3600 - 3300\text{ cm}^{-1}$ e na banda de absorção da carbonila (C=O) em 1750 cm^{-1} . Eles relataram que as ligações hidrogênio entre as

hidroxilas da cadeia do PVA e a carbonila da cadeia do PLA, além de causarem deslocamento da banda de absorção de OH para valores menores, também deslocaram a banda de absorção de C=O para valores menores e menos intensos (CHAI; SONG; ZHANG, 2018).

A partir do que foi relatado por outros pesquisadores na literatura, buscou-se observar se houve ligação hidrogênio entre as hidroxilas das microfibrilas de celulose e as hidroxilas terminais do copolímero com base nos deslocamentos das bandas de absorção entre 3600-3300 cm^{-1} e na banda 1735 cm^{-1} . A **Figura 21** mostra os espectros no infravermelho da MFC seca, do copolímero e da mistura MFC-copolímero **(a)** na faixa de 4000 a 3000 cm^{-1} e **(b)** na faixa de 1780 a 1700 cm^{-1} .

Figura 21- Espectros no infravermelho da MFC, do copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) e da mistura MFC- copolímero; a) espectros na faixa de 4000 a 3000 cm^{-1} e b) espectros na faixa de 1780 a 1700 cm^{-1} .



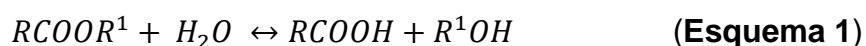
Fonte: Autoria própria.

É possível observar na **Figura 21 (a)** que houve deslocamento da banda de absorção relativa à deformação axial de OH em 3453 cm^{-1} do copolímero puro para 3340 cm^{-1} na mistura MFC-copolímero. O deslocamento acentuado e o aumento na intensidade da banda indicam que houve ligação hidrogênio entre o copolímero e a MFC. É possível notar também o aparecimento de um ombro em 3279 cm^{-1} , que pode estar relacionado a ligações intramoleculares entre as hidroxilas dos carbonos C2 e C3 da cadeia de celulose, conforme descrito por Kondo e colaboradores, 1996 (KONDO; SAWATARI, 1996). Esse mesmo ombro aparece no espectro da MFC

seca, o que indica que essas ligações hidrogênio podem ter ocorrido em decorrência da secagem da água do sistema.

A **Figura 21 (b)** mostra que houve diminuição na intensidade da banda em 1735 cm^{-1} e surgimento de um pequeno ombro em 1724 cm^{-1} no espectro da mistura MFC-copolímero. A diminuição da intensidade e o surgimento do pequeno ombro podem indicar que houve, em menor quantidade, a promoção de ligação hidrogênio entre as carbonilas presentes nas moléculas dos blocos de poli(ϵ -caprolactona) do copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahidrofurano) com as hidroxilas presentes nas unidades de repetição das microfibrilas de celulose, conforme relatado por Chai *et al.*, 2018.

Além da interação por ligação hidrogênio entre o copolímero e as microfibrilas de celulose, investigou-se a degradação por hidrólise que o copolímero pudesse sofrer durante o processo de fabricação da mistura MFC-copolímero. A degradação térmica sofrida por ésteres na presença de água é chamada de hidrólise e o mecanismo de decomposição hidrolítica está ilustrado de forma simplificada no **Esquema químico 1** (GAI *et al.*, 2020).



Como se pode observar no **Esquema 1**, a hidrólise de poliésteres como o copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahidrofurano) tem como produto um ácido carboxílico (COOH) e um álcool (OH). Portanto, caso o processo de produção da mistura MFC-copolímero causasse a decomposição hidrolítica do copolímero, uma estrutura com ácido carboxílico deveria aparecer como produto dessa decomposição. Em um FTIR, a banda de absorção relacionada ao ácido carboxílico (COOH) ocorre próximo de 1570 cm^{-1} .

Os espectros de FTIR na **Figura 20 (b)** mostram a ausência de bandas no espectro da mistura MFC-copolímero por volta de 1570 cm^{-1} , ou seja, ausência de ácidos carboxílicos. Esse resultado evidencia que durante o processo de produção da mistura MFC-copolímero não houve degradação por hidrólise da cadeia do copolímero.

A falta de degradação por hidrólise do copolímero mesmo na presença de água em altas temperaturas pode ser explicada pela própria presença da MFC. Segundo Gai e colaboradores, 2020 em estudo sobre a influência de nanotubos de

carbono (CNT) na decomposição hidrolítica de poliésteres, quando os CNTs atuam como agentes nucleantes, eles aumentam a cinética de cristalização do polímero. Conseqüentemente, eles atuam de forma a desacelerar o processo de degradação por hidrólise desse material (GAI et al., 2020).

Os resultados do ensaio de DSC mostraram que a MFC acelerou a cinética de cristalização do copolímero e os espectros obtidos por FTIR evidenciaram a ausência da banda referente ao ácido carboxílico (COOH), corroborando assim com os resultados de Gai e seus colaboradores. Portanto, sugere-se que não houve degradação dos componentes durante o processo de produção da mistura MFC-copolímero devido à influência da MFC na cinética de cristalização do copolímero.

Os resultados obtidos por meio dos diversos métodos de caracterização da mistura MFC-copolímero mostraram que o processo simplificado de produção sem utilização de solventes foi capaz de manter a integridade química dos componentes. O aumento da taxa de cristalização do copolímero, juntamente com os deslocamentos da banda de absorção em 3453 para e 3340 cm^{-1} , a diminuição da intensidade da banda de absorção em 1735 cm^{-1} e o surgimento do ombro em 1724 cm^{-1} sugerem que o copolímero e as microfibrilas de celulose interagem majoritariamente por meio de ligação hidrogênio das hidroxilas terminais do copolímero com as hidroxilas reativas presentes na cadeia polimérica da celulose.

No entanto, por meio apenas desses ensaios não foi possível analisar se as cadeias do copolímero foram capazes de impedir a aglomeração entre as microfibrilas de celulose. Por isso, foi produzida a blenda T1 e realizados ensaios de MEV para sua caracterização morfológica, cujos resultados são discutidos a seguir.

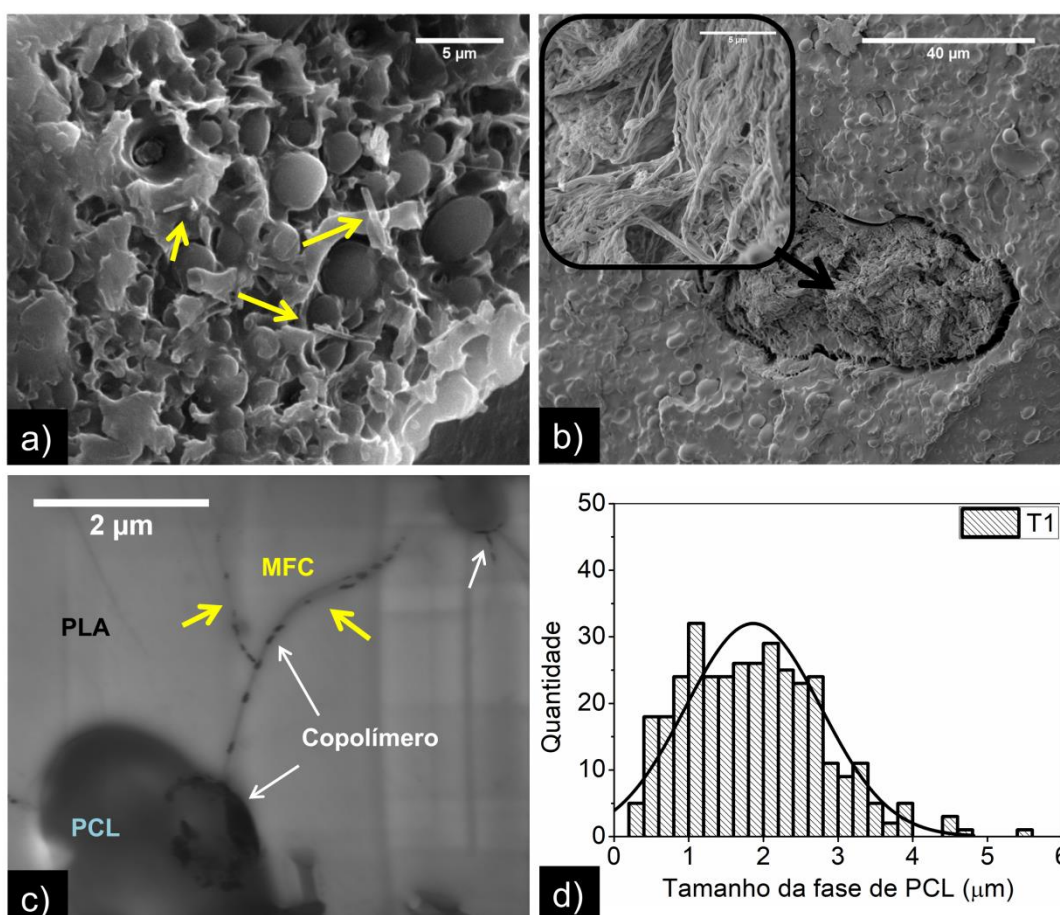
5.1.6 Caracterização morfológica da blenda T1

A blenda T1 é composta por poli(ácido láctico) (PLA) e poli(ϵ -caprolactona) (PCL) na qual foram introduzidos 8 % em massa MFC e 5 % em massa de copolímero por meio da extrusão conjunta de PLA, PCL e MFC-copolímero. O objetivo da produção dessa blenda foi analisar se as cadeias do copolímero presentes na mistura MFC-copolímero eram capazes de impedir a total aglomeração das microfibrilas de celulose e, dessa forma, confirmar a importância desse método simples e econômico de redispersão de MFC em matrizes poliméricas. Portanto, foram realizadas análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV).

A composição de T1 teve o objetivo de priorizar a manutenção de 5 % em massa do copolímero na mistura, uma vez que em um trabalho prévio foi constatado que com 5 % em massa desse copolímero promovia a compatibilização da blenda PLA/PCL com proporção 80:20 % em massa, como descrito anteriormente (DIAS; CHINELATTO, 2019).

As **Figura 22(a)** e **(b)** mostram as micrografias de T1 obtida por detecção de elétrons secundários pela técnica de MEV (MEV-SE). A **Figura 22 (c)** é uma micrografia de MEV obtida no modo de transmissão por varredura (*STEM-in-SEM*). A **Figura 22 (d)** mostra um histograma da contagem do tamanho da fase de PCL de T1.

Figura 22- Micrografias de T1 (a, b e c) e curva com a distribuição do tamanho da fase dispersa de PCL (d). As setas amarelas indicam microfibrilas de celulose dispersas na matriz polimérica. As setas brancas apontam para o copolímero.



Fonte: Autoria própria.

As setas amarelas na **Figura 22 (a)** indicam que há microfibrilas de celulose dispersas na matriz polimérica da blenda PLA/PCL, o que sugere que a metodologia de incorporação de MFC em matrizes poliméricas proposta a partir da formação de

uma mistura com copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) tem potencial para promover a redispersão das microfibrilas de celulose em matrizes poliméricas. A falta de contraste entre a matriz polimérica e as MFC dificulta a visualização para a contagem do tamanho médio das microfibrilas de celulose. É possível notar também separação clara de fases entre a matriz de PLA e a fase dispersa de PCL que se apresenta na forma de gotas com tamanho médio de $1,86 \mu\text{m} \pm 0,73 \mu\text{m}$ (**Figura 22 (d)**).

A **Figura 22 (b)** é uma micrografia que mostra a presença de um grande aglomerado de MFC. A micrografia mostra a forte interação das microfibrilas entre elas, formando primeiramente organizações microfibrilares conhecidas como *bundles* e em seguida aglomerados de *bundles* de celulose (LI et al., 2016).

As amostras de *STEM-in-SEM* foram tingidas com 2 % de acetato de uranila por 30 s. O protocolo de tingimento de amostras foi desenvolvido experimentalmente, no qual foram testados os tempos de tingimento de 30 s, 60 s e 90 s. Como os componentes de T1 com exceção da celulose são poliésteres, a afinidade de interação do acetato de uranila é bastante parecida entre eles. O que define o componente que será tingido mais rapidamente que o outro é o tamanho das cadeias. Os protocolos de 60s e 90 s apresentaram maior heterogeneidade de fases tingidas. Já no protocolo de 30 s, mostrou que o copolímero foi prioritariamente tingido pelo acetato de uranila, pois ele possui massa molar de apenas 2.000 g.mol^{-1} , enquanto que o PLA e a PCL possuem 55.000 e $50.000 \text{ g.mol}^{-1}$, respectivamente e a MFC $> 90.000 \text{ g.mol}^{-1}$.

Na **Figura 22 (c)** é possível visualizar que o copolímero tingido de acetato de uranila se concentra em grande quantidade na fase de PCL e na interface entre a fase de PLA e a fase de PCL. É possível observar também que há pequenas áreas tingidas ao longo da MFC. Os trabalhos da literatura que utilizaram acetato de uranila para tingir MFC mostram uma morfologia de tingimento uniforme. Com base na diferença entre as imagens obtidas e as apresentadas em trabalhos publicados na literatura, sugere-se que a área tingida ao longo da cadeia de MFC seja relativa ao copolímero que permaneceu recobrendo a microfibrila de celulose (AGODA-TANDJAWA et al., 2010; CHEN et al., 2020; DA SILVA et al., 2020a; FORTUNATO et al., 2012; HABIBI; MAHROUZ; VIGNON, 2009; OLIAEI et al., 2020; SHARMA et al., 2019b; SIQUEIRA; BRAS; DUFRESNE, 2010b; ZHANG et al., 2020a).

Portanto, esses resultados de análise morfológica reiteram que há interação entre o copolímero e a MFC e que essa interação favorece a redispersão da MFC na matriz polimérica. No entanto, a presença do grande aglomerado de MFC, assim como o alto valor de tamanho médio da fase da PCL indicam que o processamento realizado em uma extrusora rosca simples, não favoreceu a boa dispersão desses componentes na matriz de PLA.

O tamanho médio de gotas de PCL reportado por Finotti *et al.*, 2017 para blendas PLA/PCL compatibilizadas com poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) produzidas em extrusora dupla rosca foi de 0,36 μm com PLA 2003D da NatureWorks (FINOTTI *et al.*, 2017). Essa maior eficiência mostrada por Finotti *et al.*, 2017 na quebra da fase de PCL pode ser explicada pelo tipo de fluxo proporcionado em extrusora dupla-rosca. Utracki e Shi, 1992 mostraram que o fluxo elongacional existente em extrusoras dupla-rosca é capaz de contribuir drasticamente para a diminuição do tamanho da fase dispersa em blendas poliméricas imiscíveis em que o razão de viscosidade entre fases é menor que 3. Apesar do PLA e da PCL utilizados neste trabalho possuírem razão de viscosidade próxima à 1, o campo de fluxo imposto pela extrusora rosca simples, não contribuiu para a diminuição da fase dispersa de PCL (SHI; UTRACKI, 1992; UTRACKI; SHI, 1992).

Por isso, foram realizados estudos em extrusora dupla-rosca visando diminuir o tamanho da fase dispersa de PCL e proporcionar maior dispersão para as microfibrilas de celulose. Para tanto, foram avaliados o efeito da ordem de extrusão, da velocidade de rotação de rosca, teor de MFC na blenda e teor de copolímero na mistura MFC-copolímero na morfologia e propriedades mecânicas das blendas compatibilizadas PLA/PCL reforçadas com microfibrilas de celulose. Os resultados desses estudos são apresentados na Etapa 2 – investigação dos parâmetros de processamento.

5.2 ETAPA 2 – Investigação dos parâmetros de processamento

5.2.1 Ordem de extrusão

O estudo sobre como a ordem de extrusão da mistura MFC-copolímero com o PLA e a PCL influencia na morfologia da blenda foi motivado por trabalhos na literatura como o de Wu *et al.*, 2011. Eles mostraram que a ordem de extrusão de estruturas com as três dimensões na escala nanométrica (*nanofillers*, em inglês)

pode favorecer a sua dispersão, que pode influenciar no tamanho da fase dispersa da blenda e, conseqüentemente influenciar nas propriedades mecânicas da blenda (WU et al., 2011). Assim como com os *nanofillers*, a capacidade de dispersão das MFC é relatada na literatura como dependente da sua afinidade entre as fases. A maior afinidade das microfibrilas de celulose com alguma das fases de uma blenda polimérica pode favorecer sua dispersão e menor afinidade pode favorecer a aglomeração das microfibrilas (SIRÓ; PLACKETT, 2010; WANG et al., 2020). Por isso, uma determinada seqüência de extrusão das MFC com os demais componentes da blenda polimérica pode favorecer sua dispersão. Visando favorecer ao máximo a redispersão das MFC por meio da extrusão da mistura MFC-copolímero com PLA e PCL, foi investigada a ordem de extrusão que favorece a melhor dispersão de MFC e de PCL na blenda PLA/PCL reforçada com MFC.

Os estudos de Wang *et al.*, 2020 mostrou que o tamanho da fase dispersa de polibutileno succinato (PBS) na matriz de PLA pode ser diminuído pela adequada dispersão de nanofibrilas de celulose (CNF). Neste estudo Wang e colaboradores, 2020 sugerem que as CNF formam uma rede na matriz de PLA que impede que as gotas de PBS de coalescer (WANG et al., 2020). Da mesma forma, os estudos de Fourati *et al.*, 2021 mostraram menor tamanho da fase dispersa de TPS na matriz de PBAT quando conseguiram dispersar nanofibrilas de celulose apropriadamente na blenda polimérica (FOURATI et al., 2021). A falta de contraste entre a matriz polimérica e as microfibrilas de celulose dificulta a visualização por MEV da dispersão da MFC na matriz. Baseado no trabalho de Wang e colaboradores, 2020, Fourati *et al.*, 2021 e na teoria do efeito *Pickering* em estabilizações de emulsões, a dispersão da MFC nas blendas PLA/PCL reforçadas com MFC foi analisada de forma indireta por meio do tamanho da fase dispersa de PCL.

A **Figura 23** mostra as micrografias e os histogramas da contagem de tamanho de gota de PCL com curva normal das amostras com diferentes ordens de extrusão. A **Tabela 12** mostra o tamanho médio e desvio padrão das gotas de PCL de cada amostra. As amostras foram comparadas por Teste T pareado para avaliar a significância entre as diferenças apresentadas no tamanho da fase de PCL.

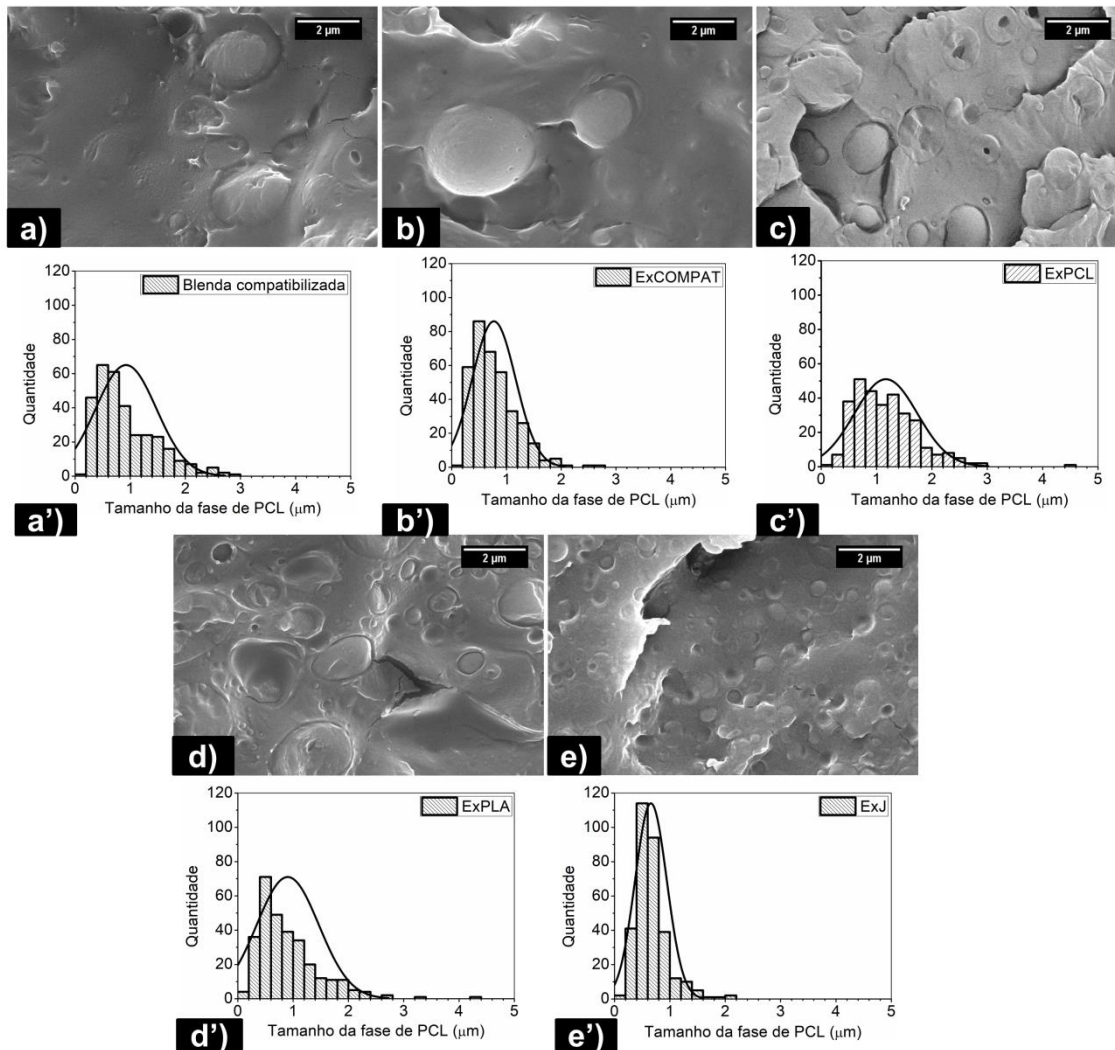
As micrografias da amostra da blenda compatibilizada (**Figura 23 (a)**), utilizada como amostra controle e da amostra ExCOMPAT (**Figura 23 (b)**) apresentaram superfícies mais lisas, sugerindo melhor molhabilidade da fase de PCL pelo PLA. A semelhança aparente entre essas micrografias pode ter ocorrido

devido a uma sequência de mistura semelhante, uma vez que a primeira etapa da sequência ExCOMPAT é exatamente a mesma que o protocolo para produzir a blenda compatibilizada. No entanto, a ExCOMPAT é submetida a uma segunda extrusão para adicionar o MFC por meio da MFC-copolímero, o que impacta significativamente no tamanho e distribuição da fase dispersa. Em média (**Tabela 12**), a fase de PCL da amostra ExCOMPAT ($M = 0,77$; $SEM = 0,02$) apresentou gotas de tamanho menor do que o Controle ($M = 0,93$; $SEM = 0,03$), $T(326) = 3,860$, $p < 0,05$.

Este resultado sugere que o MFC desempenha um papel significativo na interferência da coalescência das gotas de PCL, formando uma barreira entre as gotas, fenômeno que é conhecido como “mecanismo de *Pickering*”. Winuprasith e Suphantharika, 2013 estudaram o potencial de estabilização de emulsão da MFC em um sistema água-óleo. Eles descobriram que a MFC pode formar uma rede em torno das gotículas de óleo, evitando a coalescência, o que explicaria esse resultado (WINUPRASITH; SUPHANTHARIKA, 2013).

A sequência ExPCL apresentou o maior tamanho médio de gotas (**Tabela 12**) e a maior distribuição (**Figura 23 (c')**) em comparação com todas as outras amostras. Ericksson *et al.*, 2018 avaliaram o efeito do nanocristal de celulose (CNC) nas propriedades reológicas da PCL e estabeleceram que a adição de 2 % em massa de CNC diminui a viscosidade da PCL (ERIKSSON *et al.*, 2018). À luz disso, o maior tamanho de gota de ExPCL pode ser explicado devido a uma mudança na viscosidade da PCL durante a primeira extrusão. A mudança na viscosidade pode ter influenciado na razão de viscosidade entre a PCL e o PLA na segunda extrusão. A relação de viscosidade próxima a 1 é um importante fator no controle do tamanho da fase dispersa, uma vez que a fase com menor viscosidade tende a encapsular aquela com maior viscosidade (HEMMATI; NAZOKDAST; PANAHI, 2001). Na **Figura 23 (c)** é possível notar gotículas dentro das gotas de PCL, o que sugere que a viscosidade do PCL pode ter caído, distanciando de 1 a razão de viscosidade entre as fases e levando a fase PCL a encapsular gotículas de PLA.

Figura 23- Micrografias e histogramas de contagem do tamanho da fase de PCL das amostras do estudo de ordem de extrusão. (a) e (a') blenda compatibilizada (controle); (b) e (b') ExCOMPAT; (c) e (c') ExPCL; (d) e (d') ExPLA e (e) e (e') ExJ. Barra de escala = 2 µm.



Fonte: Autoria própria.

Tabela 12- Tamanho médio e desvio padrão da fase de PCL.

Amostras	Tamanho médio de gota (µm)
Blenda compatibilizada	$0,93 \pm 0,44$
ExPLA	$0,90 \pm 0,42$
ExPCL	$1,16 \pm 0,45$
ExCOMPAT	$0,77 \pm 0,31$
ExJ	$0,66 \pm 0,20$

Fonte: Autoria própria.

Outra possível explicação para a fase de PCL encapsular a fase de PLA são as temperaturas de fusão muito diferentes. A PCL funde em temperatura próxima a 60 °C, enquanto que o PLA funde em aproximadamente 170 °C. Isso faz com que a PCL atinja a fusão antes que o PLA dentro da extrusora, se tornando a fase contínua

neste primeiro momento. Quando o PLA completa sua fusão, há a inversão de fases e o PLA passa a ser a fase contínua e a PCL a fase dispersa. Essa dinâmica de inversão de fases devido à diferença entre as temperaturas de fusão dos materiais pode formar a morfologia de gotas dentro de gotas (FORTELNY et al., 2019; OSTAFINSKA et al., 2017; PADSALGIKAR; ELLISON, 1997; TOL; MATHOT; GROENINCKX, 2005; UTRACKI et al., 1992).

A distribuição (**Figura 23 (d')**) e o tamanho médio das gotas (**Tabela 12**) da amostra ExPLA (M = 0,90; SEM = 0,03) não mostraram diferença significativa em relação ao Controle (M = 0,95; SEM = 0,03), T (299) = 1,063, $p > 0,05$. No entanto, houve uma diferença significativa entre a distribuição e o tamanho médio do PCL da amostra ExPLA (M = 0,90; SEM = 0,03) em relação a amostra ExCOMPAT (M = 0,77; SEM = 0,02), T (299) = 3.148, $p < 0,05$. Essa combinação de resultados sugere que o mecanismo de *Pickering* não se aplica ao ExPLA, uma vez que não houve alteração no padrão dispersão de fases em relação ao Controle. Uma teoria para explicar a similaridade entre ExPLA e o Controle e a diferença significativa entre ExPLA e ExCOMPAT poderia ser que a MFC não se redispersou apropriadamente na matriz de PLA durante a primeira extrusão, formando uma fase de MFC agregada. Por consequência, não houve formação da rede MFC em torno das gotas de PCL, durante a segunda extrusão. Portanto, o tamanho das gotas de PCL seria influenciada apenas pela presença do copolímero que atua como compatibilizante da blenda PLA/PCL.

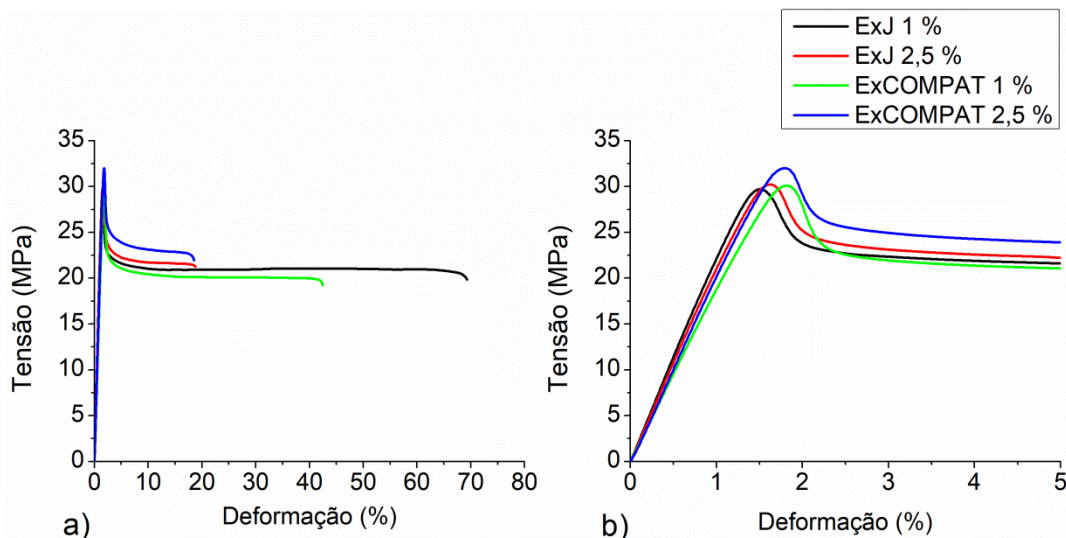
Já a amostra ExJ apresentou o menor tamanho de gota de PCL (M = 0,66; SEM = 0,02) quando comparado aos demais protocolos e ao Controle. ExJ foi 42% menor do que ExPCL (M = 1,16; SEM = 0,03), T (312) = -14,094, $p < 0,05$; 26% menor que ExPLA (M = 0,90; SEM = 0,03), T (299) = -6,489, $p < 0,05$ e que o Controle (M = 0,903; SEM = 0,03), T (320) = 7.594, $p < 0,05$; e 13% menor do que ExCOMPAT (M = 0,78; SEM = 0,02), T (320) = -5,299, $p < 0,05$. O menor tamanho médio de gota de PCL (**Tabela 12**) e a distribuição (**Figura 23 (e')**) mais estreita podem ter sido causados pela colaboração sinérgica entre o MFC e o copolímero usado como agente compatibilizante (ZHAO et al., 2020). O mecanismo de coalescência de gotas foi desfavorecido pela diminuição da tensão interfacial promovida pelo copolímero e pelo impedimento estérico que previne a coalescência de gotas que as estruturas em rede de MFC proporcionam e que caracterizam o mecanismo de *Pickering*. Li et al., 2019 observaram efeito sinérgico semelhante de

nanocelulose e surfactante na diminuição do tamanho da gota e na distribuição da emulsão óleo-água, bem como melhor estabilização da emulsão (LI et al., 2019).

As sequências de extrusão da mistura MFC-copolímero com os demais componentes da blenda têm um papel significativo na obtenção de uma morfologia mais refinada. As sequências ExJ e ExCOMPAT possibilitaram melhor distribuição das gotas de PCL. Infere-se que há também melhor dispersão das MFC nas blends que seguiram essas sequências de mistura. Devido à falta de significância na diferença entre o tamanho da fase de PCL nas blends ExJ e ExCOMPAT, foram produzidas blends com 1 % e 2,5 % de MFC, seguindo os procedimentos de extrusão ExJ e ExCOMPAT com o objetivo de definir qual procedimento de extrusão favorece melhor equilíbrio entre as propriedades mecânicas de deformação na ruptura, resistência à tração e resistência aos impacto Izod sem entalhe.

A **Figura 24** mostra as curvas deformação x tensão em tração das amostras ExJ e ExCOMPAT com 1 e 2,5 % de MFC e a **Tabela 13** mostra os valores médios de tensão máxima, deformação máxima e módulo de elasticidade em tração com desvio padrão.

Figura 24- Curva tensão-deformação do ensaio de tração das amostras ExJ com 1 % e 2,5 % em massa de MFC e ExCOMPAT com 1 % e 2,5 % em massa de MFC. (a) intervalo entre 0 e 80 % e (b) intervalo entre 0 a 5 % de deformação na ruptura.



Fonte: Autoria própria.

Os resultados de tensão máxima em tração não apresentam diferença significativa entre as amostras e os valores ficam em torno de 30 MPa. Da mesma forma, os módulos de elasticidade são muito parecidos, com a amostra ExJ 1 % com o maior módulo elástico (2,2 GPa) e as demais com 2,0 GPa. No entanto, a

deformação máxima em tração varia bastante entre as amostras. A amostra ExJ 1 % apresenta média de deformação máxima em 70 %, enquanto que ExCOMPAT 1 % apresenta média de deformação máxima em 40 %. Já as amostras com 2,5 % de MFC, apesar apresentarem médias mais próximas a ExJ ainda tem média 10 % maior que a amostra ExCOMPAT.

Tabela 13- Média de valores de tensão máxima, deformação máxima e módulo elástico em tração das amostras ExJ e ExCOMPAT com 1 e 2,5 % de MFC.

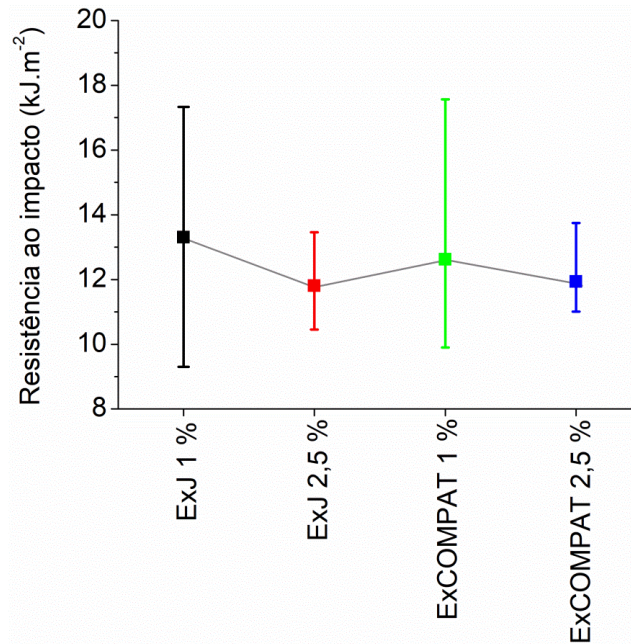
Amostras	Tensão máxima (MPa)	Deformação máxima (%)	Módulo de elasticidade (GPa)
ExJ 1 %	29,8 ± 5,6	70,8 ± 34,2	2,2 ± 0,1
ExJ 2,5 %	30,4 ± 1,3	27,3 ± 12,1	2,0 ± 0,1
ExCOMPAT 1 %	31,6 ± 2,2	40,7 ± 1,9	2,0 ± 0,1
ExCOMPAT 2,5 %	32,0 ± 1,6	18,7 ± 5,5	2,0 ± 0,1

Fonte: Autoria própria.

Os resultados mostram que o aumento do teor da MFC tende a diminuir a deformação máxima na ruptura e estabilizar as propriedades apresentadas entre as espécimes de uma mesma amostra. Isso provavelmente ocorre, pois a MFC está em maior quantidade na matriz e, portanto, distribuída de forma mais uniforme, o que permite que não haja tanta variação de composição na área de análise dos corpos de prova. Com o aumento do teor de MFC esperava-se a diminuição deformação da ruptura em função da menor capacidade de deformação da estrutura em rede de MFC, conforme reportado por Lepetit e colaboradores, 2017 (LEPETIT et al., 2017).

A **Figura 25** mostra a média da resistência ao impacto Izod sem entalhe com desvio padrão das amostras ExJ e ExCOMPAT com 1 % e com 2,5 % em massa de MFC. As amostras ExJ 1 % e ExCOMPAT 1 % não diferem de forma significativa, apresentando média de 13,3 e 12,6 kJ.m⁻¹ de resistência ao impacto, respectivamente. As amostras ExJ e ExCOMPAT com 2,5 % em massa de MFC diferem também muito pouco entre si, apresentando respectivamente 11,8 e 11,9 kJ.m⁻¹. No entanto, o desvio padrão das amostras reduz, mostrando que o aumento do teor da MFC promove maior estabilidade na propriedade de resistência ao impacto das amostras.

Figura 25- Resistência ao impacto IZOD sem entalhe das amostras de ExJ e ExCOMPAT com 1 % e 2,5 % de MFC. Linha base em cinza.



Fonte: Autoria própria.

Em razão da maior deformação na ruptura apresentadas pelas amostras ExJ em comparação com ExCOMPAT e demais propriedades serem muito próximas entre elas, a sequência de mistura ExJ foi escolhida para a continuação da produção das blendas para as próximas análises.

5.2.2 Rotação de rosca

O estudo da rotação de rosca foi motivado pela necessidade de promover a melhor dispersão tanto da fase de PCL quanto da fase de MFC. Os parâmetros de extrusão que são passíveis de modificação são: (a) perfil de temperatura e (b) rotação de rosca. A blenda polimérica produzida neste trabalho é composta por materiais que possuem temperaturas de fusão muito distintas. O PLA tem fusão em 167 °C, a PCL em 60 °C, a poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) em 30 °C e, apesar da MFC não apresentar fusão, ela tem início da decomposição térmica em 240 °C. O perfil de temperatura utilizado foi estabelecido experimentalmente e durante o processo foi observado que aumentar a temperatura em 10 °C em relação ao perfil 175-185-180-180-180-175 °C, já causava mudança drástica no processado, com evidências claras de degradação polimérica. Portanto, o único parâmetro passível de alteração para o processamento dessa blenda é a rotação de rosca.

Sabe-se que a rotação de rosca é o parâmetro que está diretamente relacionado com a taxa de cisalhamento, ou seja, com a deformação imposta ao fluido durante o tempo de extrusão. Da mesma forma, a capacidade de homogeneização da blenda é diretamente proporcional à taxa de cisalhamento. Por isso, quanto maior a rotação de rosca, maior será a taxa de cisalhamento e maior será a capacidade de mistura (MANRICH, 2013).

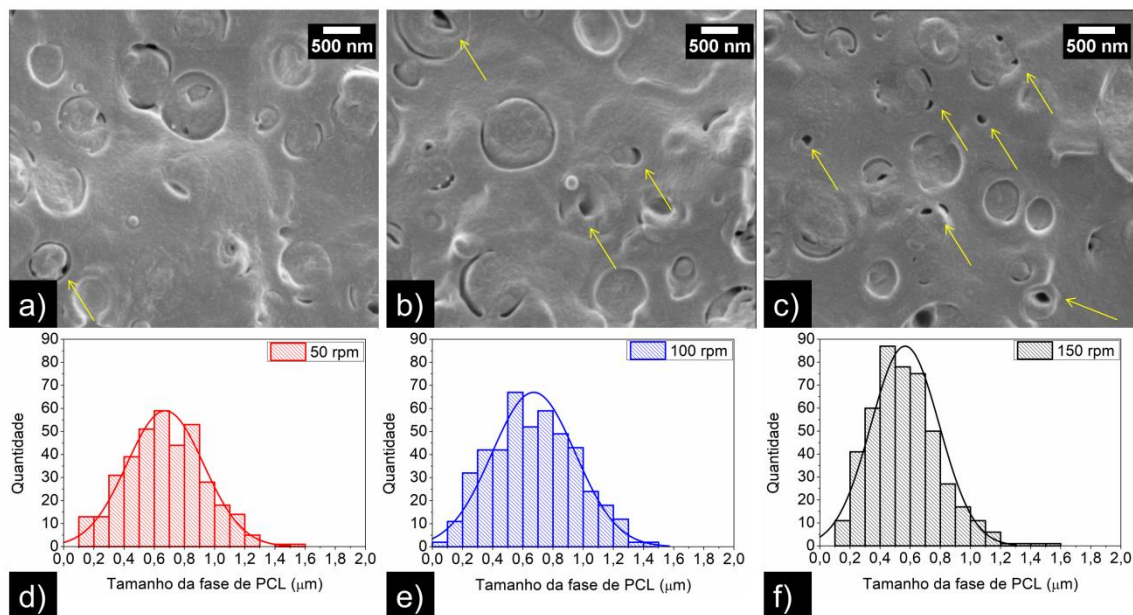
O alto cisalhamento combinado com alta temperatura de processamento também pode causar danos à estrutura da MFC, acarretando na quebra das moléculas de celulose, diminuindo a razão de aspecto (HYVÄRINEN; JABEEN; KÄRKI, 2020; KARGARZADEH et al., 2017). No entanto, também é possível promover nanofibrilação das microfibrilas de celulose por meio de processos mecânicos como o processo de extrusão. A nanofibrilação consiste na desconstrução das microfibrilas de celulose em unidades chamadas nanofibrilas que possuem maior razão de aspecto que as microfibrilas (HO et al., 2015). A nanofibrilação é um fenômeno desejado em preparação de blendas poliméricas, uma vez que a mais alta razão de aspecto favorecida pelo processo de nanofibrilação contribui positivamente para o reforço de matrizes poliméricas (FU et al., 2008).

Visando melhorar a dispersão da MFC e diminuir tamanho da fase de PCL, foi realizado um estudo em que variou-se a rotação de rosca da extrusora em 50, 100 e 150 rpm. As blendas resultantes foram analisadas com o objetivo de estabelecer qual parâmetro de extrusão contribui para a melhor dispersão e distribuição da fase de PCL e das MFC sem causar danos ao material. Como a dispersão e distribuição da MFC é difícil de quantificar por meio das análises morfológicas devido à falta de contraste entre a matriz e as MFC, foram analisadas a morfologia da blenda objetivando a quantificação da fase de PCL.

A **Figura 26** mostra as micrografias e histogramas das blendas extrudadas com rotação de rosca em 50, 100 e 150 rpm. É possível observar nos histogramas que o tamanho da fase de PCL diminui com o aumento da rotação de rosca. A blenda extrudada a 50 rpm tem média de tamanho de gota de PCL em $0,672 \mu\text{m} \pm 0,206$, enquanto a blenda extrudada a 100 rpm tem média em $0,671 \mu\text{m} \pm 0,226$ e a blenda extrudada a 150 rpm tem média em $0,565 \pm 0,177$. O perfil da curva normal do histograma mostra que amostra extrudada a 150 rpm apresenta a maioria das gotas de PCL em tamanho menor ou igual a $0,5 \mu\text{m}$. As micrografias também

mostram contornos de gota de PCL menos evidentes na medida em que a rotação de rosca aumenta, o que sugere melhoria da adesão das gotas de PCL na fase de PLA. A diminuição do tamanho da gota de PCL pode ser um indicativo de nanofibrilação, uma vez que o efeito Pickering, assim como o confinamento de cadeia são aprimorados quanto maior for a razão de aspecto da nanoestrutura (YU et al., 2019).

Figura 26- Micrografias e histogramas das blendas extrudadas com rotação de rosca em (a) e (d) 50, (b) e (e) 100 e (c) e (f) 150 rpm. Setas em amarelo indicam espaços vazios.



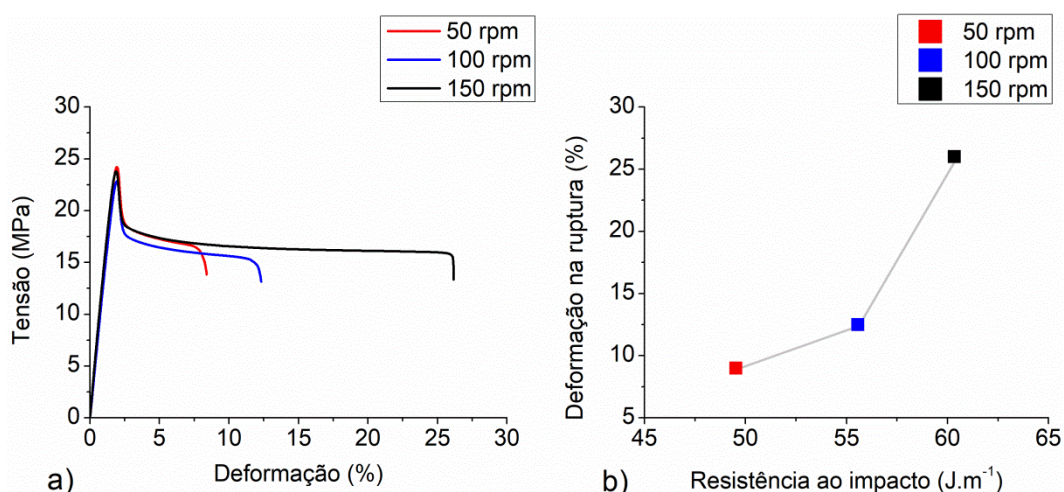
Fonte: Autoria própria.

Na medida em que a rotação de rosca aumenta é possível observar também o aumento do número de espaços vazios, indicada pelas setas em amarelo. O tamanho médio das cavitações da amostra extrudada a 50 rpm é $122 \text{ nm} \pm 63 \text{ nm}$, nas amostras a 100 rpm a média é de $169 \text{ nm} \pm 75 \text{ nm}$ e nas amostras a 150 rpm a média é de $195 \text{ nm} \pm 79 \text{ nm}$. Esse resultado pode ser um indicativo de melhor dispersão das microfibrilas de celulose e possível existência de nanofibrilação mecânica via extrusão das microfibrilas de celulose. Essa sugestão se baseia na teoria em construção sobre comportamento mecânico de matrizes poliméricas a partir do reforço com nanoestruturas, que diz que um dos mecanismos para aumento da resistência mecânica é o deslocamento da nanoestrutura com surgimento de espaço vazio na matriz polimérica. Por sua vez, a matriz escoia na direção do espaço vazio, aliviando a tensão triaxial naquele local (QUARESIMIN; SALVIATO; ZAPPALORTO, 2015).

Hsieh *et al.*, 2010, que são grandes contribuidores da recente teoria sobre mecanismos de reforço polimérico por nanoestruturas, mostram que há aumento de cavitação (espaços vazios) nos compósitos híbridos de epóxi/borracha/nanosílica em relação às blendas epóxi/borracha. Eles atribuem esse aumento da cavitação ao deslocamento de algumas nanopartículas de sílica a partir da aplicação de uma tensão. Isso se reflete em cavidades com 0,54 μm na blenda e cavidades com 1,24 μm nos compósitos híbridos (HSIEH *et al.*, 2010).

As propriedades mecânicas em tração e de resistência ao impacto Izod sem entalhe das blendas extrudadas a 50, 100 e 150 rpm foram analisadas com o objetivo de observar de forma indireta o efeito da rotação de rosca na dispersão da celulose e da PCL. A **Figura 27 (a)** mostra a curva tensão-deformação em tração e a **Figura 27 (b)** mostra a relação entre a resistência ao impacto Izod sem entalhe com a deformação na ruptura em tração das blendas extrudadas a 50, 100 e 150 rpm. A **Tabela 14** mostra os dados de propriedades mecânicas das blendas extrudadas a 50, 100 e 150 rpm.

Figura 27- (a) Curva tensão-deformação em tração e (b) relação entre a resistência ao impacto Izod com a deformação na ruptura em tração das blendas extrudadas a 50, 100 e 150 rpm.



Fonte: Autoria própria.

Tabela 14- Propriedades mecânicas das blendas extrudadas a 50, 100 e 150 rpm.

Amostras	Tensão máxima (MPa)	Deformação na ruptura (%)	Módulo de elasticidade (GPa)	Resistência ao impacto (J.m ⁻¹)	Resistência ao impacto (kJ.m ⁻²)
50 rpm	23 ± 1	10 ± 7	1,4 ± 0,1	49 ± 7	11,7 ± 1,6
100 rpm	23 ± 1	13 ± 4	1,4 ± 0,06	55 ± 6	13,1 ± 1,6
150 rpm	23 ± 0,8	28 ± 4	1,5 ± 0,08	60 ± 11	14,1 ± 2,5

Fonte: Autoria própria.

É possível perceber que há aumento significativo no perfil de deformação na ruptura e da resistência ao impacto Izod sem entalhe com o aumento da rotação de rosca (**Figura 27 e Tabela 14**). Esses resultados denotam aumento da tenacidade da blenda, ou seja, aumento da capacidade de absorção de energia. Há três possibilidades para o aumento da capacidade de absorção de energia que pode ser proporcionada por: (1) pela boa dispersão e adesão das MFC na matriz, tornando a transferência de tensão matriz-reforço eficaz; (2) aumento da capacidade de escoamento causada pelo aumento de espaços vazios ocasionados pelo descolamento das microfibrilas e (3) aumento da capacidade de deformação da matriz pela melhoria da adesão da fase de PCL na matriz de PLA (FU et al., 2008).

Hsieh *et al.* 2010, observaram um aumento na tenacidade compósitos híbridos de epóxi/borracha/nanosílica. Eles apontaram um efeito sinérgico da fase de borracha com as nanopartículas de sílica para explicar o aumento da tenacidade. Enquanto o processo de descolamento das nanopartículas cria espaços vazios que permitem a matriz deformar para dissipar energia, a fase de borracha, quando bem aderidas à matriz, conferem maior capacidade de deformação à matriz (HSIEH et al., 2010).

Por isso, sugere-se que haja um efeito sinérgico de reforço pela MFC juntamente com a melhor adesão da fase de PCL, que é a fase dúctil da blenda, para o aumento da sua tenacidade. Enquanto que a MFC proporciona resistência a maiores tensões, a fase de PCL bem aderida na matriz consegue escoar a energia aplicada, aumentando a capacidade de deformação da blenda. Além disso, a presença de espaços vazios aumenta a capacidade de dissipação de energia pelo escoamento da matriz.

Os resultados do ensaio de tração mostram que a tensão máxima em tração não muda com o aumento da rotação de rosca (**Figura 27 (a) e Tabela 14**).

A literatura mostra dados divergentes de autores diferentes na propriedade de tensão máxima em tração. Alguns autores observam aumento de resistência à tensão em tração com o aumento do tamanho da nanoestrutura, assim como existem autores que observaram diminuição da tensão em tração com o aumento do tamanho da nanoestrutura. Uma explicação sugerida por Fu e colaboradores, 2008 para essa contradição está na alta dependência dessa propriedade com a adesão interfacial da nanoestrutura na matriz, uma vez que essa propriedade está ligada

com a capacidade de transferência de tensão da matriz para o reforço (FU et al., 2008).

Portanto, a partir apenas da variação a rotação de rosca não foi estabelecer conclusões com relação à tensão em tração. No entanto, há relatos na literatura que mostram que a tensão máxima em tração pode aumentar com o aumento do teor de nanoestrutura no compósito (SHIN et al., 2015; ZARE, 2015). Os estudos de variação do teor de MFC na blenda PLA/PCL reforçada por MFC são abordados na próxima seção.

A partir dos resultados dos estudos de ordem de extrusão e de rotação de rosca foi determinado que a produção doravante das demais blendas PLA/PCL reforçadas com MFC seria realizada com extrusão em única etapa e com rotação de rosca em 150 rpm.

5.2.3 Variação do teor de MFC

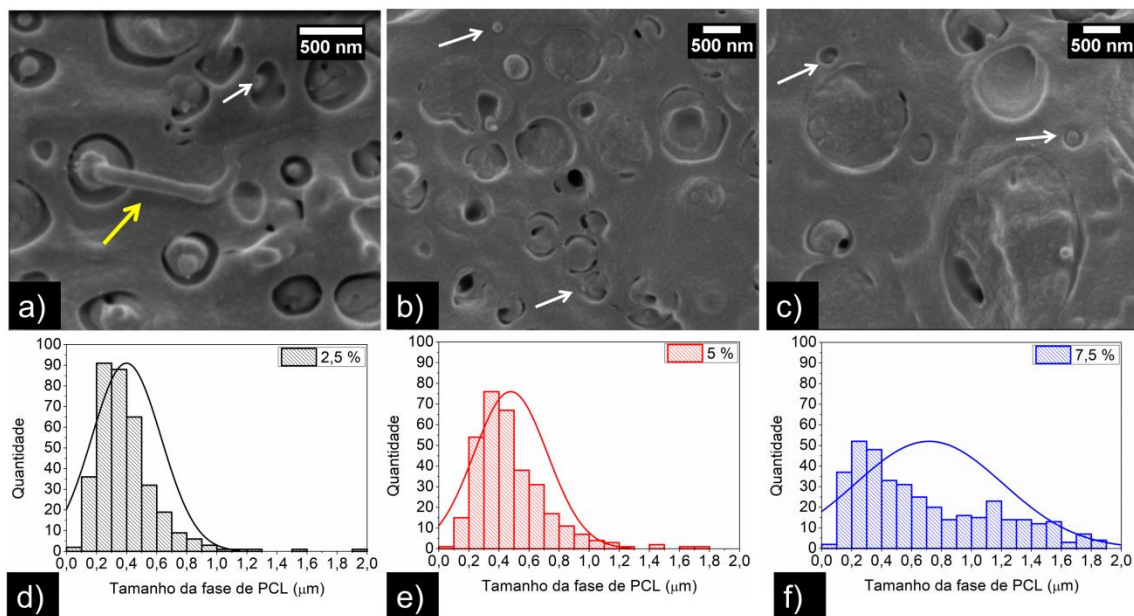
Em sistemas com boa adesão de reforço na matriz, o aumento do teor de reforço resulta em um aumento na tensão máxima em tração, desde que haja diferença significativa entre os módulos de elasticidade entre a matriz e o reforço (FU et al., 2008). Isso motivou o estudo de variação do teor em massa de MFC em 2,5, 5,0 e 7,5 % da blenda PLA/PCL/C/MFC, com o objetivo de avaliar a capacidade da mistura MFC-copolímero em promover a adesão das microfibrilas de celulose na matriz polimérica. A avaliação da adesão foi feita de forma indireta por meio da análise morfológica e de ensaios de propriedades mecânicas.

A **Figura 28** mostra as micrografias e histogramas das blendas com 2,5, 5,0 e 7,5 % em massa de MFC. É possível perceber que há uma tendência de aumento no tamanho médio das gotas de PCL que aumentam com o aumento do teor de MFC na blenda. O tamanho médio das gotas de PCL na blenda com 2,5 % de MFC foi $0,39 \mu\text{m} \pm 0,15 \mu\text{m}$, na blenda com 5 % de MFC foi de $0,47 \mu\text{m} \pm 0,18 \mu\text{m}$ e na blenda com 7,5 % de MFC foi de $0,71 \mu\text{m} \pm 0,40 \mu\text{m}$. Os histogramas na **Figura 28** mostram perfil heterogêneo de dispersão da fase de PCL na blenda com 7,5 % em massa de MFC.

Esse resultado pode ser explicado, pois para aumentar o teor de MFC é necessário aumentar o teor da mistura MFC-copolímero na blenda. Com isso, aumenta-se também o teor de copolímero na blenda. Como poder ser visto na **Figura 22 (c)**, boa parte do copolímero da mistura MFC-copolímero migra para a

interface entre a gota de PCL e a matriz de PLA. As setas brancas nas **Figura 28 (a), (b) e (c)** apontam para pequenas gotículas de aproximadamente $0,1 \mu\text{m} \pm 0,1 \mu\text{m}$, que sugerem que a poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) formou uma quarta fase na matriz polimérica. O excesso de copolímero pode ser a causa da tendência de aumento da gota de PCL apresentada neste resultado, pois em excesso o copolímero pode segregar em uma quarta fase, deixando de atuar na interface entre a PCL e o PLA. Ainda que o copolímero em excesso tenha segregado em outra fase da mistura, a média do tamanho de gotas entre as amostras com 2,5, 5,0 e 7,5 % de MFC são bem próximas se forem levadas em consideração o desvio padrão, sugerindo a contribuição das microfibrilas de celulose na estabilização das gotas da fase de PCL.

Figura 28- Micrografias e os respectivos histogramas com contagem de tamanho da fase de PCL das blends com 2,5 , 5 e 7,5 % em massa de MFC.



Fonte: Autoria própria.

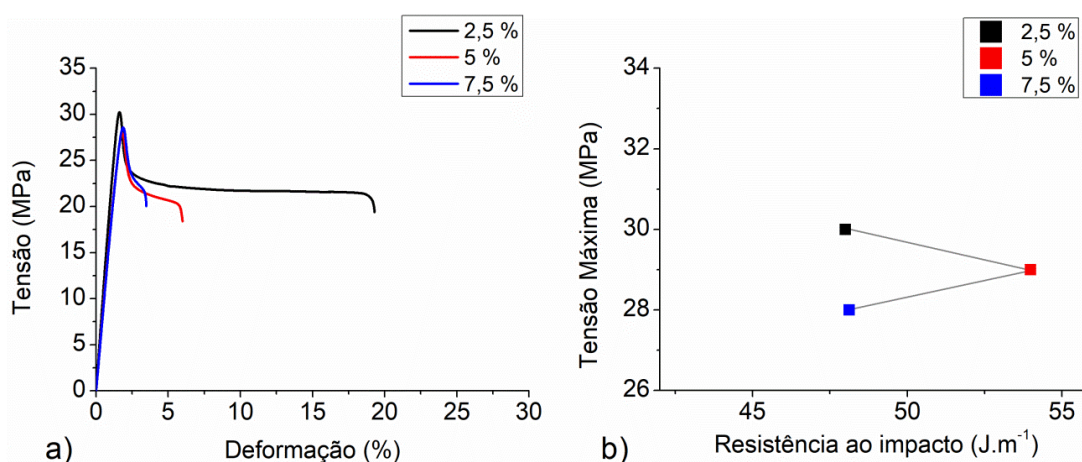
A seta amarela da **Figura 28 (a)** aponta para uma microfibrila de celulose dispersa na matriz polimérica. É possível observar que a microfibrila de celulose também pode exercer o papel de conectar as fases de PLA e PCL, uma vez que se dispersa através das fases.

A **Figura 29 (a)** mostra a curva tensão-deformação e a **Figura 29 (b)** a relação entre as propriedades mecânicas de tensão máxima em tração e a resistência ao impacto Izod das amostras com 2,5, 5,0 e 7,5 % em massa de MFC. A

Tabela 15 apresenta os dados de propriedades mecânicas de resistência à tração e de resistência ao impacto Izod sem entalhe dessas blendas.

A propriedade de deformação na ruptura diminui com o aumento do teor de MFC na blenda. Esse resultado era esperado uma vez que o aumento da concentração das microfibrilas diminui a capacidade de deformação e rearranjo das cadeias poliméricas da matriz. No entanto, juntamente o aumento do teor da MFC, observou-se o aumento do tamanho de gota de PCL e o aumento da quantidade de gotículas com $0,1 \mu\text{m}$, por isso a diminuição da capacidade de deformação da blenda também indica que parte do copolímero forma uma quarta fase dispersa na matriz polimérica.

Figura 29- Propriedades mecânicas das blendas PLA/PCL reforçadas com 2,5, 5,0 e 7,5 % em massa de MFC. (a) curva tensão-deformação em tração e (b) relação da resistência ao impacto Izod com a tensão máxima em tração.



Fonte: Autoria própria.

Tabela 15- Propriedades mecânicas em tração e de resistência ao impacto Izod das blendas PLA/PCL reforçadas com 2,5, 5,0 e 7,5 % de MFC.

Amostras	Tensão máxima (MPa)	Deformação máxima (%)	Módulo de elasticidade (GPa)	Resistência ao impacto (J.m ⁻¹)	Resistência ao impacto (kJ.m ⁻²)
2,5 %	30 ± 1	27 ± 12	2,5 ± 0,1	47 ± 3	11,8 ± 0,9
5 %	29 ± 2	5,9 ± 1,4	1,9 ± 0,1	53 ± 10	13,0 ± 2,6
7,5 %	28 ± 3	4,7 ± 2,4	1,9 ± 0,2	48 ± 6	11,5 ± 1,5

Fonte: Autoria própria.

A tensão máxima em tração permanece igual, independente da quantidade de MFC na blenda. Esse resultado sugere que a adesão das microfibrilas na matriz não é ideal. A **Figura 22 (c)** mostra que parte do copolímero da mistura MFC-copolímero interage com porções das microfibrilas. É possível que as porções que não estão

recobertas pelo copolímero não apresentem boa adesão na matriz polimérica, por isso não há aumento significativo na propriedade de resistência à tração.

Lönnberg e colaboradores, 2011 investigaram a influência do tamanho da cadeia de PCL ligada à MFC modificada com PCL, cujas cadeias possuíam diferentes tamanhos nas propriedades mecânicas em tração e impacto de compósitos PCL/MFC-PCL. Eles observaram que as cadeias longas de PCL ligadas à MFC promoviam melhor adesão das microfibrilas de celulose na matriz de PCL. Conseqüentemente, o compósito que apresentou melhor resistência à tração foi o compósito com maior teor de MFC que foram modificadas com as cadeias mais longas de PCL (LÖNNBERG et al., 2011).

O copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) é um copolímero com 2000 g.mol⁻¹. Os resultados de ressonância magnética nuclear de prótons apresentados na seção 5.1.2 mostraram que o copolímero é formado por 12 moléculas de tetrahydrofurano ligadas a 5 moléculas de ϵ -caprolactona de cada lado. Portanto é um copolímero que apresenta cadeias curtas, o que pode limitar seu potencial como agente compatibilizante da MFC na matriz polimérica.

Os resultados de resistência ao impacto Izod sem entalhe mostraram que há tendência de aumento com o aumento da concentração da MFC em até 5 % em massa de MFC. Esse resultado indica que há distribuição homogênea da MFC na matriz até 5 % de teor de MFC e contribuição das propriedades intrínsecas da MFC na resistência ao impacto da blenda. É possível que a redução dos valores de resistência ao impacto com Izod com 7,5 % em massa de MFC seja causada pela baixa adesão das microfibrilas de celulose na matriz polimérica. Outra explicação possível é que altos teores de MFC podem induzir a aglomeração das microfibrilas. Quando aglomeradas, elas podem atuar como concentradores de tensão e propagadores de trincas, fragilizando a matriz (FU et al., 2008).

O limite de percolação (Φ_p) das microfibrilas de celulose, cuja razão de aspecto é 33, foi de 2,12 %, ou seja, há percolação das microfibrilas de celulose quando as concentrações são maiores que 2,12 % em massa de MFC.

Nan e colaboradores, 2010 sugerem que as propriedades físicas de compósitos, cuja fração volumétrica do reforço tem valores próximos ao limite de percolação, dependem principalmente do controle preciso da estrutura de percolação. Além disso, eles sugerem que as propriedades físicas nesses compósitos independem dos componentes utilizados no compósito. Em outras

palavras, eles sugerem que algumas propriedades de compósitos, com quaisquer componentes, podem ser melhoradas apenas por meio da adequada dispersão do reforço e fração volumétrica do reforço próxima ao limite de percolação. No entanto, eles reconhecem o papel da adesão interfacial entre o reforço e a matriz na contribuição das propriedades físicas do material, principalmente em compósitos cuja fração volumétrica do reforço é maior que o limite de percolação (NAN; SHEN; MA, 2010).

Por isso, sugere-se que as propriedades mecânicas de deformação na ruptura e módulo de elasticidade são maiores na blenda com 2,5 % em massa de MFC, pois a fração volumétrica de MFC é muito próxima ao limite de percolação, o que favoreceu a percolação das MFC com eficiente dispersão e pouca formação de aglomerados, resultando em ganho de propriedades. O pequeno aumento da propriedade de resistência ao impacto na blenda com 5 % em massa de MFC pode ser atribuído à existência de percolação, boa dispersão e a maior contribuição das propriedades intrínsecas do reforço nas propriedades da blenda. Enquanto que o decaimento das propriedades mecânicas na blenda com 7,5 % em massa de MFC pode estar relacionado à quantidade excessiva de MFC em relação ao limite de percolação que favorece a sua aglomeração. Isso resulta em decaimento das propriedades mecânicas da blenda, uma vez que os aglomerados podem se tornar pontos de concentração de tensões e propagação de trincas, o que fragiliza a matriz (FU et al., 2008; NAN; SHEN; MA, 2010; ZARE, 2015; ZARE; RHEE, 2017).

Com o objetivo de buscar por melhoria na adesão entre a MFC e a matriz, foi produzido uma mistura MFC-copolímero na proporção 40:60 % em massa para o estudo da influência da variação do teor de copolímero na mistura MFC-copolímero na morfologia e propriedades das blendas PLA/PCL reforçadas com MFC. Para este estudo, fixou-se o teor de MFC em 2,5 % em massa por ser a fração volumétrica mais próxima do limite de percolação, o que pode favorecer o equilíbrio entre as propriedades da blenda. Os resultados deste estudo são apresentados na próxima seção.

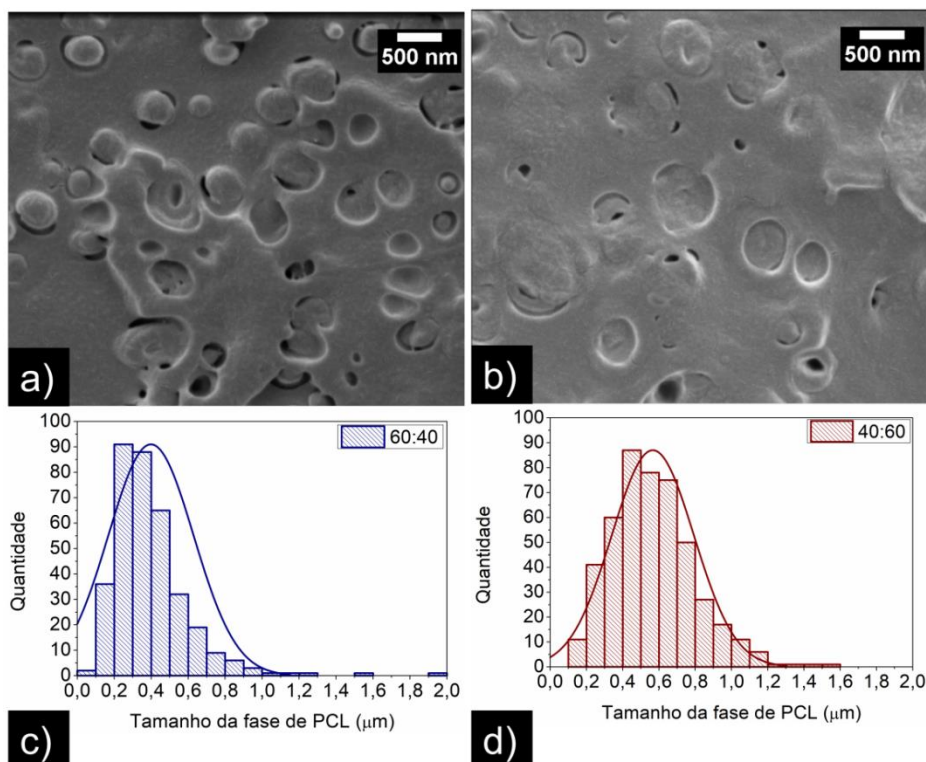
5.2.4 Variação do teor de copolímero na mistura MFC-copolímero

Uma formulação da mistura MFC-copolímero com proporção de 40:60 % em massa foi produzida, visando avaliar a influência do teor de copolímero da mistura

MFC-copolímero na morfologia e propriedades mecânicas em tração e impacto Izod das blendas PLA/PCL reforçadas com MFC.

A **Figura 30** mostra as micrografias e histogramas das blendas com MFC-copolímero 60:40 % e 40:60 %. É possível observar que a blenda com a mistura 60:40 % tem tamanho médio de gota em $0,39 \mu\text{m} \pm 0,15 \mu\text{m}$ e é menor que a blenda com a mistura 40:60 %, cujo tamanho médio de gota foi de $0,56 \mu\text{m} \pm 0,17 \mu\text{m}$. No entanto, a micrografia da blenda com mistura MFC-copolímero 40:60 % mostra gotas de PCL, cujo corte transversal se encontra no mesmo plano da matriz. As bordas das gotas se apresentam menos nítidas e em alguns casos não é possível distinguir o formato e tamanho exatos da gota, o que indica maior adesão da fase de PCL à fase de PLA. Esse resultado reforça as conclusões dos resultados anteriores que indicavam que o copolímero presente na mistura MFC-copolímero, que não recobre a MFC, ocupa a região interfacial entre a gota de PCL e a matriz de PLA.

Figura 30- Micrografias e histograma das blendas PLA/PCL reforçadas com MFC por meio da (a) e (c) mistura MFC-copolímero com proporção 60:40 % em massa e (b) e (d) da mistura MFC-copolímero com proporção 40:60 % em massa.

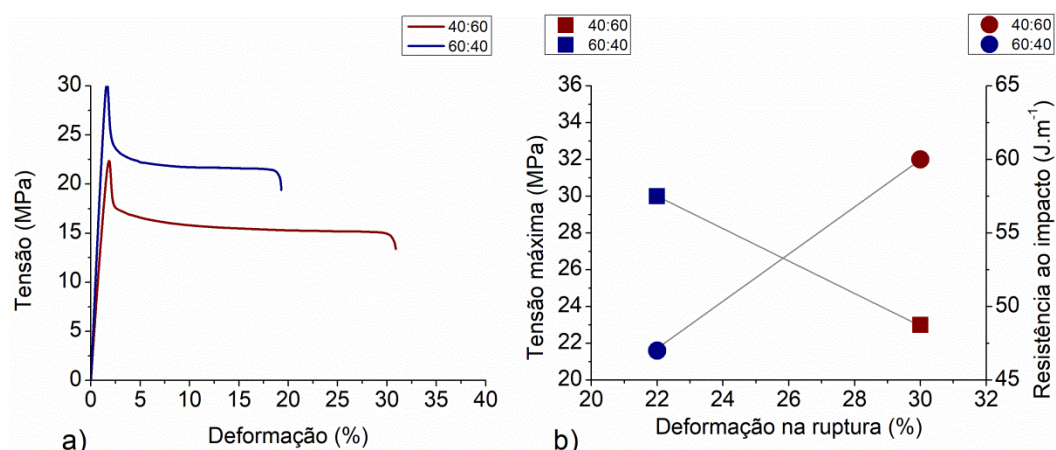


Fonte: Autoria própria.

A **Figura 31** e a **Tabela 16** mostram a comparação entre as propriedades mecânicas das blendas PLA/PCL reforçadas com MFC por meio da mistura MFC-copolímero 60:40 e 40:60 % em massa. É possível observar que a deformação na

ruptura da blenda com MFC-copolímero 40:60 % em massa foi maior do que a blenda com MFC-copolímero 60:40 % em massa, o que é condizente com as gotas de PCL mais aderidas na matriz observadas na micrografia.

Figura 31- (a) Curva tensão-deformação e (b) relação entre as propriedades de tensão e deformação em tração com resistência ao impacto Izod das blendas com a mistura MFC-copolímero 60:40 % e 40:60 % .



Fonte: Autoria própria.

Tabela 16- Propriedades mecânicas em tração e de resistência ao impacto Izod sem entalhe das blendas PLA/PCL reforçadas com a mistura MFC-copolímero nas proporções 60:40 e 40:60 % em massa.

Amostras	Tensão máxima (MPa)	Deformação máxima (%)	Módulo de elasticidade (GPa)	Resistência ao impacto ($J.m^{-1}$)	Resistência ao impacto ($kJ.m^{-2}$)
60:40	30 ± 1	22 ± 10	$2,4 \pm 0,1$	47 ± 4	$11,9 \pm 0,8$
40:60	23 ± 1	28 ± 4	$1,5 \pm 0,1$	60 ± 11	$14,1 \pm 2,4$

Fonte: Autoria própria.

A resistência ao impacto Izod também foi maior na blenda com a mistura MFC-copolímero 40:60 % em massa. Gotas mal aderidas podem ser pontos de concentração de tensão e propagação de trincas. Uma vez que as gotas se aderem melhor à matriz, as cadeias poliméricas têm maior entrelaçamento e capacidade de reorganização para a dissipação da energia até que a trinca finalmente ocorra. He e colaboradores, 2020 mostraram que microfibrilas de celulose dispersas na matriz de PLA formam uma rede que atuam formando “pontes” de sustentação que contribuem para a transferência e dissipação de energia durante o processo de deformação, o que proporciona aumento na resistência ao impacto Izod do PLA (HE et al., 2020). Portanto, sugere-se que a melhoria na dispersão das microfibrilas de celulose pode contribuir para o aumento da tenacidade da blenda medida pelo ensaio de resistência ao impacto Izod sem entalhe pela formação de uma rede de MFC. Dessa

forma, pode-se inferir que o aumento do teor de copolímero na mistura MFC-copolímero pode contribuir para a dispersão das MFC na matriz polimérica, assim como contribui para a promoção de interação entre as fases de PLA e PCL por meio do preenchimento da interface pelo copolímero.

Já a propriedade de tensão em tração foi maior na blenda com a mistura MFC-copolímero 60:40 % em massa. Esse resultado também pode ser explicado pela maior interação entre as fases de PLA e PCL que aumenta a contribuição da PCL nas propriedades mecânicas da blenda. Em trabalho anterior, a tensão máxima em tração da PCL e do PLA foram medidas em aproximadamente 16 e 49 MPa, respectivamente (DIAS; CHINELATTO, 2019). Quanto maior a interação entre as fases, maior é a colaboração da PCL para a propriedade de resistência à tração. Por isso, na blenda com MFC-copolímero 40:60 % em massa, que apresentou melhor interação entre as fases de PLA e PCL, a resistência à tração foi menor que na blenda com 60:40 % em massa.

A análise dos parâmetros de ordem de extrusão, velocidade de rotação da rosca, teor de MFC e teor de copolímero na mistura MFC-copolímero permitiu determinar as condições para a produção de blendas PLA/PCL reforçadas com MFC que apresentaram melhores resultados em análises morfológicas e de propriedades mecânicas. Baseados nesses resultados, foram produzidas amostras de PLA puro, PCL puro, PLA/MFC, PCL/MFC, blendas PLA/PCL, PLA/PCL/copolímero, PLA/PCL/MFC e PLA/PCL/MFC/copolímero para avaliar o efeito das microfibrilas de celulose inseridas na matriz polimérica por meio da mistura MFC-copolímero na morfologia e propriedades mecânicas do PLA, da PCL e das blendas PLA/PCL. Os resultados dessa etapa são apresentados na seção **5.3**.

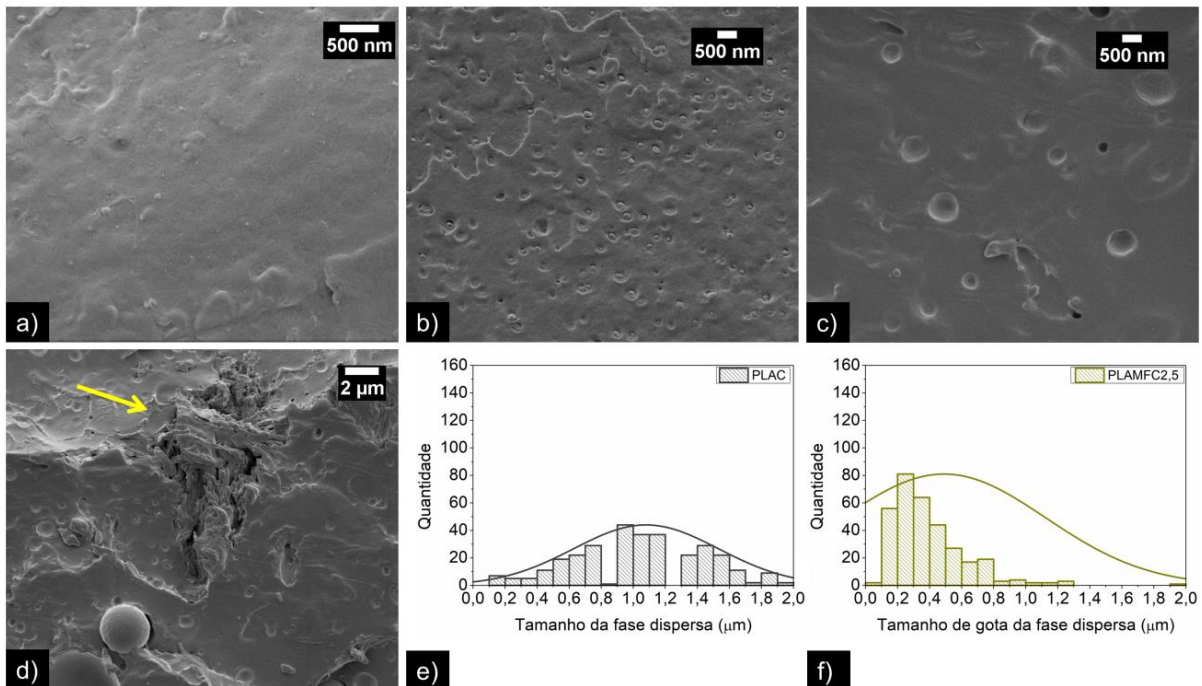
5.3 ETAPA 3 – MORFOLOGIA E PROPRIEDADES DE PLA, PCL E BLENDA PLA/PCL REFORÇADAS COM MFC

A partir das análises da seção 5.2, foi estabelecido que as melhores condições de processamento eram com extrusão em única etapa e velocidade de rotação de rosca de 150 rpm. Foi observado também que as blendas com 2,5 % em massa de MFC, incorporadas a partir da mistura MFC-copolímero 40:60 % em massa, apresentaram deformação na ruptura em torno de 30 %, tensão máxima em tração de 23 MPa e resistência ao impacto Izod sem entalhe de 60 J.m⁻¹. Baseado nesses dados, foram produzidos PLA e PCL puros, PLA/MFC, PCL/ MFC, blendas PLA/PCL, PLA/PCL compatibilizadas com o copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) e blendas compatibilizadas e não compatibilizadas reforçadas com MFC a partir da mistura de MFC-copolímero 40:60 %. O objetivo principal desta etapa é avaliar a influência da MFC inserida na matriz polimérica por meio da mistura MFC-copolímero na morfologia e propriedades mecânicas em tração e impacto Izod dessas amostras.

As micrografias na **Figura 32** mostram morfologia das superfícies de fratura do PLA, da PLA/poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano), e da PLA/MFC com 2,5 % de MFC. As amostras PLA/poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) e da PLA/MFC com 2,5 % de MFC serão referidas doravante como PLA/C e PLAMFC2,5. As **Figura 32 (e) e (f)** mostram os histogramas da fase dispersa de PLAC e PLAMFC2,5.

O PLA tem morfologia lisa e apresenta fratura frágil. A mistura PLAC mostra que a fase de copolímero é pouco solúvel em PLA, onde é observada clara separação entre a fase dispersa de poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) e a matriz de PLA. A fase de poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) na blenda PLAC apresenta tamanho médio de gota de 1,07 $\mu\text{m} \pm 0,35 \mu\text{m}$. Na mistura PLAMFC2,5 também é possível observar separação entre as fases, com gotas de poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) com tamanho médio de 0,49 $\mu\text{m} \pm 0,29 \mu\text{m}$ dispersas na matriz de PLA. A diminuição do tamanho da fase de poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) entre as amostras PLAC e PLAMFC2,5 esta relacionada ao processo de extrusão que foi efetuado em uma extrusora rosca simples na PLAC e em uma extrusora dupla-rosca na PLAMFC2,5. A amostra PLAC foi produzida apenas para a compreensão do comportamento do copolímero na matriz de PLA.

Figura 32- Micrografias e histogramas de (a) PLA; (b) e (e) PLAC; (c), (d) e (f) PLAMFC2,5.



Fonte: Autoria própria.

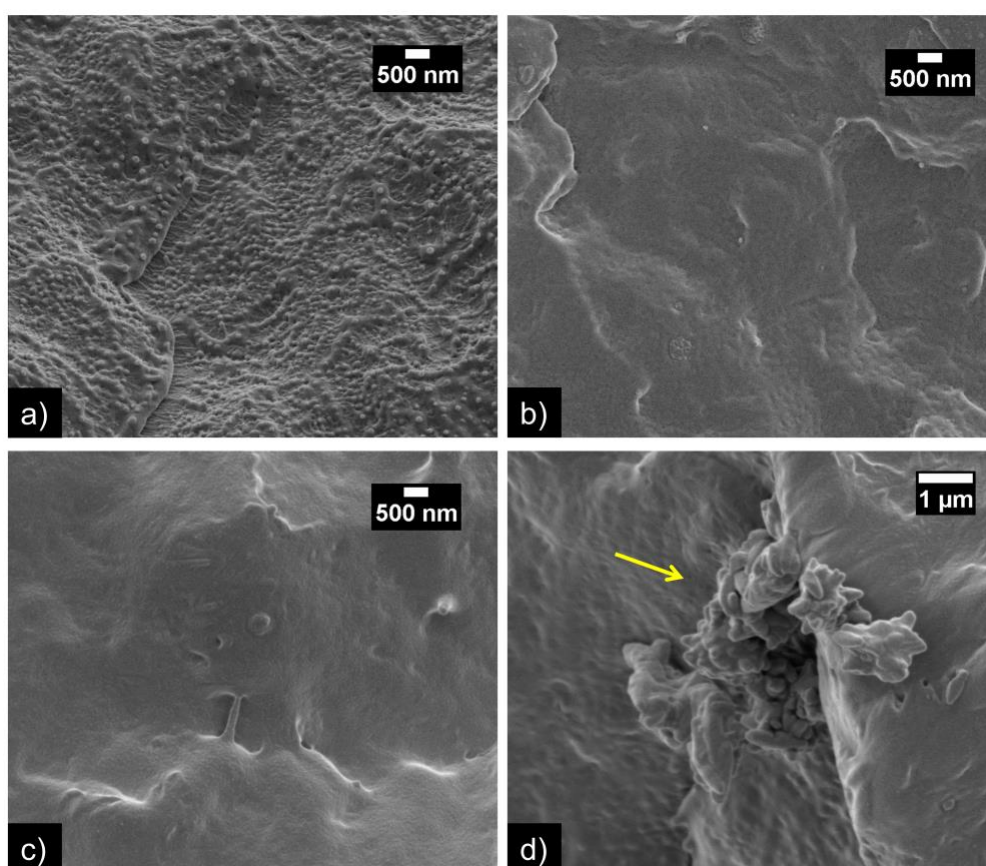
É possível observar também na **Figura 32 (d)** pequeno aglomerado com 7,4 μm de largura e 12,2 μm de comprimento de *bundles* de MFC na matriz de PLA. Durante o procedimento de microscopia eletrônica de varredura foram procuradas especificamente por estruturas de aglomerados de MFC em todas as amostras de blendas reforçadas com MFC. Nesta amostra, esse foi o único aglomerado identificado, o que sugere a incorporação da MFC por meio da mistura MFC-copolímero é um bom mecanismo de dispersão de MFC na matriz de PLA.

As micrografias na **Figura 33** mostram a superfície de fratura da PCL, da mistura PCL/poli(ε-caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) e da mistura PCL/MFC com 2,5 % em massa de MFC. As amostras PCL/poli(ε-caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) e PCL/MFC com 2,5 % em massa de MFC serão referidas doravante como PCLC e PCLMFC2,5, respectivamente. A amostra PCLC foi produzida com o intuito de avaliar o comportamento do copolímero na matriz de PCL.

A **Figura 33 (a)** mostra que a PCL possui uma morfologia bastante rugosa. Quando a poli(ε-caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) é misturada na PCL, a morfologia da PCL muda bastante, ficando mais lisa. É possível perceber também que a amostra PCLC é uma mistura sem separação clara entre as fases (**Figura 33 (b)**). As **Figura 33 (c)** e **(d)** mostram a mistura PCLMFC2,5 que possui morfologia muito

parecida com a da mistura PCLC. No entanto, um pequeno aglomerado de *bundles* de MFC com 3,8 μm de comprimento e 2,5 μm de largura pode ser observado na **Figura 33 (d)**. Nessa amostra ainda foram encontrados mais dois pequenos aglomerados de *bundles* de MFC com 1,4 μm comprimento e 0,9 μm de comprimento. A morfologia do aglomerado se apresenta diferente em relação às amostras de PLA. Os aglomerados se apresentam recobertos por PCL, dificultando a visualização dos *bundles* de MFC.

Figura 33- Micrografias da superfície de fratura da (a) PCL; (b) blenda PCL/poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano); (c) e (d) PCL/MFC.



Fonte: Autoria própria.

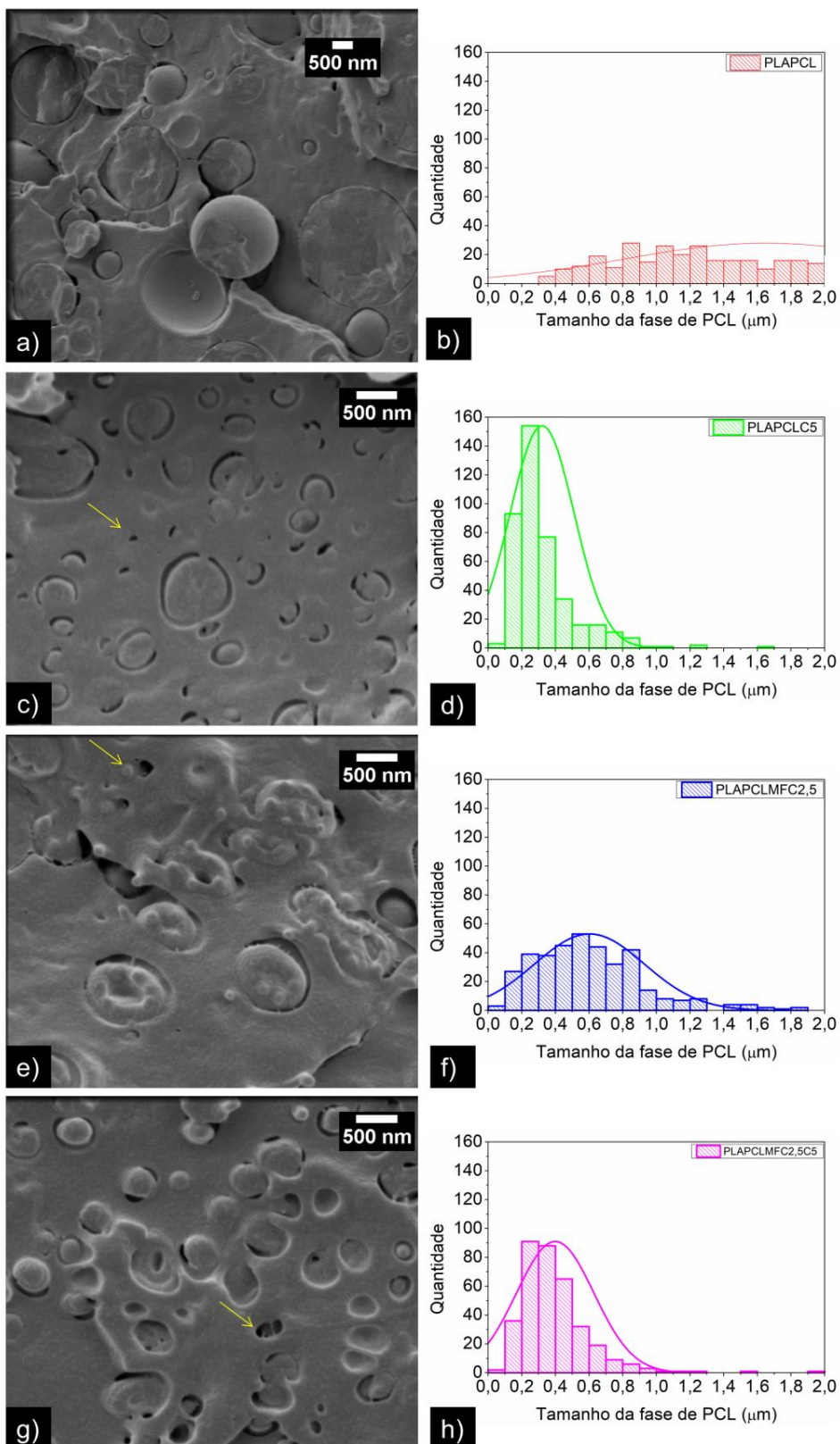
As micrografias e histogramas da **Figura 34** mostram as blendas compatibilizadas e não compatibilizadas PLA/PCL e PLA/PCL/MFC. A blenda não compatibilizada, a compatibilizada com 5 % em massa de poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano), a reforçada por 2,5 % em massa de MFC e a blenda compatibilizada com 5 % em massa de copolímero reforçada com 2,5 % em massa de MFC são chamadas doravante de PLAPCL, PLAPCLC5, PLAPCLMFC2,5 e PLAPCLMFC2,5C5, respectivamente.

A blenda PLAPCL é uma blenda imiscível em que se pode observar a clara separação de fases com as gotas de PCL de tamanho médio $1,65 \mu\text{m} \pm 0,68 \mu\text{m}$ dispersas na matriz de PLA (**Figura 34(a)**). As gotas de PCL são bastante heterogêneas em forma e tamanho, conforme visto no histograma na **Figura 34 (b)**. Elas se mostram pouco aderidas na matriz de PLA de forma que há gotas totalmente destacadas e fora do plano de fratura da matriz. Isso demonstra a baixa adesão entre as fases, o que justifica a necessidade se promover a diminuição da tensão interfacial para, conseqüentemente, aumentar a adesão (TODO; TAKAYAM, 2011; XIANG et al., 2019).

A morfologia da blenda PLAPCLC5 mostra gotas de PCL com bordas menos definidas, cuja fratura ocorreu no mesmo plano da matriz, como visto nas **Figura 34 (c) e (d)**. Esse resultado se mostra de acordo com os resultados observados em um trabalho anterior em que blendas PLA/PCL foram compatibilizadas com o copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) e apresentaram melhora na adesão entre a fase de PLA e PCL (DIAS; CHINELATTO, 2019). No entanto, a extrusão em uma extrusora dupla rosca contribuiu para diminuir o tamanho da gota de PCL, que chega no tamanho médio de $0,32 \mu\text{m} \pm 0,13 \mu\text{m}$ em comparação com $1,13 \mu\text{m} \pm 0,66$ da blendas extrudada em extrusora com rosca simples (DIAS, 2016). É importante ressaltar que a partir da compatibilização da blenda ocorreu o aparecimento de espaços vazios, indicado pelas setas em amarelo, também chamados de cavitações na matriz. Esse é um mecanismo conhecido de aumento de resistência mecânica do material polimérico, que possibilita o escoamento da tensão por meio das cavitações (BUCKNALL, 2001; DÍAZ; BARBOSA; CAPIATI, 2007).

A blenda PLAPCLMFC2,5 nas **Figura 34 (e) e (f)** apresenta tamanho médio da gota de PCL de $0,60 \mu\text{m} \pm 0,25 \mu\text{m}$, com gotas que apresentam bordas menos definidas, que sugerem melhor adesão à matriz, quando comparada com a blenda PLAPCL. É possível que o efeito *Pickering*, que se dá pela capacidade de estabilização da gota de PCL pela MFC, seja responsável pela diminuição do tamanho da gota de PCL nessa blenda (ANDRESEN; STENIUS, 2007). No entanto, outra possibilidade é que parte do copolímero, que não está recobrando as MFC na mistura MFC-copolímero, migre para a região interfacial, contribuindo para a diminuição do tamanho da gota de PCL.

Figura 34- Micrografias e histogramas do tamanho da fase de PCL das blends (a) e (b) PLAPCL; (c) e (d) PLAPCLC; (e) e (f) PLAPCLMFC2,5; (g) e (h) PLAPCLMFC2,5C5.



Fonte: Autoria própria.

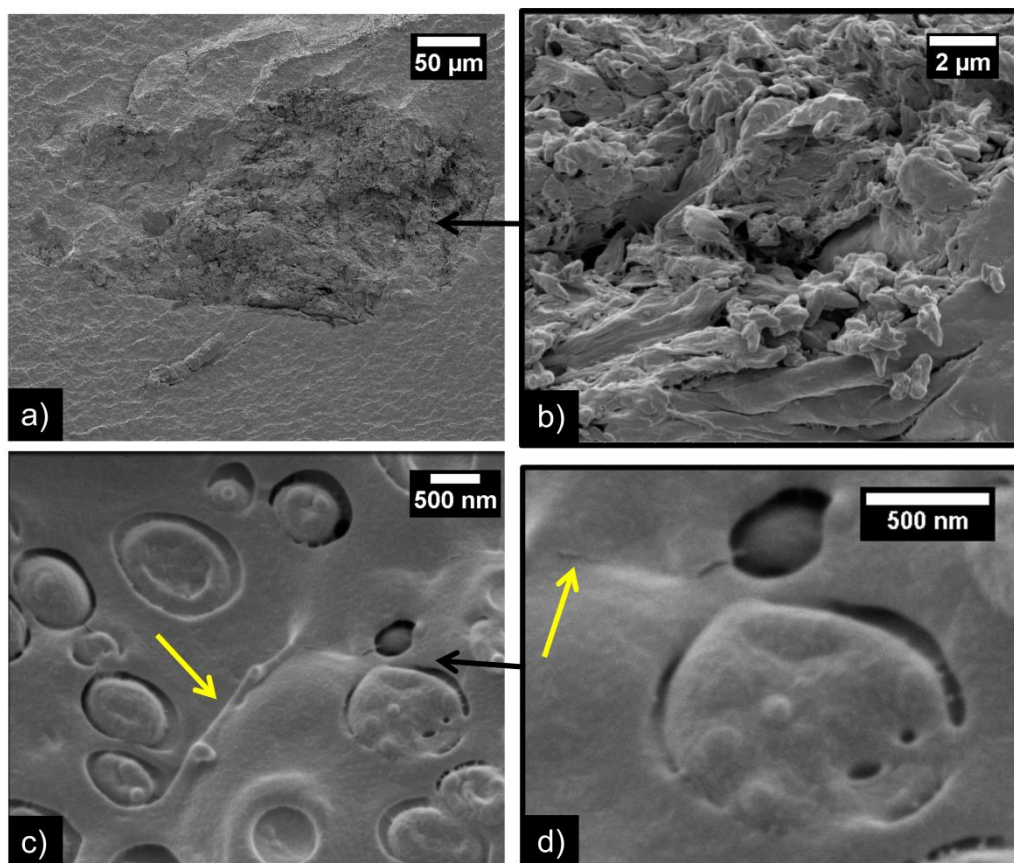
Há diminuição do tamanho médio de gota de PCL na blenda PLAPCLMFC2,5C5 para $0,39 \mu\text{m} \pm 0,15 \mu\text{m}$. Isso mostra que a diminuição do tamanho da gota de PCL é dependente do teor de copolímero da mistura. O histograma na **Figura 34 (h)** mostra que a distribuição normal das gotas de PCL da amostra PLAPCLMFC2,5C5 é diferente da distribuição normal das gotas de PCL da amostra PLAPCLC5, apesar de as médias serem bastante próximas. Isso indica que o mecanismo de diminuição de tamanho de gota entre essas amostras é diferente. É possível que haja um efeito sinérgico entre a MFC e o copolímero, em que o copolímero age diminuindo a tensão interfacial e melhorando adesão entre as fases, enquanto que a MFC promove a estabilização da gota de PCL e o aprisionamento das cadeias poliméricas, contribuindo para evitar a coalescência das gotas por ser um barreira física entre elas (FU et al., 2008; SHIN et al., 2015).

Como discutido na seção **5.2.3**, o aumento de gotículas com tamanho entre 0,0 e 0,2 μm na blenda PLAPCLMFC2,5C5 pode estar correlacionada com a segregação do copolímero em uma outra fase. Em excesso, o copolímero pode esgotar a interface da gota de PCL com a matriz de PLA e formar uma quarta fase na blenda, que se apresenta com gotas de copolímero dispersas na matriz. Como essas gotas tem morfologia muito parecidas com as gotas de PCL, foram contadas no histograma como gotas de PCL devido à impossibilidade de se diferenciar por MEV as fases de PCL e de poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano).

Alguns detalhes da morfologia da blenda PLAPCLMFC2,5 e PLAPCLMFC2,5C5 são mostrados nas micrografias das **Figura 35** e **Figura 36**, respectivamente. Na **Figura 35 (a)** é possível observar um grande aglomerado de MFC. Acredita-se que esse aglomerado não seja fruto do processamento, mas sim resultante do processo de produção da mistura MFC-copolímero, devido à baixa frequência de aparecimento de aglomerados desse tamanho, que foi medido em 287 μm de largura e 181 μm de comprimento nas demais blendas. Além disso, foi possível observar a formação de alguns grânulos rígidos de aglomerados de MFC após o processo completo de secagem da MFC-copolímero, por isso o material foi peneirado. Porém, aglomerados menores de 2 mm podem ter sido criados e não eliminados pelo processo de separação, nem retidos durante o processamento na extrusora. Isso evidencia que o processo de produção da mistura MFC-copolímero de ser melhorado, principalmente se for adicionada uma etapa inicial de dissolução

da polpa em água e sonicação da suspensão para aumentar a eficiência de recobrimento da MFC pelo copolímero.

Figura 35- Micrografias da blenda PLAPCLMFC2,5. (a) e (b) aglomerado de MFC; (c) deformação polimérica orientada por microfibrila de celulose; (d) nanofibrila de celulose dispersa na matriz.



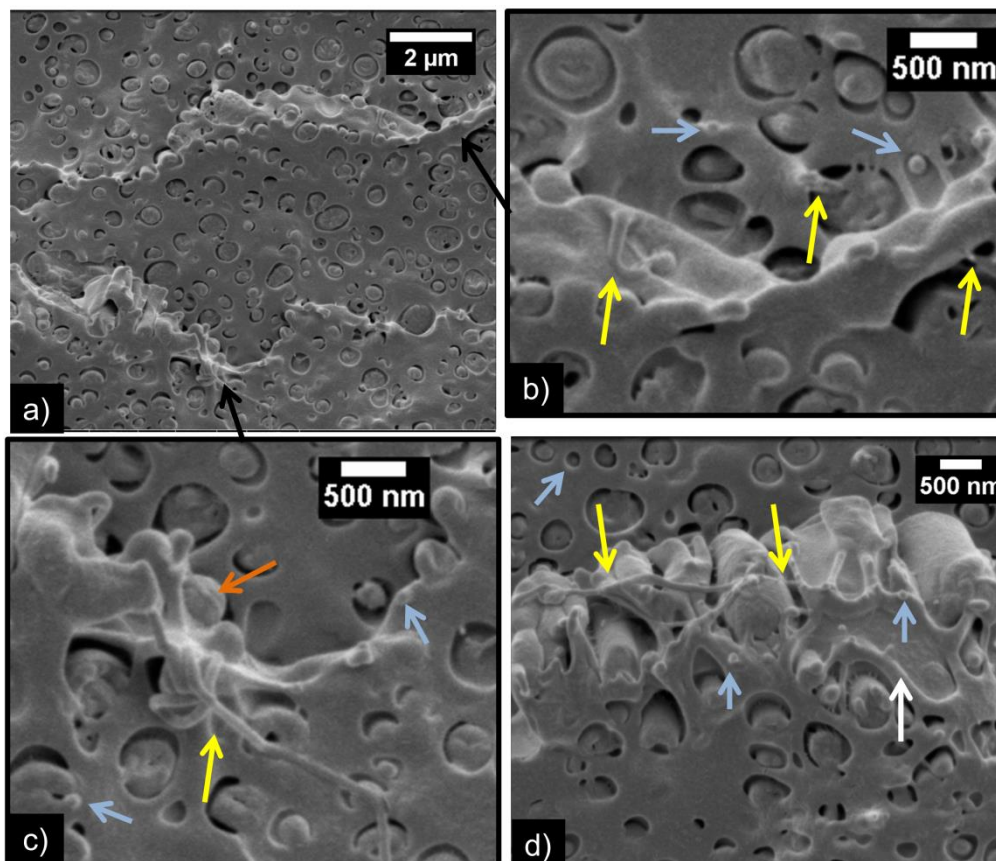
Fonte: Autoria própria.

A **Figura 35 (b)** é uma micrografia de maior aumento da região do aglomerado da **Figura 35 (a)**. É possível perceber que há grande adesão entre *bundles* de MFC, tornando muito difícil identificar microfibrilas de celulose unitárias. Já as setas nas micrografias das **Figura 35 (c) e (d)** mostram uma microfibrila e uma nanofibrila de celulose, respectivamente. Devido à falta de contraste entre as microfibrilas de celulose e matriz polimérica é difícil obter muitas imagens que mostrem claramente as micro e nanofibrilas dispersas na matriz. No entanto, essas micrografias comprovam que o método de inserção de MFC em matrizes poliméricas por meio da extrusão conjunta da mistura MFC-copolímero com PLA e PCL tem potencial para promover a dispersão das microfibrilas de celulose em matrizes poliméricas.

Não foi possível identificar grandes aglomerados na amostra PLAPCLMFC2,5C5. O que sugere que o aparecimento de grandes aglomerados pode estar menos relacionado com o processo de extrusão e mais relacionado com a presença de aglomerados provenientes do processo de produção da mistura MFC-copolímero. Ainda assim, a ausência de aglomerados na amostra PLAPCLMFC2,5C5 é um sinal de que a concentração de aglomerados é baixa e que o processo de dispersão de MFC por meio da mistura MFC-copolímero é eficiente.

As micrografias na **Figura 36** mostram algumas regiões da blenda PLAPCLMFC2,5C5 que evidenciam microfibrilas de celulose dispersas na matriz polimérica e ajudam a esclarecer de que forma elas estão dispersas dentro da matriz.

Figura 36- Micrografias da amostra PLA/PCL/MFC2,5C5. (b) e (c) são micrografias de maior aumento da micrografia (a) e (d) rede de microfibrilas de celulose.



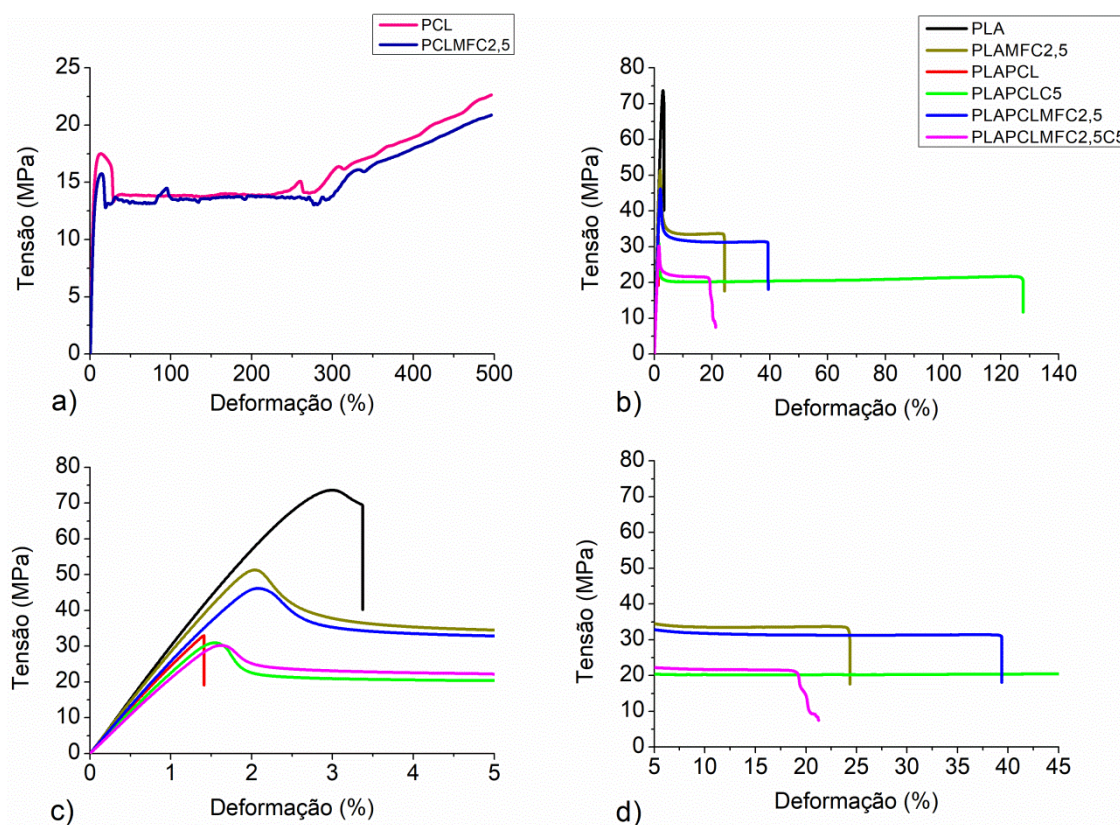
Fonte: Autoria própria.

As **Figura 36 (b) e (c)** são micrografias de maior aumento da **Figura 36 (a)**. Nelas, as setas amarelas apontam para microfibrilas dispersas na matriz. A seta laranja na **Figura 36 (c)** mostra uma gota de PCL envolvida por uma microfibrila de

celulose, o que sugere que as gotas de PCL podem ser limitadas por redes de MFC que atuam estabilizando o tamanho da fase de PCL. As setas amarelas na **Figura 36 (d)** apontam para uma rede de microfibrilas de celulose que se entrelaçam entre a fase de PCL e a fase de PLA. A seta branca na **Figura 36 (d)** aponta para uma área de deformação da fase de PCL delimitada por uma rede de MFC. Essas imagens fortalecem a teoria de que a MFC forma uma rede e atua na blenda PLA/PCL como estabilizador da fase dispersa como sugerido no mecanismo *Pickering* (AAEN et al., 2019; COSTA et al., 2019; TRACHE et al., 2020). As setas azuis apontam para gotículas com padrão diferente das demais, que podem ser gotículas de poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) que segregaram formando uma quarta fase dispersa na matriz.

As propriedades mecânicas em tração dos materiais puros e blendas são apresentados na **Figura 37** e as propriedades em tração e impacto Izod sem entalhe são compilados na **Tabela 17**.

Figura 37- Curvas tensão-deformação de (a) da PCL e PCLMFC2,5 e (b) do PLA, PLAPCL, PLAMFC2,5, PCLMFC2,5, PLAPCLMFC2,5 e PLAPCLMFC2,5C5; (c) curva tensão-deformação na região de 0 a 5 % de deformação; (d) curva tensão-deformação na região de 5 a 45 % de deformação.



Fonte: Autoria própria.

Tabela 17- Propriedades mecânicas em tração e de resistência ao impacto Izod sem entalhe dos materiais puro, blendas PLA/PCL e misturas baseadas em PLA, PCL e MFC.

Amostras	Tensão máxima (MPa)	Deformação máxima (%)	Módulo de elasticidade (GPa)	Resistência ao impacto ($J.m^{-1}$)	Resistência ao impacto ($kJ.m^{-2}$)
PLA	73 ± 0,4	3,3 ± 0,1	3,1 ± 0,1	55 ± 2	14,0 ± 0,6
PLAMFC2,5	50 ± 0,5	22,9 ± 2,5	2,9 ± 0,06	78 ± 23	18,8 ± 5,6
PCL	27 ± 3,5	≥ 500	0,1 ± 0,1	159 ± 27	37,9 ± 6,8
PCLMFC2,5	20 ± 1,9	≥ 500	0,06 ± 0,01	183 ± 11	43,6 ± 2,4
PLAPCL	33 ± 0,1	1,3 ± 0,1	2,6 ± 0,1	15 ± 4	4,8 ± 1,3
PLAPCLC5	33 ± 3,9	183 ± 80,0	2,4 ± 0,01	57 ± 8	14,5 ± 2,2
PLAPCLMFC2,5	46 ± 0,2	42 ± 4,0	2,6 ± 0,06	57 ± 4	14,2 ± 1,1
PLAPCLMFC2,5C5	30 ± 1,3	27 ± 12	2,0 ± 0,1	47 ± 3	11,8 ± 0,9

Fonte: Autoria própria.

A PCL apresenta um comportamento mecânico em tração de um polímero bastante dúctil que se assemelha ao comportamento de borrachas. Ele apresenta baixa resistência à tensão de tração, porém alta capacidade de deformação antes da ruptura. Nos ensaios de tração dos corpos de prova de PCL e da mistura PCLMFC2,5 a deformação atingida foi maior do que a capacidade do equipamento para as condições adotadas. Por essa razão, os dados de deformação da PCL e da mistura PCLMFC2,5 são apresentados como maiores que 500 %. Entre essas amostras, é possível perceber que a PCLMFC2,5 possui menor tensão máxima em tração e maior resistência ao impacto Izod que a PCL pura. Esses resultados indicam um efeito plastificante da mistura MFC-copolímero na PCL. Esse efeito plastificante pode ser ocasionado por uma possível interferência do MFC-copolímero na cristalização da PCL. É possível que o MFC-copolímero atue como agente de nucleação, potencializando a nucleação de cristalitos. Assim como, também é possível que ele atue como barreira delimitando o crescimento do cristalito (NING et al., 2012).

Esse mesmo efeito plastificante é observado na PLAMFC2,5. O PLA tem um comportamento frágil com alta resistência à tensão de tração em 73 MPa, porém com baixa deformação em torno de 3 % e resistência ao impacto em 55 $J.m^{-1}$. Enquanto que a mistura PLAMFC2,5 apresenta menor resistência à tensão de tração com valor médio de 50 MPa e maiores deformação na ruptura e resistência ao impacto, cujos valores ficam 22 % e 78 $J.m^{-1}$, respectivamente.

A blenda PLAPCL é uma blenda imiscível, portanto apresenta pouca interação entre as fases que é evidenciada pela maior média de tamanho da gota de

PCL (1,6 μm) e maior afastamento entre as gotas e a matriz, em relação às outras amostras. Isso refletiu em um comportamento mecânico de um material frágil com baixa deformação na ruptura (1 %), baixa resistência ao impacto (15 $\text{J}\cdot\text{m}^{-1}$) e baixa tensão máxima em tração (33 MPa) em relação às demais blendas.

Assim como reportado em um trabalho anterior, houve diminuição do tamanho das gotas de PCL e aumento na deformação na ruptura da blenda PLA/PCL com o acréscimo de 5 % em massa do copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) (DIAS, 2016; DIAS; CHINELATTO, 2019). O copolímero promoveu redução no tamanho das gotas de PCL para 0,3 μm , assim como as micrografias evidenciaram melhor adesão das gotas na matriz de forma que não é possível distinguir diferença entre a matriz e a fase dispersa em partes das gotas (**Figura 34 (c)**). Há também a presença de cavitações na matriz. Todos esses mecanismos foram responsáveis por um aumento considerável na deformação na ruptura da blenda compatibilizada de 1 % para 183 % e aumento na resistência ao impacto de 15 para 57 $\text{J}\cdot\text{m}^{-1}$. Porém a resistência à tensão em tração permaneceu em 33 MPa. Em relação ao trabalho anterior, a deformação na ruptura neste trabalho foi maior que a reportada no trabalho anterior (85 %), assim como a resistência ao impacto foi de 3 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ e neste foi de 14 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$. Isso se deve ao maior cisalhamento e capacidade de mistura da extrusora dupla-rosca utilizada para a produção das blendas no presente estudo (HYVÄRINEN; JABEEN; KÄRKI, 2020).

A blenda PLAPCLMFC2,5 também apresentou mudança de comportamento mecânico em relação à blenda não compatibilizada. A PLAPCLMFC2,5 teve maior deformação na ruptura com 42 %, maior resistência ao impacto com 57 $\text{J}\cdot\text{m}^{-1}$ e aumento na tensão máxima em tração para 46 MPa. Em relação à blenda compatibilizada, nota-se que há manutenção da resistência ao impacto em 57 $\text{J}\cdot\text{m}^{-1}$ em ambas, aumento na tensão máxima em tração de 33 MPa para 46 MPa e diminuição na deformação na ruptura de 183 % da PLAPCLC5 para 42 % na PLAPCLMFC2,5.

É possível que a rede de MFC limite a capacidade de deformação da fase de PCL, o que reduz a capacidade de deformação da PLAPCLMFC2,5 em relação à PLAPCLC5. No entanto, observa-se que na PLAPCLMFC2,5, a matriz é capaz de transferir tensão para a MFC e que esse mecanismo proporciona aumento na resistência à tensão em tração da blenda PLAPCLMFC2,5 em relação às blendas compatibilizada e não compatibilizada.

Em sistemas em que há boa distribuição das microfibrilas de celulose, são reportadas propriedades mecânicas com valores intermediários com relação à matriz pura e ao reforço puro (MONDAL, 2018). A blenda PLAPCLMFC2,5 apresenta valores intermediários de resistência à tensão em tração e deformação na ruptura entre a blenda compatibilizada e a microfibrilas de celulose, o que sugere que há boa dispersão das microfibrilas de celulose na matriz polimérica. Portanto, conclui-se que a mistura MFC-copolímero é uma metodologia eficaz de dispersão de MFC na blenda PLA/PCL e tem potencial para ser eficaz na dispersão da MFC em outras matrizes poliméricas. O aumento da tensão máxima em tração, em relação às blendas, sugere ainda que o recobrimento das microfibrilas de celulose pelo copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahidrofurano) garante que há alguma adesão entre as microfibrilas de celulose e a matriz polimérica. A adesão das microfibrilas de celulose na matriz é responsável pela transferência de esforço da matriz para o reforço, resultando no aumento da tensão máxima em tração.

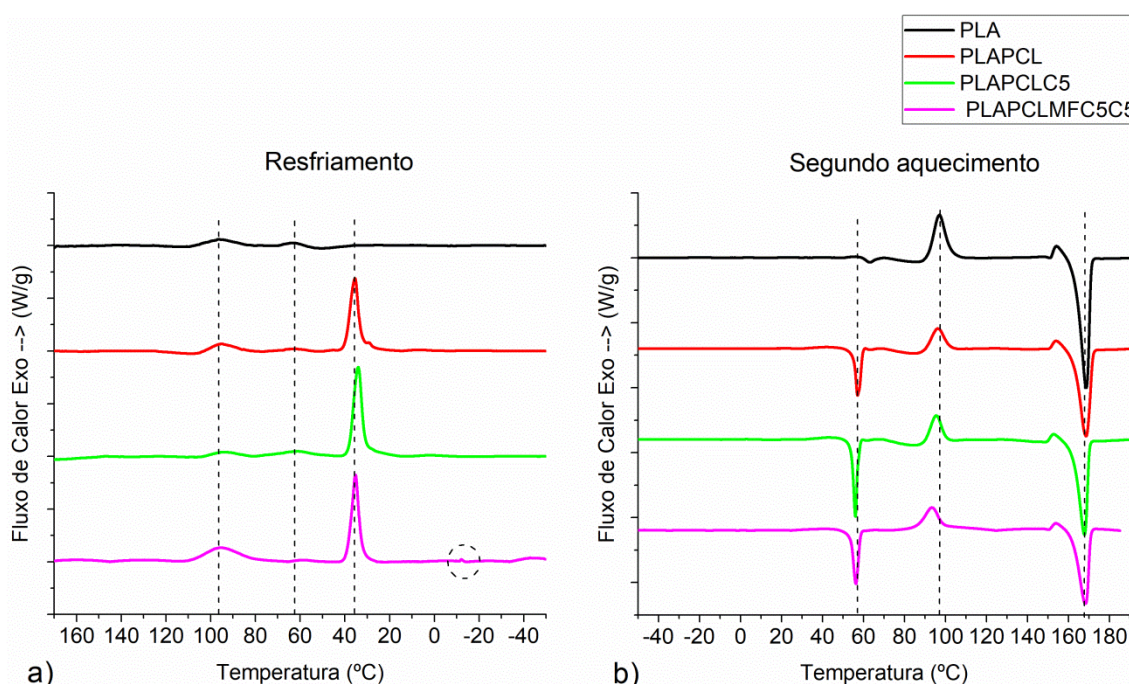
As propriedades mecânicas da blenda PLAPCLMFC2,5C5 mostram aumento na deformação na ruptura e na resistência ao impacto em relação à blenda não compatibilizada. No entanto, apresentam diminuição nessas propriedades em relação à blenda compatibilizada e a blenda PLAPCLMFC2,5 (**Tabela 17**). Esses resultados, juntamente com o aumento das gotículas entre 50 nm e 300 nm, indicam que o aumento do teor de copolímero faz com que ele se segregue na matriz, formando uma outra fase. Dessa forma, há menor efeito de compatibilização entre as fases e provavelmente, maior efeito plastificante do copolímero no PLA e na PCL (DIAS, 2016).

O efeito plastificante do copolímero no PLA e na PCL permite maior deformação da matriz em comparação com a blenda não compatibilizada, porém a ausência do copolímero na interface entre o PLA e a PCL limita a interação entre as fases. Assim, a fase de PCL se torna pontos de concentração de tensão, fragilizando a matriz, o que justifica a menor capacidade de resistência à tensão em tração. A menor deformação na ruptura está relacionada com a menor capacidade de deformação da matriz ocasionada pela baixa interação do PLA com a fase de PCL, que na blenda compatibilizada é a fase responsável pela capacidade de deformação (FORTELYNY et al., 2019).

Diante das suspeitas de que o copolímero forma uma quarta fase na blenda PLAPCLMFC2,5C5 foram realizados testes de DSC nas amostras de PLA, PLAPCL,

PLAPCLC5 e PLAPCLMFC5C5. Também foi analisada a influência da MFC no comportamento térmico dessas blendas. Como as temperaturas de fusão da PCL e do copolímero são muito próximas, a possível segregação do copolímero em uma quarta fase será analisada pela curva de resfriamento, por meio das temperaturas e entalpias de cristalização. As curvas de resfriamento e do segundo aquecimento são mostradas na **Figura 38** e os valores das transições térmicas, entalpias (ΔH) e o percentual de cristalinidade (%C) das amostras são apresentados na **Tabela 18**. O percentual de cristalinidade foi calculado levando em consideração a fração do polímero na mistura de acordo com a **Equação 16**. Os ensaios de DSC foram realizados na faixa de temperatura -70 °C a 190 °C para que se pudesse calcular temperatura de transição vítrea da PCL em torno de -60 °C, porém os gráficos apresentados aqui mostram as curvas DSC apenas na faixa de -50 a 190 °C.

Figura 38- Curvas de DSC (a) do resfriamento e (b) do segundo aquecimento do PLA, PLAPCL, PLAPCLC5 e PLAPCLMFC5C5.



Fonte: Autoria própria.

A curva de DSC do resfriamento do PLA (**Figura 38 (a)**) mostra um pico exotérmico de cristalização em 96 °C seguido de um deslocamento da linha base entre 83 e 54 °C que é referente à temperatura de transição vítrea (T_g) do PLA calculada no resfriamento em 59 °C. A curva do segundo aquecimento (**Figura 38 (b)**) do PLA mostra o deslocamento de linha base em entre 51 e 66 °C com temperatura de transição térmica calculada em 60 °C. Como a temperatura de transição vítrea do

PLA coincide com a temperatura de fusão (T_m) da PCL nas blendas, adotou-se como padrão o cálculo da T_g do PLA durante o resfriamento. O PLA mostra um pico exotérmico de cristalização a frio em 96 °C e outro em 153 °C logo antes da fusão, relativo à fase α de recristalização do PLA (GARLOTTA, 2019; SAEIDLOU et al., 2012). Em 168 °C ocorre o pico endotérmico referente à fusão do PLA.

Tabela 18- Valores de temperatura de transição vítrea (T_g), temperatura de cristalização (T_c), temperatura de fusão (T_m) e entalpias de cristalização (ΔH_c), de cristalização à frio (ΔH_{cc}) e de fusão (ΔH_m) do PLA, PLAPCL, PLAPCLC5 e PLAPCLMFC5C5.

Amostras	Resfriamento						Segundo aquecimento								
	PLA			PCL			PCL			PLA					
	T_g °C	T_c °C	ΔH_c J.g ⁻¹	T_g °C	T_c °C	ΔH_c J.g ⁻¹	T_m °C	ΔH_m J.g ⁻¹	% C	T_{cc} °C	ΔH_{cc} J.g ⁻¹	T_m °C	ΔH_m J.g ⁻¹	%C	
PLA	59	96	2	-	-	-	-	-	-	96	20	168	43	24	
PLAPCL	62	95	3	-58	35	10	57	9	33	96	13	168	36	30	
PLAPCLC5	59	94	0,7	-57	34	12	56	11	42	95	12	167	29	23	
PLAPCLMFC5C5	59	94	6	-61	33	7	55	8	34	92	9	167	31	33	

Fonte: Autoria própria.

A curva de DSC no resfriamento da blenda PLAPCL mostra um pico exotérmico de cristalização do PLA em 95 °C, um deslocamento da linha base referente à T_g do PLA calculada em 62 °C e um pico exotérmico de cristalização da PCL em 35 °C. A T_g da PCL foi calculada em -58 °C. A curva de segundo aquecimento da blenda PLAPCL mostra um pico endotérmico de fusão da PCL em 57 °C, um pico exotérmico de cristalização à frio do PLA em 96 °C, um pico exotérmico de cristalização a frio da fase cristalina α do PLA em 153 °C, seguido de um pico endotérmico referente à fusão do PLA em 168 °C. É possível perceber que a PCL interfere no processo de cristalização do PLA, atuando como agente de nucleação, uma vez que as regiões de interface entre o PLA e PCL favorecem a formação de núcleos. Isso resulta em aumento do percentual de cristalinidade de 24 % no PLA puro para 30 % na blenda PLAPCL (NA et al., 2002; ZHAO et al., 2020).

Na blenda compatibilizada PLAPCLC5, o copolímero atua como compatibilizante melhorando a interação entre as fases de PLA e PCL a partir da interpenetração das cadeias do copolímero entre as cadeias de PLA e de PCL na região interfacial. Isso deixa a cinética de cristalização do PLA mais lenta, resultando em menor entalpia de cristalização (0,7 J.g⁻¹) na taxa de resfriamento de 10 °C.min⁻¹. Nota-se, portanto, pequena diminuição no percentual de cristalinidade do PLA (23 %).

Na e colaboradores, 2002 relataram que a PCL tem um feito nucleante no PLA, o que aumenta o percentual de cristalinidade do polímero. Ao passo que ao compatibilizar blendas PLA/PCL com um copolímero em bloco de poli(ϵ -caprolactona-*b*-polietileno glicol) (PCL-*b*-PEG), eles percebem que, a depender do teor de copolímero, a cinética de cristalização do PLA muda, diminuindo a cristalização do PLA com o aumento do teor do copolímero, em função da ação plastificante do PEG no PLA (NA et al., 2002).

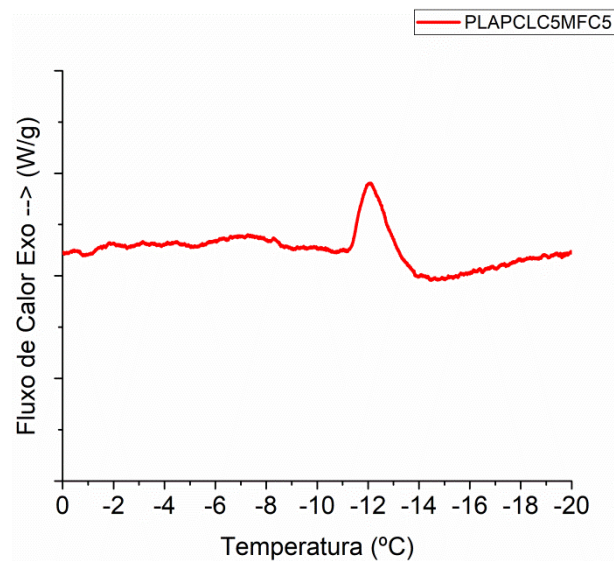
Dessa forma, sugere-se que a diminuição da cristalização do PLA com o acréscimo do copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) na blenda PLAPCLC5 pode estar relacionada ao maior espaçamento entre as cadeias de PLA e entrelaçamento com as cadeias de PCL, promovida pelo copolímero na região interfacial da blenda, o que pode ser responsável pela diminuição da cristalização do PLA na blenda compatibilizada. Assim como, é possível que o bloco de tetrahydrofurano do copolímero atue como plastificante na fase de PLA, o que também justificaria a diminuição da cristalização do PLA.

A PCL apresenta maior cristalização com a adição do copolímero na blenda compatibilizada PLAPCLC5. O copolímero possui maior afinidade química pela PCL devido a sua composição com dois blocos de 500 g.mol^{-1} de poli(ϵ -caprolactona) e, por isso, a parte do copolímero que não ocupa a interface pode estar preferencialmente dispersa na fase de PCL. O aumento na cristalização da PCL pode ser observado devido a maior quantidade de cadeias de poli(ϵ -caprolactona) na mistura, por meio da inserção do copolímero na mistura. Como a massa molar do copolímero é menor, é possível que a capacidade cristalização das cadeias do copolímero seja maior devido a maior mobilidade dessas cadeias, o que pode ser responsável pelo aumento da cristalização da PCL na blenda compatibilizada.

Outra explicação possível para o aumento da cristalização da PCL foi apresentada por Monticelli *et al.*, 2014. Eles também notaram aumento da cristalização de PCL com a introdução de um copolímero em bloco de silsesquioxano oligomérico poliédrico (POSS) - poli(caprolactona) (PCL) - poli(ácido láctico) (PLA) (POSS-PCL-*b*-PLLA) em blendas PLA/PCL. No entanto, eles atribuíram esse aumento da cristalização da PCL a uma camada formada pelo copolímero na região interfacial que age como agente nucleante para a fase de PCL (MONTICELLI et al., 2014).

A curva DSC no resfriamento da blenda PLAPCLMFC5C5 apresenta um pico exotérmico referente à cristalização do PLA em 94 °C, um deslocamento da linha base relativa à T_g do PLA calculado em 59 °C, um pico exotérmico de cristalização da PCL em 33 °C e um pico exotérmico de cristalização do copolímero em -12 °C, indicado pelo círculo tracejado na **Figura 38 (a)** e mostrado em evidência na **Figura 39**.

Figura 39- Curva de DSC no resfriamento da blenda PLAPCLC5MFC5 na faixa de temperatura de 0 a -20 °C.



Fonte: Autoria própria.

A presença do pico de cristalização do copolímero na curva de resfriamento confirma teoria de que o copolímero, nas blendas reforçadas com MFC que tem acréscimo de 5 % em massa de copolímero, segrega formando uma quarta fase. Isso indica que deixa de atuar na região interfacial do PLA com a PCL e migra tanto para a fase de PCL, quanto para a fase de PLA. Devido a sua imiscibilidade com o PLA, são formadas gotículas do copolímero e a cristalização das cadeias do copolímero segregadas no PLA é visível na curva de resfriamento de DSC.

A T_g da PCL na blenda PLAPCLMFC5C5 sofre uma pequena diminuição para -61 °C, o que é um indicativo de que parte do copolímero se localiza na fase de PCL. As cadeias do copolímero são muito menores que a da PCL, que possuem 50.000 g.mol⁻¹. Dessa forma, é possível que a presença de cadeias menores entre as cadeias da PCL tenha ação plastificante, aumentando espaço entre as cadeias de PCL e conseqüentemente sua mobilidade, o que justifica o pequeno declínio na

temperatura de transição vítrea, assim como a menor cristalização da PCL nessa amostra.

A curva do segundo aquecimento da blenda PLAPCLMFC5C5 mostra um pico endotérmico referente à fusão da PCL em 55 °C, um pico exotérmico de cristalização a frio do PLA, deslocado para a temperatura de 92 °C, um pequeno pico exotérmico de cristalização da fase α do PLA, seguido do pico endotérmico de fusão do PLA em 167 °C. O aumento no percentual de cristalinidade do PLA para 33 % e o deslocamento do pico de cristalização a frio do PLA para temperaturas mais baixas se deve à presença da MFC, que atua como agente nucleante, acelerando a cinética de cristalização do PLA (FRONE et al., 2013).

Diante dos resultados de caracterização das propriedades mecânicas obtidos, conclui-se que a blenda PLAPCLMFC2,5 e a blenda PLAPCLC5 são materiais com propriedades mecânicas atrativas já que apresentam alto grau de deformação e absorção de impacto e a blenda PLAPCLMFC2,5 ainda é capaz de suportar aplicação de tensão até aproximadamente 45 MPa. Os materiais que compõem as blendas produzidas são biodegradáveis, biocompatíveis e biorreabsorvíveis, por isso eles possuem potencial para aplicações biomédicas.

Além disso, tem potencial para substituir polímeros tradicionais como polipropileno e poliestireno em aplicações para produtos descartáveis. A **Tabela 19** mostra algumas propriedades mecânicas das blendas produzidas neste trabalho em comparação com polímeros produzidos com matéria-prima não renovável e utilizados em principalmente produtos descartáveis.

Tabela 19- Comparação entre as blendas produzidas neste trabalho e polímeros comumente utilizado em embalagens plásticas e outros descartáveis.

Amostras	Tensão máxima (MPa)	Deformação máxima (%)	Módulo de elasticidade (GPa)	Resistência ao impacto (kJ.m ⁻²)
PLAMFC2,5	50	22,9	2,9	18,8
PLAPCLC5	33	183	2,4	14,5
PLAPCLMFC2,5	46	42	2,6	14,2
PLAPCLMFC2,5C5	30	27	2,0	11,8
Polipropileno ¹	22	322	0,5	4,2*
Poliestireno ²	33	3	1,6	0,3*

Fonte: ¹(SHUBHRA; ALAM, 2011) e ²(PEGORETTI, 2020). * Impacto Izod com entalhe.

É possível perceber que os materiais produzidos nesta pesquisa apresentam propriedades competitivas com o polipropileno (PP) e o poliestireno (PS). Isso

mostra que há potencial para o uso dos materiais biodegradáveis produzidos em substituição aos polímeros tradicionais, que possuem a desvantagem de não serem eco-amigáveis, pois são oriundos de fontes petroquímicas e demoram a se decompor.

De forma a estimular a substituição dos polímeros de fontes petroquímicas por polímeros biodegradáveis, foi proposta uma análise dos metabólitos produzidos por fungos no processo de biodegradação *in vitro* das blendas PLAPCL, PLAPCLC5 e PLAPCLMFC5C5. O objetivo dessa análise foi investigar o potencial fúngico para a produção de metabólitos de interesse industrial utilizando as blendas como substrato. Essa proposta visa agregar valor econômico aos produtos ao final do seu tempo de vida, uma vez que o produto descartado pode servir de matéria-prima para a produção de outros produtos. Os resultados desse estudo são apresentados na próxima seção.

5.4 ETAPA 4 - BIOPROSPECÇÃO

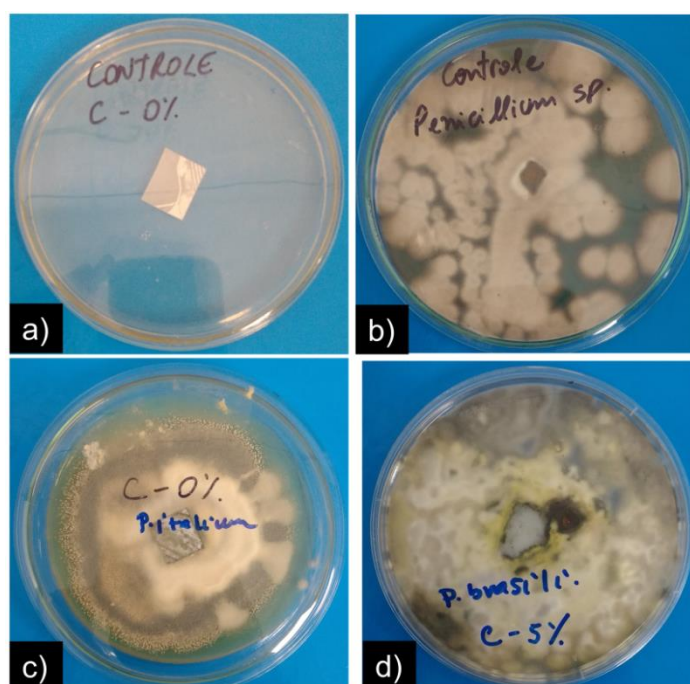
5.4.1 Triagem das condições de biodegradação *in vitro*

A etapa de incubação das blendas PLA/PCL com 0 e 5 % do copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) com diferentes fungos foi realizada com o intuito de triar as espécies para estabelecer aquelas com maior potencial de biodegradação de blendas PLA/PCL e que podem fazer parte do estudo de biodegradação da blenda PLA/PCL/MFC. As blendas PLA/PCL com 0 e 5 % em massa de poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) serão doravante chamadas de PLAPCL e PLAPCLC5, respectivamente. A etapa de estudo da biodegradação tem como principal objetivo determinar se os metabólitos produzidos pelas espécies de fungos ao degradar o material polimérico tem potencial para uso comercial. Para isso, foi necessário avaliar primeiramente a capacidade de cada espécie em biodegradar as blendas PLA/PCL nas condições estabelecidas para a pesquisa.

A técnica de avaliação da biodegradabilidade utilizada neste trabalho foi a técnica de plaqueamento em ágar, o qual é realizado por meio da inoculação de espécies de microrganismos, na presença do polímero, sob condições favoráveis de crescimento. As culturas foram realizadas em meio de cultura sólido Czapeck, por ele ser um meio pobre em fontes de carbono e não-seletivo, que poderia induzir o fungo a consumir o polímero para obter carbono.

O plaqueamento em ágar Czapeck do corpo de prova polimérico (controle positivo), fungo inoculado sem polímeros (controle positivo) e das blendas PLA/PCL compatibilizada e não compatibilizada é mostrado na **Figura 40**. As espécies de fungos inicialmente analisadas foram *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium brasilianum*, *Penicillium expansum*, *Penicillium italicum* e *Penicillium digitatum*, com crescimento na presença das blendas PLAPCL e PLAPCLC5.

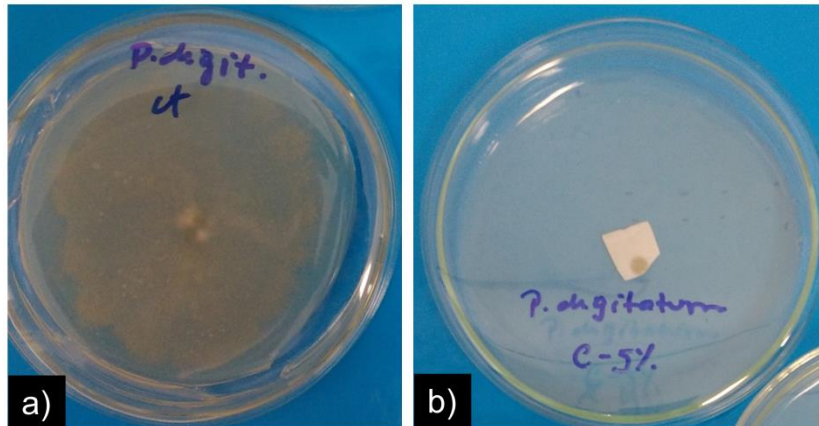
Figura 40- Culturas em ágar Czapeck de (a) corpo de prova polimérico PLAPCL; (b) controle positivo com *Penicillium citrinum*; (c) blenda PLAPCL *Penicillium italicum* e (d) blenda PLAPCLC5 com *Penicillium brasilianum*.



Fonte: Autoria própria.

O fungo da espécie *P. digitatum* não apresentou desenvolvimento adequado em meio Czapeck conforme visto na **Figura 41** e, por isso, foi descartado desse estudo. As espécies *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium citrinum*, *P. brasilianum*, *P. expansum*, e *P. italicum* apresentaram crescimento adequado no meio Czapeck. Os controles negativos foram feitos com as blendas PLAPCL e PLAPCLC5 incubados no meio Czapeck sem fungos, para que se pudesse analisar se ocorreria interação entre o meio de cultura e o material polimérico. Dessa forma pode-se comparar o perfil metabólico dos experimentos de biodegradação com os controles negativo e positivo.

Figura 41- Cultura (a) controle positivo e (b) com corpo de prova polimérico com fungo da espécie *P. digitatum*.



Fonte: Autoria própria.

Foi possível observar que essas espécies testadas cresceram na presença dos corpos de prova das blendas, conforme observado na **Figura 40**. Não foi observada diferença morfológica entre as colônias de fungos na ausência e presença dos polímeros. Assim como observou-se que as culturas fúngicas com a PLAPCL ou PLAPCLC5 não apresentaram diferenças morfológicas entre si. Portanto, nessa etapa, ficou evidenciado que as blendas não são inibidoras de crescimento dessas espécies de fungos e que os fungos das espécies de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium citrinum*, *P. brasilianum*, *P. expansum*, e *P. italicum* crescem adequadamente em meio Czapeck. Por isso, concluiu-se que elas apresentam potencial para participar do estudo de biodegradação da blenda PLAPCL reforçada com MFC (PLAPCLMFC).

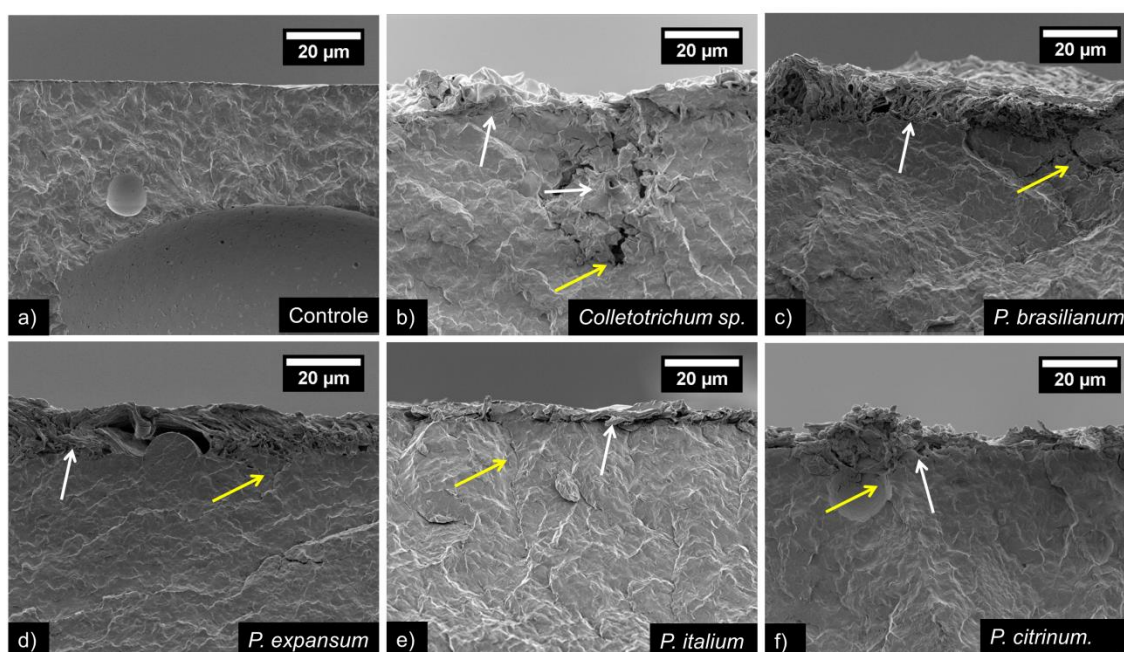
Posteriormente, foi realizada a análise da morfologia das blendas por MEV. O propósito dessa etapa foi de observar se há marcas de biodegradação como sulcos, ranhuras, espaços vazios nos corpos de prova provocados pelos fungos, o que indicaria que esses microrganismos utilizam as blendas como fonte de energia para o seu crescimento (HIDAYAT; TACHIBANA, 2012; ROSA; FILHO, 2003). Como o meio de cultura Czapeck é pobre em fontes de carbono, as blendas seriam utilizadas pelos fungos como fonte de obtenção de carbono para possibilitar o seu crescimento e desenvolvimento. Isso resultaria em marcas de biodegradação no corpo de prova polimérico.

Houve muita adesão dos fungos na superfície das blendas mesmo depois de sucessivas lavagens com álcool 70 % para a inativação e retirada dos fungos. Devido à alta concentração de fungos inativados aderidos na superfície da blenda,

não foi possível realizar a análise da superfície. Por isso, foi analisado o corte transversal dos corpos de prova com o intuito de observar a biodegradação e também a interação entre os fungos e os polímeros.

A **Figura 42** mostra as micrografias de MEV dos corpos de prova da blenda PLAPCL incubadas com *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium citrinum*, *P. brasilianum*, *P. expansum*, e *P. italicum* e o controle negativo.

Figura 42- Micrografias dos corpos de prova da blenda PLAPCL incubadas com (a) ágar (controle negativo); (b) *Colletotrichum gloeosporioides*; (c) *P. brasilianum*; (d) *P. expansum*; (e) *P. italicum* e (f) *Penicillium citrinum*. As setas amarelas indicam sulcos, ranhuras e outros defeitos que sinalizam biodegradação do polímero pelo fungo. As setas brancas indicam os fungos.

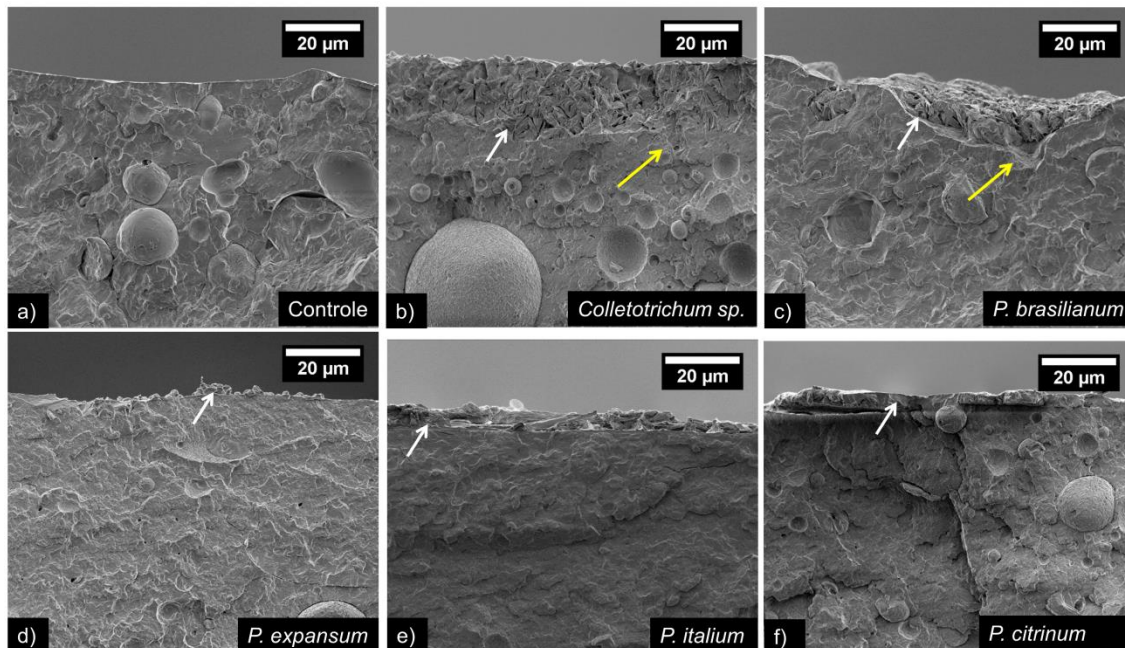


Fonte: Autoria própria.

A **Figura 42** mostra que os fungos das espécies *Colletotrichum gloeosporioides* (**Figura 42(b)**), *P. brasilianum* (**Figura 42 (c)**), *P. expansum* (**Figura 42 (d)**), *P. italicum* (**Figura 42 (e)**) e *Penicillium citrinum* (**Figura 42 (f)**) ficaram bem aderidos à superfície do corpo de prova da blenda não compatibilizada PLAPCL, conforme indicado pelas setas brancas. É possível observar que os fungos erodiram a superfície da blenda causando rachaduras e irregularidades principalmente nas regiões onde há maior quantidade de fungos aderidos, como indicam as setas amarelas. Isso é um indicativo de que os fungos estão degradando as cadeias poliméricas da blenda PLAPCL e utilizando-as como fonte de energia para seus processos metabólicos.

A cultura dos fungos *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium citrinum*, *P. brasilianum*, *P. expansum*, e *P. italicum* e o controle negativo na presença da blenda PLAPCLC5 foram analisadas pelas micrografias apresentadas na **Figura 43**. Nessa preparação a lavagem com álcool 70 % para inativação dos fungos apresentou maior eficácia na retirada dos fungos inativos das amostras. Isso pode sugerir que as espécies tiveram maior dificuldade de adesão na superfície das blendas compatibilizadas em relação às blendas não compatibilizadas. As espécies *P. expansum* (**Figura 43 (d)**), *P. italicum* (**Figura 43 (e)**) e *P. citrinum*. (**Figura 43 (f)**) foram quase que totalmente retiradas da superfície da blenda PLAPCLC5. É possível notar que a erosão causada por esses fungos na superfície da blenda compatibilizada foi menor do que na blenda não compatibilizada. Com isso, é possível sugerir que o copolímero interfere no processo de biodegradação das blendas por essas espécies. Mais estudos serão necessários para identificar se o copolímero apenas atrasa o processo de biodegradação ou se ele pode atuar como agente inibidor para essas espécies de fungos.

Figura 43- Micrografias dos corpos de prova da blenda PLAPCLC5 incubadas com (a) ágar Czapeck (controle negativo); (b) *Colletotrichum gloeosporioides*; (c) *P. brasilianum*; (d) *P. expansum*; (e) *P. italicum* e (f) *P. citrinum*. As setas amarelas indicam sulcos, ranhuras e outros defeitos que sinalizam biodegradação do polímero pelo fungo. As setas brancas indicam os fungos.



Fonte: Autoria própria.

Já as espécies *Colletotrichum gloeosporioides* (**Figura 43 (b)**) e *P. brasilianum* (**Figura 43 (f)**) apresentaram o mesmo nível de erosão da superfície do corpo de prova da blenda compatibilizada que na blenda não compatibilizada. No entanto, o fungo *P. brasilianum* respondeu melhor ao processo de preparação da amostra com a lavagem que a espécie de *Colletotrichum gloeosporioides*, apresentando menor adesão dos fungos inativados na superfície da blenda compatibilizada pós-lavagem. A adesão do fungo na superfície da blenda não é uma medida da biodegradação do fungo, porém pode ser um indicativo de interação entre o microrganismo com a superfície do polímero, uma vez que existem poucos métodos padronizados de avaliação quantitativa da biodegradação por fungos de materiais poliméricos (ROSA; FILHO, 2003).

A partir dessas análises prévias foi possível determinar que *Colletotrichum gloeosporioides*, *P. brasilianum*, *P. expansum*, *P. italicum* e *Penicillium citrinum* apresentam potencial de biodegradação para utilizar blendas PLA/PCL como substrato. Devido à necessidade de maior tempo para a adesão das espécies *P. expansum* e *P. italicum* na superfície dos polímeros, eles foram excluídos desse estudo. Portanto, foram selecionadas as espécies *Colletotrichum gloeosporioides*, *P. brasilianum* e *Penicillium citrinum* para a investigação de produção de metabólitos de interesse industrial por estes fungos na presença de filmes poliméricos de PLAPCLMFC5C5.

5.4.2 Identificação putativa de metabólitos de interesse comercial

Filmes poliméricos da blenda PLAPCLMFC5C5 foram incubados na presença dos fungos *Colletotrichum gloeosporioides*, *P. brasilianum* e *P. citrinum* para serem investigados com relação ao respectivo potencial de biodegradação e produção de metabólitos secundários com possível valor agregado. Os metabólitos produzidos pelos fungos após um mês de incubação foram analisados por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS). O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da presença dos filmes poliméricos na produção por fungos de moléculas de interesse industrial. A hipótese é que, uma vez que esses polímeros cumpram seu ciclo de utilização, eles sejam reaproveitados como matéria-prima para a produção de outros insumos. Para isso, os dados de LC-MS/MS do controle branco (metanol), controle positivo (fungo incubado sem a blenda) e da amostra (fungo incubado com a blenda) foram analisados na forma de redes moleculares

com auxílio da plataforma GNPS com o objetivo de identificar prioritariamente moléculas já documentadas que apresentem interesse comercial.

Os resultados são apresentados nesta seção de acordo com o fungo investigado. É importante ressaltar que este estudo é uma proposição inicial em que foram feitas medições qualitativas. A correspondência entre as moléculas produzidas pelos fungos com moléculas documentadas no banco de dados não necessariamente indicam que a molécula documentada foi produzida pelo fungo ao biodegradar a blenda PLAPCLMFC5C5. No entanto, a correspondência com os dados da plataforma é sugestiva de que a molécula documentada ou uma molécula análoga, que apresente padrão de ionização parecido, esteja presente na amostra. A confirmação da existência dessas moléculas por métodos quantitativos não é uma proposta deste trabalho.

I. Colletotrichum gloeosporioides

A rede molecular dos metabólitos produzidos pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* incubado em meio Czapeck na ausência de polímero, indicado pela cor amarela, e na presença do filme de PLAPCLMFC5C5, indicado pela cor rosa é mostrada na **Figura 44**. Metanol foi utilizado como parâmetro de controle branco e está indicado pela cor azul e o aro azul indica que o nodo corresponde a moléculas documentadas na plataforma GNPS. Os nodos que apresentam pelo menos 6 picos do espectro correspondentes a moléculas de interesse comercial documentadas na plataforma GNPS ou em bibliotecas ligadas ao GNPS com cosseno $\geq 0,6$ foram destacadas pelas caixas verdes. Os nomes das substâncias identificadas foram mantidos da mesma forma como foram gerados pela plataforma GNPS.

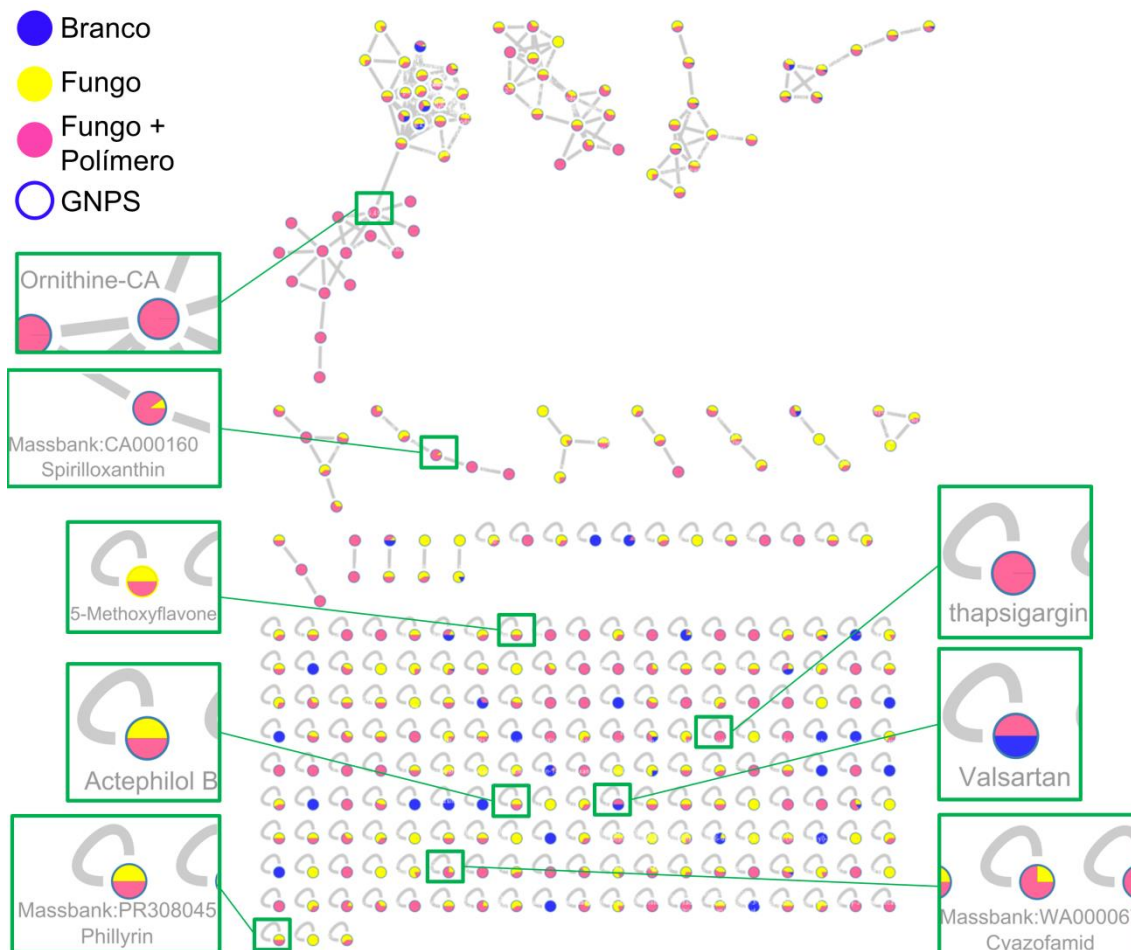
A rede molecular indica que algumas moléculas produzidas pelos fungos foram identificadas como congruentes com moléculas bioativas de interesse comercial documentadas no banco de dados da GNPS.

Actephilol B é uma molécula da classe dos terpenóides. O potencial antiviral e antibiótico dessas moléculas tem sido alvo de pesquisas de alguns pesquisadores (OLIVON et al., 2019; OVENDEN et al., 2001).

Cyazofamid é uma molécula com atividade fungicida conhecida. Ela atua inibindo o sítio Qi do citocromo bc1 no complexo III da cadeia respiratória mitocondrial. É uma molécula com propriedades já bem estabelecidas e

comercializada desde o início dos anos 2000 (MITANI et al., 2002; SONG et al., 2020).

Figura 44- Rede molecular dos metabólitos produzidos pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* incubados na ausência de polímero, em amarelo, e com filmes da blenda PLAPCLMFC5C5, em rosa. Metanol foi utilizado como parâmetro branco, em azul. O aro azul indica correlação com moléculas documentadas na plataforma GNPS.



Fonte: Autoria própria.

5-methoxyflavone é uma molécula que a literatura documenta participação em atividade anti-inflamatória e ansiolítica (LIMA et al., 2020; SHANMUGASUNDARAM et al., 2020).

Ornithine-CA é uma molécula que está envolvida na alteração do funcionamento das bombas de cálcio celulares. Em estudos recentes, essa molécula foi responsável por ativar o mecanismo anti-oxidativo celular. Em ratos, foi documentado que a administração oral dessa molécula aumenta a produção de colágeno e aminoácidos essenciais da pele dos animais (HARADA et al., 2019; SHIN; GOMBEDZA; BANDYOPADHYAY, 2020).

Phillyrin é uma molécula que possui atividade antiviral contra Influenza A documentada. Outros estudos mostram que ela também é uma molécula ativa na prevenção do estresse oxidativo e tem ação anti-apoptótica em células neurais, podendo ser uma importante molécula no tratamento e prevenção de doenças neurodegenerativas como o Alzheimer (QU et al., 2016; WEI et al., 2014).

Spirilloxanthin é um caratenóide. Essa classe de metabólitos se caracterizam por serem pigmentos que estão presentes em abundância em organismos fototrópicos. Elas estão correlacionadas com a captação de elétrons da luz solar e armazenamento e utilização dos elétrons como energia para processos bioquímicos. São moléculas de bastante interesse de estudo nas áreas que pesquisam energia solar (AUTENRIETH; GHOSH, 2019; NIEDZWIEDZKI et al., 2015, 2017).

Thapsigargin é uma molécula que tem mostrado potencial de atividade antitumoral pela indução de morte celular por interferência na atividade do retículo endoplasmático. Em pequenas doses, também mostrou potencial de ação antiviral contra a Influenza (GOULDING et al., 2020; LINDNER et al., 2020; SEHGAL et al., 2017).

Valsartan é um fármaco comercial do tipo antagonista do receptor de angiotensina, indicado para tratar hipertensão, doenças coronarianas e pós falha cardíaca (WACHTER et al., 2019; YANDRAPALLI et al., 2017).

Foi possível observar que algumas anotações de moléculas estão presentes apenas na cultura do fungo com a blenda PLAPCLMFC5C5, como por exemplo *Ornithine-CA* e *Thapsigargin*. Enquanto que existem outras anotações de moléculas que tem sua expressão potencializadas pela presença da blenda, como *Cyazofamid* e *Spirilloxanthin*. Esses resultados sugerem que a presença da blenda e sua utilização como substrato pode induzir a produção de moléculas diferentes e potencializar ou inibir a produção de outras moléculas pelo microrganismo. Isso indica um potencial grande de identificação e produção de moléculas já conhecidas ou novas a partir da utilização de polímeros biodegradáveis como substrato.

A identificação das moléculas anotadas na rede molecular não significa que essas moléculas estão obrigatoriamente presentes nas amostras analisadas. Porém, indicam que existem estruturas moleculares resultantes do metabolismo do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* que apresentam o espectro de massas com um padrão parecido ao espectro de massas da molécula documentada. Por isso, faz-se necessária a avaliação comparativa desses espectros para identificar o grau de

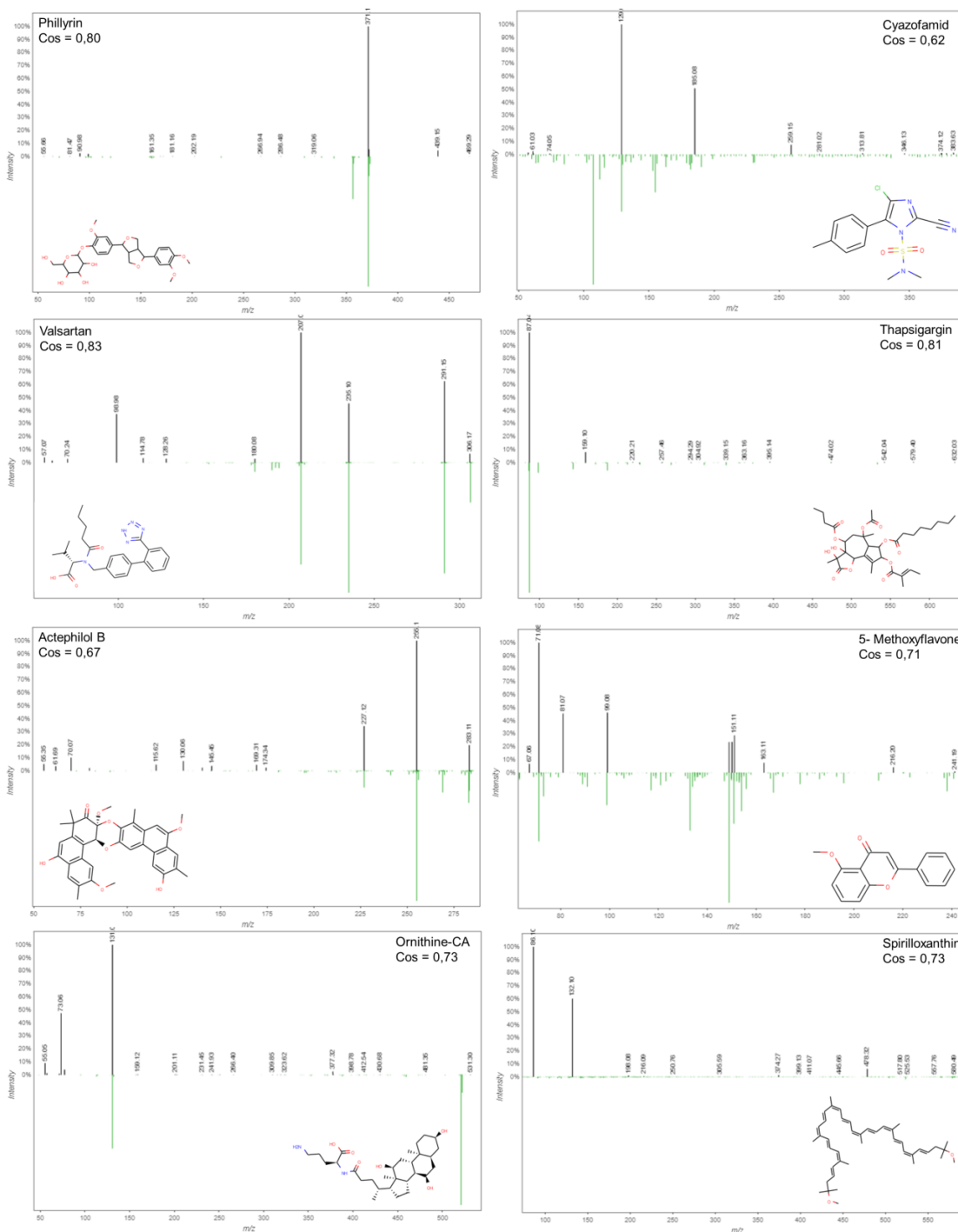
similaridade entre as moléculas. De uma forma geral, a congruência entre os íons precursores é um bom indicativo de que se tratam de moléculas com estruturas moleculares bastante parecidas. Quanto maior a congruência entre o padrão de fragmentação das moléculas, maior a possibilidade de se tratarem da mesma estrutura química (TOLENTINO JÚNIOR et al., 2021; WANG et al., 2016b).

A **Figura 45** mostra o espectro das moléculas destacadas na **Figura 44** em comparação espelho com o espectro da molécula anotada na biblioteca da plataforma GNPS que foi imputada pelo algoritmo como molécula correspondente. Os parâmetros estabelecidos foram de congruência de pelo menos 6 picos no espectro e cosseno $\geq 0,6$. A estrutura química da molécula anotada também é mostrada junto com o espectro.

Os valores de cosseno indicam similaridade entre os espectros de fragmentação. Quanto mais próximo de 1, maior a similaridade entre os espectros. Analisando os espectros em espelho, é possível observar que a grande maioria dos espectros das moléculas anotadas como similares, diferem bastante das moléculas produzida pelo *Colletotrichum gloeosporioides*. Há alguma congruência de íons precursores entre o que foi analisado e o que foi documentado na plataforma GNPS para as moléculas de *Actephilol B* (0,67), *5-Methoxyflavone* (0,71). No entanto, não foram encontrados dados na literatura que indicassem identificação de produção de moléculas de *Actephilol B* por fungos do gênero *Colletotrichum spp.* Por isso, é pouco provável que *Colletotrichum gloeosporioides* produzam essa molécula.

Com relação a moléculas de *5-methoxyflavone*, há alguns trabalhos na literatura que indicam identificação de grupos de metóxi-flavonóis em espécies do gênero *Colletotrichum spp.* (ABOU-ZAID et al., 1997; CHEN et al., 2019; DING et al., 2013). Ding et al. 2013, mostrou que moléculas do grupo metóxi-flavonóis podem ter atividade fungicida na espécie de *Colletotrichum musae*, o que é um indicativo de que essa molécula pode ser produzida pelo *Colletotrichum gloeosporioides* como forma de inibir competidores por nutrientes em seu hábitat natural (DING et al., 2013).

Figura 45- Espectros das moléculas de interesse comercial destacados da rede molecular do *Colletotrichum gloeosporioides* com espectro da molécula anotada na plataforma GNPS em espelho.



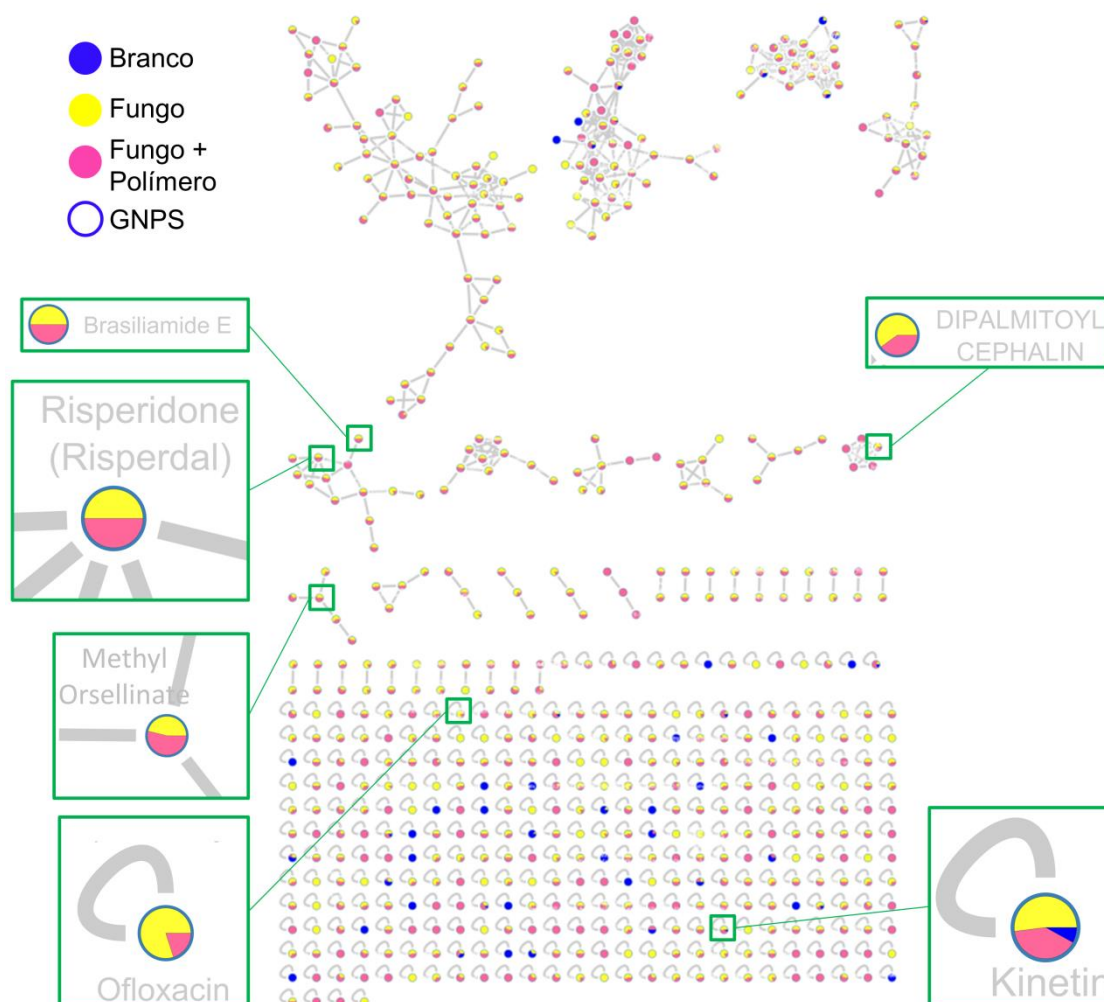
Fonte: Autoria própria.

Dessa forma, a análise metabolômica putativa sugere que o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* incubado em meio produtivo Czapeck juntamente com a blenda polimérica biodegradável PLAPCLMFC5C5 é capaz de produzir moléculas com estruturas análogas às moléculas *5-Methoxyflavone*.

II. *Penicillium brasilianum*

A **Figura 46** mostra a rede molecular dos metabólitos produzidos pelo fungo *Penicillium brasilianum*. As condições de análise foram as mesmas adotadas para o *Colletotrichum gloeosporioides* (Cos = 0,6; mínimo de 6 picos congruentes). A rede molecular indica moléculas bioativas de interesse comercial documentadas no banco de dados da GNPS sugeridas pelo algoritmo da plataforma como congruentes com algumas moléculas produzidas pelo fungo *P. brasilianum*.

Figura 46- Rede molecular dos metabólitos produzidos pelo fungo *Penicillium brasilianum* incubados na ausência de polímeros, em amarelo e na presença de filmes da blenda PLAPCLMFC5C5, em rosa. Metanol foi utilizado como parâmetro branco, em azul. O aro azul indica correlação com moléculas anotadas no GNPS.



Fonte: Autoria própria.

Brasiliamides são uma classe de moléculas produzidas pelo *P. brasilianum* que possuem potencial antibacteriano e convulsivante (BAZIOLI et al., 2017).

Dipalmitoyl Cephalin é um fosfolípídeo usado como surfactante pulmonar com o objetivo de diminuir a tensão superficial entre o ar e o tecido pulmonar em situação de colapso (CASALS; CAÑADAS, 2012; GUAGLIARDO et al., 2018).

Kinetin é um hormônio vegetal. Estudos recentes mostram o potencial de tratamento em humanos com o hormônio vegetal visando o retardo do envelhecimento celular e o aumento da longevidade dessas células. Por isso, tem potencial para ser utilizado como tratamento para doenças neurodegenerativas (KADLECOVÁ et al., 2019).

Methyl Orsellinate é uma molécula que tem sido bastante estudada, pois apresenta potencial anti-inflamatório, anti-artrítico e antitumoral (KHADER et al., 2018; REDDY et al., 2020).

Ofloxacin é uma molécula antibiótica da classe de fluoroquinolona já comercialmente estabelecida (FU et al., 1992; MACÍAS et al., 2001).

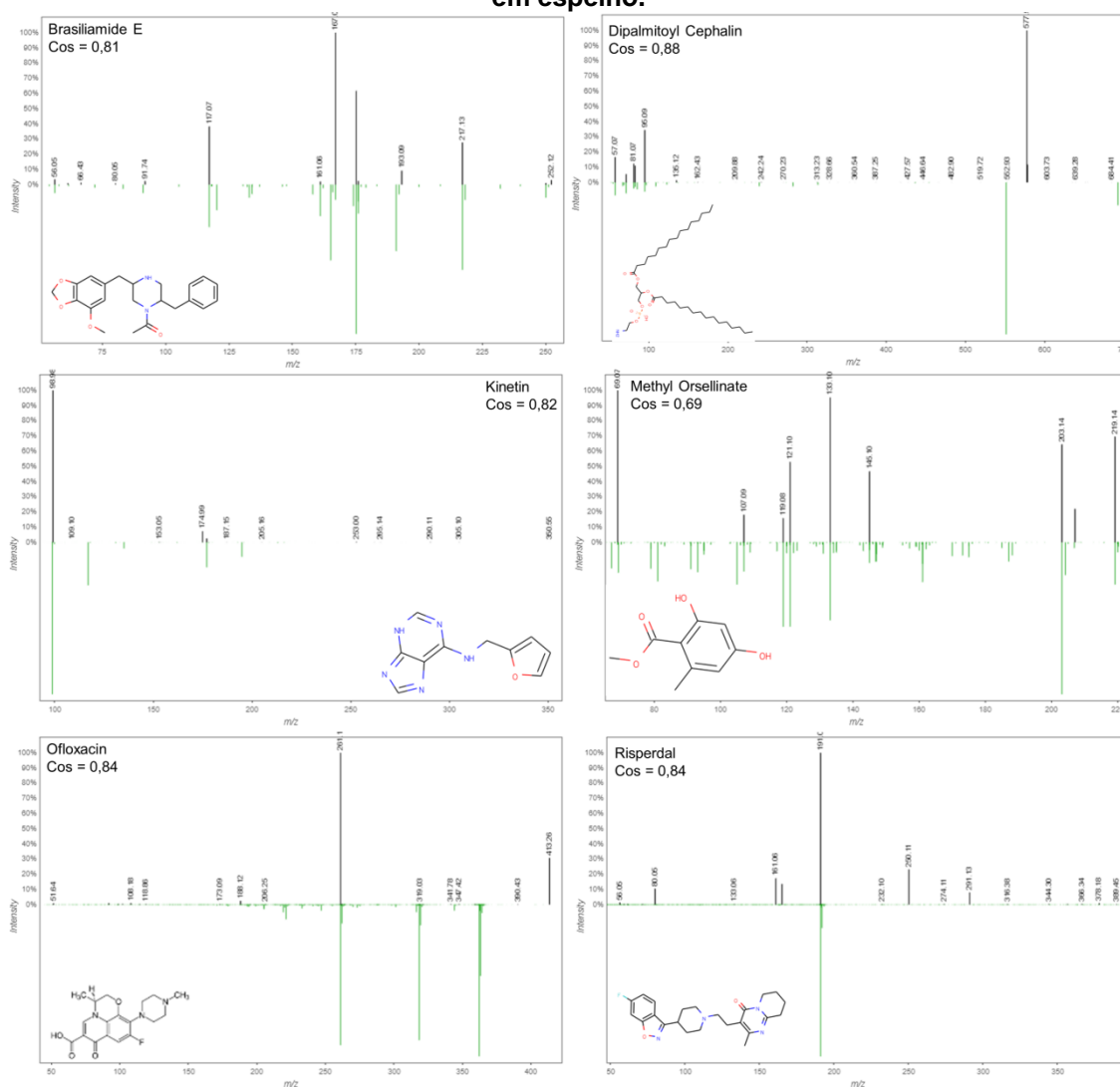
Risperdal é uma molécula com propriedades antipsicóticas. É um medicamento já consolidado, porém estudos sugerem potencial para tratamento em doenças neurodegenerativas (GEFVERT et al., 2005; WOOLTORTON, 2002).

A **Figura 47** mostra o espectro das moléculas destacadas na **Figura 46** em comparação espelho com o espectro da molécula anotada na biblioteca da plataforma GNPS que foi imputada pelo algoritmo como molécula correspondente. Os parâmetros estabelecidos foram de congruência de pelo menos 6 picos no espectro e cosseno $\geq 0,6$. A estrutura química da molécula anotada também é mostrada junto com o espectro.

Há congruência de íons precursores entre o que foi analisado e o que foi documentado na plataforma GNPS para as moléculas de *Brasiliamide E* (0,81) e *Methyl Orsellinate* (0,69), conforme mostrado na **Figura 47**.

Trabalhos como o de Fill *et al.*, 2009 mostram que a classe de moléculas conhecida com brasiliamidas são características em fungos da espécie *P. brasilianum*. Essas moléculas possuem atividade convulsivantes em vermes, além de atividade bacteriostática, mostrando potencial comercial como bactericidas e vermífugos (FILL; SILVA; RODRIGUES-FO, 2009; FUJITA et al., 2002; FUJITA; HAYASHI, 2004). Da mesma forma, a classe de *Methyl Orsellinate* é documentada com potencial pesticida produzido por algumas espécies do gênero *Penicillium* (XU et al., 2021).

Figura 47- Espectros das moléculas de interesse comercial destacados da rede molecular do *Penicillium brasilianum* com espectro da molécula anotada na plataforma GNPS em espelho.



Fonte: Autoria própria.

Por isso, a análise metabolômica putativa sugere que o fungo *P. brasilianum* incubado em meio Czapeck juntamente com a blenda polimérica biodegradável PLAPCLMFC5C5 é capaz de produzir moléculas com estruturas análogas às moléculas *Brasilamide E* e *Methyl Orsellinate*.

É possível observar também que existem alguns compostos químicos que só foram produzidos ou tiveram sua produção aumentada na presença da blenda PLAPCLMFC5C5. A produção de *Methyl Orsellinate* foi indicada como aumentada na presença da blenda, como é possível ser observado no nodo da anotação de *Methyl Orsellinate* que apresenta área rosa maior que a área amarela. É possível que a presença da blenda PLAPCLMFC5C5 estimule a produção de *Methyl Orsellinate* por *P. brasilianum*. Para confirmação desses resultados, são necessárias

análises quantitativas. Por isso, sugere-se que as análises preliminares realizadas neste trabalho mostram que há bastantes possibilidades de estudo para explorar cientificamente e tecnologicamente a atividade de bioprospecção por meio da biodegradação *in vitro* de filmes poliméricos.

III. *Penicillium citrinum*

A rede molecular dos metabólitos produzidos pelo fungo *Penicillium citrinum* é mostrada na **Figura 48**. As condições de análise foram as mesmas adotadas para o *Colletotrichum gloeosporioides* e *Penicillium brasilianum*. (Cos = 0,6; mínimo de 6 picos congruentes).

Andrastin A é uma molécula com propriedade anti-tumoral devido a sua capacidade inibitória da proteína RAS preniltransferase. Quando a proteína RAS preniltransferase se acumula na célula, ela fica suscetível a formação tumoral (FERNÁNDEZ-BODEGA et al., 2009; ROJAS-AEDO et al., 2017).

Antibiotic TAN 1169B é uma molécula que tem ação antibiótica documentada no dicionário de organismos produtores de antibióticos (GLASBY, 1992).

Chrysin é um flavonóide que exibe muitas atividades biológicas e efeitos farmacológicos como antioxidantes, anti-inflamatórios, antitumoral e atividades antivirais (MANI; NATESAN, 2018; ZHENG et al., 2003).

Glycerol-Myristate é uma molécula com atividade antibacteriana e antifúngica bem consolidada na indústria farmacêutica (CONLEY; KABARA, 1973; JUMINA et al., 2018).

Irsogladine maleate é uma molécula que tem propriedades de proteção da mucosa estomacal, bastante utilizada em tratamentos de gastrites (HIRAISHI et al., 2010; ZHANG et al., 2008).

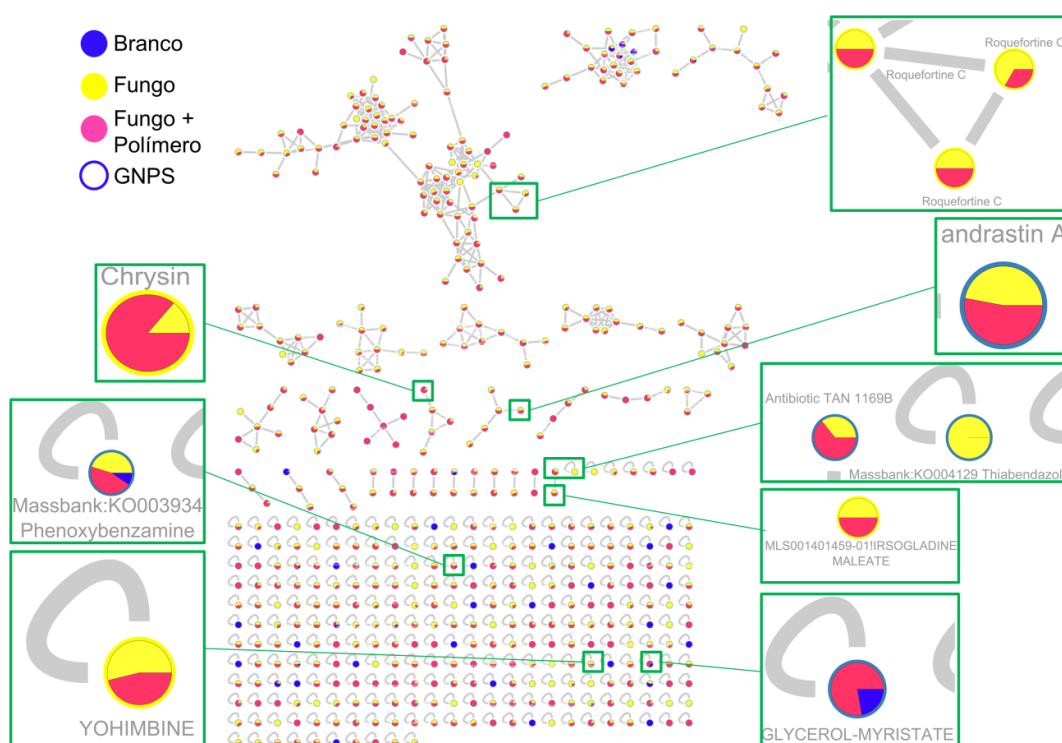
Phenoxybenzamine é um antagonista de receptores alfa-adrenérgicos utilizado no tratamento de hipertensão arterial (YOHAM; CASADESUS, 2021).

Roquefortine C é uma micotoxina que também tem atividade neurotóxica (AUERBACH; OLDENBURG; WEISSBACH, 1998; FERNÁNDEZ-BODEGA et al., 2009).

Thiabendazole é um antifúngico de largo espectro bastante consolidado como medicamento (GANN; NEVA; GAM, 1994; PRICHARD, 1970; ROBINSON; PHARES; GRAESSLE, 1964).

Yohimbine é uma molécula antidopaminérgica que bloqueia o sítio adreno alfa-receptor. É remédio utilizado em doenças que as pessoas apresentem deficiência de serotonina e noradrenalina cerebral, como por exemplo a depressão (SCATTON; ZIVKOVIC; DEDEK, 1980; TAM; WORCEL; WYLLIE, 2001).

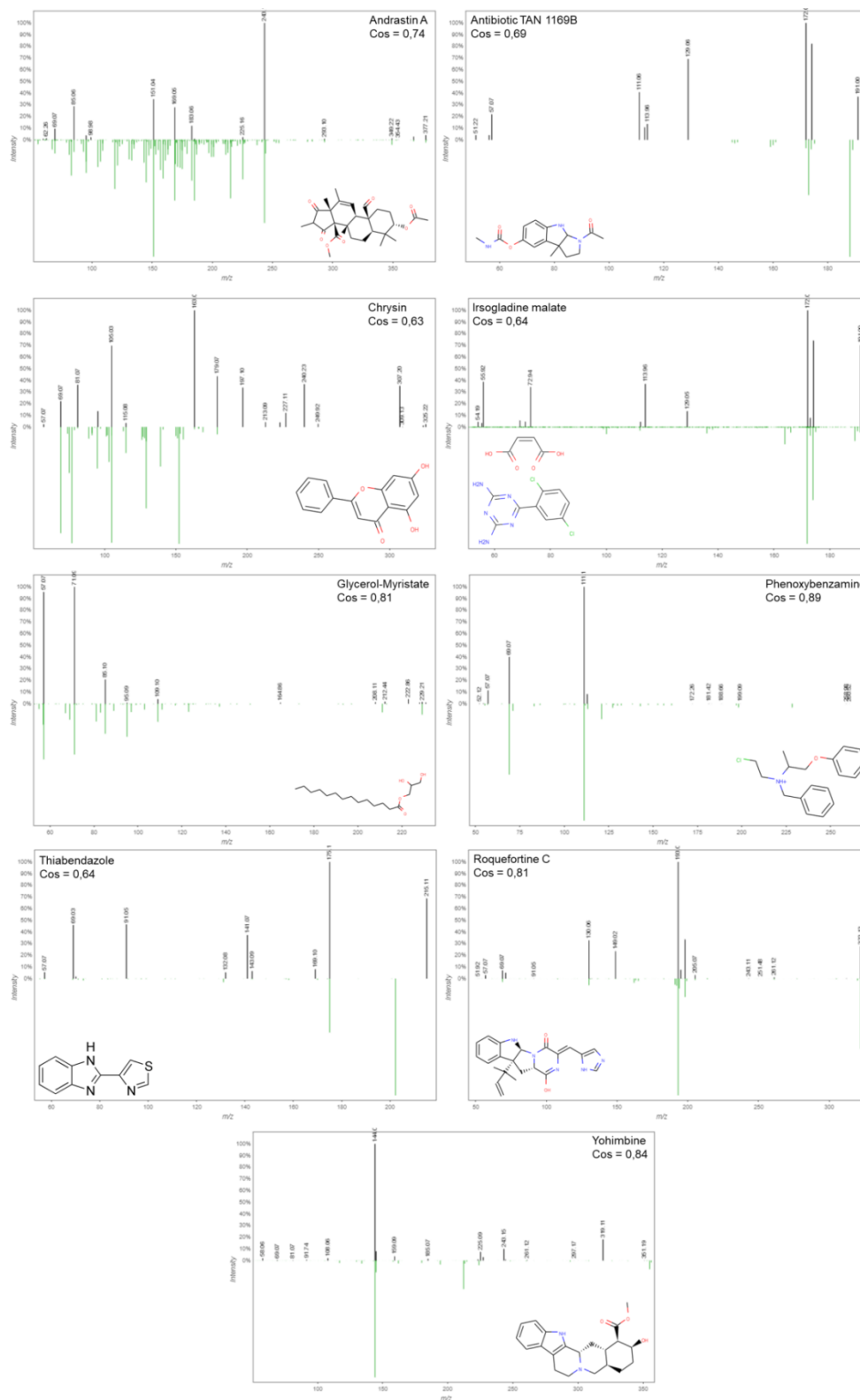
Figura 48- Rede molecular dos metabólitos produzidos pelo fungo *Penicillium citrinum* incubados na ausência de polímero, em amarelo e na presença de filmes da blenda PLAPCLMFC5C5, em rosa. Metanol foi utilizado como parâmetro branco, em azul. O aro azul indica correlação com moléculas documentadas no GNPS.



Fonte: Autoria própria.

A **Figura 49** mostra o espectro das moléculas destacadas na **Figura 48** em comparação espelho com o espectro da molécula anotada na biblioteca da plataforma GNPS que foi imputada pelo algoritmo como molécula correspondente. Os parâmetros estabelecidos foram de congruência de pelo menos 6 picos no espectro e cosseno $\geq 0,6$. A estrutura química da molécula anotada também é mostrada junto com o espectro.

Figura 49- Espectros das moléculas de interesse comercial destacados da rede molecular do *Penicillium citrinum* com espectro da molécula anotada na plataforma GNPS em espelho.



Fonte: Autoria própria.

Há congruência de íons precursoros entre o que foi analisado e o que foi documentado na plataforma GNPS para as moléculas de *Andrastin A* (0,74), *Chrysin*

(0,63), *Roquefortine* (0,81). Estudos como o de Visagie *et al.*, 2016 documentam identificação de moléculas de *Andrastin* como produtos metabólicos de algumas espécies do gênero *Penicillium* (FERNÁNDEZ-BODEGA *et al.*, 2009; MCMULLIN; NSIAMA; MILLER, 2014; ROJAS-AEDO *et al.*, 2017; VISAGIE *et al.*, 2016). Foi possível observar que o nodo da anotação de *Andrastin A* possui área rosa maior que a amarela, o que indica que a presença da blenda PLAPCLC5MFC5 pode estimular o fungo *Penicillium citrinum* a produzir essa molécula. No entanto, métodos quantitativos devem ser utilizados para a confirmação desse resultado.

As moléculas de *Chrysin* e *Roquefortine* também são documentadas na literatura como comuns no metabolismo de espécies de fungos do gênero *Penicillium* (FERNÁNDEZ-BODEGA *et al.*, 2009; GARCÍA-ESTRADA *et al.*, 2011; MANI; NATESAN, 2018; ROJAS-AEDO *et al.*, 2017; ZHENG *et al.*, 2003). As moléculas de *Chrysin* também parecem ter sua expressão aumentada na presença da blenda PLAPCLMFC5C5. Enquanto que as moléculas de *Roquefortine* aparecem em famílias de nodos, indicando a possível produção de mais de um tipo de moléculas da classe *Roquefortine* são produzidas pelo *Penicillium citrinum*. Em seu trabalho Keblys *et al.*, 2004 destacam a importância de *Roquefortine C* como molécula de atividade antimicótica (KEBLYS *et al.*, 2004).

Portanto, a análise metabolômica putativa sugere que o fungo *Penicillium citrinum* incubado em meio Czapeck juntamente com a blenda polimérica biodegradável PLAPCLMFC5C5 é capaz de produzir moléculas com estruturas análogas às moléculas *Andrastin A*, *Chrysin* e *Roquefortine*.

É importante ressaltar que existem outras bibliotecas de moléculas que não foram utilizadas neste trabalho e também a possibilidade de isolar as moléculas desconhecidas para identificá-las por meio das técnicas de cromatografia líquida acoplada com espectrometria de massas e ressonância magnética nuclear. Portanto, podem existir outras moléculas já identificadas e conhecidas que são produto do metabolismo desses fungos que não foram identificadas aqui, pois ainda não constam na biblioteca da plataforma GNPS. Além disso, só foram listadas as moléculas de conhecido interesse comercial, com foco principal em aplicações farmacêuticas, devido ao grande potencial fúngico de produção de moléculas antibióticas e moléculas metabólicas análogas às moléculas produzidas no metabolismo de seres humanos.

Esse estudo tinha o objetivo de avaliar o potencial de produção de metabólitos de interesse comercial por fungos quando incubados na presença de materiais poliméricos biodegradáveis. Ele mostrou um grande potencial ainda não explorado de produção de moléculas de interesse comercial utilizando materiais poliméricos biodegradáveis como substrato. Dessa forma, sugere-se que novos estudos pautados na biodegradação de polímeros e compósitos poliméricos biodegradáveis sejam realizados objetivando a caracterização, identificação de moléculas e, posteriormente, estabelecimento do potencial do seu uso comercial.

6 CONCLUSÕES

Este trabalho teve como objetivo principal a produção de blendas PLA/PCL reforçadas com microfibrilas de celulose. A fim de atingir esse objetivo, foi necessário, inicialmente, propor uma forma de dispersão das MFC em matrizes poliméricas apolares. Por isso, a primeira etapa do trabalho teve como objetivo recobrir as microfibrilas de celulose com o copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano) para impedir a aglomeração irreversível das MFC durante o processo de secagem da água desse material, que é essencial na preparação por extrusão de blendas PLA/PCL reforçadas com MFC. As micrografias no modo MEV-STEM, que foram submetidas à técnica de tingimento com acetato de uranila, mostraram que há áreas da microfibrila de celulose que estão recobertas por pelo copolímero poli(ϵ -caprolactona-*b*-tetrahydrofurano). Os resultados de FTIR evidenciam um deslocamento da banda de absorção das hidroxilas na mistura MFC-copolímero que é sugestivo da existência de ligações hidrogênio entre o copolímero e as MFC. Portanto, o processo de recobrimento da MFC com o copolímero permitiu a secagem em estufa da MFC que, por sua vez, possibilitou a dispersão da MFC na matriz polimérica por meio da técnica de extrusão.

A segunda etapa deste trabalho teve o objetivo de avaliar parâmetros de extrusão, que pudessem influenciar na morfologia e propriedades de blendas PLA/PCL reforçadas com MFC. Os parâmetros adotados para definir a melhor condição de processamento foram o menor tamanho e distribuição estreita das gotas de PCL, juntamente com a análise das propriedades mecânicas de resistência à tração e resistência ao impacto Izod sem entalhe das blendas produzidas. Os resultados indicaram que o processamento em única etapa, com velocidade de rotação de rosca em 150 rpm, teor de MFC em massa de 2,5 % e introduzidas na mistura por meio da mistura MFC-copolímero 40:60 % em massa são os parâmetros que produziram blendas PLA/PCL reforçadas com MFC com menores tamanhos de gota e distribuição mais homogênea das gotas de PCL. Apresentaram também maior equilíbrio entre as propriedades de deformação na ruptura, tensão máxima em tração e resistência ao impacto Izod sem entalhe.

A terceira etapa deste trabalho visou produzir blendas PLA/PCL reforçadas com MFC por meio dos parâmetros definidos na segunda etapa. As misturas produzidas foram comparadas com o PLA e PCL puros e com blendas PLA/PCL

sem compatibilização. A blenda PLA/PCL reforçada com 2,5 % em massa de MFC obteve melhor equilíbrio entre as propriedades mecânicas, apresentando a mais alta tensão máxima em tração de 46 MPa, 42 % na deformação na ruptura e resistência ao impacto de 57 J.m⁻¹, enquanto que a blenda não compatibilizada apresenta 33 MPa, 1 % e 15 J.m⁻¹, respectivamente. Os resultados sugerem que o ganho nas propriedades mecânicas da blenda PLA/PCL reforçada com MFC ocorreu devido ao efeito sinérgico da presença do copolímero e da MFC na mistura. O copolímero ocupou a região interfacial entre o PLA e a PCL e promoveu a interação interfacial entre fases. Enquanto que a adequada dispersão, distribuição e adesão da MFC na matriz foram responsáveis por formar uma rede de microfibrilas de celulose, que envolve as gotas de PCL, impedindo sua coalescência e interligando as gotas com a matriz de PLA.

A quarta e última etapa deste trabalho foi a investigação sobre o potencial de bioprospecção de moléculas de interesse comercial por meio da biodegradação *in vitro* dos fungos *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium brasilianum* e *Penicillium citrinum* com as blendas PLA/PCL reforçadas com MFC. A análise putativa dos metabólitos produzidos pelos fungos na presença dos polímeros, realizada com auxílio da plataforma GNPS, mostrou que os fungos apresentaram produção de moléculas análogas a diversos metabólitos já bem estabelecidos no mercado como: *5-Methoxyflavone*, *Brasiliamide E*, *Methyl Orsellinate*, *Andrastin A*, *Chrysin* e *Roquefortine*. A presença da blenda PLAPCLMFC5C5 parece ter estimulado a produção em maior quantidade de algumas moléculas, como *Methyl Orsellinate* e *Chrysin*. Este trabalho evidenciou o potencial de descoberta e produção de moléculas bioativas por meio do uso de materiais poliméricos biodegradáveis como substrato para obtenção de nutrientes pelos fungos.

Portanto, este trabalho contribuiu para a comunidade científica: (1) propondo uma nova metodologia de secagem e dispersão de microfibrilas de celulose em matrizes poliméricas; (2) reportando novos comportamentos mecânicos da blenda biodegradável, biocompatível e biorreabsorvível PLA/PCL a partir do reforço com as microfibrilas de celulose e (3) sugerindo que é possível aproveitar o descarte de materiais biodegradáveis para a obtenção de moléculas de interesse comercial por meio do uso de metodologias biotecnológicas.

7 TRABALHOS FUTUROS

- Investigar a distribuição de MFC por meio de microtomografia de alta resolução das amostras ExPLA em relação à blenda compatibilizada e à ExCOMPAT com o objetivo de compreender como a distribuição e dispersão da MFC influencia no mecanismo de quebra e coalescência da fase de PCL;

- Avaliar a distribuição da MFC por meio de microtomografia de alta resolução, variando o teor de MFC do compósito, com o objetivo de estabelecer um teor ideal de MFC que proporcione boa dispersão e distribuição e equilíbrio entre as propriedades mecânicas;

- Investigar a eficácia do método de dispersão de MFC por meio uso da mistura MFC-copolímero em outras matrizes poliméricas;

- Variar a composição da mistura MFC-copolímero em relação à proporção entre a MFC e o copolímero a fim de estabelecer um qual composição produz um complexo que possibilita melhores propriedades mecânicas do compósito;

- Avaliar o efeito da variação da massa molar da PCL nas propriedades mecânicas do compósito;

- Avaliar o efeito da variação da massa molar do PLA nas propriedades mecânicas do compósito;

- Avaliar o potencial de biocompatibilidade *in vitro* e *in vivo* dos compósitos PLA/PCL/MFC produzidos por meio da extrusão dos polímeros com a mistura MFC-copolímero;

- Avaliar o tempo de biodegradação dos compósitos em relação às blendas e materiais puros;

- Realizar análise putativa de metabólitos de interesse em outros bancos de dados e bibliotecas moleculares;

- Fazer o ensaio de biodegradação por fungos com outras espécies de microrganismos;

- Isolar e caracterizar moléculas de interesse;

- Identificar as moléculas que não apresentam congruência com moléculas documentadas nos bancos de dados e bibliotecas moleculares.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AAEN, R. et al. Oil-in-water emulsions stabilized by cellulose nanofibrils—The effects of ionic strength and pH. **Nanomaterials**, v. 9, n. 2, p. 1–14, 2019.
- ABIDI, N.; CABRALES, L.; HAIGLER, C. H. Changes in the cell wall and cellulose content of developing cotton fibers investigated by FTIR spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**, v. 100, p. 9–16, 2014.
- ABOU-ZAID, M. et al. C-methyl flavonols from the fungus *Colletotrichum dematium* f.sp. *epilobii*. **Phytochemistry**, v. 45, n. 5, p. 957–961, 1997.
- ADRIO, J. L.; DEMAINE, A. L. Fungal biotechnology. **International Microbiology**, v. 6, n. 3, p. 191–199, 2003.
- AGODA-TANDJAWA, G. et al. Rheological characterization of microfibrillated cellulose suspensions after freezing. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, n. 3, p. 677–686, 2010.
- AHMED, M. K.; MENAZEA, A. A.; ABDELGHANY, A. M. Blend biopolymeric nanofibrous scaffolds of cellulose acetate/ ϵ -polycaprolactone containing metallic nanoparticles prepared by laser ablation for wound disinfection applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 155, p. 636–644, 2020.
- AHN, K. et al. Yellowing and brightness reversion of celluloses: CO or COOH, who is the culprit? **Cellulose**, v. 26, n. 1, p. 429–444, 2019.
- ALBERTSSON, A. .; KARLSSON, S. Chemistry and Biochemistry of Polymer Biodegradation. In: GRIFFIN, G. (Ed.). . **Chemistry and Technology of Biodegradable Polymers**. [s.l.] Springer US, 1994. p. 7–17.
- ALLAFCHIAN, A.; HOSSEINI, H.; GHOREISHI, S. M. Electrospinning of PVA-carboxymethyl cellulose nanofibers for flufenamic acid drug delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 163, p. 1780–1786, 2020.
- ALMEIDA, A. C. DE A. et al. The sustainable cycle of a new cacao-based bioplastic: from manufacturing to exploitable biodegradation products. **RSC Advances**, v. 11, n. 48, p. 29976–29985, 2021.
- ANDRESEN, M.; STENIUS, P. Water-in-oil emulsions stabilized by hydrophobized microfibrillated cellulose. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 28, n. 6, p. 837–844, 2007.
- AUERBACH, H.; OLDENBURG, E.; WEISSBACH, F. Incidence of *penicillium roqueforti* and *roquefortine C* in silages. **Journal of the Science of Food and**

Agriculture, v. 76, n. 4, p. 565–572, 1998.

AUTENRIETH, C.; GHOSH, R. The Methoxylated, highly conjugated C 40 carotenoids, spirilloxanthin and anhydrorhodovibrin, can be separated using high performance liquid chromatography with safe and environmentally friendly solvents.

Metabolites, v. 9, n. 2, 2019.

AZIZAN, M. S. et al. Fungal metabolites and their industrial importance: A brief review. **Malaysian Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, v. 19, n. 3, p. 15–23, 2016.

BABAIE, A.; REZAEI, M.; SOFLA, R. L. M. Investigation of the effects of polycaprolactone molecular weight and graphene content on crystallinity, mechanical properties and shape memory behavior of polyurethane/graphene nanocomposites. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 96, n. April, p. 53–68, 2019.

BAGHERI, M.; MAHMOODZADEH, A. Polycaprolactone/Graphene Nanocomposites: Synthesis, Characterization and Mechanical Properties of Electrospun Nanofibers. **Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials**, v. 30, n. 5, p. 1566–1577, 2020.

BAHRAMI, R. et al. The impact of Janus nanoparticles on the compatibilization of immiscible polymer blends under technologically relevant conditions. **ACS Nano**, v. 8, n. 10, p. 10048–10056, 2014.

BARBI, S. et al. Mechanical and structural properties of environmental green composites based on functionalized bacterial cellulose. **Cellulose**, v. 28, n. 3, p. 1431–1442, 2021.

BARLOW, C. Y.; MORGAN, D. C. Polymer film packaging for food: An environmental assessment. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 78, p. 74–80, 2013.

BAZIOLI, J. M. et al. Insights into penicillium brasilianum secondary metabolism and its biotechnological potential. **Molecules**, v. 22, n. 6, 2017.

BEYER, M.; KOCH, H.; FISCHER, K. Role of hemicelluloses in the formation of chromophores during heat treatment of bleached chemical pulps. **Macromolecular Symposia**, v. 232, p. 98–106, 2005.

BHATTACHARYA, S. N.; KAMAL, M. R.; GUPTA, R. K. **Polymeric nanocomposites: Theory and practice**. [s.l: s.n.].

BOUCHAMA, A.; FERRAHI, M. I.; BELBACHIR, M. Maghnite , a Green Catalyst for Synthesis of P oly (ϵ - Maghnite , a Green Catalyst for Synthesis of. v. 2012, 2012.

- BOUHOUTE, M. et al. Microfibrillated cellulose from *Argania spinosa* shells as sustainable solid particles for O/W Pickering emulsions. **Carbohydrate Polymers**, v. 251, n. May 2020, p. 116990, 2021.
- BUCKNALL, C. B. Applications of microscopy to the deformation and fracture of rubber-toughened polymers. **Journal of Microscopy**, v. 201, n. 2, p. 221–229, 2001.
- CALLISTER, W. D. J. Compósitos. In: **Ciência e Engenharia de Materiais: uma introdução**. 5^a ed. Salt Lake City: LTC, 1999. p. 359.
- CANEVAROLO, S. V. J. Comportamento mecânico dos polímeros. In: **Ciência dos Polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. 3^a ed. São Paulo: Artliber, 2013. p. 191–225.
- CARVALHO, J. R. G. et al. Biocompatibility and biodegradation of poly(lactic acid) (PLA) and an immiscible PLA/poly(ϵ -caprolactone) (PCL) blend compatibilized by poly(ϵ -caprolactone-*b*-tetrahydrofuran) implanted in horses. **Polymer Journal**, v. 52, n. 6, p. 629–643, 2020.
- CASALS, C.; CAÑADAS, O. Role of lipid ordered/disordered phase coexistence in pulmonary surfactant function. **Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes**, v. 1818, n. 11, p. 2550–2562, 2012.
- CASTANHO, C. G.; OLIVEIRA, R. C. Estudos De Aproveitamento De Rejeito Fibroso Industrial Da Polpação Kraft De Eucalipto Na Produção De Papéis Reciclad. **Congresso Internacional de Celulose e Papel**, p. 18 p, 2000.
- CERIMI, K. et al. Fungi as source for new bio-based materials: A patent review. **Fungal Biology and Biotechnology**, v. 6, n. 1, p. 1–10, 2019.
- CHAI, Y.; SONG, Y. F.; ZHANG, P. Y. Effects of Hydrogen Bond Interaction on the Miscibility of Poly (D, L-lactide) Composites Materials. n. Iwmce, p. 416–424, 2018.
- CHEN, B. et al. Pectin-microfibrillated cellulose microgel: Effects on survival of lactic acid bacteria in a simulated gastrointestinal tract. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 158, p. 826–836, 2020.
- CHEN, J. et al. A New Flavone from Flos Sophorae Immaturus Through Microbial Transformation by *Nigrospora sphaerica* ZMT05. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 55, n. 6, p. 1025–1027, 2019.
- CHEVALIER, Y.; BOLZINGER, M. A. Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 439, p. 23–34, 2013.
- CHIRAT, C.; DE LA CHAPELLE, V. Heat- and light-induced brightness reversion

of bleached chemical pulps **Journal of Pulp and Paper Science**, 1999.

ÇIÇEK, B.; ERGÜN, A.; GENÇER, N. Synthesis and Evaluation in vitro Effects of Some Macrocyclic Thiocrown Ethers on Erythrocyte Carbonic Anhydrase I and II. **Asian Journal of Chemistry**, v. 24, n. 7, p. 0000–0000, 2012.

COLODETTE, J. L.; GOMES, F. J. B. Princípios Gerais do Branqueamento. In: **Branqueamento de polpa celulósica. Da produção da polpa marrom ao produto acabado**. 1. ed. [s.l.] Editora UFV, 2015. p. 173–202.

CONDE, G. et al. In vivo biocompatibility and biodegradability of poly(lactic acid)/poly(ϵ -caprolactone) blend compatibilized with poly(ϵ -caprolactone-b-tetrahydrofuran) in Wistar rats. **Biomedical Physics and Engineering Express**, v. 7, n. 3, p. 35005, 2021.

CONG, S. Properties of polylactic acid fiber based polymers and their correlation with composition. **Proceedings of 2007 International Conference on Advanced Fibers and Polymer Materials, ICAFPM 2007**, v. 1, p. 8–11, 2007.

CONLEY, A. J.; KABARA, J. J. Antimicrobial action of esters of polyhydric alcohols. **Pharmacologist**, v. 15, n. 2, p. 545, 1973.

CORREIA, F. M.; D'ANGELO, J. V. H.; JÚNIOR, F. G. DA S. Revisitando número kappa: conceitos e aplicações na indústria de celulose. **O Papel**, v. 80, n. 7, p. 77–89, 2019.

COSTA, C. et al. Emulsion formation and stabilization by biomolecules: The leading role of cellulose. **Polymers**, v. 11, n. 10, p. 1–18, 2019.

COX, S. et al. Food additive emulsifiers: a review of their role in foods, legislation and classifications, presence in food supply, dietary exposure, and safety assessment. **Nutrition reviews**, v. 79, n. 6, p. 726–741, 2021.

CUELLO, C. et al. ATR-FTIR Microspectroscopy Brings a Novel Insight Into the Study of Cell Wall Chemistry at the Cellular Level. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. February, p. 1–13, 2020.

DA SILVA, L. C. E. et al. Specimen preparation optimization for size and morphology characterization of nanocellulose by TEM. **Cellulose**, v. 27, n. 9, p. 5435–5444, 2020a.

DA SILVA, L. L. et al. Colletotrichum: species complexes, lifestyle, and peculiarities of some sources of genetic variability. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, n. 5, p. 1891–1904, 2020b.

DARÉ ALVES, É. et al. Estudo do processo de obtenção celulose Kraft com ênfase

- no forno de cal. **Revista Liberato**, v. 16, n. 26, p. 205–218, 2015.
- DASAN, Y. K.; BHAT, A. H.; AHMAD, F. Polymer blend of PLA/PHBV based bionanocomposites reinforced with nanocrystalline cellulose for potential application as packaging material. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 1323–1332, 2017.
- DE AGUIAR, J. et al. Mixing-sequence controlled selective localization of carbon nanoparticles in PLA/PCL blends. **Polymer Engineering and Science**, v. 59, n. 2, p. 323–329, 2019.
- DE LOOS, T. W. **Polymer Thermodynamics**. [s.l.: s.n.].
- DE PAOLI, M.-A. Degradação E Estabilização De Polímeros. p. 286, 2009.
- DECOL, M.; PACHEKOSKI, W. M.; BECKER, D. Compatibilization and ultraviolet blocking of PLA/PCL blends via interfacial localization of titanium dioxide nanoparticles. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 135, n. 6, p. 20–23, 2018.
- DENG, H. et al. Microplastic pollution in water and sediment in a textile industrial area. **Environmental Pollution**, v. 258, p. 113658, 2020.
- DENG, S. et al. One-step modification and nanofibrillation of microfibrillated cellulose for simultaneously reinforcing and toughening of poly(ϵ -caprolactone). **Composites Science and Technology**, v. 157, p. 168–177, 2018.
- DIAS, P. D. P. Blendas Biodegradáveis De Poli(Ácido Láctico) E Poli(ϵ -Caprolactona) Tenacificadas Por Compatibilização Não-Reativa – Influência Do Teor De Compatibilizante. p. 120, 2016.
- DIAS, P. D. P.; CHINELATTO, M. A. Effect of poly(ϵ -caprolactone-*b*-tetrahydrofuran) triblock copolymer concentration on morphological, thermal and mechanical properties of immiscible PLA/PCL blends. **Journal of Renewable Materials**, v. 7, n. 2, p. 129–138, 2019.
- DÍAZ, M. F.; BARBOSA, S. E.; CAPIATI, N. J. Reactive compatibilization of PE/PS blends. Effect of copolymer chain length on interfacial adhesion and mechanical behavior. **Polymer**, v. 48, n. 4, p. 1058–1065, 2007.
- DING, W. J. et al. A new di-O-prenylated flavone from an actinomycete *Streptomyces* sp. MA-12. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 15, n. 2, p. 209–214, 2013.
- DONG, H. et al. Cellulose nanofibrils and diblock copolymer complex: Micelle formation and enhanced dispersibility. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 5, n. 2, p. 1264–1271, 2017.
- DUFRESNE, A. Nanocellulose: A new ageless bionanomaterial. **Materials Today**, v.

16, n. 6, p. 220–227, 2013.

DUFRESNE, A.; VIGNON, M. R. Improvement of starch film performances using cellulose microfibrils. **Macromolecules**, v. 31, n. 8, p. 2693–2696, 1998.

ERIKSSON, M. et al. The influence of grafting on flow-induced crystallization and rheological properties of poly(ϵ -caprolactone)/cellulose nanocrystal nanocomposites. **Nanocomposites**, v. 4, n. 3, p. 87–101, 2018.

ESPINOZA, S. M. et al. Poly- ϵ -caprolactone (PCL), a promising polymer for pharmaceutical and biomedical applications: Focus on nanomedicine in cancer. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, v. 69, n. 2, p. 85–126, 2020.

FARINAS, C. S. **A parede celular vegetal e as enzimas envolvidas na sua degradação**. [s.l.: s.n.].

FAVERO, C. et al. **Aspectos gerais do processo de pré-branqueamento de celulose**, 2014. (Nota técnica).

FAVIER, V.; CHANZY, H.; CAVAILLÉ, J. Y. Polymer Nanocomposites Reinforced by Cellulose Whiskers. **Macromolecules**, v. 28, n. 18, p. 6365–6367, 1995.

FERNÁNDEZ-BODEGA, M. A. et al. Proteolytic activity, mycotoxins and andrastin A in *Penicillium roqueforti* strains isolated from Cabrales, Valdeón and Bejes-Tresviso local varieties of blue-veined cheeses. **International Journal of Food Microbiology**, v. 136, n. 1, p. 18–25, 2009.

FILL, T. P.; SILVA, B. F.; RODRIGUES-FO, E. Biosynthesis of Phenylpropanoid Amides by an Endophytic *Penicillium brasilianum* - fill 2009.pdf. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 20, n. 3, p. 622–629, 2009.

FINOTTI, P. F. M. et al. Immiscible poly(lactic acid)/poly(ϵ -caprolactone) for temporary implants: Compatibility and cytotoxicity. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 68, n. October 2016, p. 155–162, 2017.

FLORES, D. **Parede Celular**. Disponível em: <<https://escolaeducacao.com.br/parede-celular/>>. Acesso em: 15 jun. 2020.

FORTELYNY, I. et al. Phase Structure, Compatibility, and Toughness of PLA/PCL Blends: A Review. **Frontiers in Materials**, v. 6, n. August, p. 1–13, 2019.

FORTUNATO, G. et al. Reinforcement of polymeric submicrometer-sized fibers by microfibrillated cellulose. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 297, n. 6, p. 576–584, 2012.

FOURATI, Y. et al. Cellulose nanofibrils reinforced PBAT/TPS blends: Mechanical

and rheological properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 183, p. 267–275, 2021.

FRENCH, A. D. Glucose, not cellobiose, is the repeating unit of cellulose and why that is important. **Cellulose**, v. 24, n. 11, p. 4605–4609, 2017.

FRINÉ, V.-C. et al. Biodegradable PLA Food Packaging Hold *Alternaria alternata*. **Polymers**, v. 11, p. 1720, 2019.

FRONE, A. N. et al. Morphology and thermal properties of PLA-cellulose nanofibers composites. **Carbohydrate Polymers**, v. 91, n. 1, p. 377–384, 2013.

FU, K. P. et al. Erratum: In vitro and in vivo antibacterial activities of levofloxacin (l-ofloxacin), an optically active ofloxacin (Antimicrobial Agents and Chemotherapy 36 (860)). **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 36, n. 8, p. 1797, 1992.

FU, S. Y. et al. Effects of particle size, particle/matrix interface adhesion and particle loading on mechanical properties of particulate-polymer composites. **Composites Part B: Engineering**, v. 39, n. 6, p. 933–961, 2008.

FUJITA, T. et al. New convulsive compounds, brasiliamides a and b, from *penicillium brasilianum batista* JV-379. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 66, n. 8, p. 1697–1705, 2002.

FUJITA, T.; HAYASHI, H. New brasiliamide congeners, brasiliamides C, D and E, from *Penicillium brasilianum Batista* JV-379. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 68, n. 4, p. 820–826, 2004.

GAI, S. et al. Effects of Nanofillers on the Hydrolytic Degradation of Polyesters. **Tissue Engineering Part B: Reviews**, p. 1–34, 2020.

GANN, P. H.; NEVA, F. A.; GAM, A. A. A randomized trial of single- and two-dose ivermectin versus thiabendazole for treatment of strongyloidiasis. **Journal of Infectious Diseases**, v. 169, n. 5, p. 1076–1079, 1994.

GARCÍA-ESTRADA, C. et al. A single cluster of coregulated genes encodes the biosynthesis of the mycotoxins roquefortine C and meleagrins in *Penicillium chrysogenum*. **Chemistry and Biology**, v. 18, n. 11, p. 1499–1512, 2011.

GARDNER, D. J. et al. Adhesion and surface issues in cellulose and nanocellulose. **Journal of Adhesion Science and Technology**, v. 22, n. 5–6, p. 545–567, 2008.

GARLOTTA, D. A Literature Review of Poly (Lactic Acid) A Literature Review of Poly (Lactic Acid). **Journal of Polymers and the Environment**, v. 9, n. 2, p. 63–84, 2019.

GEFVERT, O. et al. Pharmacokinetics and D2 receptor occupancy of long-acting

injectable risperidone (Risperdal Consta™) in patients with schizophrenia. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 8, n. 1, p. 27–36, 2005.

GELLERSTEDT, G.; DAHLMAN, O. Recent Hypotheses for Brightness Reversion of Hardwood Pulps. **Icep**, n. Figure 1, 2003.

GLASBY, J. S. **Dictionary of antibiotic-producing organisms**. Chichester: Ellis Horwood, 1992.

GOODARZI, F.; ZENDEHBOUDI, S. A Comprehensive Review on Emulsions and Emulsion Stability in Chemical and Energy Industries. **Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 97, n. 1, p. 281–309, 2019.

GOULDING, L. V. et al. Thapsigargin at non-cytotoxic levels induces a potent host antiviral response that blocks influenza a virus replication. **Viruses**, v. 12, n. 10, 2020.

GU, J. D. Microbiological deterioration and degradation of synthetic polymeric materials: Recent research advances. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 52, n. 2, p. 69–91, 2003.

GUAGLIARDO, R. et al. Pulmonary surfactant and drug delivery: Focusing on the role of surfactant proteins. **Journal of Controlled Release**, v. 291, n. October, p. 116–126, 2018.

HABIBI, Y.; MAHROUZ, M.; VIGNON, M. R. Microfibrillated cellulose from the peel of prickly pear fruits. **Food Chemistry**, v. 115, n. 2, p. 423–429, 2009.

HAMLIN, P. F. Fungal Biotechnology. **British Mycological Society Newsletter**, 1998.

HARADA, D. et al. Oral administration of L-ornithine increases the content of both collagen constituting amino acids and polyamines in mouse skin. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 512, n. 4, p. 712–715, 2019.

HE, L. et al. Strong and Tough Polylactic Acid Based Composites Enabled by Simultaneous Reinforcement and Interfacial Compatibilization of Microfibrillated Cellulose. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 8, n. 3, p. 1573–1582, 2020.

HEMMATI, M.; NAZOKDAST, H.; PANAHI, H. S. Study on morphology of ternary polymer blends. I. Effects of melt viscosity and interfacial interaction. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 82, n. 5, p. 1129–1137, 2001.

HIDAYAT, A.; TACHIBANA, S. Characterization of polylactic acid (PLA)/kenaf composite degradation by immobilized mycelia of *Pleurotus ostreatus*. **International**

Biodeterioration and Biodegradation, v. 71, p. 50–54, 2012.

HIEMENZ, P. C.; LODGE, T. P. **Polymer Chemistry**. 2^a ed. [s.l: s.n.]. v. 21

HIRAIISHI, H. et al. Clinical trial: Irsogladine maleate, a mucosal protective drug, accelerates gastric ulcer healing after treatment for eradication of *Helicobacter pylori* infection - The results of a multicentre, double-blind, randomized clinical trial (IMPACT study). **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 31, n. 8, p. 824–833, 2010.

HO, T. T. T. et al. Nanofibrillation of pulp fibers by twin-screw extrusion. **Cellulose**, v. 22, n. 1, p. 421–433, 2015.

HSIEH, T. H. et al. The toughness of epoxy polymers and fibre composites modified with rubber microparticles and silica nanoparticles. **Journal of Materials Science**, v. 45, n. 5, p. 1193–1210, 2010.

HUBBE, M. A.; GRIGSBY, W. From Nanocellulose to Wood Particles: A Review of Particle Size vs. the Properties of Plastic Composites Reinforced with Cellulose-based Entities. **BioResources**, v. 15, n. 1, p. 2030–2081, 2020.

HUBER, T. et al. A critical review of all-cellulose composites. **Journal of Materials Science**, v. 47, n. 3, p. 1171–1186, 2012.

HYVÄRINEN, M.; JABEEN, R.; KÄRKI, T. The modelling of extrusion processes for polymers-A review. **Polymers**, v. 12, n. 6, 2020.

IWAMOTO, S. et al. Mechanical properties of polypropylene composites reinforced by surface-coated microfibrillated cellulose. **Composites Part A: Applied Science and Manufacturing**, v. 59, p. 26–29, 2014.

IZUNOBI, J. U.; HIGGINBOTHAM, C. L. Polymer molecular weight analysis by ¹H NMR spectroscopy. **Journal of Chemical Education**, v. 88, n. 8, p. 1098–1104, 2011.

JAAFAR, J. et al. Important Considerations in Manufacturing of Natural Fiber Composites: A Review. **International Journal of Precision Engineering and Manufacturing - Green Technology**, v. 6, n. 3, p. 647–664, 2019.

JONJAROEN, V.; UMMARTYOTIN, S.; CHITTAPUN, S. Algal cellulose as a reinforcement in rigid polyurethane foam. **Algal Research**, v. 51, n. August, p. 102057, 2020.

JUMINA et al. Monomyristin and monopalmitin derivatives: Synthesis and evaluation as potential antibacterial and antifungal agents. **Molecules**, v. 23, n. 12, 2018.

KADLECOVÁ, A. et al. The plant hormone kinetin in disease therapy and healthy

- aging. **Ageing Research Reviews**, v. 55, n. August, 2019.
- KALASHNIKOVA, I. et al. Cellulosic nanorods of various aspect ratios for oil in water Pickering emulsions. **Soft Matter**, v. 9, n. 3, p. 952–959, 2013.
- KARGARZADEH, H. et al. Recent developments on nanocellulose reinforced polymer nanocomposites: A review. **Polymer**, v. 132, p. 368–393, 2017.
- KATO, K. L.; CAMERON, R. E. A review of the relationship between thermally-accelerated ageing of paper and hornification. **Cellulose**, v. 6, n. 1, p. 23–40, 1999.
- KEBLYS, M. et al. The effects of the Penicillium mycotoxins citrinin, cyclopiazonic acid, ochratoxin A, patulin, penicillic acid, and roquefortine C on in vitro proliferation of porcine lymphocytes. **Mycopathologia**, v. 158, n. 3, p. 317–324, 2004.
- KEDZIOR, S. A. et al. Nanocellulose in Emulsions and Heterogeneous Water-Based Polymer Systems: A Review. **Advanced Materials**, v. 33, n. 28, 2021.
- KHADER, S. Z. A. et al. Radical scavenging potential, antiinflammatory and antiarthritic activity of isolated isomer Methyl- γ -Orsellinate and roccellatol from *Rocella montagnei* Bel. **Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University**, v. 56, n. 1, p. 39–45, 2018.
- KIM, H. et al. Highly reinforced poly(butylene succinate) nanocomposites prepared from chitosan nanowhiskers by in-situ polymerization. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 173, p. 128–135, 2021.
- KLEMM, D. et al. Cellulose: Fascinating biopolymer and sustainable raw material. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 44, n. 22, p. 3358–3393, 2005.
- KLEMM, D. et al. Nanocelluloses: A new family of nature-based materials. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 50, n. 24, p. 5438–5466, 2011.
- KLEMM, D. et al. Nanocellulose as a natural source for groundbreaking applications in materials science: Today's state. **Materials Today**, v. 21, n. 7, p. 720–748, 2018.
- KONDO, T.; SAWATARI, C. A Fourier transform infra-red spectroscopic analysis of the character of hydrogen bonds in amorphous cellulose. **Polymer**, v. 37, n. 3, p. 393–399, 1996.
- KONING, C. et al. Strategies for compatibilization of polymer blends. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 23, n. 4, p. 707–757, 1998.
- KORNTNER, P. et al. Chromophores in lignin-free cellulosic materials belong to three compound classes. Chromophores in cellulose, XII. **Cellulose**, v. 22, n. 2, p. 1053–1062, 2015.
- LAVOINE, N. et al. Microfibrillated cellulose - Its barrier properties and applications in

- cellulosic materials: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, n. 2, p. 735–764, 2012.
- LEE, K. Y. et al. Carbohydrate derived copoly(lactide) as the compatibilizer for bacterial cellulose reinforced polylactide nanocomposites. **Composites Science and Technology**, v. 72, n. 14, p. 1646–1650, 2012.
- LEJA, K.; LEWANDOWICZ, G. Polymer biodegradation and biodegradable polymers - A review. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 19, n. 2, p. 255–266, 2010.
- LEPETIT, A. et al. Alkylation of microfibrillated cellulose – A green and efficient method for use in fiber-reinforced composites. **Polymer**, v. 126, p. 48–55, 2017.
- LI, J.; GELLERSTEDT, G. The contribution to kappa number from hexeneuronic acid groups in pulp xylan. **Carbohydrate Research**, v. 302, n. 3–4, p. 213–218, 1997.
- LI, K. et al. Surface-modified and oven-dried microfibrillated cellulose reinforced biocomposites: Cellulose network enabled high performance. **Carbohydrate Polymers**, v. 256, n. December 2020, p. 117525, 2021.
- LI, S. et al. Cellulose synthase complexes act in a concerted fashion to synthesize highly aggregated cellulose in secondary cell walls of plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 113, n. 40, p. 11348–11353, 2016.
- LI, Y. et al. Effect of loadings of nanocellulose on the significantly improved crystallization and mechanical properties of biodegradable poly(ϵ -caprolactone). **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 147, p. 34–45, 2020.
- LI, Z. et al. Synergistic Collaboration between Regenerated Cellulose and Surfactant to Stabilize Oil/Water (O/W) Emulsions for Enhancing Oil Recovery. **Energy and Fuels**, v. 33, n. 1, p. 81–88, 2019.
- LIMA, J. C. S. et al. Anti-inflammatory activity of 4',6,7-trihydroxy-5-methoxyflavone from *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G.Lohmann. **Natural Product Research**, v. 34, n. 5, p. 726–730, 2020.
- LINDNER, P. et al. Cell death induced by the ER stressor thapsigargin involves death receptor 5, a non-autophagic function of MAP1LC3B, and distinct contributions from unfolded protein response components. **Cell Communication and Signaling**, v. 18, n. 1, p. 1–23, 2020.
- LIPATOV, Y. S. Polymer blends and interpenetrating polymer networks at the interface with solids. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 27, n. 9, p. 1721–1801, 2002.

LÖNNBERG, H. et al. Surface grafting of microfibrillated cellulose with poly(ϵ -caprolactone) - Synthesis and characterization. **European Polymer Journal**, v. 44, n. 9, p. 2991–2997, 2008.

LÖNNBERG, H. et al. Synthesis of polycaprolactone-grafted microfibrillated cellulose for use in novel bionanocomposites-influence of the graft length on the mechanical properties. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 3, n. 5, p. 1426–1433, 2011.

LOPES, S. Reino Fungi. In: **Introdução à biologia e a origem da vida, citologia, reprodução, embriologia e histologia, seres vivos, genética, evolução e ecologia**. 1^a ed. São Paulo: Saraiva, 2006. p. 226.

LUCAS, N. et al. Polymer biodegradation: Mechanisms and estimation techniques - A review. **Chemosphere**, v. 73, n. 4, p. 429–442, 2008.

LUCIANI, A.; CHAMPAGNE, M. F.; UTRACKI, L. A. Interfacial tension in polymer blends. **Macromolecular Symposia**, v. 126, p. 307–321, 1998.

LYU, S. P. et al. Role of block copolymers on suppression of droplet coalescence. **Macromolecules**, v. 35, n. 20, p. 7845–7855, 2002.

MACÍAS, B. et al. Complexes of Ni(II) and Cu(II) with ofloxacin: Crystal structure of a new Cu(II) ofloxacin complex. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 84, n. 3–4, p. 163–170, 2001.

MADY, M.; HAGGAG, E. Review on Fungi of Genus Penicillium As a Producers of Biologically Active Polyketides. **Journal of Advanced Pharmacy Research**, v. 0, n. 0, p. 0–0, 2020.

MANI, R.; NATESAN, V. Chrysin: Sources, beneficial pharmacological activities, and molecular mechanism of action. **Phytochemistry**, v. 145, p. 187–196, 2018.

MANOHARACHARY, C.; KUNWAR, I.; RAJITHASRI, A. Advances in applied mycology and fungal biotechnology. **Kavaka**, v. 43, p. 79–92, 2014.

MANRICH, S. Conceitos reológicos aplicados no processamento de termoplásticos. In: **Processamento de termoplásticos**. 2^a ed. São Paulo: Artliber, 2013. p. 76–120.

MARKOVIC, G.; VISAKH, P. M. **Polymer blends: State of art**. [s.l.] Elsevier Ltd, 2017.

MCCLEMENTS, D. J.; JAFARI, S. M. Improving emulsion formation, stability and performance using mixed emulsifiers: A review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 251, p. 55–79, 2018.

MCMULLIN, D. R.; NSIAMA, T. K.; MILLER, J. D. Secondary metabolites from *Penicillium corylophilum* isolated from damp buildings. **Mycologia**, v. 106, n. 4, p.

621–628, 2014.

MEIER, M. M. et al. Poly(ϵ -caprolactone triol) as plasticizer agent for cellulose acetate films: Influence of the preparation procedure and plasticizer content on the physico-chemical properties. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 15, n. 10, p. 593–600, 2004.

MEYER, V. et al. Growing a circular economy with fungal biotechnology: A white paper. **Fungal Biology and Biotechnology**, v. 7, n. 1, p. 1–23, 2020.

MITANI, S. et al. Biological properties of the novel fungicide cyazofamid against *Phytophthora infestans* on tomato and *Pseudoperonospora cubensis* on cucumber. **Pest Management Science**, v. 58, n. 2, p. 139–145, 2002.

MONDAL, S. Review on Nanocellulose Polymer Nanocomposites. **Polymer - Plastics Technology and Engineering**, v. 57, n. 13, p. 1377–1391, 2018.

MONTICELLI, O. et al. Silsesquioxanes: Novel compatibilizing agents for tuning the microstructure and properties of PLA/PCL immiscible blends. **European Polymer Journal**, v. 58, p. 69–78, 2014.

MOOHAN, J. et al. Cellulose nanofibers and other biopolymers for biomedical applications. A review. **Applied Sciences (Switzerland)**, v. 10, n. 1, 2020.

MOON, R. J. et al. **Cellulose nanomaterials review: Structure, properties and nanocomposites**. [s.l.: s.n.]. v. 40

MOOSAVINEJAD, S. M. et al. Evaluation of degradation in chemical compounds of wood in historical buildings using Ft-Ir And Ft-Raman vibrational spectroscopy. **Maderas: Ciencia y Tecnologia**, v. 21, n. 3, p. 381–392, 2019.

MORELLI, C. L. et al. Extraction and characterization of cellulose nanowhiskers from balsa wood. **Macromolecular Symposia**, v. 319, n. 1, p. 191–195, 2012.

MOUSAVI, S. R. et al. Polypropylene/ethylene propylene diene monomer/cellulose nanocrystal ternary blend nanocomposites: Effects of different parameters on mechanical, rheological, and thermal properties. **Polymer Composites**, v. 42, n. 9, p. 4187–4198, 2021.

NA, Y. H. et al. Compatibilization effect of poly (ϵ -caprolactone)-*b*-poly(ethylene glycol) block copolymers and phase morphology analysis in immiscible poly(lactide)/poly(ϵ -caprolactone) blends. **Biomacromolecules**, v. 3, n. 6, p. 1179–1186, 2002.

NAN, C. W.; SHEN, Y.; MA, J. Physical properties of composites near percolation. **Annual Review of Materials Research**, v. 40, p. 131–151, 2010.

NEVILLE, A. C. Defining the subject. In: **Biology of Fibrous Composites: development beyond the cell membrane**. Cambridge: Cambridge University Press, 1993. p. 1–25.

NIEDZWIEDZKI, D. M. et al. Functional characteristics of spirilloxanthin and keto-bearing Analogues in light-harvesting LH2 complexes from *Rhodobacter sphaeroides* with a genetically modified carotenoid synthesis pathway. **Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics**, v. 1847, n. 6–7, p. 640–655, 2015.

NIEDZWIEDZKI, D. M. et al. Origin of the S* excited state feature of carotenoids in light-harvesting complex 1 from purple photosynthetic bacteria. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 121, n. 32, p. 7571–7585, 2017.

NING, N. et al. Realizing the enhancement of interfacial interaction in semicrystalline polymer/filler composites via interfacial crystallization. **Progress in Polymer Science**, v. 37, n. 10, p. 1425–1455, 2012.

NOFAR, M.; SALEHIYAN, R.; SINHA RAY, S. Rheology of poly (lactic acid)-based systems. **Polymer Reviews**, v. 59, n. 3, p. 465–509, 2019.

NOZAKI, A. P. M.; LONA, L. M. F. Comparison between cellulose nanocrystal and microfibrillated cellulose as reinforcement of poly(vinyl acetate) composites obtained by either in situ emulsion polymerization or a simple mixing technique. **Cellulose**, v. 28, n. 4, p. 2273–2286, 2021.

OIKE, H.; YAGUCHI, T.; TEZUKA, Y. Tailored synthesis of branched polymers with poly(tetrahydrofuran) having an azetidinium salt end group. **Macromolecular Chemistry and Physics**, v. 200, n. 4, p. 768–773, 1999.

OLIAEI, E. et al. Microfibrillated lignocellulose (MFLC) and nanopaper films from unbleached kraft softwood pulp. **Cellulose**, v. 27, n. 4, p. 2325–2341, 2020.

OLIVON, F. et al. Antiviral compounds from *Codiaeum peltatum* targeted by a multi-informative molecular networks approach. **Journal of Natural Products**, v. 82, n. 2, p. 330–340, 2019.

OMRAN, A. A. B. et al. Micro-and nanocellulose in polymer composite materials: A review. **Polymers**, v. 13, n. 2, p. 1–30, 2021.

OSSWALD, T. A.; MENGES, G. **Material Science of Polymers for Engineers**. [s.l.: s.n.].

OSTAFINSKA, A. et al. Strong synergistic effects in PLA/PCL blends: Impact of PLA matrix viscosity. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 69, n. December 2016, p. 229–241, 2017.

- OUALI, N.; CAVAILLE, J. Y.; PEREZ, J. Elastic, viscoelastic and plastic behavior of multiphase polymer blends. **Plastics, Rubber and Composites Processing and Applications**, v. 16, n. 1, p. 55–60, 1991.
- OVENDEN, S. P. B. et al. Actephilol A and epiactephilol A: Two novel aromatic terpenoids isolated from *Actephila excelsa*. **Tetrahedron Letters**, v. 42, n. 43, p. 7695–7697, 2001.
- ÖZDEMİR, B.; NOFAR, M. Effect of solvent type on the dispersion quality of spray- and freeze-dried CNCs in PLA through rheological analysis. **Carbohydrate Polymers**, v. 268, n. February, 2021.
- PADSALGIKAR, A. D.; ELLISON, M. S. Modeling droplet deformation in melt spinning of polymer blends. **Polymer Engineering and Science**, v. 37, n. 6, p. 994–1002, 1997.
- PAUL, D. R.; BUCKNALL, C. B. **Polymer Blends - Vol 1: Formulation**. New York: John Wiley and Sons, 2000.
- PEGORETTI, F. V. A. D. A. Evaluation of the Role of Devulcanized Rubber on the Thermo - mechanical Properties of Polystyrene. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 28, n. 6, p. 1737–1748, 2020.
- PENNELLS, J. et al. Trends in the production of cellulose nanofibers from non-wood sources. **Cellulose**, v. 27, n. 2, p. 575–593, 2020.
- PERSTORP. **Capa™ 6500 Technical Data Sheet**. [s.l.: s.n.].
- PERSTORP. **Capa™ 7201A**. [s.l.: s.n.].
- POSADA, P. et al. Drying and redispersion of plant cellulose nanofibers for industrial applications: a review. **Cellulose**, v. 27, n. 18, p. 10649–10670, 2020.
- PRICHARD, R. K. Mode of action of the anthelmintic thiabendazole in *haemonchus contortus*. **Nature**, v. 228, n. 5272, p. 684–685, 1970.
- QU, X. YAN et al. Protective effects of phillyrin against influenza A virus in vivo. **Archives of Pharmacal Research**, v. 39, n. 7, p. 998–1005, 2016.
- QUARESIMIN, M.; SALVIATO, M.; ZAPPALORTO, M. **Toughening mechanisms in nanoparticle polymer composites: Experimental evidences and modeling**. [s.l.] Elsevier Ltd., 2015.
- RABELO, M. S. et al. Branqueamento de polpa celulósica kraft de eucalipto com peróxido ácido ativado por molibdênio. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1095–1098, 2009.
- RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. Introdução à célula eucariótica. In:

- RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. (Eds.). . **Biologia Vegetal**. 5. ed. [s.l.] Guanabara Koogan, 1996. p. 13–41.
- RAVERA, F. et al. Emulsification and emulsion stability: The role of the interfacial properties. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 288, p. 102344, 2021.
- REDDY, S. T. et al. Synthesis of some novel methyl β -orsellinate based 3, 5-disubstituted isoxazoles and their anti-proliferative activity: Identification of potent leads active against MCF-7 breast cancer cell. **Bioorganic Chemistry**, v. 105, n. October, p. 104374, 2020.
- ROBENSON, L. M. **Polymer Blends: A Comprehensive Review**. Munich: Hanser Publishers, 2007.
- ROBESON, L. M. Fundamentals of Polymer Blends. **Polymer Blends**, p. 11–64, 2007.
- ROBINSON, H. J.; PHARES, H. F.; GRAESSLE, O. E. Antimycotic Properties of Thiabendazole. **The Journal of investigative dermatology**, v. 42, n. 6, p. 479–482, 1964.
- ROJAS-AEDO, J. F. et al. The biosynthetic gene cluster for andrastin A in *Penicillium roqueforti*. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. MAY, p. 1–11, 2017.
- ROSA, D. D. S.; FILHO, R. P. **Biodegradação: um ensaio com polímeros**. [s.l.] USF Moara, 2003.
- SAEIDLLOU, S. et al. Poly(lactic acid) crystallization. **Progress in Polymer Science**, v. 37, n. 12, p. 1657–1677, 2012.
- SANDQUIST, D. PEER REVIEWED New horizons for microfibrillated cellulose. v. 66, n. September, p. 1–7, 2018.
- SARATHCHANDRAN, C. **Interfacial characterization of immiscible polymer blends using rheology**. [s.l.] Elsevier Inc., 2019.
- SCATTON, B.; ZIVKOVIC, B.; DEDEK, J. Antidopaminergic properties of yohimbine. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 215, n. 2, p. 494–499, 1980.
- SCHICK, C. Differential scanning calorimetry (DSC) of semicrystalline polymers. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 395, n. 6, p. 1589–1611, 2009.
- SEHGAL, P. et al. Inhibition of the sarco/endoplasmic reticulum (ER) Ca²⁺-ATPase by thapsigargin analogs induces cell death via ER Ca²⁺ depletion and the unfolded protein response. **Journal of Biological Chemistry**, v. 292, n. 48, p. 19656–19673, 2017.

- SHANMUGASUNDARAM, J. et al. Anxiolytic-like activity of 5-methoxyflavone in mice with involvement of GABAergic and serotonergic systems - in vivo and in silico evidences. **European Neuropsychopharmacology**, v. 36, p. 100–110, 2020.
- SHARMA, A. et al. Commercial application of cellulose nano-composites – A review. **Biotechnology Reports**, v. 21, n. 2018, p. e00316, 2019a.
- SHARMA, P. R. et al. Efficient Removal of Arsenic Using Zinc Oxide Nanocrystal-Decorated Regenerated Microfibrillated Cellulose Scaffolds. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 7, n. 6, p. 6140–6151, 2019b.
- SHARMA, V.; KAUR, J.; KUMAR, R. Proof of concept study for paper discrimination and age estimation through its degradation process by ATR-FTIR spectroscopy and chemometric models. **Australian Journal of Forensic Sciences**, v. 00, n. 00, p. 1–24, 2020.
- SHI, Z. H.; UTRACKI, L. A. Development of polymer blend morphology during compounding in a twin-screw extruder. Part II: Theoretical derivations. **Polymer Engineering & Science**, v. 32, n. 24, p. 1834–1845, 1992.
- SHIN, H. et al. Effect of interphase percolation on mechanical behavior of nanoparticle-reinforced polymer nanocomposite with filler agglomeration: A multiscale approach. **Chemical Physics Letters**, v. 635, p. 80–85, 2015.
- SHIN, S.; GOMBEDZA, F. C.; BANDYOPADHYAY, B. C. L-ornithine activates Ca²⁺ signaling to exert its protective function on human proximal tubular cells. **Cellular Signalling**, v. 67, n. November 2019, p. 109484, 2020.
- SHOKOOHI, S.; AREFAZAR, A. A review on ternary immiscible polymer blends: Morphology and effective parameters. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 20, n. 5, p. 433–447, 2009.
- SHUBHRA, Q. T. H.; ALAM, A. Mechanical properties of polypropylene composites : A review. 2011.
- SILVA, J. O mercado contemporâneo da celulose brasileira : uma proxy do comportamento da demanda e atratividade ao investimento privado The contemporary brazilian pulp market : a proxy for demand behavior and attractiveness to private investment. n. 1, p. 134–143, 2020.
- SILVA, S. S. et al. Extração e caracterização de xilanas de sabugos de milho. **Polímeros**, v. 8, n. 2, p. 25–33, 1998.
- SIMÃO, C. D. et al. Optical and mechanical properties of nanofibrillated cellulose: Toward a robust platform for next-generation green technologies. **Carbohydrate**

Polymers, v. 126, p. 40–46, 2015.

SINGHVI, M. S.; ZINJARDE, S. S.; GOKHALE, D. V. Polylactic acid: synthesis and biomedical applications. **Journal of Applied Microbiology**, v. 127, n. 6, p. 1612–1626, 2019.

SINQUEFIELD, S. et al. Nanocellulose Dewatering and Drying: Current State and Future Perspectives. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 8, n. 26, p. 9601–9615, 2020.

SIQUEIRA, G.; BRAS, J.; DUFRESNE, A. Cellulosic bionanocomposites: A review of preparation, properties and applications. **Polymers**, v. 2, n. 4, p. 728–765, 2010a.

SIQUEIRA, G.; BRAS, J.; DUFRESNE, A. Luffa cylindrica as a lignocellulosic source of fiber, microfibrillated cellulose, and cellulose nanocrystals. **BioResources**, v. 5, n. 2, p. 727–740, 2010b.

SIRÓ, I.; PLACKETT, D. Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: A review. **Cellulose**, v. 17, n. 3, p. 459–494, 2010.

SONG, I. S. et al. Interactions between cyazofamid and human drug transporters. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 34, n. 4, p. 1–10, 2020.

SPIEGEL, S. **Recent advances in applied polymer science**. [s.l.: s.n.]. v. 135

SUCINDA, E. F. et al. Development and characterisation of packaging film from Napier cellulose nanowhisker reinforced polylactic acid (PLA) bionanocomposites. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 187, n. May, p. 43–53, 2021.

SUNDAR, N. et al. Dual purpose, bio-based polylactic acid (PLA)-polycaprolactone (PCL) blends for coated abrasive and packaging industrial coating applications. **Journal of Polymer Research**, v. 27, n. 12, p. 1–18, 2020.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed. [s.l.: s.n.].

TAKAYANAGI, M.; UEMURA, S.; MINAMI, S. Application of equivalent model method to dynamic rheo-optical properties of crystalline polymer. **Journal of Polymer Science Part C: Polymer Symposia**, v. 5, n. 1, p. 113–122, 2007.

TAM, S. W.; WORCEL, M.; WYLLIE, M. Yohimbine: A clinical review. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 91, n. 3, p. 215–243, 2001.

THOMAS, P. et al. Comprehensive review on nanocellulose: Recent developments, challenges and future prospects. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 110, n. May, p. 103884, 2020.

THOMAS, S. et al. **Polymer Composites. Volumen 1: Macro- and**

Microcomposites. [s.l: s.n.].

THUSHARI, G. G. N.; SENEVIRATHNA, J. D. M. Plastic pollution in the marine environment. **Heliyon**, v. 6, n. 8, p. e04709, 2020.

TODO, M.; TAKAYAM, T. Fracture Mechanisms of Biodegradable PLA and PLA/PCL Blends. **Biomaterials - Physics and Chemistry**, 2011.

TOL, R. T.; MATHOT, V. B. F.; GROENINCKX, G. Confined crystallization phenomena in immiscible polymer blends with dispersed micro- and nanometer sized PA6 droplets, part 3: Crystallization kinetics and crystallinity of micro- and nanometer sized PA6 droplets crystallizing at high supercoolings. **Polymer**, v. 46, n. 9, p. 2955–2965, 2005.

TOLENTINO JÚNIOR, D. S. et al. Revisão sobre cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas aplicada à análise toxicológica de alimentos. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 5, p. e47910515419, 2021.

TONOLI, G. H. D. et al. Cellulose micro/nanofibres from Eucalyptus kraft pulp: Preparation and properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, n. 1, p. 80–88, 2012.

TRACHE, D. et al. **Nanocellulose: From Fundamentals to Advanced Applications.** [s.l: s.n.]. v. 8

TUCKER III, C. L.; MOLDENAERS, P. **Microstructural Evolution in Polymer Blends.** Annual Reviews in Fluid Mechanics. **Anais...**2002

UTRACKI, L. A. et al. During Compounding in a Twin-Screw Extruder . Part I: Droplet Dispersion and Coalescence-A Review. **Polymer**, v. 32, n. 24, p. 2955–2965, 1992.

UTRACKI, L. A. Compatibilization of polymer blends. **Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 80, n. 6, p. 1008–1016, 2002.

UTRACKI, L. A.; SHI, H. During Compounding in a Twin-Screw Extruder . Part I: Droplet Dispersion and Coalescence-A Review. **Polymer Engineering and Science**, v. 32, n. 24, p. 1824–833, 1992.

VAN CAETER, P. et al. Synthesis and bulk properties of poly(tetrahydrofuran)-poly(2-methyl-2-oxazoline) ABA triblock copolymers. **Polymer Bulletin**, v. 39, n. 5, p. 589–596, 1997.

VENTORIM, G.; CARASCHI, J. C.; SANSIGOLO, C. A. A influência dos ácidos hexenurônicos no rendimento e na branqueabilidade da polpa. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 373–377, 2009.

VISAGIE, C. M. et al. Fifteen new species of Penicillium. **Persoonia: Molecular**

Phylogeny and Evolution of Fungi, v. 36, n. JUNE, p. 247–280, 2016.

WACHTER, R. et al. Initiation of sacubitril/valsartan in haemodynamically stabilised heart failure patients in hospital or early after discharge: primary results of the randomised TRANSITION study. **European Journal of Heart Failure**, v. 21, n. 8, p. 998–1007, 2019.

WANG, B. et al. Investigation on Changes in the Miscibility, Morphology, Rheology and Mechanical Behavior of Melt Processed Cellulose Acetate through Adding Polyethylene Glycol as a Plasticizer. **Journal of Macromolecular Science, Part B: Physics**, v. 55, n. 9, p. 894–907, 2016a.

WANG, J.; CHEUNG, M. K.; MI, Y. Miscibility and morphology in crystalline/amorphous blends of poly (caprolactone)/poly(4-vinylphenol) as studied by DSC, FTIR, and ¹³C solid state NMR. **Polymer**, v. 43, n. 4, p. 1357–1364, 2002.

WANG, M. et al. Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular Networking. **Nature biotechnology**, v. 34, n. 8, p. 828–837, 2016b.

WANG, Q. et al. **Processing nanocellulose to bulk materials: a review**. [s.l.] Springer Netherlands, 2019. v. 26

WANG, T.; DRZAL, L. T. Cellulose-nanofiber-reinforced poly(lactic acid) composites prepared by a water-based approach. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 4, n. 10, p. 5079–5085, 2012.

WANG, Y. et al. Cellulose nanofibers reinforced biodegradable polyester blends: Ternary biocomposites with balanced mechanical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 233, n. January, p. 115845, 2020.

WEI, T. et al. Protective Effects of Phillyrin on H₂O₂-induced Oxidative Stress and Apoptosis in PC12 Cells. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 34, n. 8, p. 1165–1173, 2014.

WINUPRASITH, T.; SUPHANTHARIKA, M. Microfibrillated cellulose from mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) rind: Preparation, characterization, and evaluation as an emulsion stabilizer. **Food Hydrocolloids**, v. 32, n. 2, p. 383–394, 2013.

WOOLTORTON, E. Risperidone (Risperdal): Increased rate of cerebrovascular events in dementia trials. **Cmaj**, v. 167, n. 11, p. 1269–1270, 2002.

WORK, W. J. et al. Definitions of terms related to polymer blends, composites, and multiphase polymeric materials (IUPAC Recommendations 2004). **Pure and Applied**

Chemistry, v. 76, n. 11, p. 1985–2007, 2004.

WU, D. et al. Selective localization of nanofillers: Effect on morphology and crystallization of PLA/PCL blends. **Macromolecular Chemistry and Physics**, v. 212, n. 6, p. 613–626, 2011.

WURM, F. R. et al. Plastics and the Environment—Current Status and Challenges in Germany and Australia. **Macromolecular Rapid Communications**, v. 41, n. 18, p. 1–12, 2020.

XIANG, S. et al. Toughening modification of PLLA with PCL in the presence of PCL-b-PLLA diblock copolymers as compatibilizer. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 30, n. 4, p. 963–972, 2019.

XU, K. et al. Antifungal Secondary Metabolites Produced by the Fungal Endophytes: Chemical Diversity and Potential Use in the Development of Biopesticides. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, n. June, p. 1–17, 2021.

YANDRAPALLI, S. et al. Profile of sacubitril/valsartan in the treatment of heart failure: Patient selection and perspectives. **Vascular Health and Risk Management**, v. 13, p. 369–382, 2017.

YEO, J. S.; HWANG, S. H. The effect of dense polymer brush on the microfibrillated cellulose for the mechanical properties of poly(ϵ -caprolactone) biocomposites. **International Journal of Adhesion and Adhesives**, v. 78, n. June, p. 89–94, 2017.

YOHAM, A. L.; CASADESUS, D. **Phenoxybenzamine**. [s.l: s.n.].

YONG, C. et al. Interfacial modification mechanism of nanocellulose as a compatibilizer for immiscible binary poly(vinyl alcohol)/poly(ethylene oxide) blends. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 135, n. 9, p. 1–11, 2018.

YU, B. et al. Fabrication of PLA/CNC/CNT conductive composites for high electromagnetic interference shielding based on Pickering emulsions method. **Composites Part A: Applied Science and Manufacturing**, v. 125, n. January, p. 105558, 2019.

ZANÃO, M. et al. Evaluation of Kraft-PS Cooking for Eucalypt and Pine Wood Chip Mixtures. **Journal of Wood Chemistry and Technology**, v. 39, n. 3, p. 149–165, 2019.

ZARE, Y. Effects of interphase on tensile strength of polymer/CNT nanocomposites by Kelly-Tyson theory. **Mechanics of Materials**, v. 85, p. 1–6, 2015.

ZARE, Y.; RHEE, K. Y. Prediction of tensile modulus in polymer nanocomposites containing carbon nanotubes (CNT) above percolation threshold by modification of

- conventional model. **Current Applied Physics**, v. 17, n. 6, p. 873–879, 2017.
- ZENG, C. et al. Thermal stability of copolymer derived from l-lactic acid and poly(tetramethylene) glycol through direct polycondensation. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 111, n. 1, p. 633–646, 2013.
- ZHANG, C. et al. Combined mechanical grinding and enzyme post-treatment leading to increased yield and size uniformity of cellulose nanofibrils. **Cellulose**, v. 27, n. 13, p. 7447–7461, 2020a.
- ZHANG, D. et al. Microplastic pollution in deep-sea sediments and organisms of the Western Pacific Ocean. **Environmental Pollution**, v. 259, p. 113948, 2020b.
- ZHANG, X. et al. Irsogladine maleate suppresses indomethacin-induced elevation of proinflammatory cytokines and gastric injury in rats. **World Journal of Gastroenterology**, v. 14, n. 30, p. 4784–4790, 2008.
- ZHAO, X. et al. Super tough poly(lactic acid) blends: A comprehensive review. **RSC Advances**, v. 10, n. 22, p. 13316–13368, 2020.
- ZHENG, X. et al. Synthesis and anticancer effect of chrysin derivatives. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 13, n. 5, p. 881–884, 2003.
- ZHONG, Y. et al. Biodegradable polymers and green-based antimicrobial packaging materials: A mini-review. **Advanced Industrial and Engineering Polymer Research**, v. 3, n. 1, p. 27–35, 2020.
- ZINGE, C.; KANDASUBRAMANIAN, B. Nanocellulose based biodegradable polymers. **European Polymer Journal**, v. 133, n. April, p. 109758, 2020.
- ZUPPOLINI, S. et al. Self-associating cellulose-graft-poly(ϵ -caprolactone) to design nanoparticles for drug release. **Materials Science and Engineering C**, v. 108, n. October 2019, p. 110385, 2020.