



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE P²CEM
MATERIAIS (P²CEM)

Jamilly Ribeiro Lopes

Produção e Caracterização de Filmes de Poli (3-Hidroxibutirato) (PHB) com
Alginato de Sódio Esterificado e Poli (Etileno Glicol) (PEG)

Orientador: Prof. Dr. LUÍS EDUARDO ALMEIDA

SÃO CRISTÓVÃO, SE – BRASIL

OUTUBRO DE 2016

Produção e Caracterização de Filmes de Poli (3-Hidroxibutirato) (PHB) com Alginato
de Sódio Esterificado e Poli (Etileno Glicol) (PEG)

Jamilly Ribeiro Lopes

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTORA EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS.

Orientador: Dr. LUIS EDUARDO ALMEIDA

SÃO CRISTÓVÃO, SE – BRASIL

OUTUBRO DE 2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

L864p Lopes, Jamilly Ribeiro
Produção e caracterização de filmes de poli (3-hidroxi-
butirato) (PHB) com alginato de sódio esterificado e poli
(etileno glicol) / Jamilly Ribeiro Lopes; Orientador Luís
Eduardo Almeida. - São Cristóvão, 2016.
82 f.: il.

Dissertação (Doutorado em Ciência e Engenharia de
materiais) - Universidade Federal de Sergipe, 2016.

1. Biopolímeros. 2. Alginatos. 3. Polietileno. 4. Polímeros
na medicina. 5. Curativos. 6. Esterificação. I. Almeida, Luís
Eduardo, orient. II. Título.

CDU 577.11:539.23

“PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE POLI (3-
HIDROXIBUTIRATO) (PHB) COM ALGINATO DE SÓDIO
ESTERIFICADO E POLI (ETILENO GLICOL) (PEG)”

JAMILLY RIBEIRO LOPES

Tese submetida ao corpo docente do PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS da Universidade Federal de Sergipe
como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de DOUTOR em
CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS.

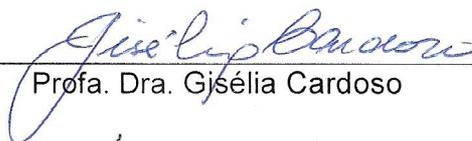
Aprovada por:



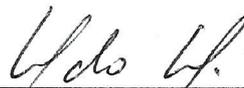
Prof. Dr. Luís Eduardo Almeida



Profa. Dra. Isabel Cristina Rigoli



Profa. Dra. Gisélia Cardoso



Prof. Dr. Marcelo Massayoshi Ueki



Profa. Dra. Iara de Fátima Gimenez

SÃO CRISTÓVÃO, SE – BRASIL.

Outubro/2016

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me permitir chegar até aqui, sem Ele nada seria possível

Ao Professor Luís Eduardo pela orientação, ensinamentos, conselhos e paciência.

A minha família, que sempre me incentivou, meus pais João e Núbia, meu esposo

Rodrigo, minha irmã Bruna e minha sobrinha Belly.

Aos meus amigos Cristiano, Leila, Geane, Douglas, Mirna, Joyce, Ivory, Liliane,

Ricardo, Shirley a eles meu muito obrigado, pela amizade, conselhos e

companheirismo.

Ao professor Rodrigo Reis por toda a ajuda que me deu durante o meu doutorado.

A todos os professores do

P²CEM, em especial aos professores Ueki e Euler pelo apoio e conselhos durante estes

anos.

A Biocycle® pelo fornecimento do Poli (hidroxibutirato) (PHB).

A CAPES pela bolsa e auxílio financeiro.

De um modo geral todos que cruzaram meu caminho durante estes anos que fiz meu doutorado foram importantes pois me ajudaram nessa caminhada, torceram pelo meu

sucesso e tornaram esses dias mais fáceis e alegres.

RESUMO

Materiais alternativos têm sido estudados e desenvolvidos para substituir curativos de pele convencionais devido ao surgimento de novos biopolímeros e o desenvolvimento de novas técnicas de fabricação de filmes poliméricos. Como um novo material para curativos poliméricos, filmes de poli (hidroxibutirato) (PHB) misturado com alginato esterificado (ALG-e) e poli (etilenoglicol) foram estudados. A esterificação de alginato de sódio (ALG-e) gerou um material com característica anfifílica e com uma compatibilidade maior com o PHB. PEG foi adicionado como plastificante ao sistema PHB/ALG-e, uma vez que PEG é muitas vezes utilizado em misturas com PHB para melhorar a flexibilidade e reduzir a hidrofobicidade. Nas quantidades estudadas, verificou-se que tanto PEG como ALG-e aumentaram o grau de cristalinidade, o entanto foi observada uma redução na natureza hidrofóbica dos filmes de PHB. Nos filmes com concentrações máximas de ALG-e e PEG um aumento na permeabilidade ao vapor de água e uma diminuição na resistência à tração foram alcançadas devido ao efeito sinérgico causado por uma melhor homogeneização de PEG e ALG-e na matriz de PHB.

Palavras-Chave: Biopolímeros, Alginatos, Polietileno, Polímeros na medicina, Curativos, Esterificação.

ABSTRACT

Alternative materials have long been studied and developed to replace conventional skin dressings due to the emergence of new biopolymers and development of new polymeric film fabrication techniques. As a new material for polymeric dressings, films of poly (hydroxybutyrate) (PHB) blended with esterified alginate (ALG-e) and Poly (ethyleneglycol) were studied. The esterification of sodium alginate (ALG-e) generated a material with some amphiphilic characteristics and increased its compatibility with the PHB. PEG was added as plasticizer in PHB/ALG-e films, since PEG is often used in blends with PHB to improve its flexibility and reduce its hydrophobicity. At the amounts studied, it was found that both PEG and ALG-e increase the degree of crystallinity, but a decrease in the hydrophobic nature of PHB films was observed. At the maximum concentration of ALG-e and PEG used an increase in water vapor permeability and a decrease in tensile strength was reached due to the synergistic effect caused by better homogenization of PEG and ALG-e in the PHB matrix.

Keywords: Biopolymers, Alginates, Polyethylene, Polymers in medicine, Dressings, Esterification.

SUMÁRIO

RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE EQUAÇÕES.....	xi
1.INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS	5
2.1. Objetivo Geral	5
2.2. Objetivos Específicos	5
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	6
3.1. Curativos para ferimentos.....	6
3.2. Poli (3-hidroxi-butirato) – PHB.....	7
3.2.1. Estado Cristalino – Morfologia dos cristais poliméricos.....	9
3.3. Alginato de Sódio- ALG.....	12
3.4. Poli (etileno glicol) (PEG) como plastificante.....	14
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
4.1. Materiais.....	17
4.2. Métodos.....	17
4.2.1. Esterificação do ALG.....	17
4.2.2. Preparo dos filmes de PHB/ALG-e/PEG.....	19
4.2.3. Caracterização dos filmes produzidos.....	21
4.2.3.1. Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	21
4.2.3.2. Difração de raios X (DRX).....	21

4.2.3.3. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	23
4.2.3.4. Análise Termogravimétrica (TG).....	24
4.2.3.5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	25
4.2.3.6. Ângulo de Contato.....	25
4.2.3.7. Permeação a vapor de água (PVA).....	26
4.2.3.8. Propriedade Mecânica.....	27
4.2.3.9. Análise estatística.....	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5.1. Alginato de sódio esterificado (ALG-e).....	29
5.2. Filmes de PHB/ALG-e/PEG.....	33
5.2.1. Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	34
5.2.2. Cristalinidade e transições térmicas.....	39
5.2.3. Avaliação morfológica – Microscopia de Transmissão Eletrônica (MEV).....	46
5.2.4. Hidrofilicidade - Ângulo de Contato e propriedade a vapor de água (PVA).....	48
5.2.5. Propriedades Mecânicas.....	51
6. CONCLUSÃO.....	54
7. TRABALHOS FUTUROS.....	56
8. REFERÊNCIAS.....	57

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação da estrutura química do PHB.....	8
Figura 2. Estruturas existentes durante a cristalização.....	10
Figura 3. Curva de DSC para PHB com aquecimento/resfriamento/aquecimento, apresentando os seguintes eventos: 1° Fusão (F ₁), cristalização do fundido (C ₁), Cristalização secundária (C ₂) e 2° Fusão (F ₂).....	11
Figura 4. Representação da estrutura química do Alginato de sódio [19].....	12
Figura 5. Reação de esterificação de Fischer.....	14
Figura 6. Representação da estrutura química do PEG.....	15
Figura 7. Produção de filme pela técnica de <i>casting</i>	20
Figura 8. Imagem do filme de PHB puro.....	20
Figura 9. Espectros de FTIR (modo ATR) do ALG e ALG-e sintetizado	29
Figura 10. Curvas de TG (a) e DTG (b) do ALG e ALG –e.....	31
Figura 11. Espectros de FTIR dos filmes de PHB puro, PHB/ALG-e PHB/PEG e PHB/ALG-e/PEG (topo) e espectros de FTIR deslocando as bandas para calcular o índice de cristalinidade (inferior).....	36
Figura 12. Difratomogramas de raios X dos filmes de PHB puro, PHB/ALG-e PHB/PEG e PHB/ALG-e/PEG.....	40
Figura 13. Curvas de DSC do segundo aquecimento dos filmes de PHB puro, PHB/ALG-e PHB/PEG e PHB/ALG-e/PEG.....	43
Figura 14. Curvas Termogravimétricas (TG) dos filmes PHB puro, PHB/ALG-e PHB/PEG e PHB/ALG-e/PEG.....	45

Figura 15. MEV da superfície dos filmes de PHB puro (a), PHB _(97,4) (b), PHB ₍₉₅₎ (c) e PHB _(91,4) (d).....	47
Figura 16. MEV da seção transversal dos filmes de PHB puro (a), PHB _(97,4) (b), PHB ₍₉₅₎ (c) e PHB _(91,4) (d)).....	48
Figura 17. Permeabilidade a vapor de água dos filmes de PHB, PHB/ALG-e e PHB/ALG-e/PEG.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Formulação dos filmes.....	20
Tabela 2. Concentração de componentes nos ALG e ALG-e.....	31
Tabela 3. Número de onda do PHB puro.....	35
Tabela 4. Número de onda do ALG-e e PEG puro.....	37
Tabela 5. IC, grau de cristalinidade (%GC), fração cristalina (C) e propriedades térmicas (T_g e ΔH) dos filmes de PHB, PHB/ALG-e, PHB/PEG, PHB/ALG-e/PEG.....	39
Tabela 6. Tamanho de cristalito para os filmes de PHB puro, PHB/ALG-e e PHB/ALG-e/PEG.....	41
Tabela 7. Parâmetros de rede para os filmes de PHB puro, PHB/ALG-E e PHB/ALG-E/PEG.....	42
Tabela 8. Temperaturas de degradação térmica dos filmes de PHB puro, PHB/ALG-e e PHB/ALG-e/PEG.....	45
Tabela 9. Ângulo de contato para os filmes de PHB, PHB/ALG-e e PHB/ALG-e/PEG).....	48
Tabela 10. Modulo de Young, Tensão na Ruptura e Deformação na Ruptura dos filmes de PHB, PHB/ALG-e PHB/PEG e PHB/ALG.....	52

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1. Grau de esterificação.....	18
Equação 2. Solubilidade do ALG-e em Clorofórmio.....	18
Equação 3. Fração cristalina.....	22
Equação 4. Tamanho de cristalito.....	22
Equação 5. Equação de Bragg.....	22
Equação 6. Parâmetros de rede.....	23
Equação 7. Volume de célula unitária.....	23
Equação 8. Grau de cristalinidade.....	24
Equação 9. Taxa de transmissão de vapor de água.....	26
Equação 10. Permeabilidade a vapor de água.....	27

1. INTRODUÇÃO

Com o surgimento de novos biopolímeros e desenvolvimento de técnicas de fabricação, materiais alternativos têm sido muito estudados e desenvolvidos para substituir curativos de pele convencionais. Além de promoção de proteção e auxílio na cicatrização de feridas, características como flexibilidade, atoxicidade, capacidade de aderência a área afetada, diminuição da perda de fluidos e eletrólitos e barreira contra proliferação de microrganismos são características importantes num curativo de pele [1,2].

Feridas crônicas na pele requerem bastante atenção uma vez que o ferimento fica sujeito à invasão de bactérias e à perda de fluidos corpóreos. Neste contexto, uma biomembrana utilizada como curativo de pele para o tratamento de tais feridas deverá ser capaz de manter a umidade dentro do ferimento, resistir à infecção e não induzir a inflamação [1].

A eficiência do material utilizado como curativo será, portanto, avaliada por três características principais: flexibilidade (que garantirá uma boa fixação na região lesionada), razão hidrofobicidade/hidrofilicidade (responsável pelo controle da perda de fluidos corpóreos e gerenciamento da umidade local) e, por fim, permeabilidade a CO₂, O₂ e vapor d'água, que serão responsáveis não somente pelo gerenciamento da umidade, mas também do ambiente químico local [1,3,4].

O PHB é um biopolímero muito utilizado na síntese de biomateriais porque suas características de biocompatibilidade, não toxicidade, processabilidade e 100% de biodegradabilidade [5] o tornam muito atrativo neste tipo de síntese, tais como arcabouços [6,7], dispositivos de osteossíntese, suturas cirúrgicas, implantes,

nanoestruturas para liberação controlada de ativos, engenharia tecidual e substituto de pele [8-11].

Esta versatilidade do PHB já vem sendo explorada comercialmente, por exemplo, na sutura absorvível TephaFLEX®, lançada pela empresa Tepha EUA e aprovado pela *Food and Drug Administration* EUA (FDA) para aplicações clínicas [12].

Entretanto, devido ao seu elevado grau de cristalinidade, o PHB é um termoplástico altamente quebradiço de difícil processabilidade, com propriedades mecânicas e estabilidade térmica inapropriados para este uso, limitando sua exploração comercial [13,14].

Além da fragilidade outros limitantes como hidrofobicidade e baixa permeabilidade a gases e vapores de água [15] vêm despertando o interesse dos cientistas, refletindo em uma variedade de estudos recentes envolvendo o PHB na perspectiva de contornar tais limitações e explorar suas outras características promissoras discutidas anteriormente [7].

Para diminuir o grau de cristalinidade do PHB existem alternativas, por exemplo, a adição de um componente polimérico amorfo afeta as propriedades da fase cristalina do componente semicristalino, além de introduzir defeitos ao longo da cadeia polimérica, utilizar agentes nucleantes, plastificantes, outros tipos de aditivos [7,16,17].

A adição de um componente polimérico amorfo além de afetar o grau de cristalinidade também altera a morfologia, as dimensões dos esferulitos, e também a interface entre a fase amorfa e a fase cristalina [18].

Na busca por materiais promissores para a formação de blendas envolvendo o PHB, seria natural iniciar com materiais com propriedades complementares que também vêm sendo testados para o mesmo fim, garantindo assim a biodegradabilidade e biocompatibilidade do sistema formado.

A mistura de PHB com polissacarídeos como a amilose, dextrina e alginato de sódio visando o uso da blenda como biomaterial é bem promissora e já foi estudada por Yasin *et al.* [19].

O trabalho de Yasin e seus colaboradores abriu campo para se explorar a produção de filmes de PHB com polissacarídeos e o alginato de sódio, pelas suas características físico-químicas interessantes, se justifica como candidato promissor à produção destes filmes visando futuras aplicações como curativo de pele.

O Alginato de sódio é muito utilizado no tratamento de lesões como um substituto para materiais convencionais, favorecendo a absorção do exsudado, garantindo sua aderência ao ferimento [20].

O sódio dos curativos de alginato reage com exsudado da ferida, favorecendo uma troca iônica e transformando as fibras em um gel garantindo um meio úmido ao leito da ferida, ambiente ideal para a restauração tecidual [20].

Existem comercialmente curativos de alginato tais como: Kaltocarb®, Algisite M®, Kaltogel®, Sorbsan®, entre outros. Isso mostra que o alginato é um material bastante promissor na engenharia tecidual [20].

Apesar de promissor, a produção de blendas envolvendo o PHB e o alginato de sódio apresenta um desafio. Por possuírem naturezas químicas opostas (o primeiro hidrofóbico e o segundo hidrofílico), a mistura desses polímeros é termodinamicamente desfavorável [21].

A fim de se contornar esta dificuldade, uma estratégia que vem sendo utilizada envolve a funcionalização do alginato pelos seus grupos hidroxílicos e carboxílicos livres, tornando-o mais compatível à estrutura química do PHB [21,22].

Uma das funcionalizações mais simples é a esterificação dos grupos carboxílicos com a inserção de grupos alquila de tamanho apropriado, tornando-o mais hidrofóbico [21,22].

Broderick *et al.* [23] afirmam que a esterificação do alginato de sódio confere ao material um caráter anfifílico, além de manter propriedades importantes do material original, tais como gelificação e não toxicidade.

Adicionalmente, outros aditivos não tóxicos, biodegradáveis e biocompatíveis podem ser adicionados às blendas envolvendo o alginato de sódio esterificado e o PHB hidrofóbico, visando uma maior compatibilidade dos constituintes da matriz final.

Um polímero promissor para este fim é o poli (etileno glicol) (PEG), uma vez que, além de garantir tais características, apresenta interação favorável com ambos os polímeros.

Muitos trabalhos da literatura trazem PEG em blendas com o PHB com o intuito de melhorar sua flexibilidade através da redução do grau de cristalinidade. Além disso, a presença do PEG reduz a hidrofobicidade da superfície, aumenta a solubilidade em água e em solventes orgânicos e a permeabilidade gases e vapores [24-26].

Neste sentido, focamos neste trabalho, a produção de filmes de poli (3 - hidroxibutirato) com alginato de sódio esterificado com o n-butanol (PHB/ALG-e) e poli (etileno glicol) (PHB/ALG-e/PEG) foi realizada, buscando obter um biomaterial com características promissoras para uso como curativo de pele.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a influência da incorporação do alginato de sódio esterificado e PEG em filmes de PHB com relação às propriedades mecânicas e permeação à vapor de água.

2.2. Objetivos Específicos

- 2.2.1. Sintetizar o alginato de sódio esterificado com o n-butanol e caracterizar físico-quimicamente;
- 2.2.2. Produzir filmes de PHB com alginato esterificado, PHB com PEG e de PHB com alginato esterificado e PEG em diversas proporções;
- 2.2.3. Caracterizar termicamente os filmes produzidos;
- 2.2.4. Avaliar a morfologia e a cristalinidade dos filmes produzidos;
- 2.2.5. Determinar as propriedades mecânicas de tração dos filmes produzidos;
- 2.2.6. Mensurar a molhabilidade e a permeação a vapor d'água dos filmes produzidos.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. Curativo para ferimentos

Feridas crônicas na pele são bastante perigosas uma vez que o ferimento fica sujeito à invasão de bactérias e à perda de fluidos corpóreos [1].

Complicações como acúmulo de CO₂ conduz ao aumento da acidez da região ulcerada, levando ao retardo no processo cicatricial, enquanto a carência de O₂ diminui a regeneração tecidual e favorece o crescimento de bactérias anaeróbicas [27]. Assim, o fluxo entre os gases se torna uma variável importante no processo cicatricial.

Um biomaterial é “qualquer substância sintética ou natural que possui propriedades mecânicas, químicas, físicas e biológicas viáveis para ser utilizada como dispositivo médico ou que posta em contato com sistemas biológicos tenha função de tratar, aumentar ou substituir qualquer tecido, órgão ou função do corpo” [28].

A eficiência de um biomaterial utilizado como curativo é avaliada por três características principais: flexibilidade (que garantirá uma boa fixação na região lesionada), razão hidrofobicidade/hidrofilicidade (responsável pelo controle da perda de fluidos corpóreos e gerenciamento da umidade local) e, por fim, permeabilidade a CO₂, O₂ e vapor d'água, que serão responsáveis não somente pelo gerenciamento da umidade, mas também do ambiente químico local ideal para a cicatrização [1, 3].

Dentre os vários tipos de curativos, temos aqueles que interagem com o ferimento que, para promover a cicatrização, mantém a umidade na ferida, absorve o excesso de exsudado, permitem a troca gasosa e promovem isolamento térmico. Tais

curativos se apresentam usualmente na forma de filmes ou espumas poliméricas flexíveis de aplicação simples (facilmente fixado e removido da região lesionada), assim como devem ser esterilizáveis e atóxicos, biocompatíveis e não alergênicos, agindo como barreiras contra bactérias [1,2,10,29].

Os curativos para ferimentos mais encontrados são fabricados a base de quitosana, ácido hialurônico, colágeno e silicone, sendo que outros materiais têm sido muito investigados tais como, alginatos, heparina, celulose (Bionext) e gelatina [30].

Outro material que tem sido muito usado no campo médico é o poli (3-hidroxi-butirato) (PHB), um biopolímero biocompatível, não tóxico e biodegradável [5].

3.2. Poli (3-hidroxi-butirato) – PHB

Os poli (hidroxialcanoatos) PHAs são poliésteres estruturalmente simples oriundos do armazenamento intracelular de bactérias que utilizam substratos de fontes renováveis sob condições limitadas de crescimento como reserva de carbono e de energia [6,16,31].

Dentre os polímeros da família dos PHAs o PHB é mais estudado [16] e produzidos industrialmente, já que sua obtenção de fontes renováveis por processos biotecnológicos é de baixo impacto ambiental [32].

O PHB foi reportado pela primeira vez em 1901, mas estudos mais detalhados foram conduzidos por Lemoigne em 1925 [33].

No Brasil, a sacarose da cana de açúcar tem sido utilizada como fonte de carbono para a fermentação aeróbica pela bactéria *Alcaligenes Eutrophus* para a obtenção deste polímero [34], o que o torna estratégico para o contexto nacional.

Diversas são as aplicações potenciais e atuais do PHB reportadas na literatura, tais como, arcabouços [35] membranas para filtração, filmes para embalagens de alimentos, liberação de fármacos, nanopartículas [6,36,37], estruturados na forma de compósitos com adição de plastificantes e aditivos, blendas com outros polímeros e/ou copolímeros ou até mesmo possíveis alterações químicas no bulk ou superfície [7].

O PHB é um polímero termoplástico que possui propriedades físicas e mecânicas comparáveis as do polipropileno isotático. É um material duro e quebradiço, não é solúvel em água e é pouco permeável a O₂, H₂O e CO₂. Possui temperatura de transição vítrea (T_g) de 0- 5 °C e temperatura de fusão (T_m) entre 175 e 196°C, tais faixas de variação são decorrentes da variação da massa molecular do PHB (Figura 1) [15].

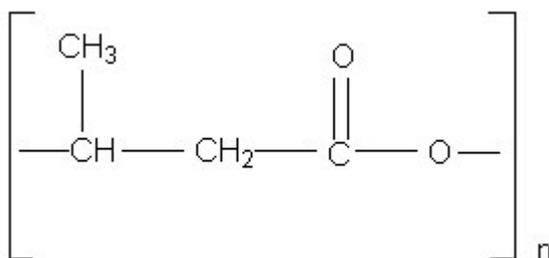


Figura 1. Representação da estrutura química do PHB.

Os polímeros podem ser classificados em duas categoriais: os que possuem regiões cristalinas e os totalmente amorfos [18]. A partir de algumas das propriedades de um polímero é possível identificar desafios em seu processamento. Como apresentado acima, o PHB é um polímero semicristalino que a depender da massa molar exibe um

grau de cristalinidade que pode chegar até 80% [15]. Além de apresentar um fenômeno de cristalização secundária durante o armazenamento (evento representado pelo pico C₂ na figura 2) [8].

A motivação do conhecimento sobre cinética de cristalização do PHB deriva do fato de que a fração cristalina dele determina a microestrutura final, conseqüentemente as propriedades mecânicas [38].

Resultados de DSC revelam que o PHB se cristaliza no estado fundido e no estado sólido amorfo fenômeno conhecido como cristalização a frio, secundária ou recristalização [32].

No estado cristalino a morfologia dos cristais é dependente da origem da cristalização: se de solução ou do estado fundido. A cristalização por solução diluída gera monocristais e em uma solução mais concentrada a cristalização se dá por um processo mais complexo com formação de mais de um tipo de cristal. Quando a cristalização parte do fundido gera esferulitos que crescem e perdem sua forma esférica e dão origem a poliedros [18].

3.2.1. Estado cristalino - Morfologia dos cristais poliméricos

O processo de cristalização se dá com a organização das cadeias formando pequenos cristais ou cristalitos, que crescem e se propagam em longas cadeias, essas se dobram formando lamelas, que se ramificam em todas as direções como fibras até um crescimento esférico, formando os esferulitos [18]. Na figura 2 estão apresentadas as estruturas que podem se formar durante a cristalização.

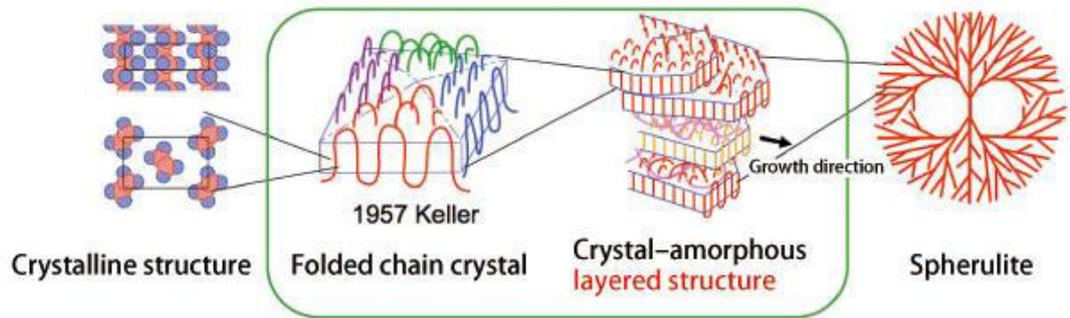


Figura 2. Estruturas existentes durante a cristalização [39].

A cristalização do PHB resulta na formação de cristais com célula unitária ortorrômbica. A estrutura cristalina do PHB apresenta conformação helicoidal regular com duas cadeias antiparalelas (ao longo do eixo c) com parâmetros de rede $a = 5,76$, $b = 13,20$ e $c = 5.96 \text{ \AA}$ [40].

Porém, o crescimento dos esferulitos leva à segregação de material amorfo da região inter e interesferulítica. Por isso que um material polimérico perfeitamente cristalino apresenta no máximo 90% de cristalinidade, porque nem todas as cadeias do polímero cristalizam [18].

A Figura 3 apresenta um comportamento típico do PHB em relação a transições térmicas.

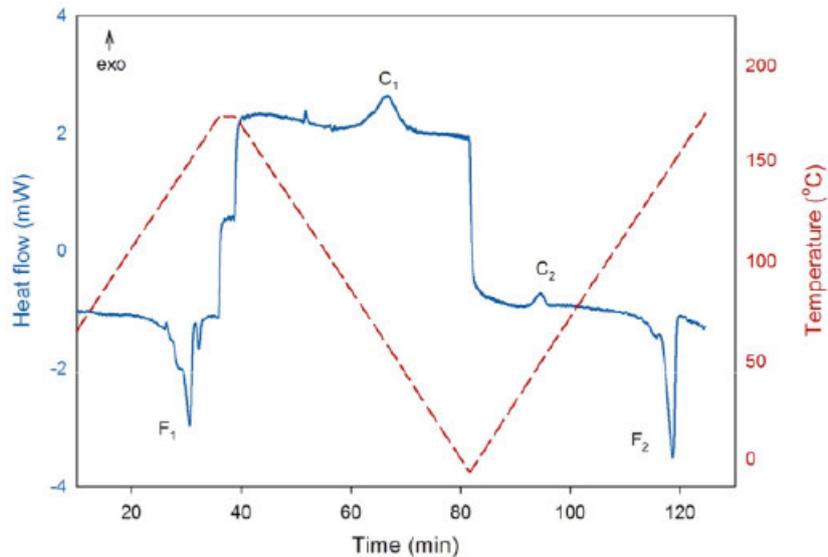


Figura 3. Curva de DSC para o PHB com aquecimento/resfriamento/aquecimento, apresentando os seguintes eventos: 1° Fusão (F_1), cristalização do fundido (C_1), Cristalização secundária (C_2) e 2° Fusão (F_2) [32].

Essa cristalização secundária se dá pelos seguintes motivos:

1) um polímero gerado de uma fermentação bacteriana apresenta alta regularidade e está facilitado o processo de “encaixe” das cadeias adjacentes resultando em até 80% de cristalinidade [8]. A alta pureza também influencia na baixa densidade, pois a presença de poucos núcleos heterogêneos resulta em um lento processo de cristalização [41], gerando largos esferulitos, com inúmeras fraturas interesferulíticas, consequentemente alta fragilidade [38].

2) uma T_g bem abaixo da temperatura ambiente garante uma mobilidade segmental suficiente para a constante reorganização morfológica (até um estado de mínima energia) durante armazenamento [8].

Em suma, fatores como baixa densidade de nucleação e T_g abaixo da temperatura ambiente levam o PHB à formação de grandes esferulitos, que possibilita a presença e propagação de trincas culminando em um material frágil. A fragilidade se caracteriza

como um fenômeno muito complexo com uma dificuldade muito grande para melhorias, principalmente das propriedades mecânicas do PHB [42].

Para diminuir o grau de cristalinidade do PHB e consequentemente a melhora nas propriedades mecânicas, dentre muitas alternativas seria natural iniciar com materiais com propriedades complementares que também vêm sendo testados para o mesmo fim, garantindo assim a biodegradabilidade e biocompatibilidade do sistema formado, a exemplo do polissacarídeo alginato de sódio e do polímero polietileno glicol.

3.3. Alginato de Sódio – ALG

O alginato é um polímero extraído de bactérias ou de algas marrons e é formado por ligações glicosídicas do tipo β (1-4) entre os ácidos β -D- manurônico (M) e α -L- gulurônico (G) arranjados em bloco ao longo de uma cadeia linear. O alginato pode ser considerado um copolímero em bloco composto por regiões homopoliméricas de M e G, mas também intercalados com regiões de estrutura alternada (Figura 4). Ele pode ser extraído de diferentes espécies de algas e em diferentes proporções de M e G, resultando em diferentes propriedades físicas do alginato [23, 29, 43- 47].

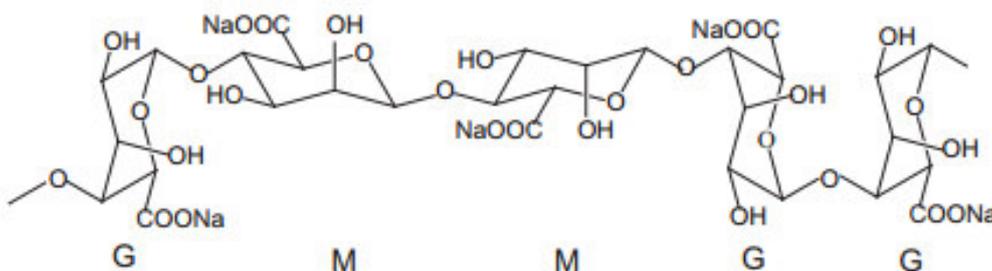


Figura 4. Representação da estrutura química do alginato de sódio [22].

O ácido algínico que é o produto da extração da parede das algas marrons é insolúvel em água a temperatura ambiente, então os alginatos comerciais são sais deste ácido de vários cátions tais como Mg^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} e Na^+ , solúveis em água à temperatura ambiente [48,49].

O alginato de sódio, além de ser um biopolímero, é também classificado como polieletrólito, biocompatível, não tóxico, não imunogênico e biodegradável [20,22].

O alginato possui alta hidrofiliabilidade e capacidade de formar gel, biodegradabilidade, biocompatibilidade, ausência de toxidez tornando o alginato um material para inúmeras aplicações na indústria alimentícia como filmes comestíveis e/ou biodegradáveis para embalagem de alimentos, na indústria farmacêutica no processo de encapsulação e liberação controlada de fármacos, na biotecnologia como matriz de crescimento e incorporação de enzimas e células, na indústria de cosmético [23,29,43 – 47].

Os géis de alginato possuem biocompatibilidade, muco adesão, porosidade e fácil manipulação, podendo desempenhar um papel de matriz extracelular artificial importante na área de engenharia tecidual, além de bandagens de tratamento de lesões, um produto já bastante difundido [23,43].

O ALG é parcialmente solúvel em água e praticamente insolúvel nos solventes orgânicos normalmente utilizados para solubilizar o PHB como clorofórmio. Contudo, a presença de grupos hidroxílicos e carboxílicos livres no ALG favorece muito a funcionalização do mesmo.

Uma estratégia que vem sendo utilizada para compatibilizar o alginato na produção de blendas por solução com polímeros que são solúveis em solventes orgânicos como o PHB é a esterificação do mesmo. A esterificação ocorre, normalmente, nos grupos

carboxílicos livres com inserção de grupos alquila de tamanhos variados tornando-o menos hidrofílico [21,22,50].

O processo de esterificação mais comum e simples utilizado para o ALG é baseado na reação de Fischer (Figura 5) onde os grupos carboxílicos do ALG reagem com um álcool produzindo o éster do ALG e água. A reação é catalisada por um ácido mineral forte [51, 52].

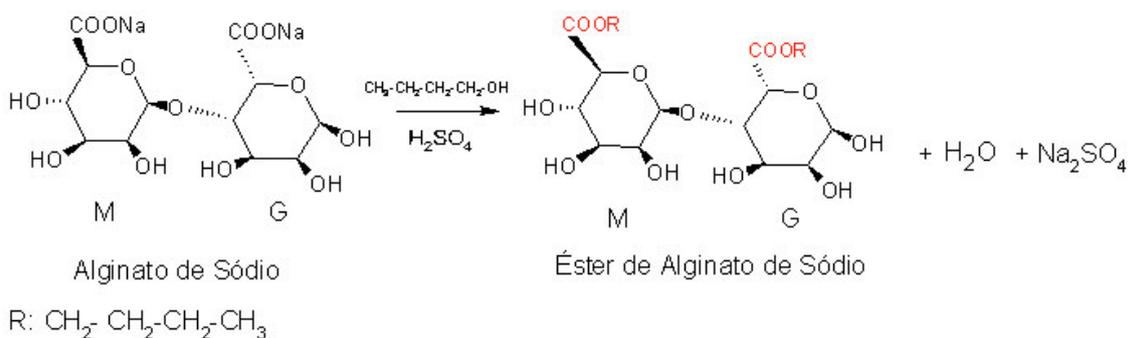


Figura 5. Representação da esterificação de Fischer catalisada por ácido sulfúrico.

3.4. Polietileno glicol (PEG) como plastificante

Segundo Rabello [53] plastificante é um aditivo que melhora a processabilidade e aumenta a flexibilidade dos polímeros, reduzindo a viscosidade e aumentando a mobilidade molecular no sistema.

O mecanismo de plastificação pode ser explicado de duas maneiras, pela teoria da lubrificação onde o plastificante atua como um lubrificante interno facilitando a movimentação das cadeias e pela formação de gel na qual o plastificante solvata as cadeias

poliméricas, podendo ou não estabelecer um balanço de cargas que o torna compatível ou não ao polímero [52].

A primeira menção de blenda de PHB/PEG foi em 1988 com Avella *et al.* [53]. Sendo muitos os trabalhos da literatura que trazem PEG (Figura 6) de diferentes pesos molares em blendas com o PHB, Parra *et al.* [54] PEG 300, 600, 1000, 1500 e 6000, Chan *et al.* [26] PEG 106.

A mistura de PEG na matriz de PHB melhora a flexibilidade do sistema através da redução do grau de cristalinidade, facilitando a degradação em meio fisiológico reduzindo a hidrofobicidade da superfície destes biomateriais e aumentando a flexibilidade [24-26].

Muitos membros da família do PEG são biocompatíveis tanto com o sangue como com o tecido, similarmente ao PHB, se tornando um biomaterial interessante [25].

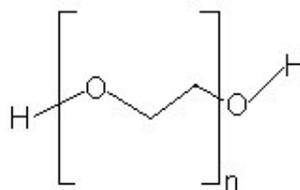


Figura 6. Representação da estrutura química do PEG.

Na literatura encontram-se trabalhos que usam em sua grande maioria, PEG com baixa massa molar. No entanto, também existem estudos com PEG (em geral nomeado de PEO) com alta massa molecular, porém os resultados afirmam que a miscibilidade está relacionada com a quantidade de PEG na blenda e está se limita a 30%, em massa [7].

Quando o PEG promove a formação de pequenos esferulitos [25] e interfere nas interações intermoleculares da cadeia de PHB [54] há uma redução no grau de cristalinidade.

De um modo geral, o PEG atua como plastificante na matriz de PHB, apresentando uma diminuição na resistência à tração, pois reduz a força das ligações secundárias intermoleculares entre as cadeias de PHB, além de conferir um caráter hidrofílico à mistura. No aspecto morfológico da blenda o componente majoritário fica responsável pela formação dos esferulitos, por isso que na maioria das blendas de PHB/polímeros, a estrutura cristalina do PHB permanece a mesma [7].

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

O PHB empregado foi fornecido pela PHB Industrial S/A (São Paulo, Brasil) (lote L: FE 150) com nome comercial de Biocycle® na forma de um granulado, $M_w = 528.265 \text{ g.mol}^{-1}$, índice de polidispersão = 2, HV= 4%, pureza= 99,57%, densidade= $1,23 \text{ g/cm}^3$ (dados do fabricante). Clorofórmio (Panreac 99,98% de pureza), Álcool n-Butílico (Neon), alginato de sódio (Dinâmica $[\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_6\text{Na}]_n$), PEG1500 (Synth) $[\text{OH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{34}\text{-H}]$ e água deionizada.

4.2. Métodos

4.2.1. Esterificação do ALG

O ALG foi parcialmente esterificado de acordo com o método proposto por Broderick *et al.* [23]. Resumidamente, 370 mL de álcool n-Butílico e 10 g de alginato de sódio foram misturados (proporção em massa de 30:1) na presença de 1 mL de ácido sulfúrico (12 mol. L^{-1}), na temperatura ambiente sob agitação por 18 h em um erlenmeyer de 500 mL. Em seguida, o produto produzido (ALG-e) foi filtrado, lavado com n-butanol, seco ao ar e armazenado à temperatura ambiente.

O grau de esterificação do ALG foi determinado de acordo o método de Wurzburg [55]. Considerando o método, 0,5 g do produto obtido da síntese foi solubilizado em 50 mL de solução de etanol/água (75% v/v), em seguida, o sistema foi colocado em um

banho-maria com agitação a 50°C durante 30 minutos. Depois, foram adicionados 40 mL de uma solução de NaOH 0,5 mol L⁻¹ à solução do alginato esterificado e o sistema foi agitado por mais 15 minutos a 100°C. A solução saponificada resultante foi resfriada até a temperatura ambiente e o excesso de NaOH foi titulado com uma solução padrão de HCl 0,5 mol L⁻¹. O grau de esterificação GS (%) foi determinado segundo a Equação 1:

$$\%GE = \frac{(V_0 - V_p) \times M_{HCl} \times 73}{m} \quad (1)$$

Sendo V₀ o volume de solução de HCl gasto na titulação da solução de NaOH (branco), V_p o volume de HCl gasto na titulação da amostra do polímero saponificado, M_{HCl} é a molaridade do HCl, 73 a massa molar do íon butílico e *m* a massa da amostra em gramas.

A solubilidade do ALG-e em clorofórmio foi medida de forma direta. Uma massa de aproximadamente 1g ALG-e foi adicionado em 50 mL de clorofórmio e o sistema agitado manualmente. Em seguida, a solução foi filtrada em papel de filtro qualitativo (gramatura 80g/m²) e o filtrado seco em estufa a 60° por 1 hora. A solubilidade foi calculada conforme a Equação 2:

$$\%S = \left(\frac{m_{ALG-e} - m_{(ALG-e)seca}}{m_{ALG-e}} \right) \times 100 \quad (2)$$

Sendo m_{ALG-e} a massa de alginato esterificado utilizada e m_{(ALG-e) seca} é a massa de alginato esterificado seca em estufa.

A composição elementar do ALG e ALG-e foi determinada por fluorescência de raios X (XRF). As análises foram realizadas num espectrofotômetro de fluorescência de raios X por dispersão de comprimento de onda (Bruker S8-Tiger), com o feixe de raios X

gerado a 40 kV e 10 mA. As percentagens em mol dos elementos identificados foram calculadas para cada amostra e normalizadas pelo total de elementos quantificados.

O alginato de sódio antes e após a esterificação foi analisado em um espectrômetro com Transformada de Fourier na região do Infravermelho (FTIR), Nicolet iS-10, utilizando um atenuador de refletância total (ATR), a resolução do equipamento foi de 4 cm^{-1} , com 32 varreduras e faixa de número de onda de 2000 – 700 cm^{-1} .

As análises de TGA foram executadas para avaliar se a esterificação afetou a estabilidade térmica dos filmes do ALG. As análises foram conduzidas em um Analisador Térmico Simultâneo TGA/DTA, NETZSCH STA 449 F1 Jupiter, em atmosfera de nitrogênio com fluxo de 100 mL/min, de 20 a 550°C com taxa de aquecimento de 10°C/min.

4.2.2. Preparo dos filmes de PHB

Os filmes de foram produzidos pela técnica de *casting* (Figura 7). Primeiramente, as soluções dos polímeros utilizados foram preparadas dissolvendo os polímeros (PHB, PHB/ALG-e, PHB/PEG e PHB/ALG-e/PEG) em clorofórmio, aquecendo a 80°C em refluxo, sob leve agitação por 24 horas e posteriormente, vertida em placas de vidro armazenada a temperatura ambiente por 30 dias até completa cristalização, quando não houve mais mudanças significativas no difratograma de raios X [6].

Os filmes (Figura 8) apresentavam uma espessura média de 15 μm . As composições dos filmes estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Formulação dos filmes

	PHB	PHB _(99,5)	PHB _(98,8)	PHB _(97,4)	PHB _(97,6)	PHB ₍₉₄₎	PHB ₍₉₅₎	PHB _(91,4)
% PHB	100	99,5	98,8	97,4	97,6	94	95	91,4
% ALG-e	-	0,5	1,2	2,6	-	-	2,6	2,6
% PEG	-	-	-	-	2,4	6	2,4	6
% (m/m)								

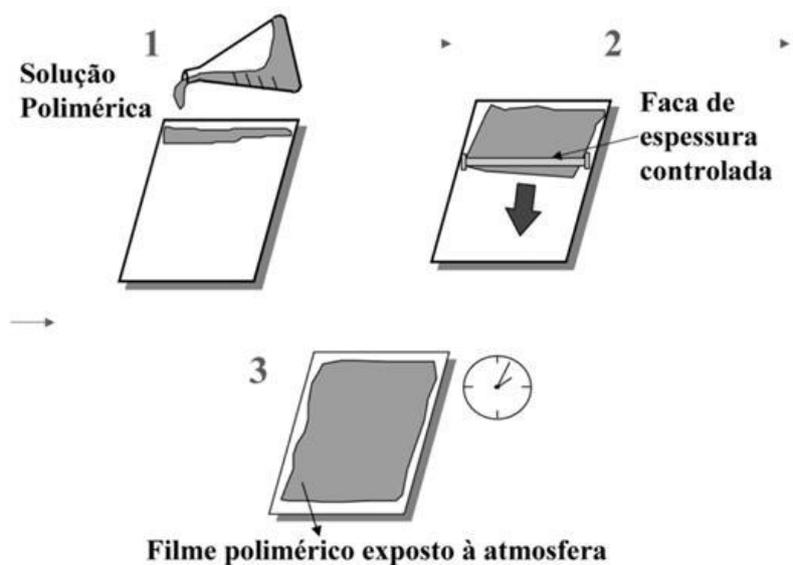


Figura 7. Produção de filmes pela técnica de *casting* [56].



Figura 8. Imagem do filme de PHB puro.

4.2.3. Caracterização dos filmes produzidos

4.2.3.1. Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As análises de FTIR foram realizadas para avaliar possíveis interações entre o PHB e o ALG-e oriundas das modificações geradas no mesmo pela esterificação, além das interações do PEG e a matriz de PHB e PHB/ALG-e.

As amostras foram analisadas em espectrômetro com Transformada de Fourier na região do Infravermelho (FTIR) Nicolet iS-10, utilizando um atenuador de refletância total (ATR), a resolução do equipamento foi de 4 cm^{-1} , com 32 varreduras e faixa de número de onda de $2000 - 700\text{ cm}^{-1}$.

4.2.3.2. Difração de raios X (DRX)

A contribuição da parte amorfa da amostra é caracterizada por um halo na base dos picos de difração de raios X, e a parte cristalina, caracterizada pelos picos no difratograma.

Os experimentos foram conduzidos em um difratômetro Shimadzu LabX XRD-6000, operando em modo de varredura, com radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,54056\text{ \AA}$) e filtro de níquel com voltagem de 40 kV e corrente de 40 mA, velocidade de varredura $2^\circ/\text{min}$ em 2θ ($10 - 35^\circ$) e um passo de 0,02. E a fração cristalina foi determinada de acordo com a equação 3:

$$C = \frac{I_c}{I_c + (k * I_a)} \quad (3)$$

Sendo C a fração cristalina dos filmes; I_c é o resultado da integração de todos os picos de difração, I_a é a área do halo amorfo (obtido pela aproximação de todos os picos a uma Gaussiana) e k a constante de proporcionalidade característica de cada polímero [40]. Para o PHB esta constante foi obtida determinando que I_c é uma função de I_a ($I_c = f(I_a)$), sendo k o coeficiente angular da reta, o valor encontrado para a constante foi de $1,13 \pm 0,11$ [40].

O tamanho do cristalito dos filmes de PHB foi estimado, segundo o método Scherrer (equação 4), com a finalidade de avaliar a sua variação de tamanho de em função da adição de ALG-e e PEG nas composições dos filmes obtidas [40]:

$$t = \frac{0,9\lambda}{B \cos \theta_B} \quad (4)$$

Onde o comprimento de onda dos raios X usados, B (hkl) a largura à meia altura (FWHM) do pico correspondente aos planos (110), (020) e (021) do PHB e θ é o ângulo relativo ao pico correspondente ao plano.

Pela equação de Bragg (equação 5) [57] é possível relacionar o ângulo difratado com a distância interplanar (d) correspondente aos verificados planos do PHB:

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (5)$$

Sendo $n=1$, $\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$, d a distância interplanar e θ o ângulo relativo ao pico correspondente ao plano.

Os parâmetros a , b e c (equação 6) [40] da célula unitária podem ser determinados a partir dos pontos de máxima intensidade dos planos (110), (020) e (021) respectivamente, e posteriormente relacionada aos seus índices de Miller para célula unitária ortorrômbica simples.

$$\frac{1}{d_{(hkl)}^2} = \frac{h^2}{a^2} + \frac{k^2}{b^2} + \frac{l^2}{c^2} \quad (6)$$

Sendo d a distância entre os planos que definem os índices de Miller ($h k l$).

O volume da célula unitária foi calculado pela equação 7 [57]:

$$V = a * b * c \quad (7)$$

Sendo a , b e c os parâmetros da célula unitária do PHB.

4.2.3.3. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

Análises de DSC foram realizadas para avaliar o efeito do ALG-e e do plastificante nas propriedades térmicas do PHB, além de determinar de forma mais precisa o grau de cristalinidade dos filmes produzidos.

A análise de DSC foi realizada em um Analisador Térmico Diferencial, NETZSCH DSC 200 F3 Maia. O nitrogênio foi usado como gás de purga a um fluxo de 40 mL/min.

Foi realizado um primeiro aquecimento da temperatura de -40°C até 200°C , a uma taxa de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ e mantida esta temperatura por um período de 5 minutos, para eliminar

a história térmica da amostra. Após esse período as amostras foram resfriadas a uma taxa de 10°C/min até -20°C e mantida isoterma por 5 minutos.

Um segundo aquecimento foi realizado até a temperatura de 200°C sob uma taxa de 10°C/min. A partir desta segunda curva de aquecimento, foram obtidas as temperaturas *onset* de transição vítrea (T_g), temperatura de fusão do segundo pico (T_{f2}), entalpia de fusão (H_f). Sendo que a temperatura e entalpia de fusão foram calculadas considerando o ponto de mínimo e a área do pico endotérmico da curva referente ao segundo aquecimento, respectivamente.

O grau de cristalinidade do PHB foi estimado usando a equação 8.

$$\%GC = \frac{\Delta H_f}{(\Delta H_f^0 * W_{PHB})} * 100 \quad (8)$$

Sendo, GC o grau de cristalinidade da amostra, ΔH_f o calor de fusão da amostra, ΔH_f^0 o calor de fusão do polímero 100% cristalino, considerado 146 J.g⁻¹ [14] e W_{PHB} fração em massa de PHB nas composições estudadas.

4.2.3.4. Análise Termogravimétrica (TGA)

As análises de TGA foram executadas para avaliar a influência dos aditivos, ALG-e e PEG, na estabilidade térmica dos filmes de PHB.

As análises termogravimétricas foram conduzidas em um Analisador Térmico Simultâneo TGA/DTA, NETZSCH STA 449 F1 Jupiter, em atmosfera de nitrogênio com fluxo de 100 mL/min, de 25 a 550°C com taxa de aquecimento de 10°C /min.

4.2.3.5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia da superfície e da seção transversal dos filmes foram avaliadas por um microscópio eletrônico de varredura (SEM), Jeol, modelo JSM 5700 operando em uma voltagem de 5 kV. Para análise da seção transversal, as amostras foram fraturadas com nitrogênio líquido. Todas as amostras foram recobertas com uma fina camada de ouro (20 nm) pulverizada à vácuo (20mA por 120 segundos) utilizando um metalizador, Desk V, para tornar a amostra condutora.

Hidrofilicidade – Ângulo de contato e Permeabilidade a Vapor d'Água (PVA)

A hidrofobicidade e baixa permeabilidade a gases e vapores de água foram pontos a serem melhorados no PHB para que ele se tornasse um material propício a curativos de pele, com esse intuito os aditivos ALG-e e PEG foram adicionados a matriz de PHB.

Assim, a hidrofilicidade superficial e a permeabilidade a vapor d' água dos filmes com ALG-e e PEG foram medidas e comparadas com a do filme de PHB puro a partir de medidas de ângulo de contato com água e a permeabilidade a vapor d'água por teste gravimétrico.

4.2.3.6. Ângulo de Contato com água

Um goniômetro de gota pendente OCA 15E por Dataphysics foi utilizado para medir o ângulo de contato da água. Para cada filme estudado, quatro amostras foram cortadas com dimensões de 2,0 cm de comprimento e 0,5 cm de largura. Cada amostra

foi cuidadosamente fixada ao suporte do goniômetro, evitando curvas e/ou dobras. A seringa foi então pressionada formando uma gota na ponta da agulha, depositado na superfície da amostra. O tamanho das gotículas é controlado automaticamente por um computador, com uma precisão de décimos de um microlitro.

Uma câmara de alta resolução capta a imagem da gota e de acordo com o tamanho e forma da gota, o software calcula dois ângulos de contato entre as fases. As medições foram efetuadas em triplicata para cada lado de um filme, à temperatura ambiente (25°C). O valor obtido com cada gota refere-se à média dos dois ângulos gravados em cada imagem. Os dados relatados referem-se às médias dos ângulos obtidos em triplicata.

4.2.3.7. Permeação a vapor de água (PVA)

O teste de permeabilidade a vapor d'água foi feito por meio do método gravimétrico estático adaptado da norma internacional ASTM E 96/E96 M-05 [58]. O sistema foi montado com $3,6 \pm 0,5$ g de sílica gel ativada (200°C) seca dentro de frascos selados hermeticamente com as amostras dos filmes preparados e acondicionado em dessecador contendo solução saturada de cloreto de sódio 98%, para promover umidade relativa de $60\% \pm 1$. O ganho de massa de cada sistema em estudo foi monitorado com pesagens a cada 24 horas por 7 dias.

A taxa de transmissão de vapor d'água (TVA) corrigida pela área A (m²) de transferência foi obtida pela equação 9:

$$TVA = \frac{\left(\frac{\Delta m}{\Delta t}\right)}{A} \quad (9)$$

Sendo Δm , a variação da massa em gramas e Δt , a variação do tempo em dias. Por meio da 1ª Lei de Fick, determinar determina-se o coeficiente de permeabilidade ao vapor d'água, PVA ($\text{g} \cdot \text{Pa}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$), através da Equação 10:

$$PVA = \left[\frac{TVA}{S(R1-R2)} \right] * x \quad (10)$$

Sendo S a pressão de saturação do vapor d'água (Pa), na temperatura que foi executada o teste, R1, é a umidade relativa do dessecador ($60\% \pm 1$), R2, a umidade relativa dentro da célula do sistema (0%) e x é a espessura do filme em metros (m).

4.2.3.8. Propriedade Mecânica

As propriedades mecânicas de tração dos filmes de PHB com ALG-e e PEG foram testadas, a fim de avaliar a influência destes aditivos na diminuição do grau de cristalinidade do PHB, refletidas nas propriedades mecânicas do mesmo. Já que propriedades como alongamento na ruptura e Módulo de elasticidade são indicativos de flexibilidade e fragilidade do material, respectivamente.

A propriedade mecânica de tração dos filmes foi obtida segundo a norma ASTM D882-00 [59], utilizando-se uma máquina universal de marca INSTRON série 3367. O ensaio foi realizado em um ambiente climatizado ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) e umidade relativa de $55 \pm 3\%$. Amostras de dimensões de 100 mm de comprimento e 10 mm de largura foram ajustadas às garras do equipamento. A separação inicial foi de 50 mm e a velocidade de puxamento foi de $0,3 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$, com célula de carga de 100 N. A tensão na ruptura, o

alongamento na ruptura e o Módulo de Young foram determinados diretamente do software do equipamento (Bluehill, versão 2.22).

4.2.3.9. Análise estatística

Todos os resultados foram coletados em triplicata e expressos com média \pm desvio padrão. A significância dos dados foi avaliada pelo teste t- Student com significância de 95%.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Alginato de sódio esterificado (ALG-e)

O objetivo da esterificação parcial de alginato de sódio foi torná-lo mais compatível com a matriz de PHB, uma vez que a mistura do alginato de sódio não é termodinamicamente espontânea ao PHB. No entanto, a esterificação não deve afetar negativamente as propriedades de gelificação de alginato ou substituir totalmente os íons de sódio, que são características importantes para um material tipo curativo de pele [23].

A fim de confirmar a esterificação do ALG além da análise de FTIR foram feitas análises de TG/DTG, DRX e FRX do produto da reação de esterificação.

Na Figura 9, são apresentados os espectros de FTIR do ALG antes e após o processo de esterificação do ALG.

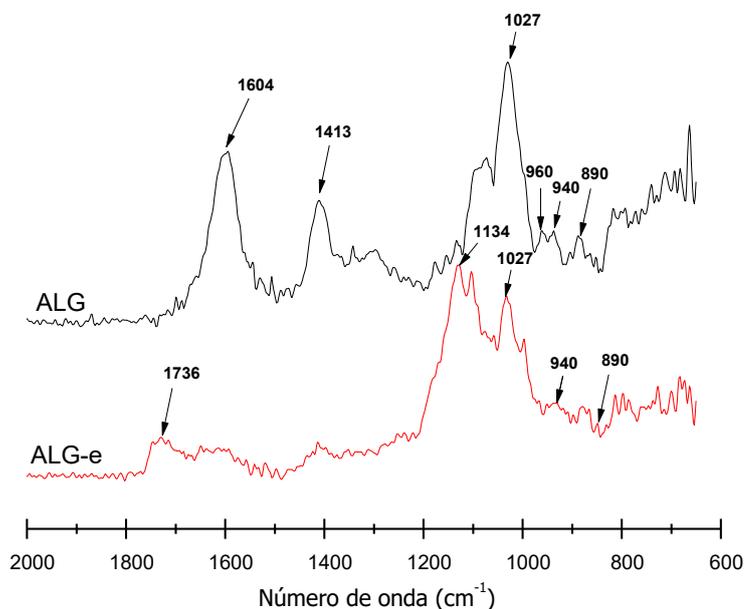


Figura 9. Espectros de FTIR (modo ATR) do ALG e ALG-e sintetizado.

No espectro de alginato nativo são destacadas as bandas em 890, 940 e 960 cm^{-1} características dos resíduos de ácidos gulurônico e manurônico. Estas bandas são significativamente reduzidas no espectro de ALG-e sugerindo que as alterações no ALG ocorreram nesta região. As bandas centradas em 1027, 1413, e 1604 cm^{-1} no espectro ALG são típicos do grupo C - O de anéis sacarídeos e estiramentos simétrico e assimétrico de grupos carboxil, respectivamente [23, 60].

No espectro ALG-e, enquanto as bandas correspondentes aos grupos carboxil em 1413 e 1604 cm^{-1} foram drasticamente reduzidas, uma nova banda pode ser observada em 1736 cm^{-1} característica de carbonila de éster. Outra banda importante no espectro de ALG-e aparece centrada em 1134 cm^{-1} atribuída à deformação axial da ligação éster C-O. Assim, pode-se concluir que a esterificação do ALG foi bem-sucedida, restando saber o grau da esterificação.

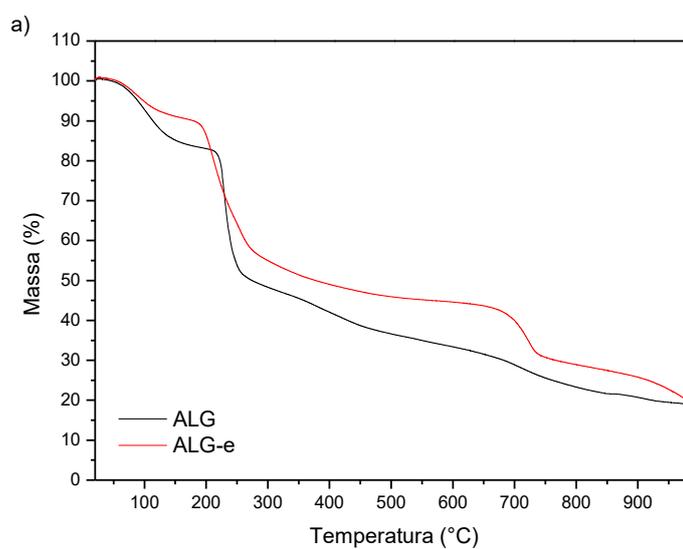
O grau de esterificação foi determinado de acordo com o método descrito na seção experimental (equação 1), resultando num grau de $37 \pm 0,5\%$ e que possibilitou a solubilidade de $11 \pm 0,5\%$ de ALG-e no PHB. O grau de esterificação obtido foi suficiente para aumentar a solubilidade de alginato e dissolvê-lo em PHB nas concentrações usadas neste estudo.

Na Tabela 2 estão apresentados os dados de FRX com a concentração dos elementos antes e depois da reação de esterificação. Vale a pena notar que, por análise de fluorescência de raios X, a percentagem de sódio diminuiu de 0,42% para 0,18%, confirmando a esterificação parcial do ALG.

Tabela 2. Concentração dos componentes nos ALG e ALG-e

Elemento	Concentração	
	ALG	ALG-e
CH ₂	99,5%	99,70%
Na	0,42%	0,18%

Na Figura 10 são apresentadas as curvas de TG e DTG do ALG e ALG-e. As mudanças ocorridas nas curvas após o processo de esterificação refletem uma mudança na estrutura química das moléculas do ALG.



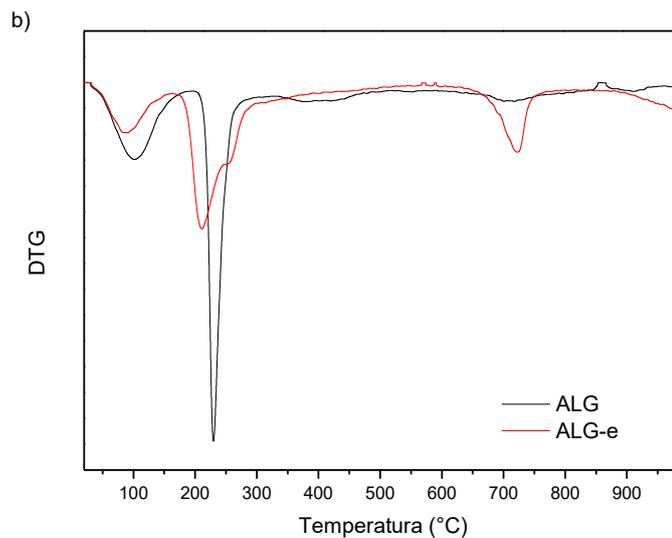


Figura 10. Curvas de TG (a) e DTG (b) do ALG e ALG-e.

O ALG possui perda de massa associada à dessorção de moléculas de água com máximo centrado em 101°C e a degradação começa em 195°C e termina em 290°C. Já o ALG-e tem seus estágios de perda de massa em temperaturas menores, perda de água tem máximo centrado em 85°C e a degradação começando em 164°C e terminando em 285°C.

A região de degradação o ALG-e possui nitidamente dois momentos de perda de massa com máximos em 210°C e 256°C, já o ALG possui apenas um estágio de perda de massa com máximo em 231°C.

De acordo Soares et al. [61] a degradação do ALG inicia-se com a decomposição por desidratação (até temperaturas em torno de 198°C) seguida pela degradação de Na_2CO_3 (de 198 até 523 °C) e o material carbonizado se decompõe vagorosamente entre 600-750°C em atmosfera N_2 , com liberação de CO_2 . Nesta faixa de temperatura o material carbonizado do ALG-e se decompõe intensa e rapidamente.

O recuo da curva termogravimétrica e o aparecimento de duas regiões alargadas no ALG-e podem ser explicados pela menor quantidade de carboxilas livres devido à

formação da ligação éster, sendo que o grupo éster se decompõe mais facilmente em CO₂ do que os grupos carboxílicos [23].

Confirmado que realmente obtivemos o ALG-e, procedeu-se com a produção dos filmes de PHB contendo o ALG-e e/ou PEG.

5.2. Filmes de PHB/ALG-e/PEG

Inicialmente, serão discutidos os resultados de FTIR dos filmes produzidos neste trabalho.

Pela comparação dos espectros, são identificadas as principais bandas dos componentes puros e detectados os deslocamentos destes quando os filmes são formados. Usualmente, estas modificações são atribuídas às possíveis interações entre os segmentos dos diferentes polímeros, tais como ligações de hidrogênio ou complexações.

Tais interações podem levar a alterações morfológicas e na estrutura cristalina do PHB, que foram analisadas com base em imagens de MEV (mudanças morfológicas), em difratogramas de DRX e curvas de DSC (mudanças na cristalinidade). A estabilidade térmica foi avaliada por análises de TGA. A hidrofobicidade superficial dos filmes gerados foi avaliada através de medidas do ângulo de contato com água e permeabilidade a vapor d'água.

Finalmente, a avaliação das propriedades mecânicas realizadas com ensaios de tração e deformação na ruptura.

5.2.1. Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Nas Tabelas 3 e 4, estão apresentados o número de onda e suas atribuições para PHB puro e para o ALG-e e PEG puro, respectivamente. Na Figura 11, estão apresentados os espectros de FTIR dos filmes de PHB, PHB_(99,5), PHB_(98,8), PHB_(97,4), PHB_(97,6), PHB₍₉₅₎, PHB₍₉₄₎ e PHB_(91,4).

Tabela 3. Número de onda do PHB puro.

Atribuições	PHB exp. (cm ⁻¹)	Figueiredo <i>et al.</i> [9]	Asran <i>et al.</i> [62]
Deformação axial do grupo éster C=O	1721	1737	1720
Deformação axial do grupo éster C-O-C	1278 - 1130 e 1101	1276 - 1130	1227 e 1101
Estiramento do grupo C-O	1055		1057
Deformação angular assimétrica e simétrica do grupo	1459 e 1380	1380	1454 e 1380
Deformação axial do grupo C-C	979	978	980

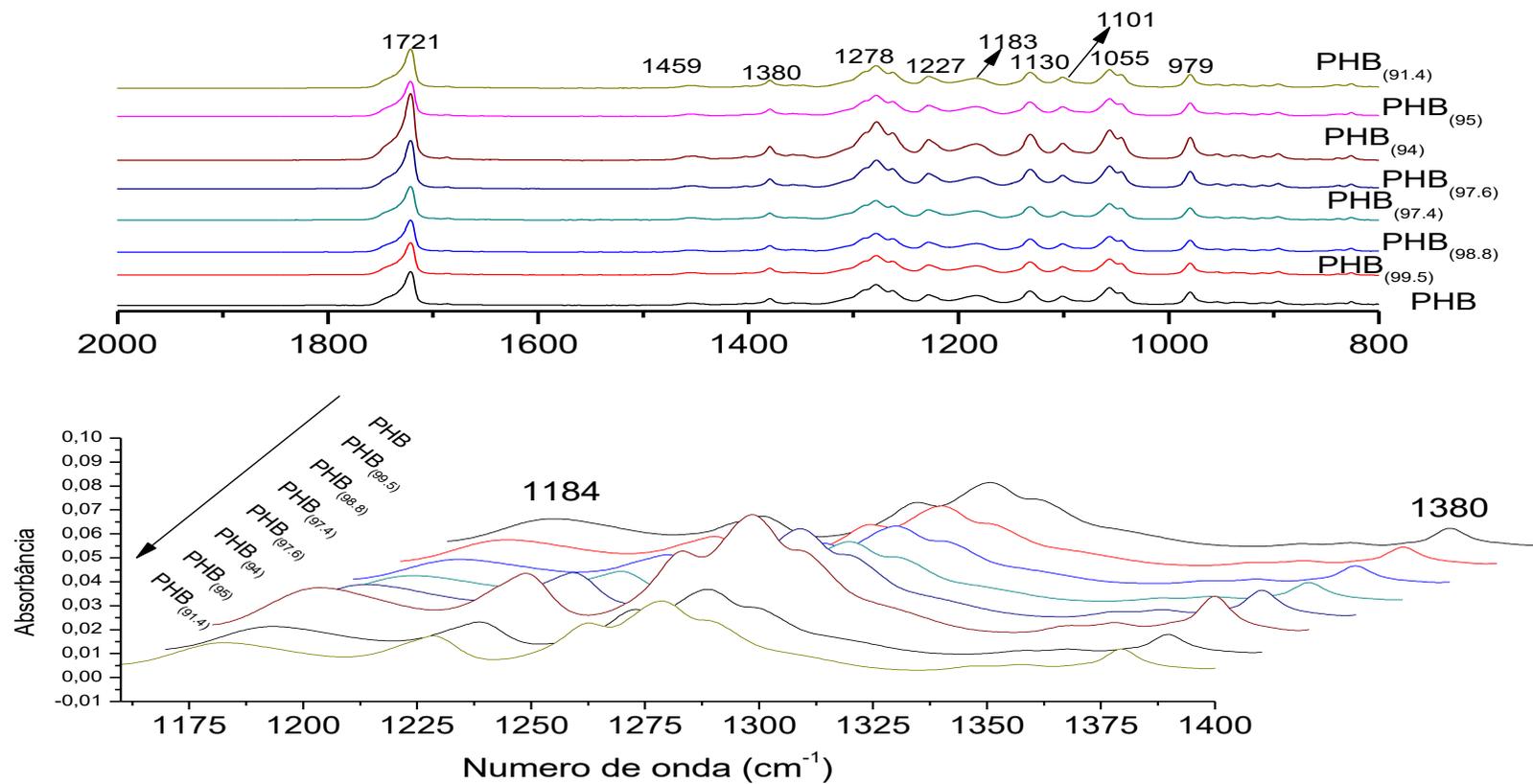


Figura 11. Espectros de FTIR dos filmes de PHB puro, PHB/ALG-e, PHB/PEG e PHB/ALG-e/PEG (topo) e espectros de FTIR destacando as bandas usadas para calcular o índice de cristalinidade (inferior).

Tabela 4. Número de onda do ALG-e e PEG puro [23, 63].

ALG-e		PEG	
Atribuições	Bandas (cm ⁻¹)	Atribuições	Bandas (cm ⁻¹)
Estiramento do grupo C=O	1736	Balanço simétrico do grupo CH ₂	1359
Estiramento assimétrico do grupo COO ⁻	1604	Torção simétrica e assimétrica do grupo CH ₂	1280
Estiramento assimétrico do grupo COO ⁻	1413	Estiramento assimétrico do grupo C-O-C	1060
Estiramento do grupo C-C	1134	Balanço assimétrico do grupo CH ₂	843
Estiramento dos grupos C-O	1027		
Estiramento dos grupos C-O, C-C-H	947 - 950		
Deformação do grupo C-C	890		
Flexão dos grupos C-C-H, C-O			

Para PHB puro, as bandas em 1721, 1278 e 979 cm^{-1} são características de regiões cristalinas, enquanto que as bandas em 1459 e 1278 cm^{-1} são características de regiões amorfas [9, 62, 64].

A diferença entre os valores encontrados para os comprimentos de onda neste trabalho em comparação com os da literatura pode ser atribuída às alterações associadas às diferentes massas molares, variação comum para o PHB.

Pode ser observado na Fig. 11 (topo) que as intensidades das bandas das regiões cristalina e amorfa, diminuem com a inserção do ALG-e à matriz de PHB. Por outro lado, a adição de PEG e PEG/ALG-e aumenta a intensidade das bandas das duas regiões. É possível fazer uma análise quantitativa do espectro de FTIR, a fim de determinar o efeito dos aditivos sobre a cristalinidade do PHB [65,66].

Uma maneira de se calcular o índice de cristalinidade de PHB (IC) é utilizar uma proporção de uma banda sensível a cristalinidade e uma insensível a cristalinidade do PHB. As bandas em 1183, 1227 e 1278 cm^{-1} são bandas sensíveis a cristalinidade enquanto a banda em 1380 cm^{-1} é insensível a cristalinidade [67].

Assim, o IC foi definido como a razão entre a intensidade das bandas 1183 e 1380 cm^{-1} . O IC não pode ser confundido com um grau absoluto de cristalinidade, contudo é útil como critério de comparação. Os valores encontrados estão resumidos na Tabela 5.

Tabela 5. IC, grau de cristalinidade (%GC), fração cristalina (C) e propriedades térmicas (T_g e ΔH) dos filmes de PHB, PHB/ALG-e, PHB/PEG e PHB/ALG-e/PEG.

	PHB	PHB _(99,5)	PHB _(98,8)	PHB _(97,4)	PHB _(97,6)	PHB ₍₉₄₎	PHB ₍₉₅₎	PHB _(91,4)
IC	0,7	0,74	0,76	0,76	0,84	0,84	0,76	0,82
%CG	35,9	39,5	42,5	44,8	46,5	45,5	44,7	48,7
C	22,5	23,6	30,8	29,4	28,3	28,2	29,1	29,2
T_g (°C)	2,2	2,1	1,9	2,3	*	-2,3	-4	-7,1
ΔH (J/g)	52,1	57,4	64	63,7	66,2	62,5	62	65

Os valores de IC para os filmes contendo ALG-e são maiores comparados ao do PHB puro indicando que a cristalinidade aumenta nos filmes. Com relação ao efeito do PEG, de novo, os valores obtidos são maiores em relação ao PHB puro, mas nenhuma diferença nos valores de IC foram observadas quando são adicionados 2,4 e 6% de PEG.

5.2.2. Cristalinidade e transições térmicas

A influência do PEG e ALG-e na estrutura cristalina do PHB foi estudada a luz da difração de raios X (DRX) e os difratogramas são apresentados no Figura 12.

Os picos observados na Figura 12 em diferentes ângulos de difração são atribuídos aos planos cristalinos do filme de PHB puro: 13,8° (020); 16,8° (110); 20,5° (021); 22,7° (111); 25,8° (121) e 27,6° (040) e 30,9 (002). Perfis de difração similares foram encontrados na literatura [68–71].

De um modo geral, todos os difratogramas de DRX dos filmes de PHB formados com diferentes concentrações de ALG-e e PEG são muito similares ao PHB puro, apresentado apenas aumento da intensidade. Este fato sugere que os aditivos incorporados não mudaram a estrutura cristalina do PHB.

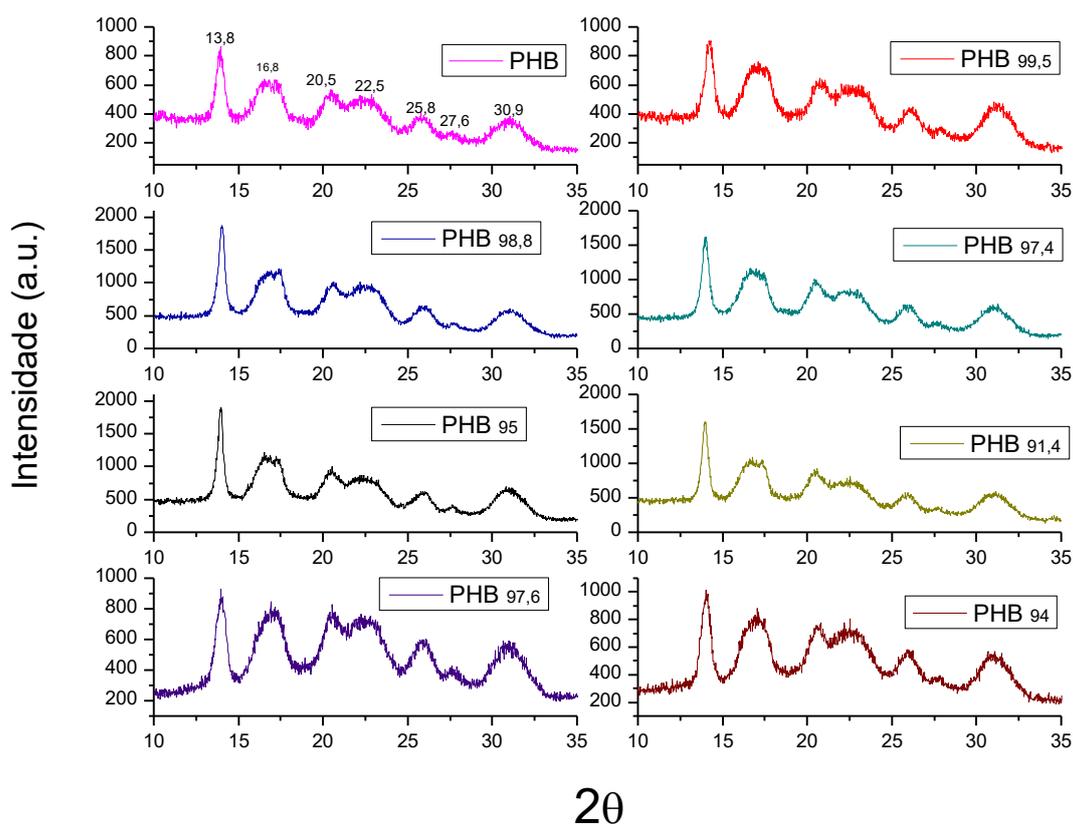


Figura 12. Difratoigramas de raios X dos filmes de PHB, PHB/ALG-e, PHB/PEG e PHB/ALG-e/PEG.

A fração cristalina foi calculada pela equação 3 e os resultados estão sumarizados na Tab. 5. Os resultados corroboram com os resultados de FTIR, por exemplo, quando a proporção de ALG-e aumentada nos filmes, a cristalinidade aumenta, com nenhuma diferença quando comparadas com os filmes de PHB/PEG com 2,4% e 6% (PHB_{97,6} e PHB₉₄, respectivamente). É possível que o ALG-e esteja formando aglomerados na matriz de PHB, nestas condições, o PHB excluindo o ALG-e da sua estrutura cristalina, promovendo uma segregação interesferulíticas, não interferindo, portanto, no padrão cristalino do PHB [13].

Para os filmes contendo ALG-e e PEG (amostras PHB₉₅ e PHB_{91,4}) novamente os valores da fração cristalina são mais elevados que os encontrados para o filme de PHB puro.

Foi calculado o tamanho de cristalito do PHB nos filmes produzidos e os resultados estão sumarizados na Tabela 6. Os resultados não mostraram alterações significativas no tamanho ao longo dos três planos em todas as concentrações dos aditivos utilizadas.

Na Tabela 7 estão apresentados parâmetros de rede para os filmes de PHB, PHB/ALG-e e PHB/ALG-e/PEG. O mesmo comportamento para os parâmetros de rede da célula unitária, foi encontrado por Oliveira et al. [40] e eles afirmam em seu trabalho que não há alteração de estrutura cristalina quando não há surgimento de novos picos. Entretanto um aumento dos parâmetros de rede revela expansão da rede cristalina, o que não foi observado neste estudo. Assim, pode-se concluir que não há alterações significativas na estrutura cristalina do PHB com a adição de ALG-e e PEG.

Tabela 6. Tamanho de cristalito para os filmes de PHB, PHB/ALG-e e PHB/ALG-e/PEG.

	Tamanho de Cristalito (Å)		
	a ₍₁₁₀₎	b ₍₀₂₀₎	c ₍₀₂₁₎
PHB	170	226	256
PHB _{99,5}	113	226	103
PHB _{98,8}	102	226	205
PHB _{97,4}	85	226	147
PHB ₉₅	127	339	147
PHB _{91,4}	85	291	114

Tabela 7. Parâmetros de rede para os filmes de PHB, PHB/ALG-e e PHB/ALG-e/PEG.

	Parâmetros de Rede			
	a (Å)	b(Å)	c (Å)	V _{cel. Unit.} (Å ³)
PHB	5,89	12,55	5,98	442,6
PHB _{99,5}	5,98	12,44	5,93	441,0
PHB _{98,8}	5,88	12,63	5,92	439,3
PHB _{97,4}	5,96	12,63	5,97	449,3
PHB ₉₅	5,97	12,69	5,90	447,4
PHB _{91,4}	5,93	12,68	6,11	458,8

A técnica de DSC foi usada para complementar algumas das observações desenvolvidas até aqui e as curvas de DSC dos filmes desenvolvidos neste trabalho estão apresentadas na Figura 12.

As amostras foram inicialmente aquecidas para apagar a história térmica, resfriadas rapidamente e aquecidas novamente. Durante o segundo aquecimento do filme de PHB puro, observa-se três eventos térmicos: (1) a transição vítrea, caracterizada pela alteração da linha de base [13,71,72]; (2) um pico exotérmico associado a um reordenamento cristalino do PHB ou cristalização secundária [10,67,68]; e, (3) finalmente, a fusão dos cristais, que ocorre na faixa de (150-175°C)

A fusão dessas estruturas é caracterizada por duplo pico, que poderia ser explicado em termos dos processos de fusão/recristalização [71]: pico I (Fig. 13) é caracterizado por um ombro em torno de $157 \pm 1,4^\circ\text{C}$, corresponde a fusão de cristais imperfeitos, enquanto o pico II (Fig. 13), pico propriamente dito, em torno de $171 \pm 0,5^\circ\text{C}$, corresponde a fusão de cristais perfeitos produzidos pela cristalização durante o resfriamento controlado.

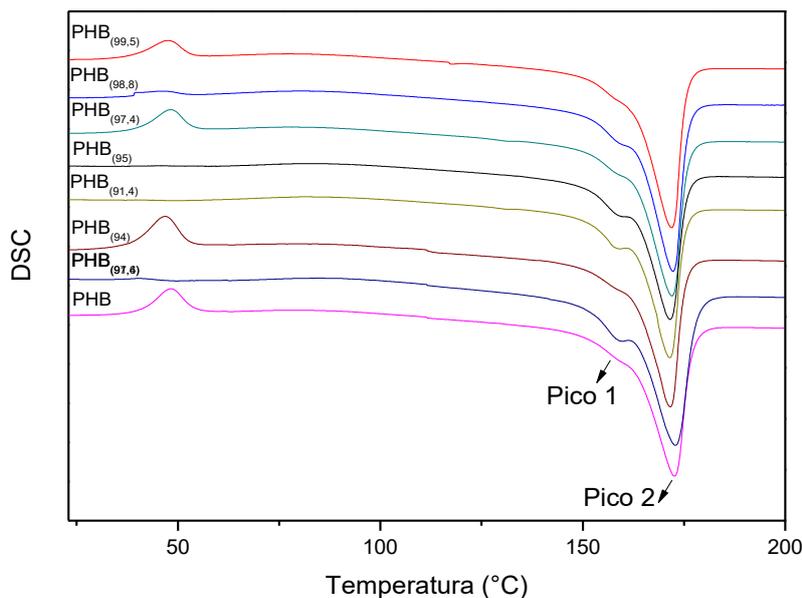


Figura 13. Curvas de DSC do segundo aquecimento dos filmes de PHB, PHB/PEG, PHB/ALG-e e PHB/ALG-e/PEG.

Como apresentado na Fig. 13, a incorporação de 2,6% de ALG-e não alterou as transições térmicas do PHB. Observou-se apenas uma sutil redução da intensidade do pico exotérmico associado a um possível reordenamento da estrutura cristalina do PHB, reforçando a hipótese de segregação interesferulítica sinalizada pelos resultados de DRX. A presença deste aditivo não afetou a mobilidade segmental do PHB e nem a energia de interação interlamelares dos cristais, uma vez que nem a T_g e nem a T_m foram afetadas.

Foi observado também que, com a adição de PEG, houve uma diminuição da T_g do PHB, mudando de 2°C para $-7,1^\circ\text{C}$ (PHB_{91,4}), além de uma antecipação na transição exotérmica associada à cristalização a frio ocorrida. Entretanto, o ponto de fusão manteve-se inalterada. Uma explicação para tal fato é que o PEG formou um sistema cristalino/amorfo (entre 60 e 170 °C) [13], o que corrobora com a manutenção das dimensões da célula unitária do PHB mesmo quando misturado com este aditivo.

Por outro lado, a incorporação do PEG levou a um aumento na mobilidade segmental da matriz, confirmado pela queda da T_g , indicando que esses polímeros obtiveram nesta faixa de composição, miscibilidade ao nível molecular [13].

Como apresentado nos resultados de DRX, não houve mudança na estrutura cristalina já que a mudança é caracterizada pelo aparecimento de novos picos e mudança na temperatura de fusão. Entretanto, a adição de PEG no sistema PHB/ALG-e levou aumento do grau de cristalinidade dos filmes (Tab.5), pode ser concluído de novo, que o PEG em baixas concentrações forma um sistema cristalino/amorfo (entre 60 e 170°C), levando ao aumento do grau de cristalinidade, enquanto a dimensão da célula unitária do PHB é mantida.

Por outro lado, a incorporação de 6% de PEG leva ao aumento da mobilidade segmental da matriz de PHB confirmado pelo decréscimo da T_g (-2,3°C), além disso, foi encontrado um efeito sinérgico de PEG e ALG-e que atua sobre o T_g (PHB_{91,4}), uma vez que a T_g diminui, de -2,3°C (apenas com 6 % de PEG) para -7,1°C.

As análises de TGA foram conduzidas a fim de avaliar a influência dos aditivos, ALG-e e PEG, na estabilidade térmica dos filmes. Na Figura 13, são apresentadas as % de perda de massa dos filmes com o aumento da temperatura. As temperaturas de início da degradação (T_{onset}) e as temperaturas em que a taxa de variação de massa é máxima (T_{pico}) dos filmes analisados são mostradas na Tab. 8.

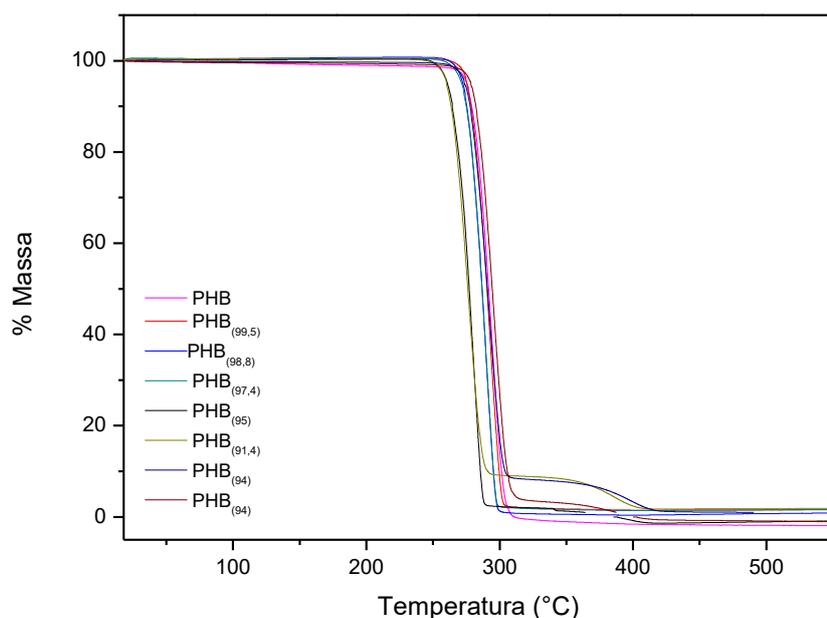


Figura 14. Curvas Termogravimétrica (TG) dos filmes de PHB, PHB/PEG, PHB/ALG-e e PHB/ALG-e/PEG.

Tabela 8. Temperaturas de degradação térmica dos filmes de PHB puro, PHB/ALG-e PHB/PEG e PHB/ALG-e/PEG.

	PHB	PHB _(99,5)	PHB _(98,8)	PHB _(97,4)	PHB _(97,6)	PHB ₍₉₄₎	PHB ₍₉₅₎	PHB _(91,4)
T _{onset} (PHB) (°C)	281	279	279	268	273	272	278	275
T _{max.} (1° pico) (°C)	292	289	289	287	287	286	290	288
T _{max.} (2° pico) (°C)	-	-	-	-	393	387	387	394

A curva de TGA do PHB puro mostra que o mesmo possui degradação em etapa única com perda de massa máxima em $292 \pm 1^\circ\text{C}$, similar ao reportado na literatura [68, 75]. Sendo a degradação do PHB causada quase exclusivamente por uma cisão aleatória na ligação de éster a temperaturas elevadas (acima de 200°C), degradação ocasionada por um mecanismo não radicalar de *cis* eliminação e corte da cadeia polimérica, levando à redução da massa molar do polímero e a formação de componentes de degradação [5, 68, 75].

Os filmes com adição de ALG-e apresentam perda de massa em etapa única como PHB, com temperaturas máximas (T_{max}) ligeiramente mais baixas que a observada para PHB puro (Tab.8). Segundo Çaykara *et al.* [60], a T_{onset} do ALG apresenta-se em torno de 228°C e de T_{max} em torno de 243°C.

Então, um aumento na concentração de ALG-e tornou os filmes termicamente menos estáveis, já que o alginato é menos estável [75]. Isto foi confirmado pela diminuição da T_{onset} de 281°C (PHB) para 268°C (PHB_{97,4}). Os filmes com PEG apresentaram duas fases de perda de massa: a primeiro que ocorre em torno 290°C, relacionada ao PHB e o segundo em torno de 390°C, relacionada ao PEG (Tab. 8). De acordo com a literatura, PEG exibe perda de massa em um único passo a partir de 350°C e terminando a cerca de 395°C [76].

Assim, pode-se inferir que a quantidade de PEG utilizado nos filmes não foi suficiente para gerar uma mudança significativa na temperatura máxima de degradação de PHB para aumentar a estabilidade térmica.

5.2.3. Avaliação morfológica – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Nas Figuras 15 e 16, são apresentadas as micrografias da superfície e seção transversal, respectivamente, dos filmes de PHB puro e dos filmes de PHB/ALG-e/PEG.

As superfícies (Fig. 15) apresentam uma textura rugosa que se torna mais pronunciada e aberta à medida que são adicionados os aditivos ALG-e e PEG.

A superfície de fratura observada nas micrografias da seção transversal (Fig. 16) apresentam claras diferenças. Os filmes de PHB e ALG-e apresentam estrutura densa (Fig. 16a e 16b), porém o filme contendo 2,6% de ALG-e (Fig. 14b) apresentou defeitos mais pronunciados na superfície de fratura.

Os filmes contendo PEG apresentam microporos ao longo da seção transversal, que se tornam mais pronunciados a medida que se aumenta o teor deste aditivo. Observa-se também que os poros estão localizados na superfície de uma das faces do filme (Fig. 16c e 16d), e não se prolongam ao longo da seção transversal.

Como não são poros interconectados talvez sejam apenas defeitos ou vazios provocados pelas tensões na direção da saída do solvente no processo de *casting* e secagem dos filmes [77].

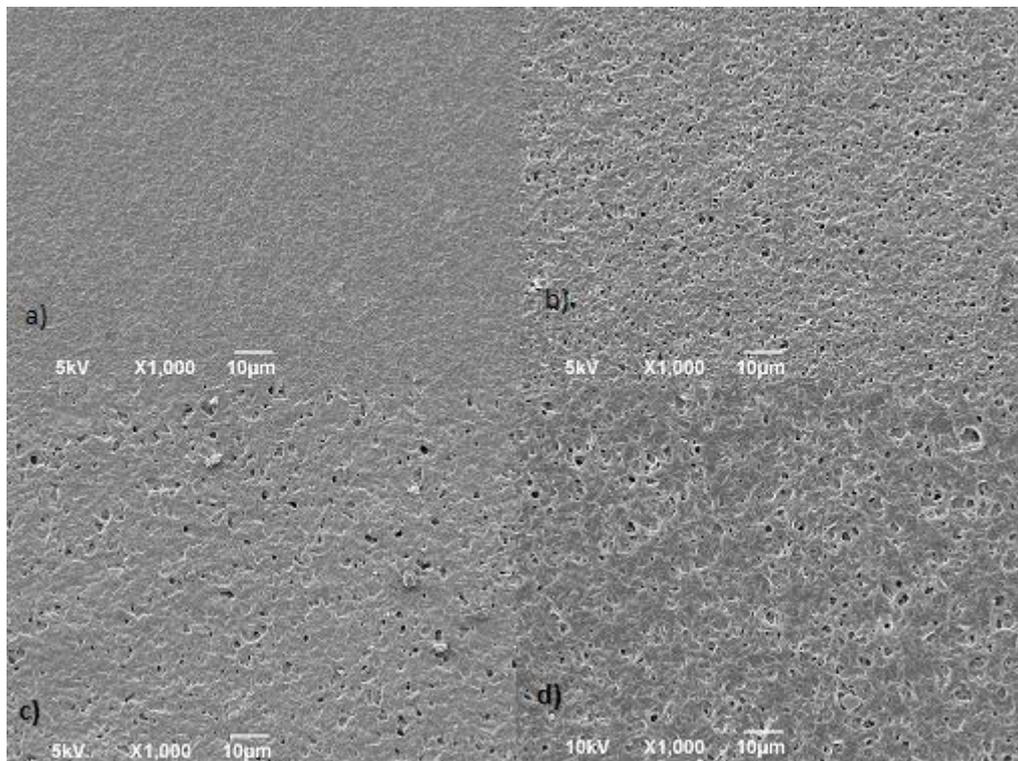


Figura 15. MEV da superfície dos filmes de PHB puro (a), PHB_(97,4) (b), PHB₍₉₅₎ (c) e PHB_(91,4) (d).

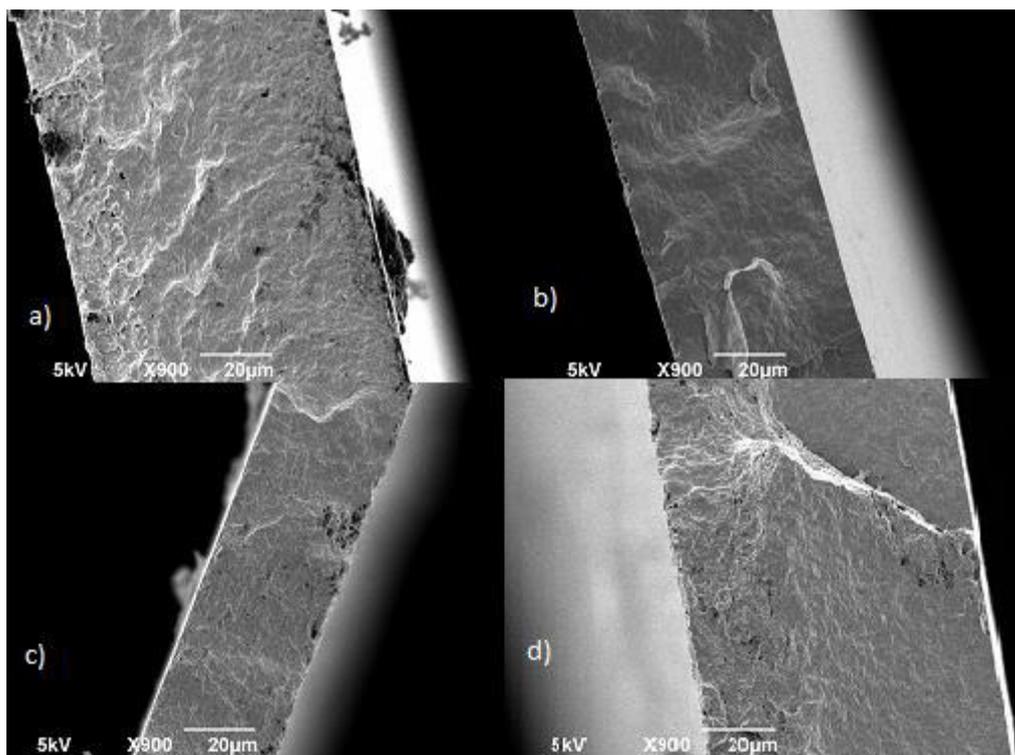


Figura 16. MEV da seção transversal dos filmes de PHB puro (a), PHB_(97,4) (b), PHB₍₉₅₎ (c) e PHB_(91,4) (d).

5.2.4. Hidrofilicidade - Ângulo de Contato e propriedade a vapor de água (PVA)

A hidrofilicidade superficial dos filmes com ALG-e e PEG foram comparadas com a do filme de PHB puro a partir de medidas de ângulo de contato com água.

Tabela 9 enumera os ângulos de contato com a água de ambos os lados dos filmes produzidos. Para os filmes de PHB puro foram observados valores de ângulos em torno de 81°- 82°, um resultado semelhante foi encontrado por Li *et al.* [12].

Tabela 9. Ângulo de contato para PHB, PHB/ALG-e e PHB/ALG-e/PEG.

	PHB	PHB _(97,4)	PHB ₍₉₅₎	PHB _(91,4)
C A° _{Superfície}	81 ± 0,2	80 ± 1,2	79 ± 0,2	65 ± 6,1
C A° _{Fundo}	82 ± 0,9	74 ± 0,6	77 ± 2,7	84 ± 2,2

Além disso, os filmes contendo ALG-e e PEG apresentam diferenças significativas, de acordo com o teste t- Student ($p < 0,05$), para ângulos de contato medidos com água em ambos os lados do mesmo filme. Tanto o ALG-e, quanto o PEG apresentam características mais hidrofílicas que o PHB, conferindo uma superfície com menor tensão superficial para a gota de água que, quando puros, apresentam ângulos de contato em torno de 78° e 48° , respectivamente [60].

Os filmes que apresentaram diferenças significativas entre os lados também foram aqueles com maior anisotropia ao longo da secção transversal, demonstrada por uma maior porosidade sobre uma das faces (Fig. 16), (95% de confiança para o teste t-Student).

A tendência de queda do ângulo de contato à medida que se aumentou o teor de PEG, indica que a adição deste aditivo melhora a hidrofiliabilidade superficial do PHB. Resultados similares foram observados na literatura [12,24,26].

Na Tab. 9 é possível verifica-se que o filme contendo 6% de PEG apresenta característica hidrofílica, o que é desejável para aplicações como curativos médicos [78].

Na Figura 17, são apresentadas as permeabilidades a vapor de água dos filmes de PHB puro, PHB/ALG-e, PHB/PEG e PHB/ALG-e/PEG.

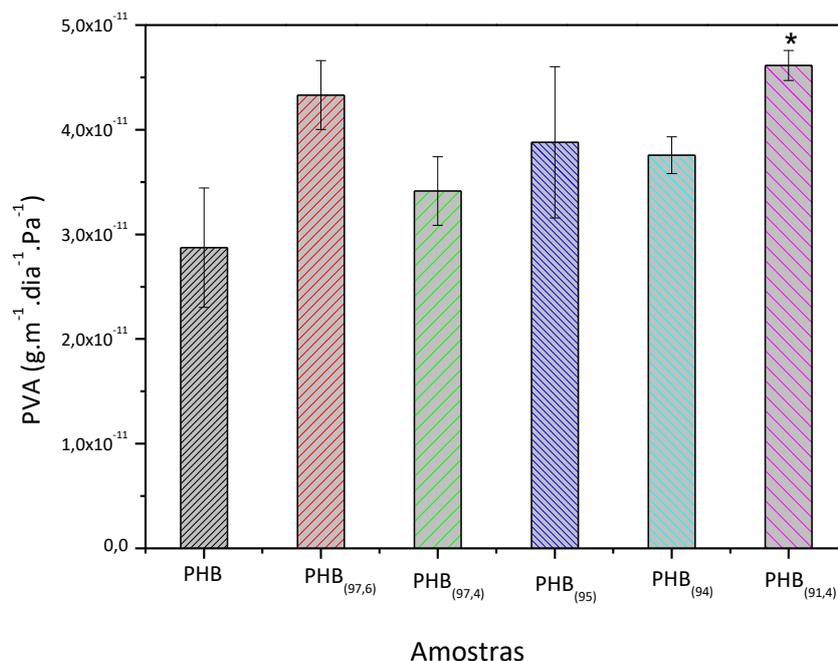


Figura 17. Permeabilidade a vapor de água dos filmes de PHB, PHB/ALG-e e PHB/ALG-e/PEG. O * significa que o valor de PVA é estatisticamente diferente em relação ao PVA encontrado para o filme de PHB puro com $p < 0,05$.

A permeabilidade é uma propriedade composta de dois fatores: sorção e difusão. A primeira está relacionada a aspectos termodinâmicos e depende principalmente das condições de estado, da volatilidade do componente penetrante e das suas interações intermoleculares com a superfície do filme. A difusão do penetrante na matriz polimérica, está relacionada a fatores cinéticos e é diretamente influenciada pela disponibilidade de volume livre no material (densidade e grau de cristalinidade) e pela facilidade de redistribuição desse volume livre (mobilidade segmental) [79].

O valor da permeabilidade a vapor de água (PVA) dos filmes produzidos é mostrado na Fig. 17. Pode-se observar que não houve diferença significativa de acordo com o teste t-Student ($p < 0,05$), entre os filmes de PHB/ALG-e e PHB/ALG-e/PEG nas concentrações mais baixas. Mostrando que nem o ALG-e nem o PEG influenciaram a

PVA dos filmes, nem mesmo com a adição de 6% de PEG. Este fato pode estar relacionado à aglomeração de ALG-e dentro da matriz PHB.

No entanto, o PVA aumentou significativamente com uma quantidade mais elevada de PEG e ALG-e (PHB_{91,4}), quando comparado com o filme de PHB puro.

Desta forma, os resultados observados para os filmes de PHB podem ser atribuídos a um efeito sinérgico dos aditivos e deve estar relacionado com a melhor homogeneização do ALG-e/PEG na matriz de PHB, já que ambos possuem o caráter mais hidrofílico.

Esse resultado indica um avanço na tentativa de melhorar o problema de hidrofobicidade e baixa permeabilidade a vapor d' água do PHB já que mesmo com a adição de até 15% de PEG em filmes de PHB Parra *et al.* [54] não observaram aumento significativo na PVA.

5.2.5. Propriedades Mecânicas

Na Tabela 10 estão apresentadas médias do módulo de Young, Tensão de Ruptura e Deformação de Ruptura, respectivamente, para os filmes de PHB, PHB/ALG-e (PHB_{99,5}, PHB_{98,8}, PHB_{97,6}), PHB/PEG (PHB_{97,4} e PHB₉₄) e PHB/ALG-e/PEG (PHB₉₅ e PHB_{91,4}).

Tabela 10. Módulo de Young, Tensão de Ruptura e Deformação dos filmes de PHB, PHB/ALG-e, PHB/PEG e PHB/ALG-e/PEG

	PHB	PHB _(99,5)	PHB _(98,8)	PHB _(97,4)	PHB _(97,6)	PHB ₍₉₄₎	PHB ₍₉₅₎	PHB _(91,4)
Módulo de Young (MPa)	1175 ± 9,4	1122 ± 23	1216 ± 64	1520 ± 149	1390 ± 59	853 ± 40	1544 ± 196	813 ± 45
Tensão de Ruptura (MPa)	7,5 ± 0,2	8,5 ± 0,4	12 ± 0,9	13 ± 0,9	5,7 ± 0,5	7,2 ± 0,7	8,3 ± 0,7	6,6 ± 0,1
Deformação (%)	1 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1	1,1 ± 0,1	0,7 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,1	0,9 ± 0,1

O módulo de Young, resistência à tração e o alongamento na ruptura (deformação) foram medidos de modo a estudar se a adição de PEG e ALG-e contribuía para a melhoria na flexibilidade e reduzia a fragilidade do PHB.

Tanto o módulo de Young como a resistência à tração aumentaram à medida que aumentava a quantidade de ALG-e, atingindo um valor máximo com o 2,6% de ALG-e na composição (Tab. 10). No entanto, a adição de PEG causou uma tendência oposta. A adição do PEG levou a uma diminuição na resistência à tração em comparação com os filmes de PHB puro. As amostras com PEG e ALG-e apresentaram uma diferença significativa no módulo de Young e a resistência à tração, de acordo com o teste t- Student ($p < 0,05$) apenas para uma concentração máxima de PEG utilizado 6% (PHB_{91,4}). No entanto, a variação da deformação não foi significativa para todos os filmes analisados (95% de confiança).

O fato do módulo de Young e a resistência à tração diminuírem não garante uma ação plastificante do PEG, já que a deformação não variou, reforçando a tese de um sistema cristalino/amorfo. Onde a adição do plastificante que poderia influenciar na formação de pequenos cristalitos e conseqüentemente melhorar as propriedades mecânicas. Porém, o que possivelmente ocorreu foi a formação de esferulitos relativamente grandes, com inúmeras fraturas interesferulíticas.

O PHB puro e suas blendas mostraram comportamento típico de material frágil, isto é, as amostras romperam sem qualquer deformação plástica, resultado semelhante utilizando outras blendas de PHB também foram encontrados por Pachekoski et al. [80].

Nos resultados dos ensaios de tração é possível observar o caráter rígido e frágil do PHB, atribuído à baixa deformação do material, repentina ruptura e alto módulo de

elasticidade tudo associado a seu alto grau de cristalização, o que para aplicação como material destinado para curativos não é interessante [80].

A formação de grandes esferulitos com tendência a presença de trincas culmina em um material frágil. Assim, significativas melhorias nas propriedades mecânicas do PHB é desafiador, pois muitas vezes se faz necessário misturá-lo a outros polímeros amorfos elastoméricos e ou dúcteis, além da presença de aditivos como plastificantes, compatibilizantes em um único sistema [7].

No entanto, foi possível melhorar a resistência à tração, através da adição de apenas 6% de PEG para o filme de PHB/ALG-e/PEG (PHB_{91,4}).

6. CONCLUSÕES

De um modo geral, a presença do ALG-e e PEG levou ao aumento do grau de cristalinidade refletido no aumento da intensidade das bandas no espectro de FTIR, principalmente nas bandas referentes à região cristalina representada pelas ligações ésteres (C=O e C-O-C), e no aumento de intensidade dos picos de DRX.

No entanto, os aditivos não alteraram a estrutura cristalina do PHB, pois não houve presença de novos picos no DRX e nem expansão da rede cristalina caracterizada pelo aumento nos valores dos parâmetros de rede.

O plastificante PEG nas concentrações estudadas aumentou o grau de cristalinidade e não diminuiu a T_m sugerindo que o mesmo formou um sistema cristalino/amorfo com PHB e ALG-e, mas, por outro lado, sua incorporação levou a um aumento na mobilidade segmental da matriz, confirmado pela queda da T_g , indicando que nesta faixa de composição os polímeros apresentaram uma miscibilidade em nível

molecular. Porém, os mesmos nas concentrações estudadas não contribuíram para aumentar a estabilidade térmica da matriz de PHB.

Parra *et al.* [54] trabalharam com blendas de PHB/PEG com PEG em diferentes pesos moleculares e também observou um aumento do grau de cristalinidade, podendo ser atribuído a uma eficiente mobilidade macromolecular durante a cristalização. Isso porque em pequenas quantidades de plastificante no PHB gera uma desorganização por ser uma substância estranha no polímero cristalizáveis [81].

Tanto o ALG-e quanto o PEG conferiram características mais hidrofílicas a matriz de PHB, conferindo uma superfície com menor tensão superficial para a gota de água. A tendência de queda do ângulo de contato à medida que se aumentou o teor de ALG-e e PEG indica que ambos os polímeros melhoraram a hidroflicidade superficial dos filmes, mas, somente a partir de 6% de PEG houve aumento significativo da PVA.

A estrutura morfológica dos filmes se caracterizou por uma superfície de textura rugosa que se torna mais pronunciada, aberta e com microporos, à medida que são adicionados os aditivos, ALG-e e PEG.

Os resultados dos ensaios mecânicos mostram que o aumento de plastificante não levou à diminuição do caráter rígido e frágil do PHB. Mas, foi possível notar que tanto o PEG como o ALG-e, nas concentrações estudadas, mesmo aumentando o grau de cristalinidade foi capaz de diminuir a natureza hidrofóbica do PHB, favorecendo o aumento da PVA.

Os filmes de PHB com 2,6% ALG-e e 6% PEG foram os mais promissores para aplicações biológicas, como curativos devido aos aumentos significativos na PVA, baixos valores de ângulos de contato com água.

7. TRABALHOS FUTUROS

Tendo em vista que as propriedades mecânicas dos filmes de PHB com ALG-e e PEG produzidos neste trabalho ainda apresentam natureza frágil, uma importante continuação do trabalho seria testar concentrações mais altas de PEG como, 10, 15 e 20%, por exemplo, visando melhorar a flexibilidade dos filmes.

Testes de permeação a gases tipo CO₂ e O₂ podem ser feitos para se ter uma visão mais ampla deste requisito que um curativo de pele precisa ter com relação à permeação gasosa.

8. REFERÊNCIAS

- [1] REZENDE, C.A., LUCHESI, C., BARBO, M.L.P. et al. “Membranas de Poli (Ácido Lático-Co-Ácido Glicólico) como Curativos para Pele: Degradação In Vitro e In Vivo”, *Polímeros – Ciência e Tecnologia* v. 15, pp.232-238, 2005.
- [2] ZAHEDI, P., REZAEIAN, I., RANAIEI-SIADAT, S-O., et al. “A review on wound dressings with an emphasis on electrospun nanofibrous polymeric bandage”, *Polymer Advanced Technology* v.21, 2010.
- [3] UEDA, H., TABATA, Y. “Polyhydroxyalkanonate derivatives in current clinical applications and trials”. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 55, pp.501–518, 2013.
- [4] SANTOS JR., A. R., WADA, M. L. F. “Polímeros biorreabsorvíveis como substrato para cultura de células e engenharia tecidual”, *Polímeros: Ciência e Tecnologia* v. 17, n.4, p. 308-317, 2007.
- [5] PACHEKOSKI, W., DALMOLIN, C., AGNELLI, J.A.M. “The Influence of the Industrial Processing on the Degradation of Poly(hidroxybutyrate) – PHB”, *Materials Research* v. 16, n. 2, p. 327-332, Mar./Abr. 2013.
- [6] D’AMICO, D.A., MANFREDI, L.B., CYRAS, V.P. “Crystallization behavior of poly (3-hydroxybutyrate) nanocomposites based on modified clays: Effect of organic modifiers”, *Thermochimica Acta* v.544, n. 20, pp. 47-53, Set. 2012.

- [7] QUENTAL, A.C, CARVALHO, F.P., TADA, E.S. et al. “Revisão: Blendas de PHB e Seus Copolímeros: Miscibilidade e Compatibilidade”, *Química Nova*, v. 33, n. 2, pp.438-446, Jan. 2010.
- [8] DIAS, M., ANTUNES, M.C.M., SANTOS, A.R., et al. “Blends of Poly(3-hydroxybutyrate) and Poly(p-dioxanone): miscibility, thermal stability and biocompatibility”, *Journal Material Science: Material Medical* v. 19, pp. 3535–3544, 2008.
- [9] FIGUEIREDO, T.V.B., CAMPOS, M.I., SOUSA, L.S., et al. “Produção e caracterização de Polihidroxialcanoatos obtidos por fermentação da glicerina bruta residual do biodiesel”, *Química Nova* v. 37, n. 7, pp. 1111-1117, Jul. 2014.
- [10] BRIGHAM, C.J., SINSKEY, A.J “Applications of Polyhydroxyalkanoates in the Medical Industry”, *International Journal of Biotechnology for Wellness Industries* v. 1, pp. 53-60, 2012.
- [11] FERNANDES, J.G., CORREIA, D.M., BOTELHO, G., et al. “PHB-PEO electrospun fiber membranes containing chlorhexidine for drug delivery applications”, *Polymer Testing* v. 34, pp. 64–71, 2014.
- [12] LI, X., LIU, K. L., WANG, M. et al. “Improving hydrophilicity, mechanical properties and biocompatibility of poly[(R)-3-hydroxybutyrate-co-(R)-3-hydroxyvalerate] through blending with poly[(R)-3-hydroxybutyrate]-alt-poly (ethylene oxide)”, *Acta Biomaterial* v. 5, pp. 2002–2012, 2009.

- [13] YOU, J-W., CHIU, H-J., DON, T-M. “Spherulitic morphology and crystallization kinetics of melt-miscible blends of poly (3-hydroxybutyrate) with low molecular weight poly (ethylene oxide)”, *Polymer* v.44, pp.4355-4362, 2003.
- [14] WEI, L., MCDONALD, A.G. “Thermophysical properties of bacterial poly(3-hydroxybutyrate): Characterized by TMA, DSC, and TMDSC”, *Journal Applied Polymer Science*, pp.1 -11, 2015.
- [15] MACHADO, M.L.C. PEREIRA, N.C., MIRANDA, L.F. et al. “Estudo das Propriedades Mecânicas e Térmicas do Polímero Poli-3-Hidroxibutirato (PHB) e de Compósitos PHB/Pó de Madeira”, *Polímeros: Ciência e Tecnologia* v. 20, n 1, pp. 65-71, 2010.
- [16] CONTI, D.S., PEZZIN, S.H., COELHO, L.A.F. “Mechanical and Morphological Properties of Poly (3-hydroxybutyrate)/Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Blends”, *Macromolecular Symposia* v. 245–246, n.1, pp. 491–500, Dez. 2006.
- [17] REIS, K.C. PEREIRA, J., SMITH, A.C., “Characterization of polyhydroxybutyrate-hydroxyvalerate (PHB-HV)/maize starch blend films”, *Journal of Food Engineering* v. 89, pp. 361–369, 2008.
- [18] AKCELRUD, L. *Fundamentos da ciência dos polímeros*. 1 ed. Barueri, Manole, 2007.

- [19] YASIN, M., HOLLAND, S.J., JOLLY, A.M., “Polymers devices for biodegradable medical VI. Hydroxybutyrate-hydroxyvalerate copolymers: accelerated degradation of blends with polysaccharide”, *Biomaterials* v.10, pp. 400-412, 1989.
- [20] ROSSI, L., MENEZES, M.A.J., GONÇALVES, N. et al. “Cuidados locais com as feridas das queimaduras”, *Revista Brasileira de Queimaduras* v. 9, n.2, pp.54-9, 2010.
- [21] FABRA, M.J., LOPEZ-RUBIO, A., LAGARON, J.M. “High barrier polyhydroxyalcanoate food packaging film by means of nanostructured electrospun interlayers of zein”, *Food Hydrocolloids* v. 32, n. 1, pp. 106-114, Jul. 2013.
- [22] YANG, J-S, XIE, Y-J, HE, W. “Research progress on chemical modification of alginate: A review”, *Carbohydrate Polymers* v. 84, n.1, pp.33–39, Fev. 2011.
- [23] BRODERICK, E., LYONS, H., PEMBROKE, T., et al. “The characterization of a novel, covalently modified, amphiphilic alginate derivative, which retains gelling and non-toxic properties”, *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 298, n.1, pp.154–161, Jun. 2006.
- [24] ZHIJIANG, C., ZHIHONG, W. “Preparation of biodegradable poly (3-hydroxybutyrate) (PHB) and poly (ethylene glycol) (PEG) graft copolymer”, *Journal of Materials Science* v. 42, pp. 5886-5890, Mai. 2007.

[25] CHAN, R.T.H., MARÇAL, H., RUSSELL, R.A. et al. “Application of Polyethylene Glycol to Promote Cellular Biocompatibility of Polyhydroxybutyrate Films”, *International Journal of Polymer Science* pp. 1-9, Ago. 2011.

[26] CHAN, R. T.H., MARÇAL, H., AHMED, T. et al. “Poly (ethylene glycol)-modulated cellular biocompatibility of polyhydroxyalkanoate films”, *Polymer International* v. 62, pp. 884-892, Fev.2013.

[27] MI, F.L., SHYU, S.S., WU, Y.B. et al. “Fabrication and characterization of a sponge-like asymmetric chitosan membrane as a wound dressing”, *Biomaterials* v. 22, pp.165-173, 2001.

[28] RATNER, B.D., HOFFMAN, A.S., SCHOEN, F.J. et al. *Biomaterials Science: An introduction to materials in medicine*. 3ed. San Diego, Academic Press, 2012.

[29] MORAES, M.A.; BEPPU, M.M. “Biocomposite Membranes of Sodium Alginate and Silk Fibroin Fibers for Biomedical Applications”, *Journal Applied Polymer Science* v.130, n.5, pp.3451–3457, 2013.

[30] DREIFKE, M.B., JAYASURIYA, A.A., JAYASURIYA, A.C. “Current wound healing procedures and potential care”, *Materials Science and Engineering C* v.48, pp. 651–662, 2015.

[31] SINDHU, R., AMMU, B., BINOD, P. et al. “Production and Characterization of Poly-3-hydroxybutyrate from Crude Glycerol by *Bacillus sphaericus* NII 0838 and

Improving Its Thermal Properties by Blending with Other Polymers”, *Brazilian Archives of Biology and Technology an International Journal* v.54, n. 4, p. 783-794, Jul./Ago. 2011.

[32] WELLEN, R. M. R., RABELLO, M. S., ARAUJO JR., I. C. et al. “Melting and crystallization of poly (3-hydroxybutyrate): effect of heating/cooling rates on phase transformation”, *Polímeros* v. 25, pp. 296-304, 2015.

[33] FECHINE, G, J, M. *Polímeros biodegradáveis: Tipos, mecanismos, normas e mercado mundial*. 1 ed. São Paulo, Mackenzie, 2013.

[34] SADER, M.S., FERREIRA, M., DIAS, M.L. “Preparação e Caracterização de Estruturas Porosas de Poli (3-hidroxibutirato)”, *Polímero: Ciência e Tecnologia* v. 16, n. 1, p. 12-18, 2006.

[35] HUAG, H-S., CHOU, S-H, DON, T-M. “Formation of microporous poly (hydroxybutyric acid) membranes for culture of osteoblast and fibroblast”, *Polymers Advanced Technologies* v. 20, n. 12, pp. 1082-1090, Dez. 2009.

[36] FABRA, M.J., SÁNCHEZ, G., LÓPEZ-RUBIO, A. et al. “Microbiological and ageing performance of polyhydroxyalkanoate based multilayer structures of interest in food packaging”, *LWT - Food Science and Technology* v. 59, n.2, pp.1-8, Dez. 2014.

[37] VOGELSANGER, N., FORMOLO, M.C., PEZZIN, A.P.T. et al. “Blendas Biodegradáveis de Poli (3-Hidroxibutirato) /Poli (ϵ -Caprolactona): Obtenção e Estudo da Miscibilidade”, *Materials Research* v. 6, n. 3, p. 359-365, 2003.

[38] CANEVAROLO, S.V. *Ciência dos Polímeros*. 2 ed. São Paulo, Artliber, 2006.

[39] SPRING 8. Disponível em: <http://www.spring8.or.jp>. Acesso em: Out., 2016.

[40] OLIVEIRA, L.M., ARAÚJO, E.S., GUEDES, S.M.L. “Gamma irradiation effects on poly(hydroxybutyrate)”, *Polymer Degradation and Stability* v. 91, pp. 2157-2162, 2006.

[41] ZHU, C., NOMURA, C.T., PEROTTA, J.A., et al. “The effect of nucleating agents on physical properties of poly-3- hydroxybutyrate (PHB) and poly-3-hydroxybutyrate-co-3- hydroxyvalerate (PHB-co-HV) produced by *Burkholderia cepacia* ATCC 17759”, *Polymer Testing* v. 31, pp.579–585, 2012.

[42] FALCONE, D.M.B., AGNELLI, J.A.M. “Influência da incorporação de agentes nucleantes nas propriedades térmicas e mecânicas da blenda de PHB/EVA – Poli (Hidroxibutirato) /copolímero Etileno-co-Acetato de Vinila”. In: *9º CBPol - Congresso Brasileiro de Polímeros*, Campina Grande, Out. 2007.

[43] ZHANG, W., XU, Y., YU, Z. et al. “Separation of acetic acid/water mixtures by pervaporation with composite membranes of sodium alginate active layer and

microporous polypropylene substrate” *Journal of Membrane Science* v. 451, n.1, pp.135–147, Fev. 2014.

[44] ELNASHAR, M. *Biopolymers*. Intech, 2010. ISBN: 978-953-307-109-1.

[45] SIOUTOPOULOS, D.C., GOUDOULASB, T.B., KASTRINAKISB, E.G. et al. “Rheological and permeability characteristics of alginate fouling layers developing on reverse osmosis membranes during desalination”, *Journal of Membrane Science* v. 434, n.1., pp.74–84, Mai. 2013.

[46] TURBIANI, F.R.B., KIECKBUSCH, T.E. “Propriedades mecânicas e de barreira de filmes de alginato de sódio reticulados com benzoato de cálcio e/ou cloreto de cálcio”, *Brazilian Journal of Food Technology* v. 14, n. 2, pp. 82-90, Abr./Jun. 2011.

[47] LENDLEIN, A, SISSON, A. *Handbook of Biodegradable Polymers: Synthesis, Characterization, and Applications*. Wiley-VCH, 2011. ISBN: 978-3-527-32441-5.

[48] BOISSESON, M. R., LEONARD, M., HUBERT, P. et al. “Physical alginate hydrogels based on hydrophobic or dual hydrophobic/ionic interactions: Bead formation, structure, and stability”, *Journal of Colloid and Interface Science* v. 273, n.1, pp.131–139, Mai. 2004.

[49] ADOOR, S.G., MANJESHWAR, L.S., BHAT, S.D. et al. “Aluminum-rich zeolite beta incorporated sodium alginate mixed matrix membranes for pervaporation

dehydration and esterification of ethanol and acetic acid”, *Journal of Membrane Science* v. 318, pp.233–246, Jun.2008.

[50] GHAHRAMANPOOR, M.K., NAJAFABADI, S.A.H., ABDOUSS, M. et al. “A hydrophobically-modified alginate gel system: utility in the repair of articular cartilage defects”, *Journal Materials Science: Materials in Medicine* v. 22, n.10, pp.2365–2375, Out. 2011.

[51] REIS, M. *Química: Química Orgânica*. São Paulo, FTD, 2007.

[52] RABELLO, M. *Aditivação de polímeros*. 1 ed. São Paulo, Artliber, 2007.

[53] AVELLA, M., MARTUSCELLI, E., “Poly- D (-) (3- hydroxybutyrate) / poly (ethylene oxide) blends: phase diagram, thermal and crystallization behavior”, *Polymer* v.29 pp.1731-1737, 1988.

[54] PARRA, D.F., ROSA, D.S. REZENDE, J. et al. “Biodegradation of γ Irradiated Poly 3-hydroxybutyrate (PHB) Films Blended with Poly (Ethyleneglycol)”, *Journal of Polymer Environment* v. 19, pp. 918–925, 2011.

[55] WURZBURG, O. B. *Acetylation. In Methods in Carbohydrates Chemistry IV*. Ney York, Academic Press, 1964.

[56] HABERT, A.C., BORGES, C.P., NOBREGA, R., *Processo de Separação por Membranas*. COPPE/UFRJ. Rio de Janeiro, E-papers, 2006.

[57] CALLISTER, JR., W.D., RETHWISCH, D.G. *Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução*. 8 ed. LTC, São Paulo, 2012.

[58] NING, W., XINGXIANG, Z., NA, H. *et al.* “Effect of citric acid and processing on the performance of thermoplastic starch/montmorillonite nanocomposites”, *Carbohydrate Polymers* v. 76, pp. 68-73, 2009.

[59] AMERICAN SOCIETY STANDARD TESTING AND MATERIALS. ASTM: D882-00: Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. Philadelphia, pp. 1-9, 2012.

[60] ÇAYKARA, T., DEMIRCI, S., EROĞLUB, M. S., *et al.*, “Poly (ethylene oxide) and its blends with sodium alginate”, *Polymer*, v.46, pp. 10750-10757, 2005.

[61] SOARES, J.P., SANTOS, J. E., CHIERICE, G. O. *et al.* “Thermal behavior of alginic acid and its sodium salt” *Eclética Química* v. 29, n.2, pp.57-63, 2004.

[62] ASRAN A., RAZGHANDI K, AGGARWAL N. *et al.* “Nanofibers from Blends of Polyvinyl Alcohol and Polyhydroxy Butyrate as Potential Scaffold Material for Tissue Engineering of Skin”, *Biomacromolecules* v. 11, n.12, pp. 3413–3421, Dez. 2010.

[63] SILVERSTEIN, R. M., BASSLER, G. C., MORRIL, T. C. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 7 ed. New York, John Wiley and Sons, 2006.

[64] FURUKAWA, T. SATO, H. MURAKAMI, R. et al. "Structure, Dispersibility, and Crystallinity of Poly(hydroxybutyrate)/ Poly (L-lactic acid) Blends Studied by FT-IR Microspectroscopy and Differential Scanning Calorimetry", *Macromolecules* v.38, pp. 6445-6454, 2005.

[65] RANDRIAMAHEFA, S., RENARD, E., GUERIN, P. *et al.* "Fourier Transform Infrared Spectroscopy for Screening and Quantifying Production of PHAs by *Pseudomonas* Grown on Sodium Octanoate" *Biomacromolecules*, v. 4, pp. 1092-1097, 2003.

[66] WEI, L., MCDONALD, A.G." Peroxide induced cross-linking by reactive melt processing of two biopolyesters: Poly(3-hydroxybutyrate) and poly (L-lactic acid) to improve their melting processability.", *Journal Applied Polymer Science*, pp.1 -11, 2015.

[67] PORTER, M.; YU, J. "Crystallization Kinetics of Poly(3-Hydroxybutyrate) Granules in Different Environmental Conditions". *Journal Biomaterials Nanobiotechnology*, v.2, pp. 301, 2011.

[68] THIRÉ, R.M.S.M., ARRUDA, L.C., BARRETO, L.S. "Morphology and Thermal Properties of Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/Attapulgitic Nanocomposites", *Materials Research* v. 14, n. 3, pp. 340-344, 2011.

[69] LEI, C., ZHU, H., LI, J. et al. "Preparation and Characterization of Polyhydroxybutyrate-cohydroxyvalerate/ Silk Fibroin Nanofibrous Scaffolds for SkinTissue Engineering", *Polymer Engineering and Science* v.55 (4), pp. 907-916, 2015.

- [70] PINTO, C. E. S., ARIZAGA, G.G.C., WYPYCH, F. et al. “Studies of the effect of molding pressure and incorporation of sugarcane bagasse fibers on the structure and properties of poly (hydroxy butyrate)”, *Composites: Part A* v. 40, pp. 573–582, 2009.
- [71] ZHIJIANG, C., CHENGWEI, H., GUANG, Y. “Crystallization behavior, thermal property and biodegradation of poly (3-hydroxybutyrate)/poly (ethylene glycol) grafting copolymer”, *Polymer Degradation Stability* v. 96, pp. 1602-1609, 2011.
- [72] TAN, S.M., ISMAIL, J., KUMMERLO, C., et al. “Crystallization and Melting Behavior of Blends Comprising Poly (3-hydroxy butyrate-co -3-hydroxy valerate) and Poly (ethylene oxide)”, *Journal Applied Polymer Science* v.101, pp. 2776–2783, 2006.
- [73] AN, Y., DONG L., XING P., et al. “Crystallization Kinetics and Morphology of Poly(β -Hydroxybutyrate) and Poly (Vinyl Acetate) Blends”, *European Polymer Journal* v. 33, 1449-1452, 1997.
- [74] ZIAEE, Z., SUPAPHOL, P. “Non-isothermal melt- and cold-crystallization kinetics of poly (3-hydroxybutyrate)”, *Polymer Testing* v. 25, pp, 807–818, 2006.
- [75] SILVA, M.B.R., TAVARES, M.I.B., SILVA, E.O. et al. “Dynamic and structural evaluation of poly (3-hydroxybutyrate) layered nanocomposites”, *Polymer Testing* v.32, pp. 165–174, 2013.

- [76] ZAMPORI, L. DOTELLI, G., STAMPINO, P.G. et al. “Thermal characterization of a montmorillonite, modified with polyethylene-glycols (PEG1500 and PEG4000), by in situ HT-XRD and FT IR: Formation of a high-temperature phase”, *Applied Clay Science*, v. 59–60, pp. 140–147, 2012.
- [77] JONES, D. S.; MEDLICOTT, N. J. “Casting solvent controlled release of chlorhexidine from ethylcellulose films prepared by solvent evaporation”, *International Journal of Pharmaceutics* v.114, pp. 257-261, 1995.
- [78] ARRIETA, M.P., SAMPER, M.D., LOPEZ, J. et al. “Combined Effect of Poly(hydroxybutyrate) and Plasticizers on Polylactic acid Properties for Film Intended for Food Packaging”, *Journal Polymer Environment* v.22, pp.460–470, Jun. 2014.
- [79] BAKER, R.W. *Membrane Technology Applications*. 3 ed. California, Wiley, 2012.
- [80] PACHEKOSKI, W.M., DALMOLIN, C., AGNELLI, J.A.M. “Blendas Poliméricas Biodegradáveis de PHB e PLA para Fabricação de Filmes”, *Polímeros*, v. 24, pp. 501-507, 2014.
- [81] BIBERS, I., TUPUREINA, V., DZENE, A. et al. “Improvement of The Deformative Characteristics of Poly- β -Hydroxybutyrate by Plasticization” *Mechanics of Composite Materials*, v. 35, n. 4, pp. 357-364, Abr. 1999.