

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CÂMPUS MEDIANEIRA**

MARIVANE TURIM KOSCHEVIC

**DEGRADAÇÃO BIÓTICA DO POLITEREFTALATO DE ETILENO
IRRADIADO POR ULTRAVIOLETA COM A UTILIZAÇÃO DO FUNGO
LIGNINOLÍTICO *Lentinula edodes***

DISSERTAÇÃO

**MEDIANEIRA
2015**

MARIVANE TURIM KOSCHEVIC

**DEGRADAÇÃO BIÓTICA DO POLITEREFTALATO DE ETILENO
IRRADIADO POR ULTRAVIOLETA COM A UTILIZAÇÃO DO FUNGO
LIGNINOLÍTICO *Lentinula edodes***

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título Mestre em Tecnologias Ambientais, do Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais – PPGTAMB – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Câmpus Medianeira.

Discente: Marivane Turim Koschevic

Orientador: Dr. Paulo Rodrigo Stival Bittencourt

Coorientador: Dr. Carlos Alberto Mucelin

**MEDIANEIRA
2015**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

K86d	<p>Koschevic, Marivane Turim.</p> <p>Degradação biótica do politereftalato de etileno irradiado por ultravioleta com a utilização do fungo ligninolítico <i>Lentinula edodes</i>. / Marivane Turim Koschevic. – 2015. 158 f. : il. ; 30 cm.</p> <p>Orientador: Paulo Roberto Stival Bittencourt. Co-orientador: Carlos Alberto Mucelin. Dissertação (Mestrado) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais. Medianeira, 2015. Inclui bibliografias.</p> <p>1. Biodegradação. 2. Termoplásticos. 3. Shiitake. I. Bittencourt, Paulo Roberto Stival, orient II. Mucelin, Carlos Alberto, co-orient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais. IV. Título.</p> <p>CDD: 628.50154 - Ed. 22</p>
------	--



TERMO DE APROVAÇÃO

DEGRADAÇÃO BIÓTICA DO POLITEREFTALATO DE ETILENO IRRADIADO POR ULTRAVIOLETA COM A UTILIZAÇÃO DO FUNGO LIGNINOLÍTICO *Lentinula edodes*

Por

MARIVANE TURIM KOSCHEVIC

Essa dissertação foi apresentada às 09 horas, do dia 07 de maio de dois mil e quinze, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Tecnologias Ambientais, Linha de Pesquisa em Tecnologias de Tratamento e Valorização de Resíduos, no Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dr. Paulo Rodrigo Stival Bittencourt (Orientador – PPGTAMB)

Prof. Dr. Carlos Alberto Mucelin (Coorientador – PPGTAMB)

Prof^a. Dr^a. Daiane Cristina Lenhard (Membro Interno – UTFPR)

Prof^a. Dr^a. Leticia Nishi (Membro Externo – UEM)

A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa.

*Dedico esta dissertação especialmente a minha
família, minha mãe Juraci, minha irmã Marcela, e ao
meu amado noivo Ivan.*

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos são importantes para demonstrar o quanto as contribuições recebidas são importantes na construção de um sonho, assim agradeço primeiramente à Deus pela força e esperança da alegria de viver e poder realizar esse projeto, agradeço a Universidade Tecnológica Federal do Paraná pela estrutura e apoio do corpo docente na execução das atividades. Aos professores do PPGTAMB e do PPGTA que de qualquer maneira contribuíram na execução das atividades desta pesquisa.

Ao professor Paulo Rodrigo Stival Bittencourt, meu orientador, que me conduziu durante esse processo, expressei minha gratidão por ter a oportunidade de compartilhar conhecimentos contigo, uma pessoa maravilhosa, pela sua sabedoria, paciência, e entendimento.

Ao professor Carlos Alberto Mucelin por desde sempre fazer parte da minha trajetória acadêmica, uma pessoa que tenho grande admiração pela competência e dedicação exemplares, agradeço infinitamente por ter aceitado participar comigo dessa pesquisa, pela compreensão nos momentos difíceis, pelo apoio e paciência nos ensinamentos.

A professora Daiane Lenhard que é uma pessoa maravilhosa, dedicada, inteligente, e amiga, que sempre contribuiu para o desenvolvimento da pesquisa, e como inspiração profissional.

Aos colegas de encontros e desencontros nessa caminhada, como o Daniel, o Osvaldo, o Roberto, a Elaine, o Vitor, o Alencar, que sempre me socorreram nos momentos de dificuldade e no auxílio com materiais e equipamentos, e me aturaram com muita paciência. Muito Obrigada!

A minha mãe Juraci e ao Ivan pelas horas dedicadas no laboratório e em casa comigo demonstrando sempre muita paciência e compreensão, por terem participado diretamente da execução deste trabalho, e serem pacientes comigo quando eu estive sem paciência, e por me apoiarem sempre. Muito Obrigada!

A minha irmã Marcela por ser mais que irmã, ser uma amiga, uma pessoa especial, pela qual tenho grande paixão e certamente sigo seus passos hehehehe Muito Obrigada!

Aos amigos mais próximos, Simone, Bruna e Marcelo pela amizade e companheirismo, vocês são pessoas maravilhosas na minha vida, Obrigada por tudo! Aos amigos de sempre pelos momentos compartilhados, a amigos de trabalho, pelas bancadas divididas e salas compartilhadas, pelas palavras de ânimo e perseverança, muito obrigada!

A todas as pessoas maravilhosas que não estão citadas aqui, mas em meu coração e pensamentos sempre serão lembradas com carinho por todos os momentos que vivemos juntos. Muito Obrigada!

A CAPES pela bolsa concedida.

Muito Obrigada!

*“Não importa onde você parou...
Em que momento da vida você cansou.
O que importa é que sempre é possível recomeçar.
Recomeçar é dar uma nova chance a si mesmo...
É renovar as esperanças na vida e o mais importante...
Acreditar em você de novo”.*

(Carlos Drummond de Andrade)

Por fim...

“A esperança é a última que morre”

RESUMO

KOSCHEVIC, Marivane Turim. **Degradação biótica do politereftalato de etileno irradiado por ultravioleta com a utilização do fungo ligninolítico *Lentinula edodes***. 2015. 159 fl. Dissertação (Pós-graduação em Tecnologias Ambientais) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira, 2015.

O politereftalato de etileno (PET) é um termoplástico da família dos poliésteres com ampla utilização pela indústria de bebidas carbonatadas, este material, quando descartado no ambiente inadequadamente, como outros resíduos sólidos, torna-se um passivo ambiental, pois, pode ocasionar a poluição dos ambientes, bem como a proliferação de vetores de doenças, entre outros. No que tange ao avanço de pesquisas em busca de alternativas para a minimização de impactos ambientais provenientes do descarte de materiais poliméricos, surgem como alternativas, a investigação de processos fotodegradativos e biológicos que visam a degradação destes materiais. Os processos de fotodegradação incluem a radiação ultravioleta, uma luz de alta energia capaz de provocar modificações na estrutura polimérica que acarreta a degradação/desestabilização do material. Ainda, a utilização de fungos basidiomicetos, responsáveis pela degradação de compostos naturais com grandes cadeias carbônicas, aplicada a decomposição de materiais poliméricos é considerada uma alternativa promissora. O *Lentinula edodes*, popularmente conhecido como shiitake é um fungo de grande interesse comercial, além de ser comestível, produz grandes quantidade de hidrolases e oxidases durante a conversão de resíduos lignocelulósicos. Neste estudo, foram utilizadas garrafas de PET virgem cristal, pré-consumo, como substrato para o crescimento do fungo *L. edodes*. Os ensaios procederam em duas fases, abiótica e biótica. Na fase de degradação abiótica, os espécimes de PET recortados da faixa central da garrafa, foram submetidos a radiação por luz ultravioleta, em uma câmara irradiação UV acelerada. Os períodos de tempo foram 0h/sem irradiação, 24 horas, 48 horas, e 96 horas, ininterruptos. Os 4 grupos (0h, 24h, 48h, e 96h) foram caracterizadas por análises termogravimétricas (TG), Análise de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (0h e 96h) e Ensaio de Tração Mecânica (ASTM-D638-10), para analisar o efeito dessa radiação nas propriedades físico-químicas das amostras. A segunda fase de degradação, biótica, consistiu na realização de ensaios de interação entre o fungo *L. edodes* e o PET. Foram empregados como tratamentos o cultivo em placas de petri, o cultivo em tubos de ensaio, a fermentação semissólida e o cultivo axênico, mantidos por diferentes períodos de tempo. Como variáveis resposta, por meio do método gravimétrico, obteve-se o percentual de perda de massa e, posteriormente, as amostras foram submetidas a análise de microscopia óptica, análises termogravimétricas, TG/DTG e DSC, e para o cultivo axênico foi determinada a tração mecânica. Os resultados indicam que a irradiação UV altera significativamente as propriedades do PET, fato que influencia na estabilidade e na sua biodegradabilidade. O percentual de perda de massa médio, obtido nos diferentes ensaios, sem considerar o tipo e os períodos de tempo dos tratamentos, foram de, 0,44% para o PET 0h, sem irradiação o menor valor registrado, 1,28% para o PET 24h, o maior valor registrado, e ainda, 1,07% para o PET 48h e 0,95% para o PET 96h, para as diferentes fases de irradiação UV. Através das microfotografias, foi possível observar a deterioração do material, com a presença de escavações e falhas, mas também foi possível observar que o fungo pode se aderir fortemente à matriz polimérica, e o procedimento utilizado para a remoção não ser eficiente, fato que deixa vestígios do fungo no interior do PET. Oscilações nas propriedades térmicas e mecânicas do PET também puderam ser observadas, outro indicativo de que o fungo *L. edodes* tem potencial para a aplicação em processo de biodegradação, e a irradiação UV age de forma favorável a esse processo, por fim são feitas sugestões que visam a melhoria dos resultados de biodegradação e o conhecimento mais específico de seus processos.

Palavras-chave: Politereftalato de etileno; Irradiação Ultravioleta; Biodegradação.

ABSTRACT

KOSCHEVIC, Marivane Turim. **Biotic degradation of the polyethylene terephthalate irradiated by ultraviolet using the fungus ligninolytic *Lentinula edodes***. 2015. 159 fl. Dissertação (Pós-graduação em Tecnologias Ambientais) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira, 2015.

The polyethylene terephthalate (PET) is a thermoplastic polyester with widespread use of the carbonated beverage industry, this material, when disposed of improperly in the environment like other solid waste becomes an environmental burden, it may cause pollution environments, as well as the proliferation of disease vectors, among others. With respect to the advancement of research in search of alternatives to minimize environmental impacts from the disposal of polymeric materials, emerge as alternatives, the research photo degradative and biological processes to the degradation of these materials. The photodegradation processes include ultraviolet radiation, a high energy light which can cause changes in the polymer structure which causes degradation/destabilization of the material. Furthermore, the use of Basidiomycete fungi responsible for the degradation of natural compounds with large carbon chains applied to decomposition of polymeric materials is considered a promising alternative. The *Lentinula edodes*, popularly known as shiitake is a great commercial interest fungus, in addition to being edible, produces large quantity of hydrolase and oxidase for the conversion of lignocellulosic wastes. In this study, we used PET bottles crystal virgin, pre-consumer, as a substrate for the growth of the fungus *L. edodes*. The tests proceeded in two stages, abiotic and biotic. In abiotic degradation, phase PET specimens cut from the central strip of the bottle were subjected to ultraviolet radiation in a chamber accelerated UV irradiation. The time periods were 0h / without irradiation, 24 hours, 48 hours and 96 hours uninterrupted. The 4 groups (0h, 24h, 48h, 96h and) were characterized by thermogravimetric analysis (TG), Analysis of Differential Scanning Calorimetry (DSC), Infrared Spectroscopy Fourier Transform (0h and 96h) and Mechanical Tensile test (ASTM -D638-10), to analyze the effect of radiation on the physicochemical property of the samples. The second stage of degradation, biotic, consisted of testing interaction between the fungus *L. edodes* and PET. The treatments used were grown in petri dishes, cultivation in tubes, the semisolid fermentation axenic culture and maintained for different periods of time. The following variables by the gravimetric method gave a weight loss percentage, then the samples were subjected to light microscopy analysis, thermogravimetric analysis, TG/DTG and DSC, and the axenic culture was determined traction mechanical. The results indicate that UV irradiation significantly modifies the properties of PET, a fact that influences the stability and biodegradability. The percentage of average mass loss, obtained in different trials, regardless of the type and the time periods of the treatments were of 0.44% for PET 0h without irradiation the lowest recorded value, 1.28% for PET 24, the highest value recorded, and also 1.07% for PET 48h and 0.95% for PET 96h, different UV irradiation phases. Through the photomicrographs, we observed degradation of the material, with the presence of excavations and failures, but it was also observed that the fungus can strongly adhere to the polymer matrix, and the procedure for removal was not be effective, a fact that leaves fungus remains inside the PET. Oscillations in thermal and mechanical properties of PET could be observed, another indication that the fungus *L. edodes* has potential for application in biodegradation process, and UV irradiation acts favorably to this process, finally are made suggestions aimed at improving biodegradation results and more specific knowledge of its processes.

Keywords: Polyethylene terephthalate; Ultraviolet irradiation; Biodegradation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama de produção do polímero e das garrafas PET.....	21
Figura 2 - Características do PET e seus valores determinados.....	22
Figura 3 - Modelo comum da reação química para a formação do politereftalato de etileno (PET).	23
Figura 4 - Esquema ilustrativo das cadeias poliméricas em estado amorfo, cristalino e semicristalino.....	24
Figura 5 - Principais aditivos utilizados na indústria de plásticos e suas funções.	26
Figura 6 – Parte do processo de moldagem por sopro.	27
Figura 7 - Posicionamento na escala das ondas eletromagnética da faixa visível e ultravioleta.....	29
Figura 8 – Principal grupo cromóforo de absorção de UV no PET.....	30
Figura 9 - Prováveis locais das cisões entre as ligações da estrutura do PET acometidos pela fotodegradação por luz ultravioleta.	31
Figura 10 - Reações foto-oxidativas do PET durante exposição UV com a exposição dos grupos terminais carboxílicos.	31
Figura 11 – Representação esquemática de um gráfico de tensão <i>versus</i> deformação.	35
Figura 12 - Modelo tipo I ASTM D638-10 para ensaio de tração mecânica.	36
Figura 13 - Etapas do processo de degradação biológica de polímeros.....	38
Figura 14 - Diagrama dos processos degradativos abióticos e bióticos passíveis de ocorrerem em polímeros.	39
Figura 15 - Exemplificação da formação do biofilme fúngico em uma superfície polimérica sintética.....	39
Figura 16 - Esquema da árvore filogenética, com ênfase ao reino fungi.....	41
Figura 17 - Perfil taxonômico do shiitake.	42
Figura 18 - Estrutura do cogumelo <i>shiitake</i>	43
Figura 19 – Fluxograma com as etapas gerais da pesquisa.	49
Figura 20 – Composição dos corpos de prova utilizados no estudo.	50
Figura 21 – Composição do equipamento de irradiação UV acelerada.	52
Figura 22 – Modelo representativo do ensaio de cultivo em placas de petri.	57
Figura 23 - Exemplo da formulação estrutural do cultivo em tubos de ensaio.	58
Figura 24 – Substratos utilizados no ensaio de Fermentação Semissólida.	59
Figura 25 – Exemplo da formulação do ensaio de fermentação semissólida.....	60
Figura 26 – Exemplo da formulação estrutural do cultivo axênico.	61
Figura 27 – Elaboração do <i>spawn</i> , inóculo utilizado no ensaio de cultivo axênico....	63
Figura 28 – Modificações da coloração aparente dos corpos de prova irradiados....	68
Figura 29 - Fotomicrografias do PET, em seus distintos períodos de irradiação UV, obtida por microscopia óptica com ampliação de 40x.	73
Figura 30 – Espectro de FTIR para as amostras de PET0h e PET 96h.....	83
Figura 31 - Microfotografia do fungo <i>Lentinula edodes</i> , evidenciando suas características microscópicas.....	92
Figura 32 – Composição de imagens com os diferentes tipos de cultivos empregados no processo biodegradativo do PET por <i>L. edodes</i>	94
Figura 33 – Composição de imagens com os diferentes tipos de tratamentos do PET nos períodos de tempo do estudo.	95

Figura 34 - Fotomicrografias do PET, em seus distintos períodos de irradiação UV, após o período de interação com o fungo, obtidas por microscopia óptica com ampliação de 4x.	103
Figura 35 - Fotomicrografias do PET, em seus distintos períodos de irradiação UV, após o período de interação com o fungo, obtidas por microscopia óptica com ampliação de 4x e 100x.	104
Figura 36 - Fotomicrografias do PET24h, após o período de 90 dias e interação com o fungo, obtidas por microscopia óptica.	105
Figura 37 – Microfotografias obtidas por meio de microscopia eletrônica, para o PET após o CTE, ampliadas 4x.	119
Figura 38 – Composição de microfotografias do PET, em seus distintos períodos de irradiação UV, após o período de interação com o fungo no cultivo de FSS, obtidas por microscopia óptica com ampliação de 4x e 40x.	123

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 – Cálculo do grau de cristalinidade em percentual.....	33
Equação 2 - Fórmula para a determinação da perda de massa do PET.....	45

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Identificação da faixa de absorção de UV pelo PET por absorção atômica.	65
Gráfico 2 - Espectro de transmitância do PET pela análise de espectroscopia no UV-Vis.	66
Gráfico 3 – Perda de massa pelo processo de irradiação UV nas amostras PET.....	69
Gráfico 4 – Distribuição das massas das amostras de PET 24h, 48h e 96h armazenadas no escuro nos períodos de tempo.	72
Gráfico 5 – Termograma de DSC para as amostras de PET nos diferentes níveis de irradiação UV.....	74
Gráfico 6 – Termograma de DSC para os materiais PET 0h de irradiação UV, PET 24h, 48h e 96h de Irradiação UV.....	75
Gráfico 7 – Curvas Termogravimétricas para o PET em diferentes períodos de irradiação UV (0h, 24h, 48h e 96h).	76
Gráfico 8 – Ênfase na parte superior da TG das amostras de PET.	76
Gráfico 9 – Ampliação das curvas termogravimétricas para o PET 0h, 24h, 48h, e 96h de irradiação, com ênfase na faixa de 430°C até 490°C.	77
Gráfico 10 – Curva Termogravimétrica Derivada (DTG) para as amostras de PET 0h, 24h, 48h e 96h de irradiação UV.....	78
Gráfico 11 – Ênfase na parte inferior da curva DTG das amostras de PET irradiadas e não irradiadas.....	79
Gráfico 12 – Correlação entre a temperatura de fusão e o grau de cristalinidade nas amostras de PET.....	80
Gráfico 13 – Curvas do ensaio de tração mecânica para o PET0h.....	84
Gráfico 14 – Curvas do ensaio de tração mecânica para o PET 24h de irradiação UV.	85
Gráfico 15 - Curvas do ensaio de tração mecânica para o PET 48h de irradiação UV.	86
Gráfico 16 - Curvas do ensaio de tração mecânica para o PET 96h de irradiação UV.	86
Gráfico 17 - Tensão de estiramento e módulo de Young das amostras de PET.....	87
Gráfico 18 – Correlação entre os dados do Módulo de Young e a Tensão de Estiramento.	89
Gráfico 19 – Percentual de perda de massa do PET, nos períodos de irradiação e tempo amostrados.....	97
Gráfico 20 – Períodos de irradiação e o percentual de perda de massa ao longo do tempo de estudo.....	98
Gráfico 21 - Termograma DSC do PET 0h com ênfase na região do pico de fusão das amostras.....	107
Gráfico 22 - Termograma DSC do PET 24h com ênfase na região do pico de fusão das amostras.....	107
Gráfico 23 - Termograma DSC do PET 48h com ênfase na região do pico de fusão das amostras.....	108
Gráfico 24 - Termograma DSC do PET 96h com ênfase na região do pico de fusão das amostras.....	109
Gráfico 25 – Comparação entre as curvas de DTG do PET em suas fases de irradiação UV (0h, 24h, 48h, 96h) após 150 dias de incubação com o fungo, com ênfase na extremidade final do pico.....	110

Gráfico 26 – Médias do cultivo em tubos de ensaio no período de 30, 45, e 60 dias.	113
Gráfico 27 – Termograma de DSC obtido para os espécimes com menor perda de massa no CTE.....	115
Gráfico 28 – Curva DTG para os espécimes com menor perda de massa no CTE.	116
Gráfico 29 – Ampliação no pico das DTG's do PET em cultivo de Tubos de Ensaio.	116
Gráfico 30 – Grau de cristalinidade em relação a perda de massa das médias de cada período de irradiação.	118
Gráfico 31 – Percentual de perda de massa no PET em ensaio de Fermentação Semissólida.....	120
Gráfico 32 – Termogramas de DSC para o PET após o ensaio de FSS em 30 dias.	124
Gráfico 33 – Termogramas de DSC com ênfase no pico de fusão das amostras de PET após o ensaio de FSS em 30 dias.....	125
Gráfico 34 – Termogramas de DSC para o PET após o ensaio de FSS em 60 dias.	125
Gráfico 35 - Termogramas de DSC com ênfase no pico de fusão das amostras de PET após o ensaio de FSS em 60 dias.....	126
Gráfico 36 – Relação entre o Grau de Cristalinidade e a perda de massa das amostras de PET do ensaio em FSS.....	128
Gráfico 37 – Distribuição das médias de perda e ganho de massa na FSS.	130
Gráfico 38 – Curva de tensão deformação para o PET, após 30 dias em cultivo axênico.....	135
Gráfico 39 - Curva de tensão deformação para o PET, após 60 dias em cultivo axênico.	136
Gráfico 40 - Curva de tensão deformação para o PET, após 90 dias em cultivo axênico.	136
Gráfico 41 - Curva de tensão deformação para o PET, após 120 dias em cultivo axênico.....	137
Gráfico 42 – Variação do Módulo de Young em relação aos períodos de tempo do tratamento.	138
Gráfico 43 – Módulo de Young em relação ao comportamento do pH.....	140
Gráfico 44 – Tensão de estiramento em relação ao módulo de Young no PET do cultivo axênico.....	142

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição dos resíduos agroindustriais farelo de arroz, trigo e serragem, em percentual.....	47
Tabela 2 – Parâmetro para observação visual do crescimento fúngico.	55
Tabela 3 – Dados utilizados para o cálculo da concentração de sais.	59
Tabela 4 – ANOVA e teste Tukey para os dados da análise estatística dos quadrados de PET irradiados e não irradiados;.....	69
Tabela 5: ANOVA e teste Tukey para os dados corpos de prova Tipo 1 (ASTM D638-10), para 0h de irradiação, 24, 48 e 96 horas de irradiação.....	71
Tabela 6 - ANOVA e Teste Tukey para os dados do grau de cristalinidade (α_c) do PET 0h, 24h, 38h e 96h na caracterização inicial.	81
Tabela 7 – Identificação das bandas de absorção do PET, e os respectivos comprimentos de onda.	83
Tabela 8 – ANOVA e Teste Tukey para a variável módulo de Young - Caracterização inicial.	88
Tabela 9 – Taxa de crescimento dos microrganismos.	93
Tabela 10 – ANOVA para os dados de percentual de perda de massa do PET – CPP.	98
Tabela 11 – Teste Tukey para as médias dos tratamentos ao nível de 95% de significância - CPP.	99
Tabela 12 – Análise da interação entre a perda de massa dos tratamentos com UV (PET0h, 24h, 48h e 96h) e os períodos de tempo (30,60,90,120 e 150 dias) - CPP.	101
Tabela 13 – ANOVA das amostras-controle - CPP.	102
Tabela 14 – ANOVA para o grau de cristalinidade determinando a partir dos termogramas de DSC das amostras após o CPP.	110
Tabela 15 – Teste Tukey para o grau de cristalinidade determinando a partir dos termogramas de DSC das amostras após o CPP.	111
Tabela 16 – Análise de interação para o grau de cristalinidade determinando a partir dos termogramas de DSC das amostras após o CPP.	112
Tabela 17 – ANOVA para a determinação do percentual de perda de massa no CTE.	114
Tabela 18 – Teste Tukey para a perda de massa do CTE.....	114
Tabela 19 – Dados da temperatura de fusão e entalpia de fusão para o PET do CTE	117
Tabela 20 – Anova para o grau de cristalinidade para as amostras de PET após o CTE.	117
Tabela 21 - ANOVA para a determinação do percentual de perda de massa na FSS.	121
Tabela 22 – Teste Tukey para a determinação do percentual de perda de massa na FSS.	122
Tabela 23 – ANOVA para o grau de cristalinidade dos polímeros do ensaio de FSS.	126
Tabela 24 – Teste Tukey para o grau de cristalinidade dos polímeros do ensaio de FSS.	127
Tabela 25 - ANOVA para os valores de pH obtidos na FSS.	130
Tabela 26 – Teste Tukey para os valores de pH obtidos na FSS.	131
Tabela 27 - Análise de interação para o pH na FSS.	132

Tabela 28 – ANOVA para o pH dos ensaios de cultivo axênico.....	133
Tabela 29 – Teste Tukey para o pH dos ensaios de cultivo axênico.....	133
Tabela 30 – Análise da interação dos tratamentos de irradiação UV nos tempos para o pH dos estratos do cultivo axênico.....	134
Tabela 31 – ANOVA para o módulo de Young dos ensaios de tração mecânica com o PET após o CA.....	138
Tabela 32 – Teste Tukey para o módulo de Young dos ensaios de tração mecânica com o PET após o CA.....	139
Tabela 33 - Análise de interação para o módulo de Young dos ensaios de tração mecânica com o PET após o CA.....	139
Tabela 34 – ANOVA para a Tensão de Estiramento dos ensaios de tração mecânica com o PET após o CA.....	141
Tabela 35 – Teste Tukey para a Tensão de Estiramento dos ensaios de tração mecânica com o PET após o CA.....	141
Tabela 36 - Análise de interação para a Tensão de Estiramento dos ensaios de tração mecânica com o PET após o CA.....	142

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SIMBOLOS

ΔH_c	Entalpia de cristalização
ΔH_f	Entalpia de fusão
AAS	Espectrometria de Absorção Atômica
ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
BDA	Ágar Batata Dextrose
CA	Cultivo axênico
CPP	Cultivo em placa de petri
CTE	Cultivo em tubo de ensaio
CV%	Coeficiente de variação em percentual
DHET	Dihidroxietileno Tereftalato
DIC	Delineamento Inteiramente Casualizado
DMS	Diferença mínima significativa
DMT	Dimetiltereftalato
DSC	Calorimetria Diferencial de Varredura
DTG	Primeira Derivada da Termogravimetria
E	Módulo de Elasticidade
F	Estatística do teste F
F _{Sm}	Fermentação submersa
FSS	Fermentação semissólida
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier
FV	Fonte de variação
<i>L. edodes</i>	<i>Lentinula edodes</i>
Lac	Lacase
LiP	Lignina peroxidase
MEG	Monoetilenoglicol
MG	Média geral
MnP	Mangânes peroxidases
nd	Não detectado
Ø	Diâmetro
pH	Potencial Hidrogeniônico
PET	Poli (tereftalato de etileno)
PVC	Policloreto de vinila
QM	Quadrado médio
R ²	Coeficiente de determinação
SQ	Soma dos quadrados
T _f °C	Temperatura de fusão em graus Celsius
TG	Termogravimetria
T _g	Transição vítrea
TGA	Análise termogravimétrica
T _m	Temperatura de fusão cristalina
UV-vis	Espectroscopia no Ultravioleta Visível
W	Watts
α_c ou χ_c	Grau de cristalinidade
ΔH	Entalpia
σ_{\pm}	Desvio Padrão

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 MATERIAIS POLIMÉRICOS E O MEIO AMBIENTE	19
2.2 POLITEREFTALATO DE ETILENO - PET	20
2.2.1 Aditivação do PET	25
2.2.2 Obtenção das Garrafas PET	27
2.3 DEGRADAÇÃO DE POLÍMEROS	28
2.4 ANÁLISES PARA CARACTERIZAÇÃO DE MATERIAIS POLIMÉRICOS	32
2.4.1 Análises Térmicas	32
2.4.2 Análises Espectroscópicas	34
2.4.3 Testes de Tração	35
2.4.4 Microscopia Óptica	36
2.5 BIODEGRADAÇÃO DE POLÍMEROS	37
2.5.1 Basidiomiceto <i>Lentinula edodes</i>	42
2.5.2 Enzimas Envolvidas no Processo de Biodegradação	44
2.5.3 Métodos e Técnicas de Cultivo Aplicados a Biodegradação	45
3. OBJETIVOS	48
4. MATERIAIS E MÉTODOS	49
4.1 ESTRUTURA DA PEQUISA	49
4.2 AMOSTRAS DO POLÍMERO	50
4.3 FASE DE DEGRADAÇÃO ABIÓTICA	51
4.3.1 Determinação da Faixa de Absorção das Amostras PET	51
4.3.2 Irradiação Ultravioleta das Amostras	51
4.3.3 Análise Termogravimétrica, Calorimetria Exploratória Diferencial e Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho	52
4.3.4 Ensaios de Tração Mecânica	53
4.4 FASE DE DEGRADAÇÃO BIÓTICA	54
4.4.1 Microrganismo	54
4.4.2 Condição de Crescimento e Preparo do Inóculo	54
4.4.3 Análise Qualitativa do Crescimento Fúngico	55
4.4.4 Desinfecção das Amostras de PET	55
4.5 ENSAIOS DE DEGRADAÇÃO BIÓTICA	56
4.5.1 Cultivo em Placa de Petri	56
4.5.2 Cultivo em Tubos de Ensaio	58
4.5.3 Fermentação Semissólida	59
4.5.4 Cultivo Axênico	61
4.5.4.1 Preparo da Semente (" <i>spawn</i> ")	62
4.6 MICROSCOPIA ÓPTICA	63
4.7 CONTROLE BIÓTICO E ABIÓTICO	63
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA RADIAÇÃO ABSORVIDA PELO PET	65
5.2 CARACTERIZAÇÃO DO PET - FASE ABIÓTICA	67
5.2.1 Análise de Calorimetria Exploratória Diferencial;	73
5.2.2 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier.	82
5.2.3 Ensaio de Tração Mecânica.	84
5.3 CARACTERIZAÇÃO DO PET FASE BIÓTICA	91
5.3.1 <i>Lentinula edodes</i> Características Morfológicas	91

5.3.2 Análise Qualitativa do Crescimento Microbiano	93
5.3.3 Ensaio em Placas de Petri	95
5.3.4 Cultivo em Tubos de Ensaio.....	113
5.3.5 Ensaio em Fermentação Semissólida	120
5.3.6 Cultivo Axênico.....	133
6. CONCLUSÃO	144
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	145
8. REFERÊNCIAS.....	146

1. INTRODUÇÃO

O desperdício de recursos, a pobreza e até mesmo a falta de responsabilidade ambiental, são consideradas algumas das principais causas geradoras de problemáticas ambientais. Também pode-se citar o aumento populacional que promove a elevação da demanda por produção alimentícia e seus impactos, e o crescimento urbano que por vezes ocorre de maneira desordenada, não considerando as características e a diversidade do meio físico (MANO, PACHECO e BONELLI, 2005; OLIVEIRA, HERRMANN, 2006 e MILLER, 2007).

Os plásticos destacam-se nesse cenário por serem materiais potencialmente poluentes de lenta degradabilidade e pouca biodegradação (MILLER, 2007). A exemplo disso, o Brasil é responsável por cerca de 2% da produção mundial de plásticos e os segmentos que mais utilizam esse material são: a construção civil (16%) e a indústria de alimentos e bebidas (16%), seguidos pelo setor de automóveis e autopeças (15%).

Na indústria de bebidas o destaque é o uso do politereftalato de etileno (PET), utilizado para o envase de bebidas carbonatadas, devido a suas ótimas propriedades mecânicas, térmicas aliadas ao seu baixo custo de produção (ROMÃO, SPINACÉ e PAOLI, 2009). Este material pode sofrer degradações em virtude da exposição ao ambiente, por meio da radiação de alta energia, como a luz ultravioleta.

Entre os estudos realizados acerca deste material, evidenciam-se pesquisas na área de reciclagem (ALMEIDA, *et al.*, 2013), produção de compósitos (RAMIREZ, *et al.*, 2010), biodegradabilidade (SILVA, 2009; DAMBRÓS, *et al.*, 2014), avaliação das propriedades de plásticos reciclados (MARCONCINI e RUVOLO FILHO, 2006), entre outros, estes são realizados com o intuito de buscar novas tecnologias para a minimização dos impactos ambientais causados por estes materiais quando dispostos inadequadamente no ambiente.

Com essa perspectiva, este estudo buscou investigar novas alternativas para a utilização PET, submetido a diferentes níveis de irradiação ultravioleta, e posteriormente empregado em ensaios biológicos com a utilização do fungo *Lentinula edodes* (*shiitake*).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MATERIAIS POLIMÉRICOS E O MEIO AMBIENTE

Considera-se que os materiais poliméricos são utilizados pela humanidade há muito tempo, como exemplo, cita-se o algodão, que é constituído pelo polímero mais abundante na natureza, a celulose. A partir da segunda metade do século XIX os polímeros artificiais começaram a ser produzidos, modificados de macromoléculas naturais (LINO, 2011).

Os materiais poliméricos, popularmente conhecidos simplesmente como plásticos, possuem características importantes que enfatizam e justificam seu amplo uso comercial. É possível classificar os polímeros de forma genérica a partir de seu processamento, citam-se categorias definidas como: os termofixos, os elastômeros, os termoplásticos e os plásticos de engenharia (PAOLI, 2008).

Os polímeros termofixos ou termorrígidos conformam-se quimicamente em rede ou em retículo. São moldados na forma de pré-polímero e depois submetidos a um processo de “cura”, no qual adquirem a forma do molde por reações químicas cruzadas entre as cadeias e se solidificam, quando assumem a forma definitiva não podem ser moldados novamente por aquecimento. Depois de moldados tornam-se materiais insolúveis, infusíveis e não recicláveis, como exemplos, cita-se a resina de fenol-formaldeído (baquelite), o epóxi (araldite), entre outros (CANEVAROLO Jr., 2006; PAOLI, 2008).

Os elastômeros, como as borrachas ou gomas, são materiais que apresentam grande elasticidade, e podem sofrer deformações sem se romper, de modo geral, necessitam um processo químico de reticulação das cadeias poliméricas, como a vulcanização, para que possam ser utilizados. Ainda, existem os chamados “elastômeros termoplásticos” que são conformados pelos mesmos procedimentos usados para os termoplásticos (PAOLI, 2008).

Os termoplásticos podem ser moldados por aquecimento diversas vezes, quando aquecidos, tornam-se extremamente viscosos e assumem diferentes formas, são amplamente utilizados devido as suas propriedades mecânicas e de baixo custo, no entanto, apresentam baixa biodegradabilidade, fato que condiciona-os como

materiais persistentes e acumulativos no ambiente. Como exemplo cita-se o polietileno, poliestireno, PVC, entre outros (SILVA e SILVA, 2003; OJEDA, 2008; PAOLI, 2008).

Os plásticos de engenharia classificam-se como materiais poliméricos que podem ser moldados a frio, como pelo processo de usinagem. Não obstante, a maioria também pode ser moldada como termoplástico (PAOLI, 2008).

No Brasil, o consumo de materiais poliméricos tem crescido nos últimos anos, impulsionado pelo ramo da construção civil, indústrias de embalagens, alimentos e bebidas, e autopeças/automotivas. Entre os motivos de destaque para o aumento do consumo destes materiais, estão: o baixo custo de produção, a leveza, a elevada resistência mecânica, a facilidade de fabricação de peças em variados formatos, tamanhos e cores (ABIPLAST, 2012; SANTOS *et al.*, 2013).

Ressalta-se de acordo com a Associação Brasileira da Indústria do Plástico (ABIPLAST, 2012) que uma importante vantagem dos materiais plásticos é observada pela reciclabilidade intrínseca destes produtos, isso implica em diminuição no consumo de matéria prima, e o resíduo pode ser reutilizado no processo produtivo com o ciclo renovado. Miller (2007) afirma que o processo de reciclagem e de reaproveitamento de mais recursos materiais diminuem a velocidade com que ocorre a depleção de recursos não renováveis e reduzem o impacto causado no ambiente.

Ao que tange os aspectos ambientais da produção de materiais poliméricos, um dos principais problemas evidenciados é o descarte inadequado, como em lixões, encostas, terrenos baldios, fundos de vale, e rios, entre outros (SPINACÉ e PAOLI, 2005), assim como aos demais resíduos sólidos consistem em uma série de problemas de saúde pública, como o desenvolvimento de vetores de doenças, como artrópodes, e roedores, que transmitem doenças como a leptospirose ou a peste bubônica entre outras (PHILIPPI JR e PELICIONI, 2009).

2.2 POLITEREFTALATO DE ETILENO - PET

Os polímeros apresentam massa molar na ordem de 10^4 e 10^6 unidades e são formados pela repetição de inúmeras unidades químicas, unidades estruturais simples, chamados monômeros, que são as substâncias que os originam. Na

formação dos polímeros os monômeros estão ligados entre si por ligações covalentes (AKCELRUD, 2007).

A principal matéria-prima dos plásticos é o petróleo, mais especificamente da fração de nafta petroquímica que é usada como matéria-prima para produzir os etilenos, propenos, butadienos, benzenos, toluenos, entre outros (AKCELRUD, 2007; SILVA, 2009; LINO, 2011). Na figura 1 pode ser observado um esquema da produção do polímero PET e das garrafas PET a partir de seu ciclo de vida.

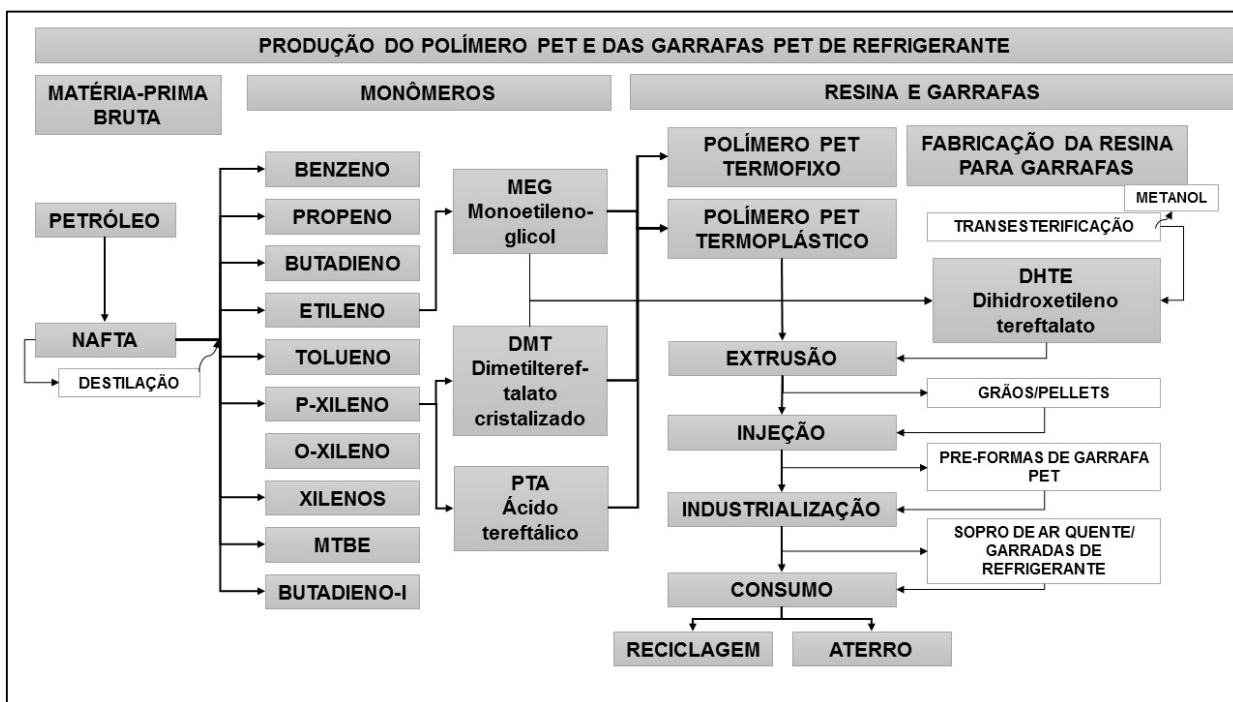


Figura 1 - Diagrama de produção do polímero e das garrafas PET.
Fonte: Adaptado de Valt (2007).

Na década de 1930, Wallace H. Carothers sintetizou o primeiro poliéster linear com base nos monômeros de trimetileno glicol e do ácido dicarboxílico hexadecametileno, no entanto, esse polímero ainda apresentava características que dificultavam e reduziam a qualidade final do produto, como a falta de estabilidade hidrolítica e baixa temperatura de fusão. Adiante na história, em 1946, os químicos ingleses, Whinfield e Dickson sintetizaram o poli(tereftalato de etileno) (PET), com alta temperatura de fusão, aproximadamente 265°C, e estabilidade hidrolítica conferida pelos anéis aromáticos presentes na estrutura (ROMÃO, SPINACÉ e PAOLI, 2009). A nomenclatura oficial, que pode ser conferida pela IUPAC (do inglês - *International Union of Pure and Applied Chemistry*), é em inglês *Poly(ethylene terephthalate)* que, traduzido para o Português, torna-se poli(tereftalato de etileno).

A partir da década de 60 inicia-se o processo de aceitação do PET para embalagens alimentícias, impulsionado pelo processo de injeção e sopro desenvolvido pela Du Pont, em 1973 com aplicação em garrafas. O PET revolucionou o mercado de embalagens, especialmente o de bebidas carbonadas (FORMIGONI e CAMPOS, 2007). Em 1977, têm-se relatos da amplitude da utilização do PET em diversas embalagens e como plástico de engenharia, por ser um tipo de plástico apropriado para várias manufaturas, em virtude da capacidade de adaptar-se a diversas formas (SILVA, 2009; LINO, 2011; MOURA, 2011).

Outras características do PET, podem ser observadas na Figura 2.

CARACTERÍSTICAS DO POLÍMERO PET	VALORES
Massa molecular	15000 - 42000 g/mol
Densidade	1,33 - 1,45 g/cm ³
Índice de Refração	1,65 - 1,66
Temperatura de Fusão	250 - 270°C
Temperatura de Transição Vítre	70 - 74°C
Módulo Elástico	3000 MPa
Ponto de Ruptura	
Alongamento	100 - 300 %
Tensão	55 MPa

Figura 2 - Características do PET e seus valores determinados.

Fonte: Adaptado de Ojeda (2008); Oliveira (2011).

Considera-se que o PET pode apresentar uma tensão de alongamento entre 55 a 80 (MPa), um módulo de Young de 2,1 a 3,1 (GPa), uma taxa de transparência, em torno de 70 a 90 % de luz visível transmitida. Outro detalhe importante sobre o processamento do PET é sua característica higroscópica, pois, este pode absorver aproximadamente 0,03% de umidade, por esse motivo a secagem do material se faz necessária, para evitar falhas no processo produtivo (COELHO, 2013).

Em parte, pode-se atribuir a utilização do PET na fabricação de garrafas de bebidas carbonatadas a uma parceria que se estabeleceu entre as indústrias de bebidas e de plásticos, pois as primeiras precisavam ampliar seu mercado, com diferentes embalagens de diferentes tamanhos para seus produtos. Outro fator interessante é a baixa permeabilidade ao oxigênio e ao dióxido de carbono que

estabeleceu o PET como adequado para a produção de refrigerantes. Outras características ainda foram aproveitadas, como a transparência, a inertização ao líquido, leveza, entre outras (LINO, 2011).

Considerado da família dos poliésteres, o PET é um polímero termoplástico, e uma das formas de sua obtenção é através da polimerização de um ácido dicarboxílico e um glicol ou bifenol que pode ser formado pela reação entre o ácido tereftálico e o etilenoglicol, que reúnem as características ideais para uma reação gradual de policondensação (MANCINI, BEZERRA e ZANIN, 1998; MIRANDA e SILVA, 2004; JARA, 2007; LINO, 2011; SHIMAMOTO, *et al.*, 2011).

Na Figura 3 exemplifica-se uma das reações mais comuns para a formação do PET.

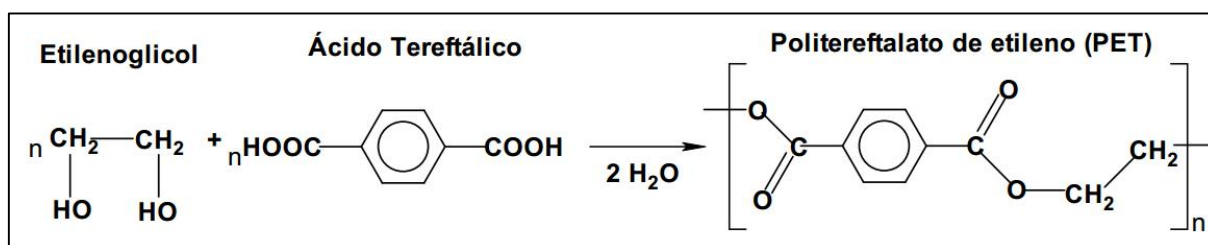


Figura 3 - Modelo comum da reação química para a formação do politereftalato de etileno (PET).
Fonte: Adaptado de Miranda e Silva (2004).

Silva (2009) relata a obtenção do PET a partir dos monômeros dimetiltereftalato cristalizado (DMT) e monoetilenoglicol (MEG), por meio de transesterificação, que forma o Dihidroxi-etileno Tereftalato (DHET), um monômero do PET. Essa reação ocorre com a presença de catalisador e liberação de metanol, e gera o monômero puro (DHET), o qual é ampliado em 80 vezes aproximadamente para a cadeia final do PET ser obtida o grau de polimerização (fator n), indica número de unidades de repetição da cadeia polimérica. Canevarolo Jr. (2006) afirma que as reações são contínuas até que se alcance a massa molecular ideal e o PET esteja totalmente formado.

Composto por uma molécula linear, o PET, pode ser considerado um sólido com uma fase cristalina e outra amorfa, um material semicristalino. Pode-se considerar o PET um polímero cristalizável, cuja região amorfa é caracterizada pela desordem completa das macromoléculas, enquanto as regiões cristalinas, apresentam segmentos de cadeias poliméricas arranjados de forma ordenada, que formam um empacotamento regular denominado cristalito. Os cristalitos podem

apresentar diferentes morfologias, como as lamelas, ou esferulitos (PAOLI, 2008; M&G, 2009; COELHO, 2013).

A relação entre fases amorfas e cristalinas origina o polímero semicristalino. – Figura 4. Considera-se que a quantidade e a maneira como essas regiões (amorfas e cristalina) ficam distribuídas no polímero sólido dependem das condições térmicas e mecânica as quais o PET é submetido durante seu processamento (M&G, 2009).



Figura 4 - Esquema ilustrativo das cadeias poliméricas em estado amorfo, cristalino e semicristalino.

Fonte: Oliveira (2000).

A relação estequiométrica entre as estruturas cristalinas e amorfas é chamada de grau de cristalinidade (PAOLI, 2008), atribui-se o nível máximo de cristalinidade alcançado em 55% - 60%. Para a fabricação das garrafas PET de refrigerante o ideal é que a cristalinidade esteja em 25% (MOURA, 2011).

O fator produtivo que pode determinar a obtenção das porcentagens de PET cristalino é a forma como a resina é resfriada. Considera-se que, se depois da fusão o resfriamento for realizado de forma lenta, o produto final será a resina mais cristalina. A cristalinidade, ainda pode ser determinada por meio do uso de aditivos como os agentes nucleantes, como o talco. É possível observar que o grau de cristalinidade influencia em diversas propriedades finais de um polímero, como a transparência a luz, propriedade de barreira a gases e propriedades mecânicas de tração e impacto (PAOLI, 2008).

2.2.1 Aditivação do PET

Uma prática comum nas indústrias de polímeros é a adição de substâncias, como os aditivos, com o intuito de conferir propriedades especiais à resina polimérica (PIATTI e RODRIGUES, 2005).

Destacam-se como aditivos mais comuns, os plastificantes, estabilizantes térmicos, anti-UV e antioxidantes. Alguns trabalhos mencionam o PET como um material livre de aditivos (COLTRO e BURANTIN, 2004). No entanto, alguns pesquisadores (COLTRO e BURANTIN, 2004; DIAS, *et al.*, 2004; TAKAHASHI *et al.*, 2004) têm identificado em PET grau-alimentício, casos de presença quantificada desses aditivos. O fato preocupante nesses materiais é a provável migração de compostos de baixo peso molécula, oriundos do processo produtivo da resina, da aditivação, e de resíduos provenientes dos processos de conversão, como os catalisadores, para o alimento. Para tanto a utilização destes compostos é regulada por legislações específicas.

No Brasil, a utilização destes aditivos e de outras substâncias é regulada pela Portaria nº 26 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a portaria foi implementada a partir da criação do Mercado Comum do Sul (MERCOSUL), esta resolução, assim como outras, a Resolução nº 17, de 17 de março de 2008, ou Resolução nº 56, de 16 de novembro de 2012, estabelecem uma lista positiva das resinas e polímeros para embalagens de alimentos e refrigerantes, e equipamentos que entrem em contato com alimentos, a exemplo a Resolução nº 105 ANVISA, ainda, estabelece os limites de migração específica estabelecidos para algumas substâncias de partida do PET (NASSER, LOPES e MONTEIRO, 2005).

Os aditivos de modo geral, são incorporados nos polímeros no processo de fabricação da resina com a finalidade de obter homogeneização do material e uniformidade de suas propriedades (ALVES, 2004). Os estabilizantes secundários com fósforo em sua base são normalmente adicionados junto dos catalisadores durante o processamento e reprocessamento do PET, são eles, que previnem reações de degradação termo-oxidativas, e inibem a etapa de propagação e transformam o grupo hidroperóxido em produtos não radicalares (ROMÃO, SPINACÉ e PAOLI, 2009).

Os estabilizantes absorvedores de UV, são considerados substâncias orgânicas específicas utilizadas para retardar as reações químicas iniciadas pela radiação UV artificial, sobre a superfície dos materiais poliméricos, com ampla utilização em PET, o Tinuvin 234 (2- (2- hidroxí - 3,5 di (metil benzil) fenil benzotriazol), tem seu uso máximo permitido na concentração 0,5 % (ALVES, 2004; PAOLI, 2008).

Conforme Piatti e Rodrigues (2005), na Figura 5 estão elencados os principais tipos de aditivos industriais utilizados na fabricação de plásticos atrelados à função requerida.

ADITIVO	FUNÇÃO
PLASTIFICANTE	Aumentar a flexibilidade;
ESTABILIZANTE TÉRMICO	Evitar a decomposição por aquecimento;
ESTABILIZANTE UV	Evitar a decomposição causada por raios UV solares;
RETARDADOR DE CHAMAS	Reduzir a inflamabilidade;
LUBRIFICANTE	Reduzir a viscosidade;
CARGA	Aumentar a resistência ao desgaste por abrasão e reduzir o custo do material;
ANTIOXIDANTE	Minimizar a oxidação provocada por oxigênio e ozônio atmosféricos;
PIGMENTOS	Conferir a cor desejada;
ANTIESTÁTICO	Evitar eletrização por atrito;
AROMATIZANTE	Conferir odores desejados. Mascaram odores indesejados;
BIOCIDA	Inibir a degradação por microrganismos;

Figura 5 - Principais aditivos utilizados na indústria de plásticos e suas funções.
Fonte: Adaptado de Piatti e Rodrigues (2005).

Contudo os plásticos são considerados materiais inertes em virtude do tamanho e estrutura das macromoléculas, mas, como citado anteriormente, pode ocorrer à presença de moléculas pequenas que apresentem maior mobilidade, assim, constituem uma possível fonte de migração, a presença dessas pequenas moléculas também pode estar associada a processos degradativos sofridos pelo material. O teor máximo e/ou limite de migração para os monômeros do PET, como o Ácido tereftálico, é para migração específica 7,5 ppm (mg/kg) e para o mono-di-etilenoglicol é para migração específica de 30 ppm (mg/kg), essas informações são legisladas pela ANVISA e também seguem as mesmas exigências a nível europeu (ANVISA, 1999).

2.2.2 Obtenção das Garrafas PET

Considera-se que a partir da fabricação da resina, o polímero pode ser extrusado, resfriado para a produção dos grânulos. Os grãos de PET após a secagem seguem para o processo industrial de fabricação das pré-formas. Nesse processo os grânulos de resina são submetidos a plastificação, que os torna viscosos o suficiente para o processo de moldagem, posteriormente o material amolecido é injetado no molde com o auxílio de uma alta taxa de pressão, temperatura e velocidade, que termina com o resfriamento por uma rápida troca térmica. A pré-forma se desprende do molde e podem ser conduzidas a um engarrafador, por meio do qual com um sopro de ar quente a resina termo moldável se expande e origina a garrafa PET, normalmente após esse processo ocorre a lavagem para a retirada do pó e segue para o processo de envase (VALT, 2007).

Na figura 6 é possível observar uma das formas de parte do processo de obtenção das garrafas PET. Um fator importante nessa fase é a orientação, esta pode ser dependente da taxa de estiramento do material, e da temperatura do processo e da viscosidade intrínseca do PET (adaptado de M&G, 2009).



Figura 6 – Parte do processo de moldagem por sopro.
Fonte: adaptado de M&G, 2009.

Após a obtenção das garradas PET, processos tribológicos podem ocorrer, em vista da exposição das garrafas ao ambiente, na linha de produção, estocagem, ou transporte, como a abrasão entre superfícies e particulados, que podem ocasionar a formação de riscos e arranhões, ou até mesmo a formação de microfissuras na matriz polimérica (MELO, 2004; M&G, 2009).

Após o uso as garrafas são descartadas e seu processamento básico inclui etapas como a aquisição da matéria prima (obtenção das garrafas descartadas), posteriormente a classificação (cor, tipo), a moagem, a limpeza pela lavagem do

material, o enxágue, a descontaminação, a pré-secagem, a secagem, a eliminação de particulados e embalagem final do material (SANTOS, 2011), que considera-se pronto para o emprego na indústria de reciclados.

É previsto que alguns problemas, podem ser associados a reciclagem, estes perpassam pela perda de propriedades estruturais e a ocorrência de reações secundárias que podem formar o acetaldeído, ainda, oligômeros e de dietileno glicol, considerados “subprodutos”, passíveis de contaminação em alimentos, em virtude da migração dos compostos de baixo peso molecular, além destas, nos processos de reciclagem do PET podem ocorrer degradações termomecânicas e termo-oxidativas no processamento do material (ROMÃO, 2009), que influenciaram nas características desejáveis do produto final.

2.3 DEGRADAÇÃO DE POLÍMEROS

Considera-se degradação qualquer reação química, que leve à cisão das cadeias poliméricas, e altera a qualidade de interesse do material, ou composto polimérico, e pode ser causada por diversos agentes, físicos e químicos, que promovem a alteração da estrutura de forma irreversível (BRANDALISE, 2008; PAOLI, 2008). As alterações podem ser observadas por meio da deterioração progressiva do material (RODRIGUES, 2007), tanto no aspecto macro, pelo visual apresentado, quanto no aspecto microscópico.

A degradação ou alteração das propriedades de um polímero é resultante das reações químicas de diversos tipos, estas podem ser de caráter intramolecular ou intermolecular, como exemplos citam-se os processos de despolimerização, oxidação, reticulação ou cisão de ligações químicas. Acrescenta-se ainda que a degradação pode ser causada por diferentes eventos, que dependem do material, da forma de seu uso e do seu processamento (PAOLI, 2008).

Outra definição para a degradação de materiais poliméricos está associada a qualquer reação destrutiva que possa ser causada por agentes químicos, físicos ou mecânicos ou, ainda, os mesmos simultaneamente (RODRIGUES, 2007). Outra forma de abordar os processos degradativos dos polímeros é pela iniciação dessas reações,

nos processos térmicos, fotoquímicos, mecânicos, de radiação de alta energia química ou ainda *stress-cracking* (PAOLI, 2008).

À degradação do PET está associada às mudanças em suas propriedades estruturais, causadas por reações químicas que envolvem cisões de ligações da cadeia principal da macromolécula. As reações podem ser iniciadas pela presença de resíduos catalíticos, grupos funcionais, pigmentos, insaturações, temperatura, presença de água, oxigênio, luz, entre outros (MANO, PACHECO e BONELLI, 2005).

As degradações mais comuns no PET e que, também ocorrem em outros plásticos, durante a produção, processamento ou uso, são as oxidações térmicas (termo-oxidação), mecânicas e por ultravioleta (UV) (fotodegradação), além da hidrólise, que reverte a reação química da polimerização na direção dos reagentes (MANCINI, BEZERRA e ZANIN, 1998).

A fotoclivagem direta subsequente à foto-oxidação dos grupos glicol, ocasionada pela exposição à luz solar, não é uniforme e ocorre especialmente na face exposta diretamente à luz (SILVA, 2009). A termo oxidação pode ocorrer pelo ataque do oxigênio durante o processamento em altas temperaturas, enquanto a degradação pelos raios ultravioleta (UV) ocorre quando o polímero fica exposto à radiação solar por períodos prolongados (DIAS, *et al.*, 2004).

Considera-se que a região do UV pode ser subdividida em três faixas de comprimento de onda, a primeira UV-A que varia de 315 – 400nm, a segunda é a UV-B que varia de 290 a 315nm e a terceira é a UV – C que se situa abaixo de 290nm – Figura 7.

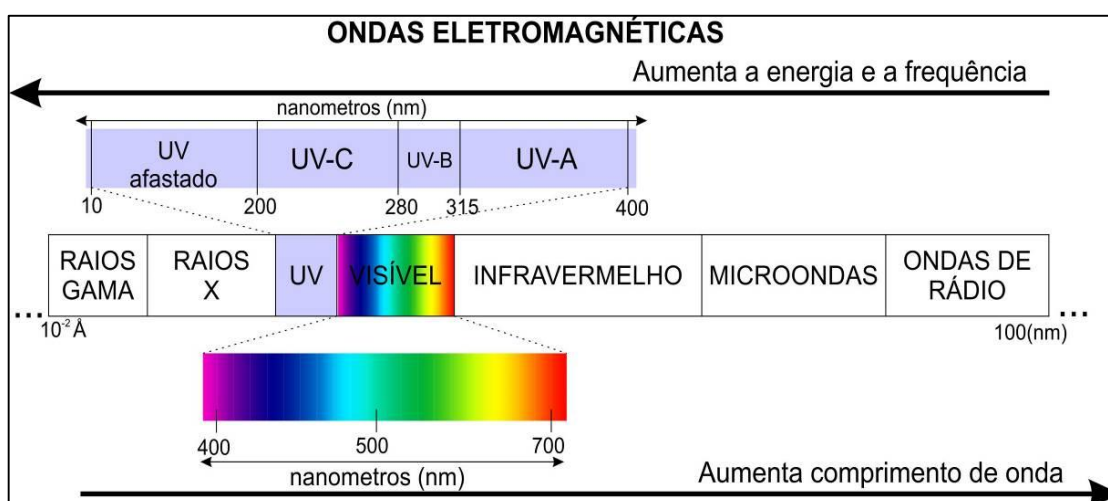


Figura 7 - Posicionamento na escala das ondas eletromagnética da faixa visível e ultravioleta.

Fonte: Adaptado de Mano, Pacheco e Bonelli (2005).

O PET absorve radiação UV nos comprimentos de onda abaixo de 300 nm, a faixa do UV-B afeta negativamente as propriedades mecânicas dos materiais, fato que acarreta a redução da vida útil do mesmo (BORRELLY, 2002; COLTRO e BURANTIN, 2004; ALVES, 2004; JARA, 2008).

No PET, o principal grupo cromóforo pode ser observado na figura 8, este apresenta absorção de radiação UV na faixa de 240-320 nm.

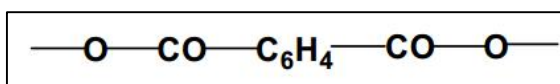


Figura 8 – Principal grupo cromóforo de absorção de UV no PET.

Fonte: Ilišković e Bravar (1986); Vichessi e Ruvolo Filho (2008).

Diversos estudos foram realizados com o intuito de verificar a influência da fotodegradação em materiais poliméricos, como exemplo cita-se Batista (2004) com a síntese de poliésteres e caracterização de revestimentos (vernizes) poliéster/melamina após degradação em intemperismo acelerado, nesse estudo utilizou-se uma câmara para simular as condições ambientais de degradação. Jara, (2007) trabalhou com a produção de biofilmes e enzimas sintetizados no processo de degradação do tereftalato de polietileno (PET) por *Bacillus subtilis* e *Phanerochaete chrysosporium*, utilizou como pré-tratamentos, duas fases de irradiação ultravioleta, 6 horas e 32 horas. Ainda, Brandalise (2008), em seu estudo avaliou a degradação biótica e abiótica da mistura polimérica de polietileno de alta densidade com o poli (álcool vinílico), no qual utilizou-se uma câmara de irradiação UV para promover a degradação dos compósitos, por períodos de 240 e 480 horas, esse último período de exposição correlaciona-se com um período de 9 meses de condições normais de intemperismo.

A exposição do PET à luz ultravioleta (UV) promove degradação da superfície exposta, por meio da qual ocorre a absorção de luz de energia que corresponde a uma transição eletrônica ou uma transferência de energia de um sensibilizador em seu estado excitado (PAOLI, 2008), fato que ocasiona a cisão da cadeia e a consequente formação de radicais livres próximos ao anel benzênico e na presença de oxigênio, resulta na formação de hidroxila, conforme verifica-se na Figura 9 (BORRELLY, 2002, DEL MONEGO, *et al.*, 2011).

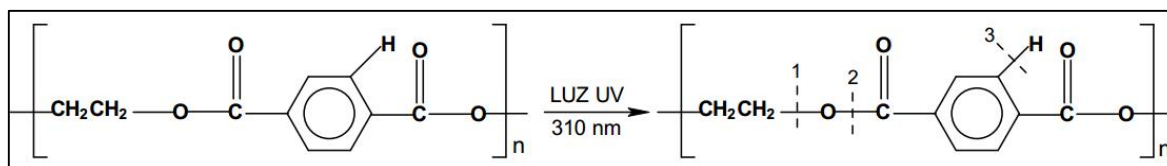


Figura 9 - Prováveis locais das cisões entre as ligações da estrutura do PET acometidos pela fotodegradação por luz ultravioleta.

Fonte: Lewin e Pearce (2007); Del Monego, *et al.* (2011).

Na figura 10 é observado um mecanismo de reação de degradação do PET sugerido por Day e Wiles (1972), neste esquema, os radicais R podem ser gerados por reações tipo Norrish I ou em reação cíclica, conforme exemplificado.

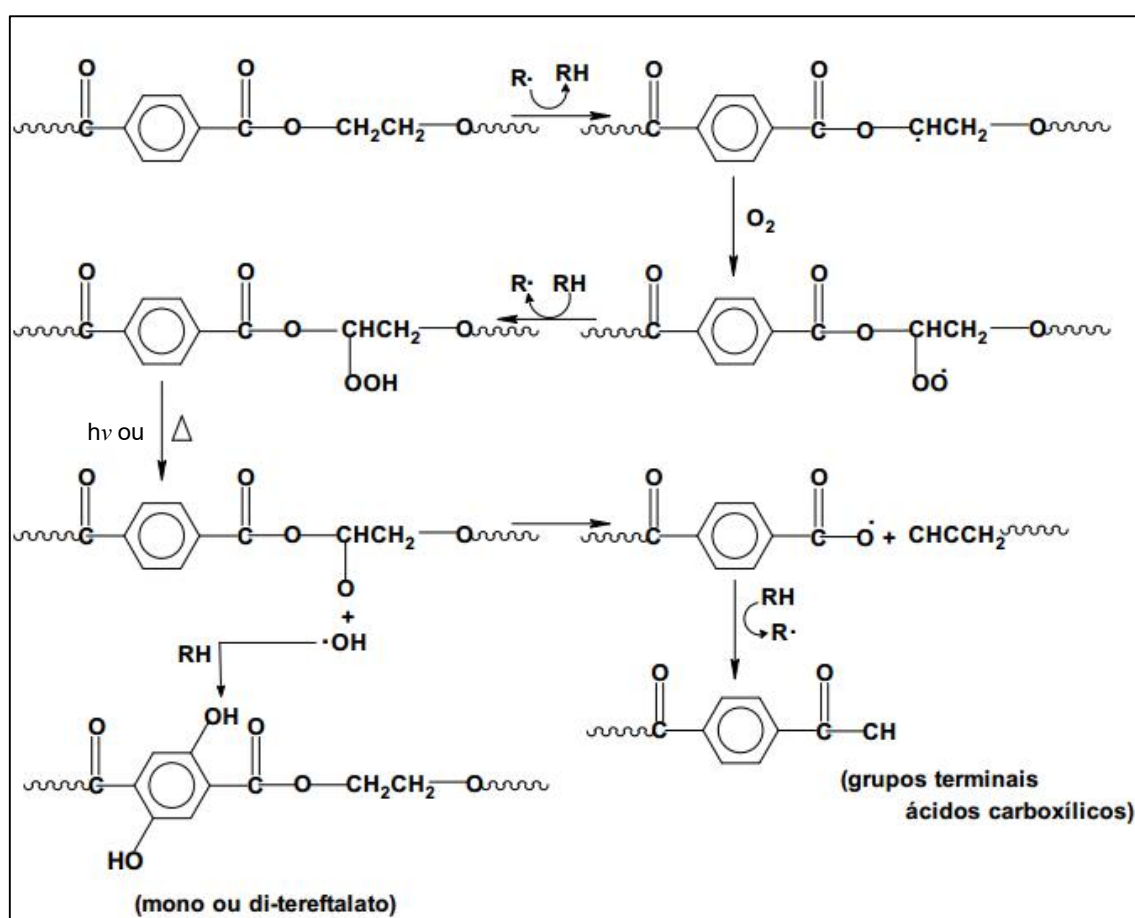


Figura 10 - Reações foto-oxidativas do PET durante exposição UV com a exposição dos grupos terminais carboxílicos.

Fonte: Day e Wiles (1972); Rabello, *et al.* (2004); Vichessi e Ruvolo Filho (2008).

Na fotodegradação do PET duas reações a fotólise e a foto-oxidação podem acontecer concomitantemente, essas reações envolvem a cisão de cadeia, fato que resulta na formação de produtos gasosos como CO, CO₂ e grupos terminais carboxílicos (VICHESSI e RUVOLO FILHO, 2008). Outra proposição é a formação de

grupos carboxiterminais em que ocorrem a liberação de monóxido de carbono, e também o processo de reticulação inter/intramolecular das cadeias (PAOLI, 2008).

A perda de elasticidade, resistência ao impacto e integridade mecânica de plásticos expostos a radiação UV são processos conhecidos. Essas alterações nas propriedades mecânicas podem refletir no polímero em virtude das cisões de cadeia, ou reticulações como as ligações cruzadas, como um resultado de fotodegradação (ANDRADY, *et al.*, 1998). Considera-se ainda que, em relação às propriedades de tração, alongamento e viscosidades específica, estas diminuem conforme a quantidade de grupos terminais carboxílicos é aumentada (VICHESSI e RUVOLO FILHO, 2008).

2.4 ANÁLISES PARA CARACTERIZAÇÃO DE MATERIAIS POLIMÉRICOS

2.4.1 Análises Térmicas

Consideram-se entre as principais análises térmicas a termogravimetria (TG – do inglês *Thermogravimetry*), e a calorimetria diferencial de varredura (DSC – do inglês *Differential Scanning Calorimetry*) (HATAKEYAMA, 1999).

A termogravimetria é uma técnica utilizada para avaliar a perda/decomposição de massa em determinadas temperaturas, no caso dos polímeros, como o PET, fornece informações sobre os mecanismos de decomposição de sua estrutura. Em um equipamento específico, submete-se uma porcentagem da massa da amostra em uma atmosfera controlada, e através do *software*, a decomposição da mesma é registrada continuamente em função da temperatura e de um tempo, e gera um gráfico de massa ou de porcentagem de massa em um determinado tempo, chamado termograma, ou curva de decomposição térmica (HOLLER, SKOOG, CROCH, 2009).

A TG pode ser usada para caracterizar a decomposição e à estabilidade térmica dos materiais sob diferentes tipos de condições e para examinar a cinética dos processos físico-químicos que ocorrem na amostra (HATAKEYAMA, 1999).

Através da TG, pode-se gerar a sua primeira derivada a DTG, que analisa a variação da massa em relação à temperatura e pode ser representada em função da

temperatura ou do tempo. Um pico na curva de DTG ocorre quando a taxa de variação da massa atinge o máximo. A área sob a curva de DTG é proporcional à variação da massa e a altura do pico a qualquer temperatura fornece a taxa de variação da massa para essa temperatura (HATAKEYAMA, 1999).

A calorimetria exploratória diferencial é usada para medir mudanças nos fluxos de calor associados com as transições dos materiais, as medidas de DSC fornecem dados qualitativos e quantitativos, do calor emitido em processos exotérmicos e do calor absorvido em endotérmicos, geralmente é usado para determinar a temperatura de transição vítrea (T_g) e a temperatura de fusão cristalina (T_m) de materiais poliméricos (SOUZA, 2007). O fluxo de calor corresponde a potência transmitida é medida em Watts (ou miliwatts (mW)).

As técnicas combinadas, TG/DTG e DSC, fornecem uma análise mais completa sobre o comportamento térmico dos materiais.

A partir do termograma da DSC, é possível calcular o grau de cristalinidade (X_c) de uma amostra, em percentual conforme a Equação 1, onde, ΔH_c é a entalpia de cristalização do PET obtida a partir da curva de DSC, e ΔH_0 é a entalpia de cristalização do PET 100 % cristalino, considerado 120 J.g^{-1} (ROMÃO, 2009).

$$X_c = (\Delta H_c / \Delta H_0) \times 100 \quad (1)$$

Equação 1 – Cálculo do grau de cristalinidade em percentual.

Fonte: Romão, 2009.

Na literatura é possível encontrar outros valores para o PET 100% cristalino, como 137 J.g^{-1} (LUCAS *et al.*, 2001; OSSWALD *et al.*, 2006; SOARES JÚNIOR, 2010). Ou ainda, há afirmações sobre a entalpia de fusão do PET 100% cristalino em 122 J.g^{-1} (DUARTE, *et al.*, 2003).

Como documento de referência para esse tipo de ensaio pode-se citar a norma da Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM – do Inglês *American Society for Testing and Materials*) D 3418–12 (ASTM, 2012) que trata do método de ensaio que abrange a determinação da transição das temperaturas, das entalpias de fusão e de cristalização de polímeros por calorimetria exploratória diferencial.

2.4.2 Análises Espectroscópicas

Algumas análises se enquadram como espectroscópicas/espectrométricas, dentre as mais utilizadas cita-se a Espectrometria de Absorção Atômica (AAS – do inglês *Atomic Absorption Spectrometry*), a Espectroscopia no Ultravioleta Visível (UV-vis – do inglês *Ultraviolet Visible Spectroscopy*) e a Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR - do inglês *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*).

A espectrometria de absorção atômica é considerada de ampla utilização para a determinação de elementos que estejam em baixas concentrações, em um leque amplo de amostras, desde líquidas, sólidas, em suspensão, ou gasosas, a análise pode estar associada aos sistemas de análise em fluxo que permitem estudos mais específicos (AMORIM, *et al.*, 2008).

Com essa técnica é possível determinar e/ou fazer o uso do comprimento de onda de luz especificamente absorvida por um elemento, que corresponde aos valores de energia necessários para promover a passagem de elétrons de um nível de energia para outro, mais elevado de energia (WELZ e SPERLING, 1999).

A espectroscopia no ultravioleta visível analisa a absorção de radiação eletromagnética da região do visível (Vis) (400-800 nm) e da região do ultravioleta (UV) (100-400 nm) por parte de íons, átomos, ou moléculas, e percebe-se que está geralmente associada as transições eletrônicas que ocorrem com os materiais, as transições podem ocorrer quando houver interação da radiação eletromagnética com o meio, fato que ocasiona a mudança no estado de energia de um estado inferior para um de energia mais elevado (MARTINHO, *et al.* 2004).

A espectrometria de absorção na região do infravermelho, permite caracterizar grupos funcionais característicos das substâncias, através da razão entre a intensidade de luz incidente e transmitida (FERNANDES, 2009).

Considera-se a radiação no infravermelho uma radiação eletromagnética de comprimentos de onda mais longos e baixas frequências. O típico comprimento de onda é aproximadamente 1.000 nanômetros (nm) correspondentes e uma frequência da ordem de 3×10^{14} Hz, essa frequência é compatível com a vibração das moléculas, portanto as moléculas podem absorver a radiação de infravermelho e excitar-se vibracionalmente (ATIKINS e JONES, 2012), o equipamento fornece um gráfico, por

meio do qual, posteriormente os picos gerados nos comprimentos de onda identificam-se os grupos funcionais.

2.4.3 Testes de Tração

A norma elaborada pela Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM – do Inglês *American Society for Testing and Materials*) D 638-10 (ASTM, 2010), propõe o ensaio de tração mecânica, que constitui-se da sujeição de um corpo de prova a um esforço que o alonga até ocorrer a ruptura, conforme a força é exercida é possível gerar alguns parâmetros, como a tensão máxima e/ou tensão no escoamento, deformações no escoamento e na ruptura e tenacidade, que são utilizados na confecção de um diagrama *stress-strain*, o *stress* é a força aplicada por unidade de área e *strain* é a deformação (LOPES, 2012).

O módulo de Elasticidade (E), é a medida de rigidez de uma amostra fornecida com base no diagrama tensão *versus* deformação, este valor é obtido com a divisão do valor da tensão aplicada pela deformação correspondente, na parte da curva onde existe linearidade. Assim a figura 11 exemplifica essa relação, e considera-se ainda que, o valor do coeficiente angular da parte linear do gráfico diminui da condição 1 para a condição 4 (AKCELRUD, 2007).

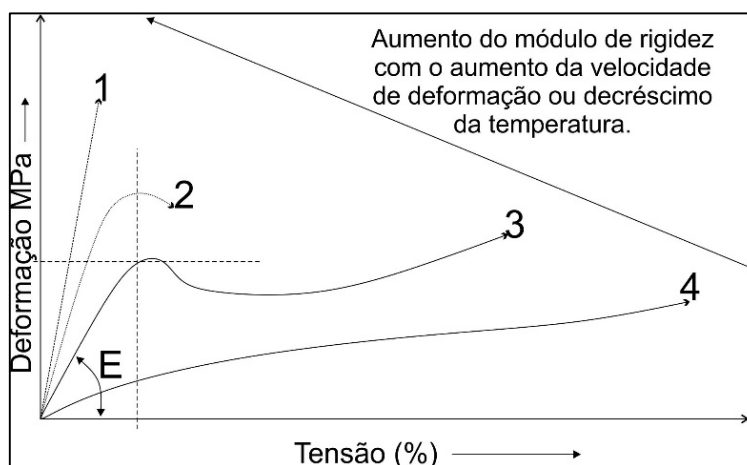


Figura 11 – Representação esquemática de um gráfico de tensão *versus* deformação.

Fonte: Akcelrud (2007).

A deformação (alongamento) caracteriza o tipo de esforço em elástica ou plástica. O esforço elástico indica que o material depois da força exercida é capaz de recuperar o comprimento inicial, então, é possível calcular o módulo de elasticidade (E) ou módulo de Young, que é a medida de rigidez, através da razão entre a tensão de tração (*stress*) e a deformação (*strain*). Destaca-se que esse módulo segue a lei de Hooke, que conforme maior valor para o cálculo, menor será a deformação elástica do material. Em contrapartida, uma deformação plástica é permanente, e não obedece à lei citada (LOPES, 2012). A norma ASTM D638-10, determina o corpo de prova utilizado, conforme observado na Figura 12.

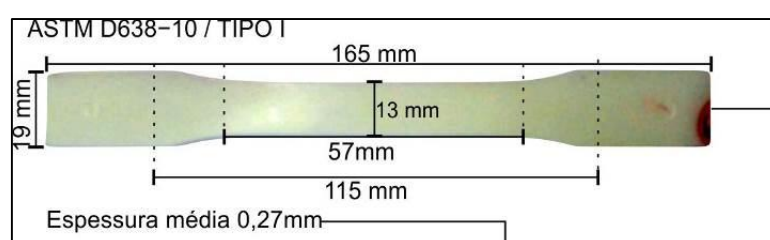


Figura 12 - Modelo tipo I ASTM D638-10 para ensaio de tração mecânica.

Fonte: Adaptado de ASTM D638-10 (2010).

Em resposta as tensões ou deformações aplicadas são caracterizadas as propriedades mecânicas dos polímeros, vários são os fatores de influência como a orientação das macromoléculas, a forma com que se cristalizam, a existência de aditivos, o grau de ligações cruzadas entre outros. Os dados nessa análise podem ser utilizados para o controle de qualidade, bem como, para a verificação do estado de degradação dos materiais (SOUZA, 2007).

2.4.4 Microscopia Óptica

A microscopia óptica é uma técnica de análise que permite a observação de grandes áreas, bem como a análise da superfície do material, por meio da qual pode-se observar as incrustações, os riscos e os possíveis pontos de penetração na matriz polimérica (MIRANDA e SILVA, 2004).

A microscopia óptica leva em consideração a magnificação interativa derivada de duas lentes convexas. O microscópio em geral pode ser composto por uma objetiva

definida como lente ou um conjunto de lentes próximas ao objeto, e a ocular lente devidamente posicionada próximo ao dispositivo para a captura de imagens (NOVAES, 2010).

Essa técnica, permite a caracterização morfológica para a obtenção de uma imagem ampliada da amostra, fato que possibilita a obtenção de informações estruturais importantes e até mesmo conforme a ampliação é possível obter informações a nível molecular (COELHO, 2013).

2.5 BIODEGRADAÇÃO DE POLÍMEROS

Biodegradação pode ser definida como um processo pelo qual as substâncias orgânicas são reduzidas e assimiladas por organismos vivos. O termo é frequentemente usado em relação à ecologia, gestão de resíduos, remediação ambiental (biorremediação) e de materiais plásticos, devido esses apresentarem longa vida útil. O material orgânico pode ser degradado aerobiamente, com oxigênio, ou anaeróbia, sem oxigênio. Um termo relacionado a biodegradação é biomineralização em que a matéria orgânica é convertida em minerais pela ação de microrganismos (SHAH, *et al.*, 2008).

Considera-se ainda, que a biodegradação apresenta a biodeterioração como em duas faces da mesma moeda, nesse sentido, a biodeterioração de estruturas é a biodegradação incompleta, que pode ser influenciada por processos semelhantes aos de biodeterioração, ainda, a degradação completa de resíduos após o uso é muito desejável em termos de eliminação de resíduos biológicos, assim os progressos na degradabilidade de materiais são desejados (FLEMMING, 2010).

Pode-se caracterizar como degradação biótica a ação das enzimas produzidas por microrganismos, que convertem compostos orgânicos complexos em compostos mais simples, mineralizados. Estes se redistribuem como elementos em seus ciclos naturais, a exemplo cita-se o carbono, nitrogênio e enxofre (BRANDALISE, 2008).

Para a colônia de microrganismos crescer e utiliza o material polimérico como fonte de nutriente, é preciso que os microrganismos produzam as enzimas adequadas que irão quebrar algumas ligações químicas constituintes da cadeia principal do polímero, no entanto, para que isso ocorra é importante adequar as condições de

temperatura, umidade, pH e disponibilidade de oxigênio favoráveis ao microrganismo (PAOLI, 2008).

As etapas do processo de biodegradação de polímeros podem ser sintetizadas na Figura 13:

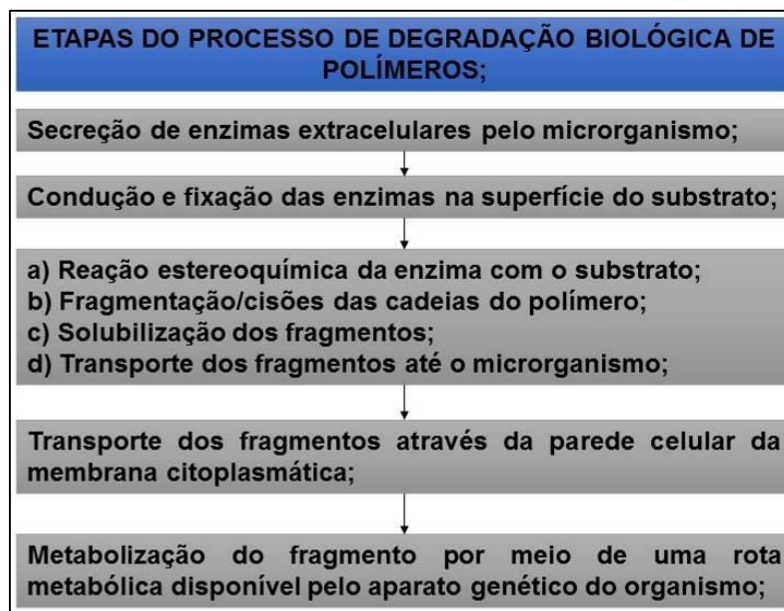


Figura 13 - Etapas do processo de degradação biológica de polímeros.

Fonte: Adaptado de Atlas e Bartha (1997); Dalmolin (2007); Brandalise (2008).

Conforme a norma da Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM – do inglês *American Society for Testing and Materials*) D 6400–12 (ASTM, 2012), caracteriza-se plástico biodegradável como um plástico degradável cuja origem da degradação resulta da ação de ocorrência natural, por microrganismos, tais como bactérias, fungos e algas. Afirma-se que de maneira geral, a biodegradação é especialmente afetada pelas condições ambientais as quais o material é submetido, e, também, pelas características do polímero, bem como, pelo potencial metabólico dos microrganismos utilizados (OJEDA, 2008).

Na figura 14 é ilustrado um diagrama que contém os tipos de degradação que podem ocorrer nos polímeros, de acordo com a estrutura química, essa degradação como já visto, pode ser abiótica (intemperismo), ou biótica (organismos vivos).

Como resultado para o processo de biodegradação obtém-se a mineralização dos compostos como a sua conversão em biomassa microbiana, ou fúngica, além de gás carbônico e água.

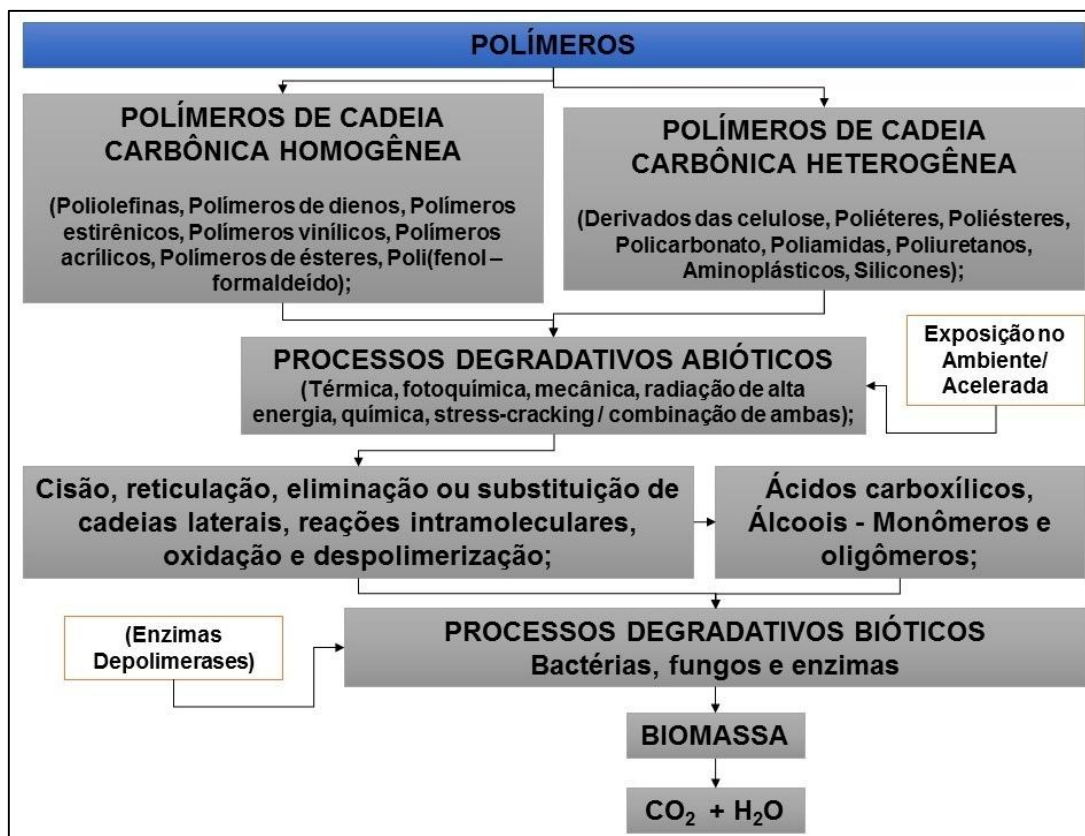


Figura 14 - Diagrama dos processos degradativos abióticos e bióticos passíveis de ocorrerem em polímeros.

Fonte: Adaptado de Scott (1997); Dalmolin (2007); Paoli (2008); Brandalise (2008); Leja e Lewandowicz (2010).

Sugere-se que a biodegradação das superfícies poliméricas seja o resultado das interações interfaciais ocasionais pela exposição do material a ação de microrganismos. Por sua vez, é dependente de fatores como hidrofobicidade, umidade e nutrientes, de forma que essas características são importantes para que ocorra a adesão/fixação dos microrganismos, e a posterior colonização e formação de biofilme sobre o material (FLEMMING, 2010; DAMBRÓS, *et al.*, 2014) – Figura 15.

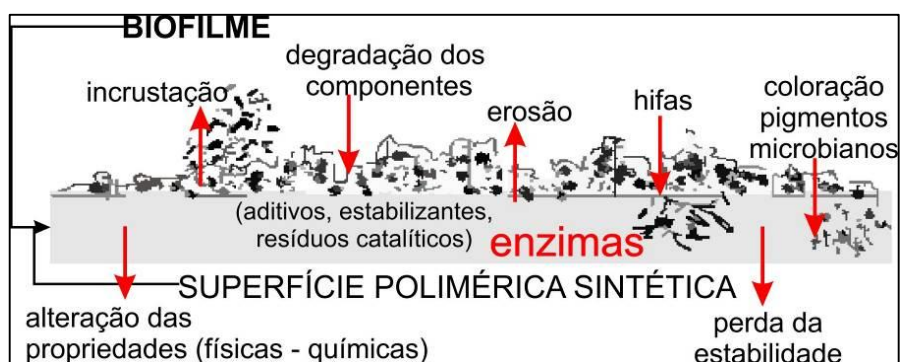


Figura 15 - Exemplificação da formação do biofilme fúngico em uma superfície polimérica sintética.

Fonte: Adaptado de Brandalise (2008), Flemming (2010).

A norma da Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM – do Inglês *American Society for Testing and Materials*) G 21-13 (ASTM, 2013), caracterizou os efeitos esperados quanto ao crescimento microbiano em polímeros sintéticos, como o ataque da superfície do polímero, a sua descoloração e a perda da transparência.

Estudos que utilizam a biodegradação são aplicados em diversas áreas, como o tratamento de efluentes (SOUZA e ROSADO, 2009), de lixiviados de resíduos sólidos urbanos (COSTA, 2009), de resíduos agroindustriais (SILVA, 2001), bem como para degradação de materiais poliméricos, que utilizam diversas técnicas metodológicas (LEE, *et al.* 1991; KINT e MUÑHOS-GUERRA, 1999; BRANDALISE, 2008; OJEDA, 2008; LEJA e LEWANDOWICZ, 2010; DAMBRÓS, *et al.* 2014). A biodegradação do PET, especificamente, foi estudada por Jara (2007), Silva (2009), Soares (2012), Dambrós, *et al.* (2014), entre outros.

Quando relacionamos o PET à degradação biótica, pode-se considerar a utilização de microrganismos e diferentes metodologias para a execução de experimentos que visem compreender e mensurar o processo de biodegradação, visto que, esse processo é extremamente complexo, e não existem metodologias padronizadas, em virtude da especificidade de cada organismo.

Dentre os microrganismos responsáveis pela biodegradação, estão as bactérias, que apresentam grande diversidade genética, fato que amplia as possibilidades de rotas metabólicas para a degradação conforme o substrato proposto (SCOTT, 1997). Posteriormente citam-se os fungos, um imenso grupo diverso e amplamente disseminado de organismos, como *bolores*, *leveduras* e *cogumelos* que formam um grupo filogeneticamente distinto dos outros organismos, com habitats diversos, e podem variar entre aquáticos de água doce ou marinhos, mas que em sua maioria é terrestre. Na natureza (seu habitat) desempenham um papel fundamental relacionado à mineralização do carbono orgânico e a degradação da matéria morta (MADIGAN, *et al.*, 2010).

Os fungos filamentosos, em especial, são adaptados para crescer sobre superfícies, o que é evidenciado pelo seu modo de nutrição por absorção, sua secreção de enzimas extracelulares para digerir moléculas complexas e seu modo de crescimento apical, por hifas. As hifas de fungos podem penetrar no material polimérico e provocar a diminuição de sua estabilidade mecânica (FLEMMING, 2010).

Alguns fungos são utilizados em pesquisa para a deterioração de materiais sintéticos e naturais produzidos pelo homem (PELCZAR Jr., 2008, SILVA, 2009).

Incluídos taxonomicamente no filo Basidiomycota do Reino Fungi estão os fungos basidiomicetos – Figura 16 (SILVA, 2009).

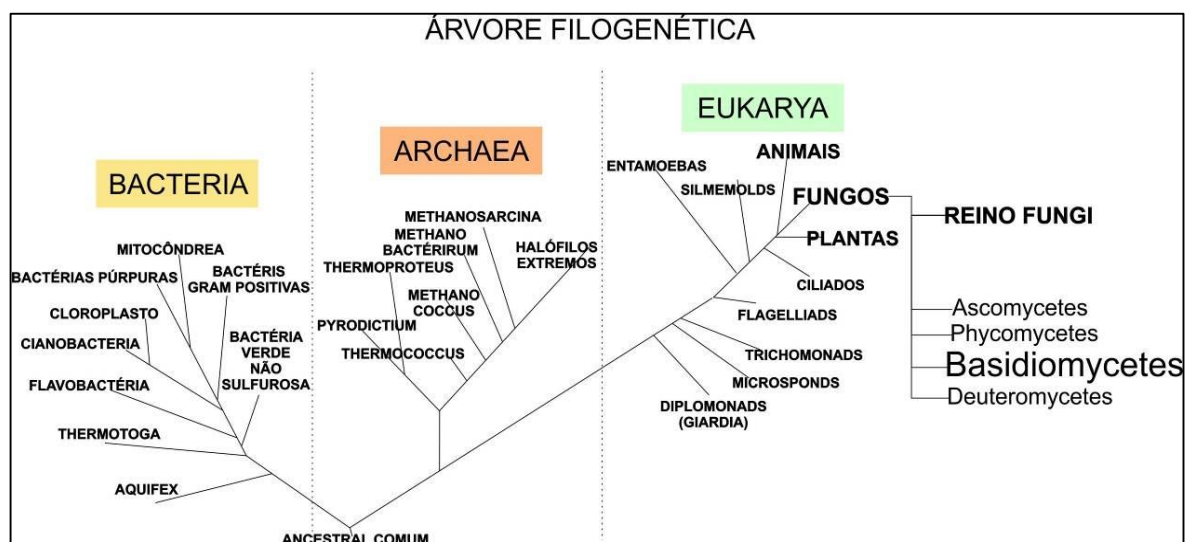


Figura 16 - Esquema da árvore filogenética, com ênfase ao reino fungi.
 Fonte: Adaptado de Madigan, *et al.* (2010).

Acerca das atividades ecológicas desenvolvidas pelos fungos, especialmente os basidiomicetos, destaca-se a decomposição de madeira, papel, tecido e outros produtos derivados dessas fontes naturais. Estes podem utilizar a celulose ou lignina dos compostos degradados como fontes de carbono e energia para seu metabolismo.

Os fungos da podridão branca, da classe de basidiomicetos, tem considerável interesse ecológico por desempenhar um papel importante na decomposição de materiais lenhosos e com grandes cadeias carbônicas (MADIGAN, *et al.*, 2010).

Os corpos dos fungos multicelulares, como os cogumelos, são constituídos por filamentos delgados chamados hifas, cujo conjunto origina o micélio. Conforme as condições ambientais, por exemplo, em ambiente úmido e com grande quantidade de matéria orgânica, as hifas e o micélio podem ser estimuladas a crescer rapidamente. Sabe-se que o crescimento ocorre pelas extremidades das hifas, que penetram mais profundamente no substrato em busca do alimento (LOPES, 2004).

2.5.1 Basidiomiceto *Lentinula edodes*

O shiitake (*Lentinula edodes* - Berk. Pegler) é um dos cogumelos comestíveis mais consumidos no mundo, e pertence à classe dos basidiomicetos. Seu cultivo teve início na China, posteriormente foi introduzido no Japão e outros países passaram a cultivá-lo. Tradicionalmente é cultivado em toras de madeira ou em serragem suplementada com nutrientes (cultivo axênico). A cultura no Brasil é realizada em pequena escala, e de maneira rudimentar, com utilização e adaptação de instalações já existentes, geralmente, com a técnica de inoculação em toras. O estado de São Paulo destaca-se como maior produtor nacional. Esses cogumelos, geralmente, são cultivados em pequenas propriedades e com ausência de um ambiente controlado para o cultivo (PICCININ, 2000; COSTA, BERNARDI e NASCIMENTO, 2006).

O cogumelo shiitake é encontrado na natureza como decompositor de árvores mortas ou sementes, nas quais atua como simbiote, pois auxilia a germinação destas sementes. Inicialmente era incluído no gênero *Lentinus*, mas passou ao gênero *Lentinula* após o trabalho de Pegler, em 1983 (PICCININ, 2000). Conforme o enquadramento de Moore-Landecker (1996), o shiitake possui o seguinte perfil taxonômico – Figura 17.



Figura 17 - Perfil taxonômico do shiitake.
 Fonte: Adaptado de Moore-Landecker (1996); Bittencourt (2007).

A respeito da estrutura do *L. edodes*, o fungo apresenta o píleo em forma convexa, circular ou reniforme, com cerca de 5 a 20 cm de diâmetro. Sua coloração epiderme superior varia entre ocre-claro até marrom escuro, em seu restante

apresenta a cor creme. O estipe é cilíndrico e o comprimento varia de 3 a 7 cm. Apresenta lamelas aderidas ao estipe, e ainda, não possui volva nem véu (TONINI, *et al.*, 2005; BITTENCOURT, 2007) – Figura 18.

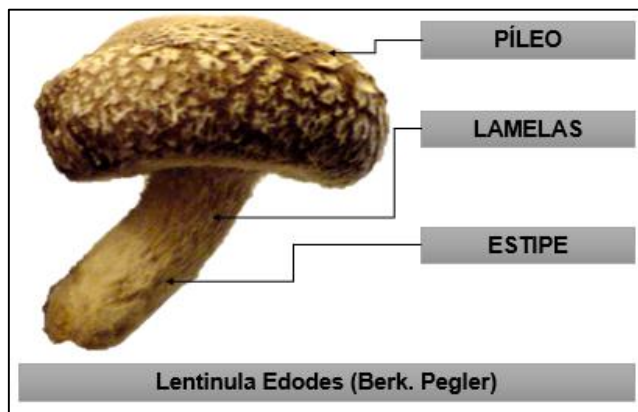


Figura 18 - Estrutura do cogumelo *shiitake*.

O ciclo de vida do shiitake inicia no momento em que um cogumelo maduro liberou os basidiósporos no ar dispersos pelo vento, no entanto, a maioria não sobrevive. Quando encontram lugares com substrato adequado e condições favoráveis, germinam e estabelecem uma nova colônia, na germinação produz uma nova hifa que cresce e forma o micélio primário, que continua a crescer indefinidamente enquanto o substrato existir. No desenvolvimento do micélio secundário, duas hifas primárias (monocarióticas), que possuam núcleos compatíveis, crescem juntas para formar o micélio dicariótico. Ao passar para o estágio vegetativo, o micélio coloniza e digere a madeira (substrato), absorve e armazena os nutrientes, e se prepara para a frutificação. Esse processo depende das condições nutricionais disponíveis no meio, para que haja a formação do cogumelo, a iniciação ocorre com um pequeno grupo de hifas, denominado primórdio, que aumenta de tamanho, caso o ambiente esteja favorável e continua a se expandir para então desenvolver um cogumelo maduro (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990; BITTENCOURT, 2007)

O *L. edodes* produz grandes quantidades de hidrolases e oxidases para a bioconversão de resíduos lignocelulósicos. Considera-se que a produção de enzimas é parte importante como indicadora do processo de colonização do substrato e da determinação do rendimento da produção (TONINI, *et al.*, 2005).

2.5.2 Enzimas Envolvidas no Processo de Biodegradação

No processo de biodegradação várias enzimas estão envolvidas. Os cogumelos, através do seu complexo lignocelulolítico formado por celulases, ligninases, peroxidases, lacases, proteases, manganases e fenol oxidases, dentre outras enzimas, possuem a capacidade de degradar desde a lignina, com a retirada de seus grupos metoxílicos, para fazer a ruptura das ligações éster, e liberar substâncias mais solúveis e exposição das cadeias restantes à ação das demais enzimas, até outros materiais, como os polímeros sintéticos (TONINI, *et al.*, 2005).

Uma alternativa tecnológica com grande potencial para a degradação de compostos aromáticos e/ou fenólicos está baseada no emprego de fenol-oxidases, como as lacases e peroxidases, que são enzimas produzidas por vários tipos de fungos da podridão branca, os basidiomicetos (BETTIN, 2010).

Fungos possuem ampla capacidade de degradar parcialmente, ou até mesmo completamente, uma variedade de poluentes resistentes à degradação, como os materiais poliméricos. O mecanismo funciona através da ação de enzimas específicas produzidas por estes microrganismos como lignina peroxidase (LiP) e mangânes peroxidases (MnP), e ainda lacases (Lac) (MACIEL, 2012; NUNES, 2012).

A Lignina Peroxidase (LiP) é uma enzima que possui a capacidade de degradar diversos compostos fenólicos, e não fenólicos, assim como os álcoois benzílicos e dimetila, através de rearranjos intramoleculares (SOARES, 2000; NUNES, 2012).

A Manganês Peroxidase (MnP) é uma glicoproteína que atua com isoenzimas, que oxidam diretamente Mn(II) a Mn(III), como uma espécie ativa nos processos de oxidação catalítica, é quelado por ácido orgânicos como o oxalato, e forma um complexo estável de elevado potencial de oxidorredução. Contudo a MnP oxida somente estruturas fenólicas. A MnP's assemelha-se à LiP's pela presença do grupo heme, e também depende de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) para que sua atividade ocorra, a produção dessa enzima se dá concomitantemente com a LiP's durante o metabolismo secundário, porém a sua regulação é concretizada pela concentração de carbono e nitrogênio do meio (REYES, 2003; NUNES, 2012).

A lacase possui um amplo ramo de aplicações como na indústria de alimentos, polpas e indústria de papel, indústria têxtil, química sintética, cosméticos, biorremediação de solos, biodegradação de xenobióticos entre outras, isso justifica o

interesse científico de seu estudo (CUOTO e TOCA-HERRERA, 2006, CARVALHO, *et al.*, 2012; NUNES, 2012).

2.5.3 Métodos e Técnicas de Cultivo Aplicados a Biodegradação

A biodegradação por meio da ação de enzimas pode ser monitorada com as medidas de massa molar, em virtude da presença de grupos polares, em análises de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), além de mudanças nas propriedades mecânicas do material, e mudanças da estrutura de microfases avaliadas com a Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), ou ainda a varredura da estrutura por microscopia eletrônica (FRANCHETTI e MARCONATO, 2006).

Conforme as normas da Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM – do Inglês *American Society for Testing and Materials*) G 160–12 (ASTM, 2012), e D 5247-92 (ASTM, 1992), sugere-se que a susceptibilidade microbiológica pode ser refletida por uma série de mudanças, incluindo coloração, perda de peso (massa), ou a redução da resistência à tração ou à flexão, ainda, percentagem de perda de alongamento e alterações na distribuição do peso molecular.

Dentre os métodos e as técnicas observados, destaca-se o método gravimétrico, para a determinação da perda de massa do polímero – Equação 2, expresso em percentual, proposto pela norma ASTM 5247-92 (ASTM, 1992), onde o m_i é a massa inicial, pesada previamente ao tratamento com o microrganismo, e a m_f é a massa final, com o material limpo, depois do período de incubação em interação com o microrganismo.

$$\text{Perda de Massa (\%)} = ((m_i - m_f) / (m_i)) \times 100 \quad (2)$$

Equação 2 - Fórmula para a determinação da perda de massa do PET.

A determinação de perda de massa do polímero pode ser adaptada aos mais diversos tratamentos, como fermentações, cultivos sólidos, entre outros (SILVA, 2009; SOARES, 2012).

Os processos fermentativos há muito tempo são utilizados pelo homem. Cultivos como a fermentação sólida e semissólida tem alcançado resultados positivos,

e ainda oferecem uma alternativa para o tratamento de resíduos agroindustriais (SILVA, 2009).

A fermentação semissólida (FSS) ou fermentação sólida ou ainda, em estado sólido é destaque nos estudos e avanços obtidos acerca do reaproveitamento de resíduos agroindustriais, e amplamente conhecida como um processo microbiano que se desenvolve na superfície de materiais sólidos, com a propriedade de absorver ou de conter água, independente dos nutrientes solúveis, sejam esses materiais biodegradáveis ou não (SANTOS, *et al.*, 2006).

Geralmente os resíduos (subprodutos) agroindustriais (farelo de arroz, farelo de trigo, bagaço de mandioca, bagaço de cana-de açúcar) são melhores substratos utilizados em processos de fermentação semissólida, e também em virtude de sua abundância. Esta técnica apresenta aspectos positivos como, o fato ser um processo simples e de baixo custo, com alta produtividade enzimática formada, requerimento de espaço e energia menores, fácil extração dos produtos, que pode ser feita com água (MONTINI, 2001; MARTIN, *et al.* 2003; SOUZA, 2008; SILVA, 2009). Por outro lado, existe uma determinada dificuldade no controle dos parâmetros do processo fermentativo, como o pH, temperatura, umidade e crescimento celular (SOUZA, 2008), entre outros.

Ao comparar a FSS com a fermentação submersa (FSm), processo característico com a utilização de um meio fermentativo líquido com nutrientes solúveis, destaca-se que a FSS apresenta melhor transferência de oxigênio e maiores disponibilidades de diferentes substratos (SOUZA, 2008; SILVA, 2009).

Outro tipo de técnica é o cultivo axênico ou estéril, uma tecnologia empregada para o cultivo de microrganismo de interesse comercial, como cogumelos comestíveis. Para esse sugere-se a produção do “*spawn*” um inóculo adaptado as condições do cultivo que é o veículo de dispersão do micélio no substrato, para o shiitake este pode ser produzido em serragem enriquecida com farelo de arroz/ ou trigo, o uso de “*spawn*” obtido de substratos da mesma natureza que os usados para o cultivo do fungo podem promover um crescimento mais rápido e vigoroso do microrganismo (ROSSI *et al.*, 2003; BITTENCOURT, 2007).

Para a frutificação (produção de cogumelos), o micélio usualmente requer de 30 a 120 dias, esse período é influenciado pela linhagem utilizada, a formulação e a eficácia do substrato, a velocidade de miceliação, a distribuição do inóculo e a temperatura durante a incubação. Posteriormente ao período de colonização, o

substrato se torna totalmente branco, e as partículas do substrato não podem mais serem vistas. Considera-se ainda que algumas áreas na superfície do substrato podem se tornar marrons, principalmente onde incide a luz, isso pode ser causado pela oxidação das polifenol-oxidases, que reagem com a luz e o oxigênio. O micélio marrom se torna uma camada protetora envolta do substrato, e vai atuar como barreira e defesa contra a invasão de organismos (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990; BITTENCOURT, 2007).

Destaca-se que a indução para a frutificação inicia com uma mudança de temperatura que passa de 25°C para algo em torno de 16°C, esse período requer condições ambientais específicas: como temperaturas entre 13-20°C, umidade relativa entre 75 a 95%, luz, ar fresco, nutrientes e água suficiente no bloco (BITTENCOURT, 2007).

Para o cultivo e os ensaios de biodegradação é necessária à utilização de substratos como o farelo de trigo, farelo de arroz e a serragem, que foram utilizados nessa pesquisa. A Tabela 1 sintetiza algumas das propriedades de cada tipo de substrato.

Tabela 1 - Composição dos resíduos agroindustriais farelo de arroz, trigo e serragem, em percentual.

Propriedades (%)	Farelo de arroz	Farelo de trigo	Serragem (<i>pinus</i>)
Matéria seca	89,30	88,00	-
Proteína bruta	13,24	15,52	-
Fibra bruta	07,88	09,66	-
Cálcio	00,11	00,14	-
Fósforo total	01,61	0,99	-
Potássio	01,40	01,03	-
Celulose	25-40	25-40	50,10
Hemicelulose	20-30	20-30	09,70
Lignina	30	30	30,30
Outras substâncias	-	-	10

Fonte: Silva (2009); Trombetta (2010).

As substâncias que compõe esses substratos podem ser degradadas pelos basidiomicetos que utilizam seus componentes para o crescimento, em virtude de seu sistema enzimático que os torna capazes de degradar fontes complexas de carbono como a celulose, a hemicelulose e a lignina, esse fato evidencia o importante papel desses fungos no processo de reciclagem da biomassa das florestas (PAULA, *et al*, 2007; SILVA, 2009).

3. OBJETIVOS

Esta pesquisa teve como objetivo principal investigar, caracterizar e avaliar os processos biodegradativos associados às alterações nas propriedades do politereftalato de etileno (PET) irradiado por ultravioleta (UV) por meio da ação do fungo ligninolítico *Lentinula edodes*.

Como objetivos específicos foi realizado, com amostras do polímero PET recortadas de garrafas de refrigerante pré-consumo, sem irradiação (0 horas), e com irradiado por ultravioleta por períodos de 24 horas, 48 horas e 96 horas intermitentes:

- i) Avaliar as características físico-químicas por:
 - a. Análise Termogravimétrica e Análise de Calorimetria Exploratória Diferencial;
 - b. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier;
 - c. Ensaio de Tração Mecânica.
- ii) Com as amostras de PET irradiadas (24 horas, 48 horas e 96 horas) e não irradiadas (0 horas), utilizá-las em diferentes métodos de ensaios, como substrato para o crescimento do fungo *L. edodes* (shiitake) e posteriormente, avaliar os processos biodegradativos sofridos pelo PET após a ação do microrganismo em estudo, em diferentes períodos de tempo através da:
 - a. Determinação do percentual de perda de massa;
 - b. Análise Termogravimétrica e Calorimetria Exploratória Diferencial;
 - c. Ensaio de Tração Mecânica.
- iii) Analisar as características estruturais por microscopia óptica na fase de degradação abiótica e biótica;

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ESTRUTURA DA PEQUISA

Esta pesquisa apresentou caráter precursor acerca da utilização do *L.edodes* em processos biodegradativos, bem como da utilização do PET irradiado por ultravioleta. Com o intuito de eliminar a provável interferência residual das embalagens pós-consumo, como a aderência de açúcares e resíduos do produto envasado. Optou-se pela utilização para a confecção dos corpos de provas utilizados neste estudo de garrafas/embalagens de 2 litros de PET virgem, pré-consumo, sendo este considerado isento das citadas interferências.

Na figura 19, é possível observar um fluxograma com as etapas desta pesquisa, e em síntese, as análises utilizadas a cada etapa.

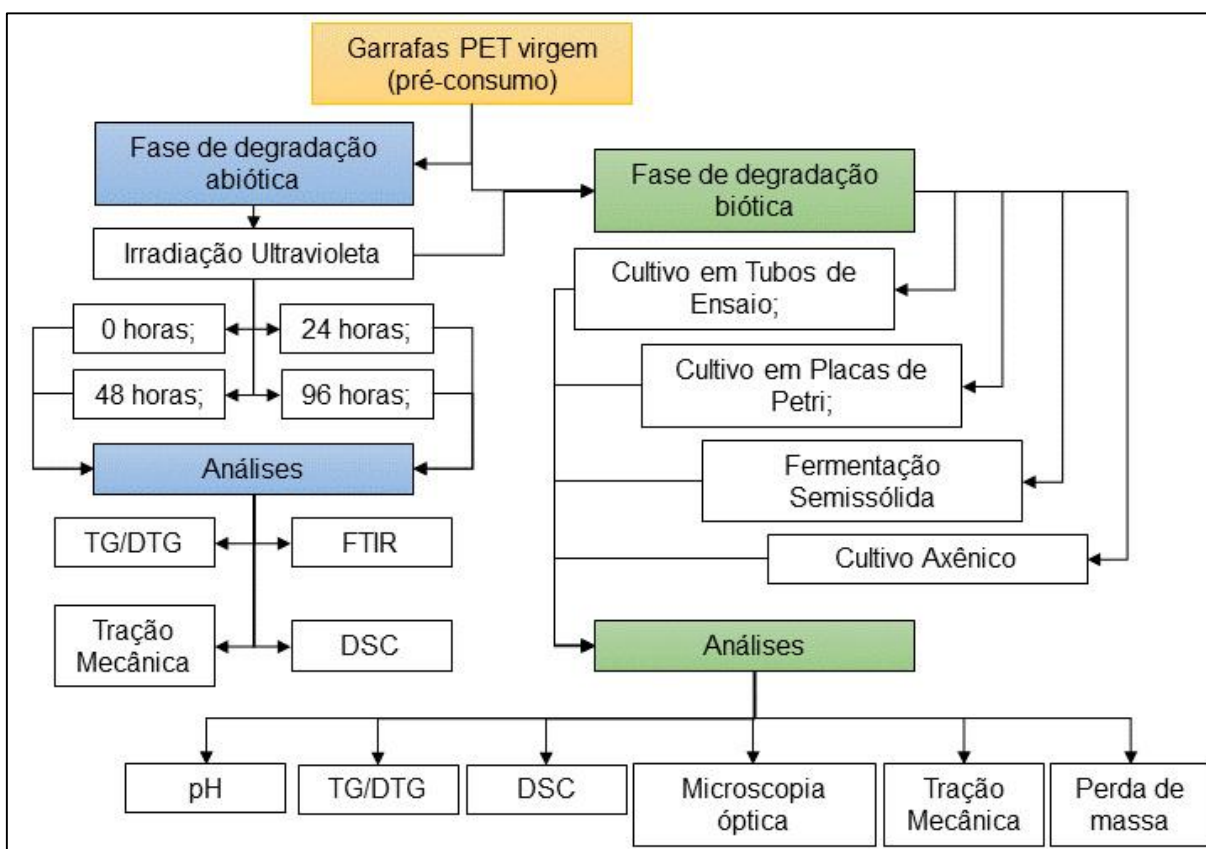


Figura 19 – Fluxograma com as etapas gerais da pesquisa.

4.2 AMOSTRAS DO POLÍMERO

O material utilizado neste estudo foi proveniente de garrafas de bebida carbonatada virgens (não utilizadas) de 2 litros, fabricadas pelo processo de sopro, cujas pré-formas possuíam 43g, constituídas de resina PET virgem cristal, com 0,0215 g/mL distribuídos na estrutura.

As amostras de PET foram recortas a partir da faixa central da garrafa, em quadrados com 1,1 x 1,1 cm, com o auxílio de um perfurador com formato quadrado, exceto para o ensaio de tração mecânica e do cultivo axênico, no qual as amostras foram recortadas conforme determina a norma ASTM D638-10 (ASTM, 2010), do Tipo I – Figura 20.

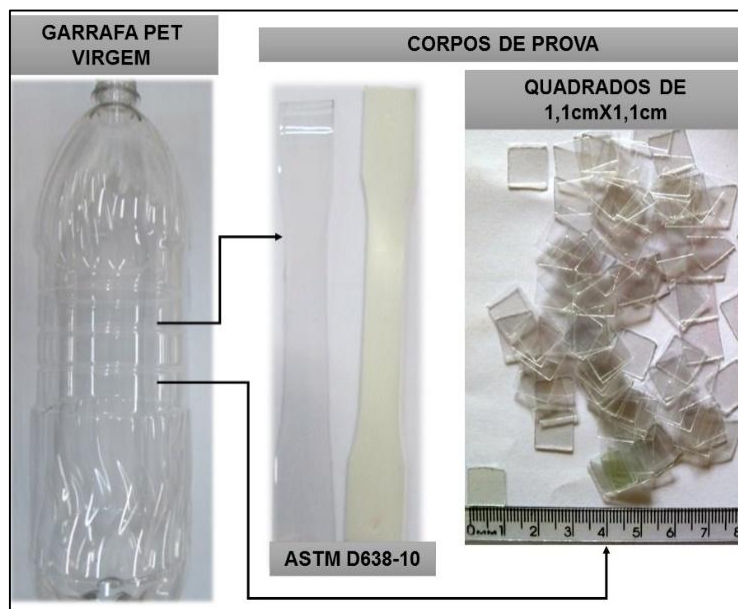


Figura 20 – Composição dos corpos de prova utilizados no estudo.

Os espécimes apresentaram uma espessura média de 0,23 mm, aferida com a utilização de um Paquímetro Digital (da marca Mitutoyo). Foram limpos com álcool etílico 70%, e armazenados em recipientes de plásticos transparentes e fechados, sob condições de temperatura e umidade ambientes, para as posteriores análises.

4.3 FASE DE DEGRADAÇÃO ABIÓTICA

4.3.1 Determinação da Faixa de Absorção das Amostras PET

Por meio do método de Espectroscopia de Absorção Atômica (AAS) foi caracterizada a radiação proveniente de uma lâmpada comercial da marca OSRAM, de vapor de mercúrio (Hg) de média pressão (125W), utilizada no presente experimento, para a irradiação das amostras de PET, cujo bulbo protetor de quartzo foi removido. Para a realização deste ensaio a lâmpada foi acoplada ao equipamento Espectrofotômetro Varian modelo AA240SF. Inicialmente realizou-se a primeira leitura, e na sequência uma lâmina de PET virgem cristal transparente com 10 cm² e espessura aproximada de 0,23 mm foi posicionada entre o equipamento e o sensor, para identificar a banda de absorção do PET. Posteriormente um filme de PET sem irradiação foi submetido a Espectroscopia no Ultravioleta Visível (UV-vis) com a utilização do equipamento Perkin Elmer Lambda 25.

4.3.2 Irradiação Ultravioleta das Amostras

As amostras preparadas conforme a necessidade de cada ensaio, foram submetidas à irradiação ultravioleta em períodos de tempo pré-determinados, 0 horas (sem irradiação), 24, 48 e 96 horas, fluxo contínuo, em câmara de irradiação UV acelerada.

A câmara de irradiação ultravioleta foi construída a partir de adaptações realizadas em uma capela, com iluminação com 4 lâmpadas de vapor de mercúrio (Hg) de média pressão (125W), cujo bulbo protetor de quartzo foi removido – Figura 21.

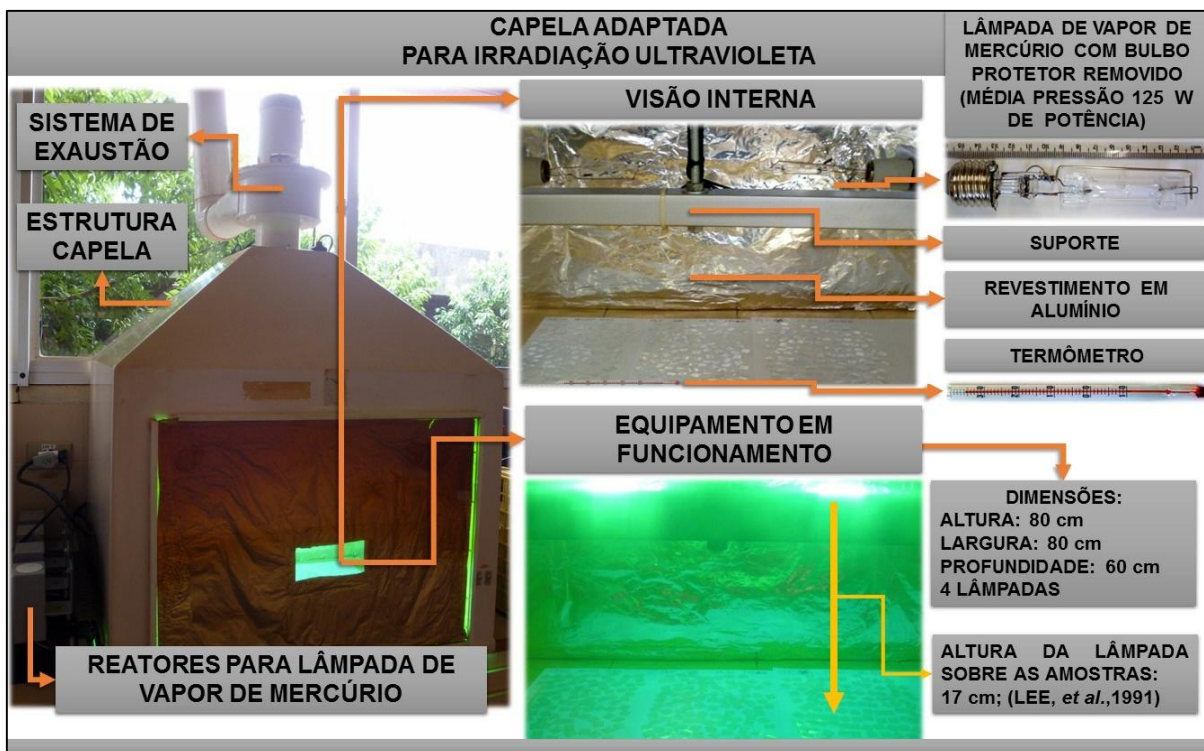


Figura 21 – Composição do equipamento de irradiação UV acelerada.

Os ensaios procederam embasados nas normas da Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM – do Inglês *American Society for Testing and Materials*) G 151-10 (ASTM, 2010), G 154-12 (ASTM, 2012). Os espécimes foram limpos com álcool etílico 70%, enxaguados em água corrente e água destilada, posteriormente, removido o excesso de água foram secos em estufa, a 50°C por 12 horas.

Durante os períodos de irradiação UV, o sistema de exaustão esteve parcialmente ligado, por intervalos de 12 horas, para a retirada dos compostos voláteis gerados durante o processo de fotodegradação, e a temperatura foi aferida diariamente, através da utilização de um termômetro no interior do equipamento.

4.3.3 Análise Termogravimétrica, Calorimetria Exploratória Diferencial e Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho

As amostras irradiadas e não irradiadas de PET virgem foram submetidas à Análise de Termogravimetria (TG) e ao cálculo de sua primeira derivada (DTG) e a

Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), no equipamento STA6000 da PerkinElmer (fabricado na Holanda, 2011).

Inicialmente a análise foi realizada em porta amostras de platina, aberto, que continha aproximadamente 6,0 mg de amostra, submetidas a uma variação de temperatura de 50°C até 600°C, com uma taxa de aquecimento (β) de 10°C.min⁻¹ e em atmosfera de nitrogênio com fluxo de 20 mL.min⁻¹, para gerar a curva TG.

Para a análise de DSC, mais especificamente, o ensaio foi repetido com a utilização de um pequeno recipiente de alumínio, preenchido com aproximadamente 6,0 mg de amostra, e fechado, perfurado com uma agulha para a abertura de um pequeno orifício para manter a pressão constante no recipiente. A variação de temperatura foi de 50°C até 300°C, com uma taxa de aquecimento (β) de 10°C.min⁻¹ e em atmosfera de nitrogênio com fluxo de 20 mL.min⁻¹.

Posteriormente ao período de incubação das amostras de PET com o fungo, algumas amostras foram novamente submetidas a análise de DSC e TG para verificar possíveis mudanças nas propriedades térmicas, para tanto utilizou-se o mesmo procedimento descrito anteriormente, especificado em cada ensaio.

Os dados gerados a partir das curvas de DSC, como o grau de cristalinidade (α_c), temperatura de fusão (T_f °C) e entalpia de fusão (ΔH_f J.g⁻¹) para as amostras, irradiadas (24h, 48h, 96h) e não irradiadas (0h), dos polímeros foram submetidos a análise de variância (ANOVA - do inglês *Analysis of variance*) e aplicado teste de comparação múltipla de Tukey ao nível de 95% e 99% de confiança, estruturados em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), no software *Assistat* versão 7.7 beta em português.

A FTIR foi obtida através da utilização do espectrofotômetro PerkinElmer Spectrum100 (fabricado em Llantrisant, Reino Unido, 2011), no modo acoplado ao TG/DSC, por meio do qual analisou-se a fase gasosa das amostras de PET especificamente do PET 0h, não irradiado, e apenas do PET irradiado em 96 horas.

4.3.4 Ensaio de Tração Mecânica

Para o ensaio de tração foi utilizado um texturômetro modelo TA.HD.- plus - Stable Micro Systems (fabricado em Godalming, Reino Unido, 2010). A taxa de tração

utilizada nos corpos de prova foi de 5 mm.s^{-1} até o rompimento da amostra, os grampos foram dispostos a uma distância de 10 cm entre ambos conforme a norma ASTM D 638-10, com célula de carga de 100 kg.

Os resultados do módulo de Young e da tensão de estiramento foram obtidos através da análise da curva tensão versus deformação, realizada no *software Origin*, e posteriormente os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e aplicado teste de comparações múltiplas de Tukey com 95% e 99% de confiança, em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), realizado no *software Assistat*, referido anteriormente.

4.4 FASE DE DEGRADAÇÃO BIÓTICA

4.4.1 Microrganismo

Utilizou-se uma linhagem do fungo *Lentinula edodes* (Beck.) Pegler (CC 345), doado gentilmente pelo Departamento de Biologia da Universidade Estadual de Maringá – UEM, estado do Paraná.

4.4.2 Condição de Crescimento e Preparo do Inóculo

O microrganismo foi cultivado em placas-de-Petri (90x15mm) preparadas com um substrato sólido de Batata Dextrose Ágar (BDA, da marca Himedia). A cada 60 dias foram repicados e crescidos por um período médio de 14 a 21 dias, para a colonização de todo o substrato, armazenados em estufa climatizada (da marca Cienlab) a $20^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$, em seguida, acondicionados em geladeira a $5^{\circ} \text{C} \pm 1^{\circ} \text{C}$.

Após o cultivo do microrganismo, utilizou-se como inóculo um pedaço circular de ágar-micélio de aproximadamente $\varnothing 1,18 \text{ cm}^2$. Exceto para o cultivo axênico onde foi preparado o *spawn* em substrato a base de serragem e farelo de trigo.

4.4.3 Análise Qualitativa do Crescimento Fúngico

O crescimento e desenvolvimento micelial do organismo, nos substratos propostos, foi determinado de maneira qualitativa, por meio da observação visual, conforme adaptado da norma americana ASTM G 21-13 (ASTM, 2013). O crescimento observado nos ensaios foi classificado conforme exemplifica a Tabela 2:

Tabela 2 – Parâmetro para observação visual do crescimento fúngico.

Crescimento observado nas amostras:	Classificação:
Nenhum crescimento;	0
Vestígios de crescimento inferiores a 10% do recipiente;	1
Crescimento ligeiro de 10 a 30% do recipiente;	2
Crescimento mediano de 30 a 60% do recipiente;	3
Crescimento denso de 60% acima para completar o recipiente;	4

Fonte: ASTM G 21-13, 2013.

4.4.4 Desinfecção das Amostras de PET

As amostras de PET virgem (1,21 cm²) após o corte, foram desinfetadas com vistas à eliminação de contaminantes microbianos. Inicialmente as amostras foram acondicionadas em envelopes (saquinhos) identificados e confeccionados com gaze, colocadas em copos descartáveis de 50 mL, que continham solução desinfetante universal (2,5L de água destilada + 34 mL de Tween 80 + 50 mL de hipoclorito de sódio 18%, autoclavados) e deixadas à temperatura ambiente durante 60 minutos. Posteriormente, com auxílio de uma pinça estéril, foram removidas e transferidas para copos com água destilada esterilizada em temperatura ambiente e deixados em repouso por 60 minutos. Em seguida, transferidas para outros copos que continham solução de álcool etílico 70% e mantidos por 30 minutos à temperatura ambiente. Por fim, os envelopes com as amostras de PET foram transferidos assepticamente para tubos de ensaios para os ensaios com quadrados e beckers para os ensaios com os corpos de prova Tipo 1 da ASTM D638-10 (2010) esterilizados fechados com algodão, à temperatura ambiente para secagem por um período de 12 dias aproximadamente (adaptado de LEE, *et al.* 1991; REYES, 2003; SILVA, 2009; SOARES, 2012).

4.3.5 Determinação da Perda de Massa do PET

As amostras de PET foram previamente pesadas em balança analítica (da marca Marte, Shimadzu Corporation, fabricada em Minas Gerais, Brasil, 2010), e posteriormente ao período de incubação.

A limpeza dos espécimes de PET, posterior ao tratamento fúngico, foi baseada na metodologia da norma americana ASTM D 5247-92 (ASTM, 1992) que consiste em colocar as amostras em solução de hidróxido de sódio (NaOH) 5 mol.L⁻¹ por aproximadamente 4 horas, para retirar a massa microbiana, em seguida foram lavadas em água corrente e mantidas em repouso por 4 horas em água destilada, após a remoção do excesso de água, as amostras foram colocadas em estufas de secagem a 50°C por 12 horas, e depois transferidas para o dessecador, onde permaneceram 30 minutos, para manter o peso constante. Na sequência, realizou-se a pesagem dos espécimes limpos em balança analítica, para determinar massa após o período de incubação e calcular o percentual de perda de massa (adaptado de REYES, 2003; SILVA, 2009; DAMBRÓS *et al.*, 2014).

4.5 ENSAIOS DE DEGRADAÇÃO BIÓTICA

4.5.1 Cultivo em Placa de Petri

O cultivo em placas de petri, ou também conhecido como plaqueamento em ágar (FRANCHETTI e MARCONATO, 2006) foi utilizado como método de ensaio biológico. Composto por placas-de-Petri (90x15mm) que continham como substrato auxiliar 20 mL de ágar Batata Dextrose (BDA, da marca Himedia), pH de 5,6 ± 0,2, o inóculo Ø 1,18 cm² do fungo *L. edodes*, adicionado no centro da placa e cinco quadrados de PET, previamente pesados, esterilizados, e inoculados em câmara de fluxo laminar (da marca Labconco), posteriormente o sistema foi fechado com filme de PVC para evitar contaminações, como exemplificado na figura 22.

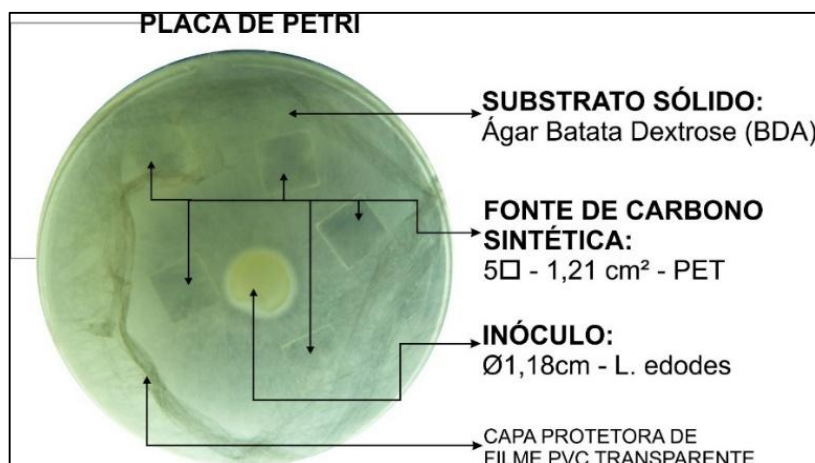


Figura 22 – Modelo representativo do ensaio de cultivo em placas de petri.

As amostras permaneceram em tratamento por períodos de tempo de 30, 60, 90, 120 e 150 dias, incubadas em uma estufa climatizada, a uma temperatura de $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Este ensaio foi conduzido por um experimento fatorial, com repetições (triplicatas), no qual estipularam-se dois níveis, o primeiro nível contempla os tratamentos realizados denominados períodos de irradiação das amostras de PET, totalizando quatro subníveis (0h, 24h, 48h, 96h), o segundo nível contempla os períodos de tempo amostrados, composto por cinco subníveis (30, 60, 90, 120, e 150 dias), com um total de 60 ensaios.

Após o tratamento do polímero nos tempos estipulados, os espécimes coletados tiveram sua perda de massa determinada por gravimetria, em percentual, e os dados obtidos foram submetidos a análise descritiva, análise de variância (ANOVA) e aplicado o teste de comparação múltipla de Tukey ao nível de 5% e 1% de significância, no *software* livre *Assistat*, referido anteriormente. As análises estatísticas referidas, também foram realizadas para os dados do grau de cristalinidade (α_c), calculado a partir das curvas de DSC, que foram realizadas para uma amostra de cada grupo de interação, (irradiação X tempo), bem como foram determinados a temperatura de fusão (T_f °C) e entalpia de fusão (ΔH_f J.g⁻¹), a análise de TG/DTG, foi realizada para o grupo com maior período de tratamento, 150 dias de interação com o fungo.

4.5.2 Cultivo em Tubos de Ensaio

Este cultivo foi realizado em tubos de ensaio de 10 cm, com o intuito de reduzir a superfície de contato do polímero com o fungo, assim, em cada tubo foi adicionado 1 mL de meio de cultivo ágar Batata Dextrose (BDA, da marca Himidia), posteriormente inoculou-se um pedaço de ágar micélio de 0,25 cm², e os pedaços de PET (3 quadrados) previamente esterilizados e com a massa (g) aferida. A inoculação foi realizada em câmara de fluxo laminar (da marca Labconco). Os ensaios foram armazenados em estufa climatizada, a 20 °C±1°C. A composição estrutural do sistema pode ser observada na Figura 23.

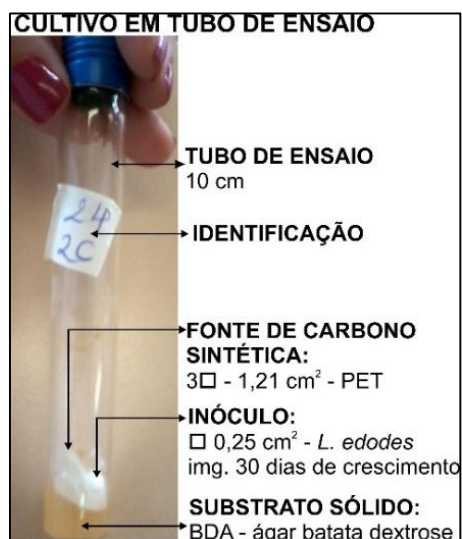


Figura 23 - Exemplo da formulação estrutural do cultivo em tubos de ensaio.

O cultivo em tubos de ensaio foi conduzido em experimento fatorial com repetições (quintuplicatas), foram definidos dois níveis (irradiação UV nas amostras de PET e tempo de tratamento), o nível dos períodos de irradiação das amostras de PET, apresentou quatro subníveis (0h, 24h, 48h, 96h), o nível dos períodos de tempo amostrados, apresentou três subníveis (30, 45, 60 dias), com um total de 48 ensaios.

Após o período de incubação os espécimes tiveram a perda de massa determinada e os ensaios que apresentaram os maiores níveis percentuais de perda de massa foram submetidos às análises térmicas de DSC e TG/DTG, posteriormente os dados obtidos do percentual de perda de massa e do grau de cristalinidade foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e aplicado teste de comparação múltipla

de Tukey ao nível de 5% e 1% de significância, realizado no *software* livre *Assistat*, referido anteriormente.

4.5.3 Fermentação Semissólida

Os substratos agroindustriais utilizados neste ensaio foram farelo de arroz, farelo de trigo adquiridos no município de Medianeira, Paraná – Figura 24.

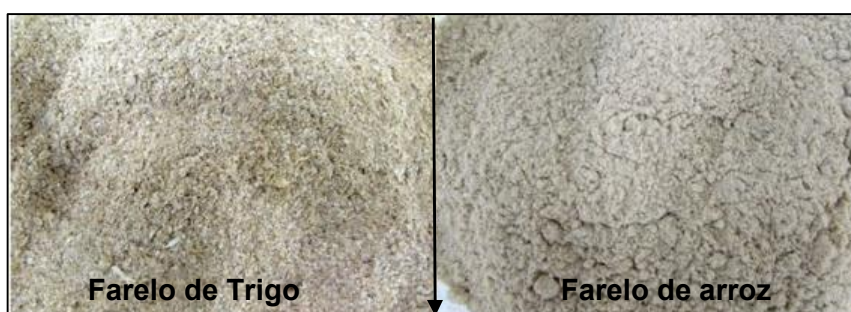


Figura 24 – Substratos utilizados no ensaio de Fermentação Semissólida.

Para os ensaios de fermentação semissólida, foram utilizados erlenmeyers de 125 mL, que continham meio de cultivo formulado com farelo de arroz (10g) e de trigo (10g) e uma solução de sais contendo fosfato monopotássico (KH_2PO_4), uréia, sulfato de magnésio (MgSO_4), acrescentada em gramas/por meio de cultivo, sem considerar sua utilização para a umidificação do substrato, conforme Tabela 3.

Tabela 3 – Dados utilizados para o cálculo da concentração de sais.

Cálculo da Solução Concentrada de Sais		Qtde. em gramas da solução concentrada a ser adicionada em 20 gramas de meio:
Fosfato monopotássico (KH_2PO_4)	50 g.L ⁻¹	0,4 g/meio
Uréia	5 g.L ⁻¹	0,4 g/meio
Sulfato de magnésio (MgSO_4)	7,5 g.L ⁻¹	0,4 g/meio

Fonte: Adaptado de Silva (2009).

Posteriormente a umidade foi ajustada a 70%, desprezando a adição da solução de sais, e os ensaios contendo os substratos foram autoclavados a 121 °C - 1 atm, por 30 minutos. Em câmara de fluxo laminar (da marca Labconco) foram

incubados os espécimes de PET (06 quadrados por frasco), e um inóculo circular de \varnothing 1,18 cm² do fungo, os ensaios foram armazenados estaticamente em uma incubadora bacteriológica (da marca CERTOMAT, modelo BS 1, fabricada na Alemanha) a 30°C±1°C.

O exemplo da composição do sistema pode ser observado na Figura 25.



Figura 25 – Exemplo da formulação do ensaio de fermentação semissólida.

Após o período de incubação (tempo de execução dos ensaios), foram adicionados 40 mL de água deionizada esterilizada nas amostras e as mesmas foram homogeneizadas em *shaker* (da marca CERTOMAT, modelo MO, fabricado na Alemanha) por cerca de 15 minutos, posteriormente, as amostras foram filtradas em algodão e uma alíquota do caldo obtido transferida para frascos penicilina, e armazenados a 5°C, os polímeros foram reservados, ambos materiais foram utilizados em análise posteriores (adaptado de REYES, 2003; SILVA, 2009).

A fermentação semissólida foi conduzida em um experimento fatorial com repetições (quadruplicatas), com 2 níveis, um nível contempla os períodos de irradiação das amostras de PET, totalizando quatro subníveis (0h, 24h, 48h, 96h) e o outro os períodos de tempo amostrados, totalizando quatro subníveis (30, 60, 90, 120 dias), com um total de 64 ensaios.

Após o tratamento foi determinado o percentual de perda de massa pelo método gravimétrico, e o pH dos sistemas, esses dados, juntamente com os dados do grau de cristalinidade das amostras obtidos pela DSC, que para esse ensaio foram realizadas em recipiente fechado, foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e aplicado o teste de comparação múltipla de Tukey ao nível de 5% e 1% de significância, realizado no *software* livre *Assistat*.

4.5.4 Cultivo Axênico

O cultivo axênico, foi realizado em sacos de polipropileno (PP) com dimensões de 11 cm de largura por 19,5 cm de altura, e com espessura de $\cong 0,006$ cm, contendo serragem (20g), farelo de arroz (5g) e trigo (5g), e carbonato de cálcio (1%) aplicado juntamente com o ajuste de umidade a 70%. Após o preenchimento dos sacos, com 30 g de substrato, foram embrulhados com papel craft, para evitar perfurações, e esterilizados em autoclave a 121°C - 1 atm, por 60 minutos. Como inóculo foram usados aproximadamente 2g do “spawn” (semente preparada).

A inoculação foi realizada em câmara de fluxo laminar (da marca Labconco), com a inserção do fungo e os espécimes de PET recortados conforme a norma ASTM D638-10 (ASTM, 2010). Os sacos foram colocados em estufa climatizada (da marca DIST), em temperatura de 25°C \pm 1°C, com umidade relativa em torno de 80%, aferida regularmente com medidor de umidade do ar (da marca MoreFitness) e ausência de luz (adaptado de BITTENCOURT, 2007).

Após o período de incubação, foram adicionados 40 mL de água deionizada nas amostras e as mesmas foram homogeneizadas em *shaker* (marca CERTOMAT, modelo MO, fabricado na Alemanha) por cerca de 15 minutos, posteriormente, as amostras foram filtradas em algodão e uma alíquota do caldo obtido transferida para frascos penicilina, e armazenados a 5°C, os polímeros foram reservados, ambos materiais foram utilizados em análise posteriores (adaptado de REYES, 2003; SILVA, 2009). Na figura 26 é exemplificada a constituição deste sistema.



Figura 26 – Exemplo da formulação estrutural do cultivo axênico.

O cultivo axênico foi conduzido em um experimento fatorial com repetições (quintuplicatas), no qual considerou-se dois níveis, período de irradiação das amostras PET e o tempo de tratamento, o primeiro nível continha quatro subníveis (0h, 24h, 48h, 96h), o segundo nível definido como os períodos de tempo amostrados também continha quatro subníveis (30, 60, 90, 120 dias), com um total de 80 ensaios.

Após o período de incubação, o pH dos sistemas foi aferido, e os espécimes de PET foram submetidos ao ensaio de tração mecânica, através da análise da curva tensão versus deformação, realizada no *software Origin*, obtiveram-se os dados do módulo de Young e da tensão de estiramento e posteriormente os dados coletados neste ensaio foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e aplicado teste de comparação múltipla de Tukey ao nível de 5% e 1% de significância, realizado no *software Assisat*.

4.5.4.1 Preparo da Semente (“*spawn*”)

O inóculo “*spawn*” foi preparado em um frasco de vidro, que continha serragem (100g) e farelo de trigo (100g) com a umidade ajustada a 70%, inseriu-se um tubo de ensaio no interior do frasco para fazer uma abertura onde foi colocado o inóculo, posteriormente abriu-se um orifício na tampa coberto com algodão, para favorecer as trocas gasosas. Depois de prontos, os frascos foram autoclavados a 121°C e 1 atm, por 60 minutos. Deixou-se esfriar por 24 horas, e então foram inoculados em câmara de fluxo laminar (da marca Labconco) quatro pedaços circulares de ágar-micélio Ø 1,2 cm² nos frascos, que em seguida, foram incubados em estufa climatizada, a temperatura de 26°C ±2°C, mantido no escuro por três semanas, para a posterior utilização.

Esse sistema pode ser observado na Figura 27.



Figura 27 – Elaboração do *spawn*, inóculo utilizado no ensaio de cultivo axênico.

4.6 MICROSCOPIA ÓPTICA

As amostras após removidas dos tratamentos, foram submetidas a visualização dos filmes em microscópio óptico da marca Olympus BX60 (fabricado no Japão), com câmera Olympus DP25 acoplada e software Olympus DP2-BSW.

O preparo das amostras para a observação no equipamento foi conduzido inicialmente com a limpeza prévia das mesmas com álcool etílico 70%, e posterior aplicação sobre uma lâmina de vidro, com a cobertura de uma lamínula de vidro, em meio seco. Para cada amostra foram realizadas triplicatas, em objetivas com diferentes faixas de ampliação, que variaram de 4x, 10x, 20x, 40x e 100x.

4.7 CONTROLE BIÓTICO E ABIÓTICO

O controle abiótico elimina a interferência biótica, pois consiste no ensaio, sua formulação e substratos, sem a inoculação do microrganismo, enquanto o controle biótico, é realizada para eliminar a interferência abiótica, pois consiste no ensaio sem o polímero.

Para o tratamento de cultivo em placas de petri, foram realizadas 20 repetições de controle biótico sem a inoculação do fungo, retiradas uma a cada período de tempo de ensaio, e posteriormente as médias foram analisadas em um delineamento inteiramente casualizado, com análise de variância (ANOVA) e aplicado Teste Tukey

a nível de 5% e 1% de significância, foram preparados 10 controles bióticos, sem a inoculação do polímero, que foram acompanhados durante os períodos de tempo para observação de alterações visuais no crescimento.

Para a fermentação semissólida, o controle abiótico foi realizado em duplicata para cada período de tempo em relação aos tratamentos, totalizando 32 controles abióticos e 32 controles bióticos, o mesmo ocorreu para o cultivo axênico, os dados foram analisados juntamente com os dados dos ensaios de biodegradação completos.

Para o cultivo em tubos de ensaio, foram realizados em duplicatas o controle abiótico, com um total de 24 ensaios e 10 ensaios de controle biótico. Os dados coletados foram analisados juntamente ao tratamento.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA RADIAÇÃO ABSORVIDA PELO PET

Os materiais poliméricos como o PET são suscetíveis a degradação em virtude da exposição a luz UV, como pressupõem os estudos de Vichessi e Ruvolo Filho (2008), Alves (2004), Andrady, *et al.*, (1998), Lee, *et al.* (1991) e Ilišković e Bravar, 1986, entre outros.

Para caracterizar a irradiação UV utilizada neste estudo, por meio da Espectroscopia de Absorção Atômica (AAS), de uma lâmpada de vapor de mercúrio da marca OSRAM, de média pressão (125W) obteve-se o espectro representado no gráfico 1.

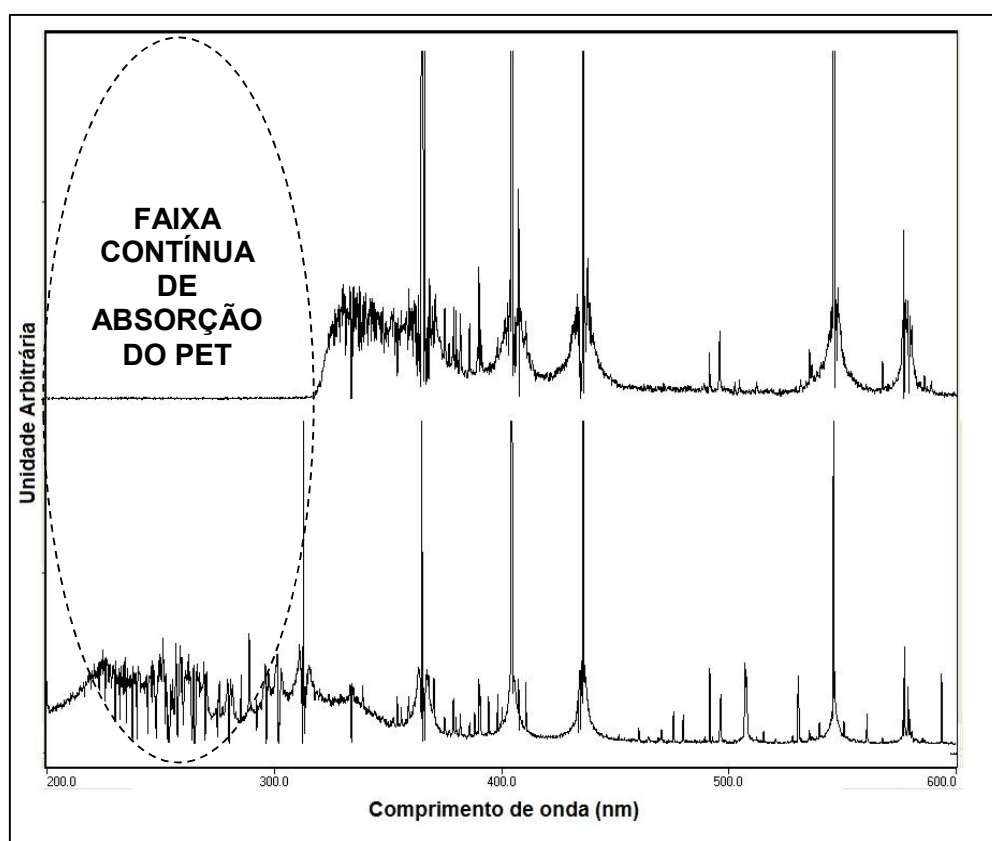


Gráfico 1 - Identificação da faixa de absorção de UV pelo PET por absorção atômica.

Verifica-se que o espectro de luz emitido pela lâmpada de vapor de mercúrio (Hg) apresenta um padrão de emissão característico, com a formação de picos intensos nos comprimentos de onda em aproximadamente 550 nm, 440 nm, 405 nm,

370 nm e 310 nm. Observa-se que com a inserção do filme de PET, entre o sensor do equipamento e a lâmpada, ocorreu à absorção da radiação pelo filme na faixa de 320 nm até 200 nm, faixa considerada ultravioleta, predominantemente a faixa de UV-B.

A luz ultravioleta é responsável pelo processo de fotodegradação de estruturas poliméricas, como o PET, neste, o principal grupo cromóforo, constituído pelo anel aromático e suas ligações com o oxigênio, apresenta absorção de radiação UV na faixa observada de 240-320 nm.

Posteriormente a essa análise o PET irradiado foi submetido a Espectroscopia no Ultravioleta Visível (Uv/Vis) com a utilização do equipamento Perkin Elmer Lambda 25. A análise de espectroscopia no ultravioleta visível é medida em percentual de transmitância, com relação ao comprimento de onda em nanômetros. Transmitância é a fração da luz incidente que atravessa a amostra em um comprimento de onda específico. No gráfico 2, é observada a curva gerado para o PET virgem cristal transparente utilizado neste estudo, segmentada conforme a sequência de eventos registrados nos determinados comprimentos de onda para a transmitância.

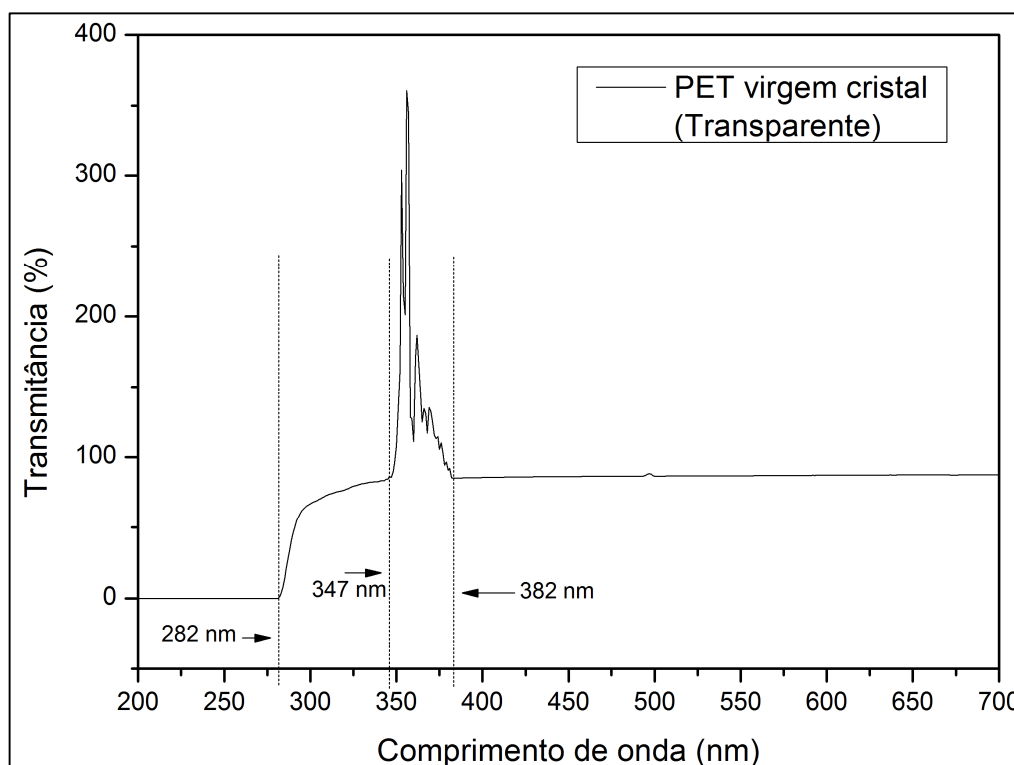


Gráfico 2 - Espectro de transmitância do PET pela análise de espectroscopia no UV-Vis.

Conforme o gráfico 2, são observadas sequências de picos que representam em um determinado comprimento de onda, uma faixa de fluorescência da amostra,

localizada entre 382 nm até 347 nm, essa faixa é considerada como UV-A, próximo ao visível da luz violeta e azul.

Esse comportamento pode ser explicado pela aditivção do PET comercial, mais especificamente pela utilização de supressores de estado excitado, que atuam através da retirada da energia absorvida pelo cromóforo, e a dissipam na forma de calor ou na forma de radiação fluorescente, ou até mesmo fosforescente, esse grupo de aditivos pode ser representado por complexos de níquel (COLTRO e BURANTIN, 2004).

Os supressores de estado excitado também conhecidos como "*quencher*", não sofrem reações químicas, agem no polímero por meio da estabilização foto física. O mecanismo pode ser explicado a partir da absorção inicial de luz pelo cromóforo do polímero, levando-o a um estado excitado, que pode reagir e gerar alguns radicais livres ou a oxidação do polímero. No processo de estabilização, considera-se que a energia do estado e excitado do polímero transfere-se para o estado excitado do supressor, ou *quencher*, (mantendo a mesma multiplicidade de spin) e ocorre então a desativação do estado excitado do cromóforo polimérico. Após considera-se que o estado excitado do *quencher* reduz e não gera produtos secundários, fato que permite a sua competição com as reações de cisão das ligações químicas que geram radicais livres (PAOLI, 2008).

O PET virgem cristal apresentou um percentual de transmissão de luz nulo para os comprimentos de onda inferiores a 282 nm. Acima de 382 nm, este material apresentou ótimos valores de barreira à luz, com valores próximos de 90% de transmitância na faixa correspondente ao espectro da luz visível, pode-se considerar que esse desempenho ocorra devido à parte da estrutura amorfa do material, que permite a maior transparência.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DO PET - FASE ABIÓTICA

A caracterização do polímero na fase abiótica tem como objetivo estabelecer um comportamento conhecido sobre a amostra, e elencar condições para que se possam fazer as comparações posteriores do PET degradado pelo fungo.

Durante os períodos de irradiação a temperatura mínima dentro do equipamento esteve entre 32°C – 42°C.

Considera-se que no processo fotodegradativo, as reações de oxidação podem ser observadas em processos de irradiação acelerados, em processo com elevadas temperatura e aumento da umidade. Estas características podem provocar ruptura nas ligações covalentes da estrutura, acarretando concomitantemente a redução da integridade mecânica, o surgimento de fissuras nas amostras, a perda do brilho, a fragilização do material, e até mesmo a descoloração (BRITZKI, e FECHINE, 2011).

A alteração na coloração do polímero foi observada – Figura 28 e pode ser considerada um indicativo de ocorrência de fotodegradação da estrutura polimérica em virtude da irradiação UV nas amostras. O comportamento é semelhante ao identificado em outros materiais e sob outras condições de irradiação (CIOLACU, CHOUDHURY, DUTTA, 2005; TAVARES, 2007).

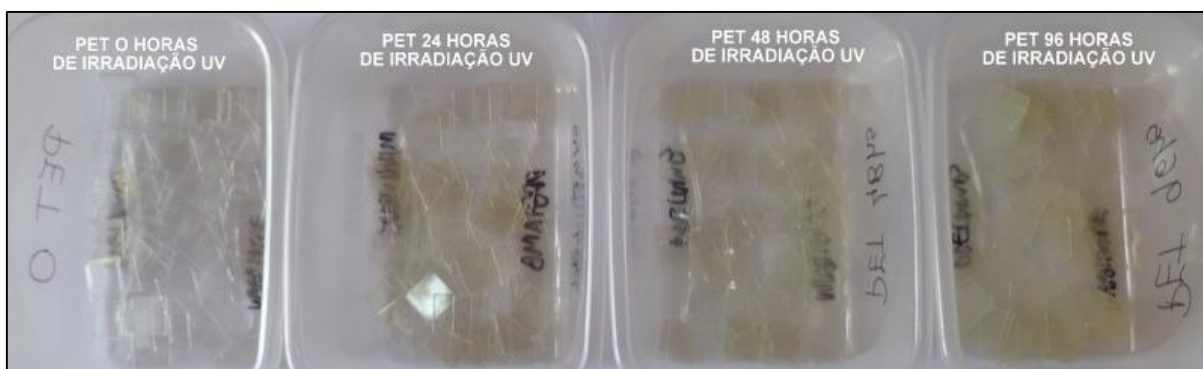


Figura 28 – Modificações da coloração aparente dos corpos de prova irradiados.

Com o passar do tempo de irradiação (sem irradiação, 24h, 48h, 96h) por luz UV sobre as amostras, observa-se que estas se tornaram mais amareladas e opacas.

Os filmes cortados em quadrados irradiados (24h, 48h, 96h) e não irradiados (0h), tiveram a massa (g) determinada pelo método gravimétrico, para a execução dos ensaios de biodegradação.

A partir da observação do gráfico 3, constatou-se que após o processo de degradação por ultravioleta ocorreu uma redução de massa (g) no PET, nos corpos de prova quadrados de 1,21 cm², e nos corpos de prova recortados conforme o modelo da ASTM D638-10, tipo 1.

No gráfico 3, é possível observar o ajuste por meio de uma regressão polinomial quadrática e seus respectivos coeficientes de determinação, dado que indica o quanto o modelo consegue explicar os valores observados. Considera-se que quanto maior

o R^2 (mais próximo a 1), mais explicativo é o modelo utilizado, melhor se ajusta à amostra, nesse sentido, cerca de 63% das variações da massa do polímero podem ser explicadas pelo tempo de irradiação UV.

Sugere-se que essa perda de massa pode ser uma perda de umidade e liberação de compostos voláteis da molécula, ao considerar que a relação de incidência de radiação UV sobre a amostra e as mudanças nas propriedades do PET não apresentam uma relação linear que pressupõe que quanto mais irradiada a amostra mais degradada estaria (ILIŠKOVIĆ e BRAVA, 1986).

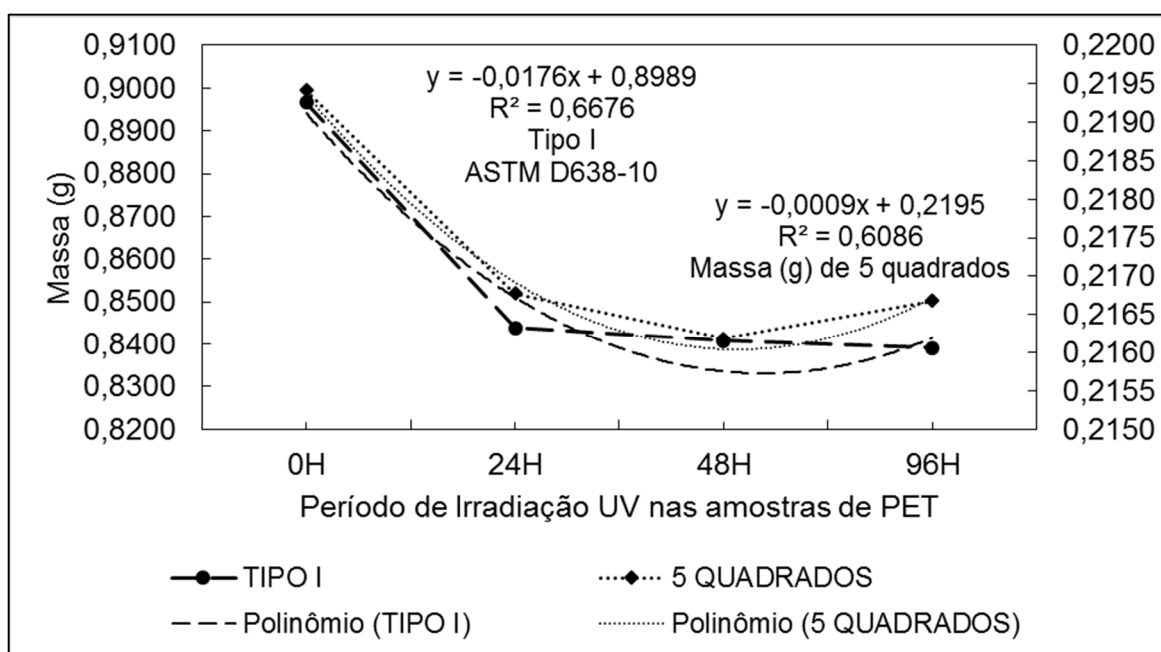


Gráfico 3 – Perda de massa pelo processo de irradiação UV nas amostras PET.

Em um delineamento inteiramente casualizado (DIC) os dados da massa dos conjuntos dos corpos de prova foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste Tukey – Tabela 4.

Tabela 4 – ANOVA e teste Tukey para os dados da análise estatística dos quadrados de PET irradiados e não irradiados;

Análise – Massa (g) PET quadrados								
FV	GL	SQ	QM	F	F-crit	GL	GLR	p
Tratamentos	3	0,00011	0,00004	8,8050**	4,0843	3	68	<0,0001
Resíduos	68	0,00029	0					
Total	71	0,00041						

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ns não significativo ($p \geq 0,05$)

(continua)

(conclusão)

Tabela 4 – ANOVA e teste Tukey para os dados da análise estatística dos quadrados de PET irradiados e não irradiados;

Normalidade dos dados (alfa = 5%)				Médias do tratamento					
Teste Estatística	Valor	p-valor	Normal	0h	0,2194	a		dms	0,00183
				24h	0,2167	b			
Shapiro-Wilk (W)	0,97221	0,11143	Sim	48h	0,2161	b		CV%	0,96
				96h	0,2166	b			
FV: Fonte de variação; GL: Graus de liberdade; SQ: Soma de quadrado; QM: Quadrado médio; F: Estatística do teste F; CV%: Coeficiente de variação em %; DMS: Diferença mínima significativa;				As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade;					

Conforme a análise de variância rejeita-se a hipótese de nulidade, ou seja, estatisticamente ao nível de 1% de probabilidade, as médias diferem entre si. Sugere-se que durante o processo de fotodegradação por UV pode ocorrer a formação de subprodutos gasosos como CO, CO₂, e o ozônio, e sua evaporação/saída da molécula, faz com que ocorra a perda de massa do espécime, esse fato também pode justificar o uso do sistema de exaustão na câmara de irradiação, pois a concentração destes gases pode ser retirada do sistema para evitar suas interferências.

Na Tabela 4 é possível observar pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, que existe diferença significativa entre o PET 0h, sem a irradiação UV, em comparação com as amostras dos tratamentos com a irradiação UV nos períodos de 24h, 48h, 96h, entretanto, as médias entre os períodos de irradiação (24h, 48h, 96h) não diferem estatisticamente ao mesmo nível, isso pode ser explicado pois o nível/grau de degradação que o polímero atinge não apresenta uma relação linear entre o tempo de exposição e a intensidade das mudanças ocorridas (ILIŠKOVIĆ e BRAVA, 1986).

O mesmo comportamento é observado com os corpos de prova Tipo 1, recortados conforma a norma americana ASTM D638-10 (ASTM, 2010) submetidos ao ensaio de tração mecânica, que foram pesados previamente, na Tabela 5 é possível observar as médias deste tratamento, a análise de variância e o teste Tukey.

Conforme a Tabela 5, para o ensaio com os corpos de prova Tipo 1 da ASTM D638-10, a média do PET 0h de irradiação foi de 0,89 g, enquanto para os outros períodos de irradiação essa média esteve em 0,84g, (PET 24h e PET 46h) ou 0,83g para ensaio 96h, isso indica aproximadamente 0,05g de redução de massa do corpo de prova.

Tabela 5: ANOVA e teste Tukey para os dados corpos de prova Tipo 1 (ASTM D638-10), para 0h de irradiação, 24, 48 e 96 horas de irradiação.

Análise – Massa (g) PET corpo de prova Tipo 1									
FV	GL	SQ	QM	F	F-crit	GL	GLR	p	
Tratamentos	3	0,04617	0,01539	4,7064 **	4,0515	3	76	0,0045	
Resíduos	76	0,24852	0,00327						
Total	79	0,29469							
** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ns não significativo ($p \geq 0,05$)									
Normalidade dos dados (alfa = 5%)				Médias do tratamento					
Teste (Estatística)	Valor	p-valor	Normal	0h	0,8965	a		dms	0,04755
				24h	0,8438	b			
Shapiro-Wilk (W)	0,97069	0,06277	Sim	48h	0,8408	b		CV%	6,69
				96h	0,8390	b			
FV: Fonte de variação; GL: Graus de liberdade; SQ: Soma de quadrado; QM: Quadrado médio; F: Estatística do teste F; MG: Média geral; CV%: Coeficiente de variação em %; DMS: Diferença mínima significativa;				As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade;					

Observa-se que independentemente do tamanho do corpo de prova, sob as condições desse experimento, foi confirmado que as reações ocasionadas pela formação de compostos gasosos e voláteis ocorrem com a cisão/reticulação de ligações químicas do PET submetido a irradiação UV, que causam, como efeito uma pequena perda de massa (g) do polímero.

Com o intuito de verificar se após o período de irradiação UV as amostras apresentavam continuidade no processo de fotodegradação e perda de massa dos polímeros irradiados, um grupo de amostras contendo 5 repetições para cada fase de irradiação (24h, 48h e 96h) foi monitorado durante 30 dias.

Imediatamente após findar o período de irradiação, os mesmos tiveram sua massa (g) aferida e, posteriormente, foram armazenados no escuro, então, foram pesados em intervalos de tempo diferentes, inicialmente diariamente a cada 24 horas (4 vezes), posteriormente com 48h de intervalo (4 vezes) até 96 horas (4 vezes) para verificar se ocorreriam oscilações que viessem a influenciar as análises posteriores.

Como resultado constatou-se que a variação da massa das amostras nos grupos analisados foi muito pequena, as médias dos grupos de repetições para o PET 24h foram de 0,1232g, com um desvio padrão de $\pm 0,0054$, para o PET 48h a média dos cinco grupos foi de 0,11903g, com um desvio padrão de $\pm 0,006$, e a média dos grupos de 96h foi de 0,1191g com um desvio padrão de $\pm 0,006$.

No gráfico 4 é possível observar a distribuição dos dados em relação as aferições realizadas nos períodos pré-determinados, com o ajuste do gráfico por meio de uma regressão linear e seus respectivos coeficiente de determinação, este dado indica quanto uma medida da proporção da variabilidade em uma variável que é explicada pela variabilidade da outra, assim, quanto maior o R^2 (mais próximo a 1), mais explicativo é o modelo utilizado, nesse sentido, o valor obtido de cerca de média 11%, indica que é muito fraca a relação entre as variações da massa do polímero que podem ser explicadas pelas datas de amostragem.

A ausência de variação entre os períodos de irradiação é um indicativo de que o processo de fotodegradação cessa ao findar o período de exposição a luz UV.

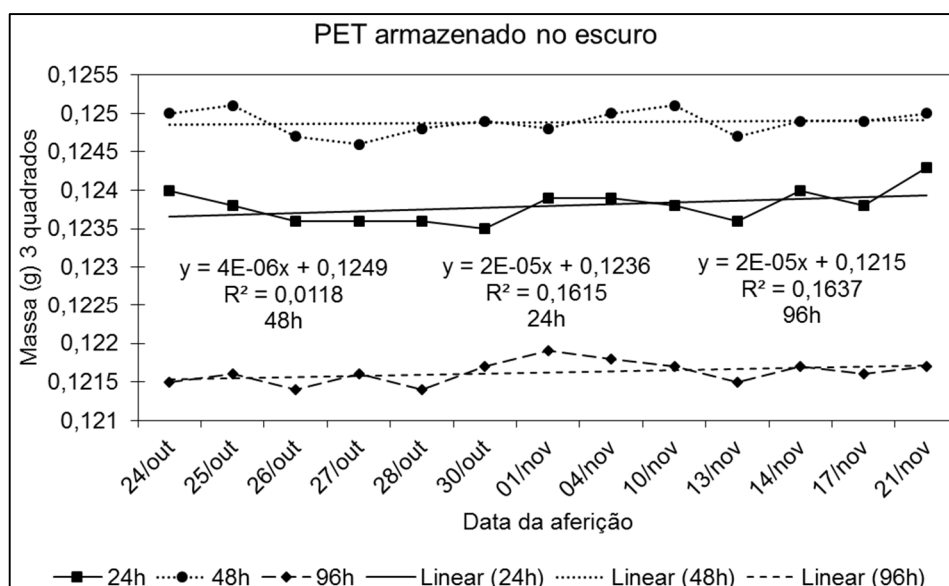


Gráfico 4 – Distribuição das massas das amostras de PET 24h, 48h e 96h armazenadas no escuro nos períodos de tempo.

Posteriormente foi aplicada a análise de variância (ANOVA), por meio da qual constatou-se que as médias são estatisticamente iguais, ou seja, não houve efeito no tratamento com os diferentes períodos de irradiação na alteração das massas dos grupos de amostras, pelo teste Tukey, as médias também não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade. Este é mais um indicativo de que após a retirada dos espécimes do contato com a radiação UV o processo de fotodegradação é estabilizado e as modificações de sua massa (g) cessam.

Acerca das condições microscópicas do polímero, como observado nas microfotografias da Figura 29, estes apresentam pequenas e superficiais falhas que podem ser provenientes de seu processo produtivo, e/ou das fases de armazenamento e transporte até o acondicionamento na indústria, em virtude do atrito

entre as garrafas, com poeiras e materiais particulados do ambiente, as amostras apresentaram falhas como microfissuras, além de protuberâncias de caráter intrínseco do processo de fabricação, e ranhuras originadas de seu manuseio.

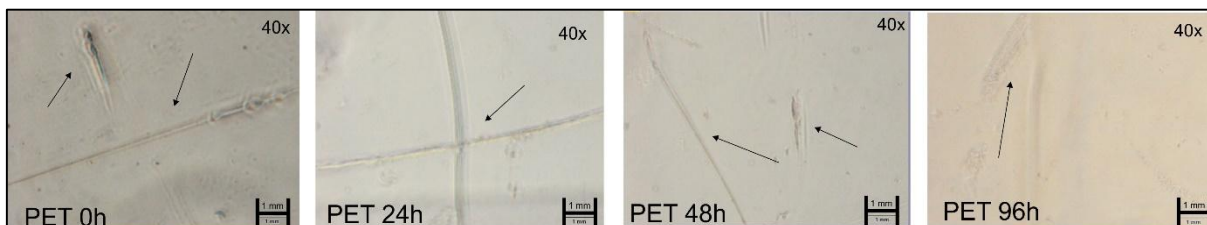


Figura 29 - Fotomicrografias do PET, em seus distintos períodos de irradiação UV, obtida por microscopia óptica com ampliação de 40x.

Nas micrografias é possível fazer uma análise exploratória da superfície do material, por meio da qual, pode-se observar os possíveis pontos de uma provável facilitação do processo de biodegradação, por meio das falhas é possível que a penetração da hifa na matriz polimérica, seja facilitada, e com a secreção de enzimas e adsorção de nutrientes, e ainda será possível observar as incrustações, e a evolução das falhas com o processo biológico de degradação.

Para avaliar se o nível de modificação que a irradiação UV ocasiona nas amostras de PET além da alteração de características macroscópicas como as mudanças na coloração aparente, é preciso investigar se esse processo altera as características intrínsecas do polímero, para tanto complementa-se a discussão com as análises de TG/DTG, DSC, FTIR e tração mecânica.

5.2.1 Análise de Calorimetria Exploratória Diferencial;

Considera-se que em um polímero amorfo as moléculas são entrelaçadas de forma aleatória. Em um polímero cristalino as moléculas estão organizadas em estruturas dobradas e embaladas em conjunto. Os polímeros semicristalinos, como o PET são constituídos de ambas as regiões amorfas e cristalinas.

Essa organização da estrutura polimérica influencia no grau de cristalinidade, quanto mais amorfa a estrutura, menor o grau de cristalinidade do polímero, essa relação é importante, pois quanto menor a cristalinidade de um polímero mais favorecido é o processo de biodegradação, visto que a estrutura amorfa permite uma

maior difusão do oxigênio, bem como facilita o acesso dos microrganismos a extração dos nutrientes (BRANDALISE, 2008).

As curvas apresentadas no Gráfico 5 e no Gráfico 6, constituem-se nas DSC das amostras de PET, nos diferentes períodos de irradiação, é possível observar no Gráfico 5 a ocorrência de uma oscilação em torno de 112°C, esse ponto pode ser atribuído a uma possível transição vítrea no material.

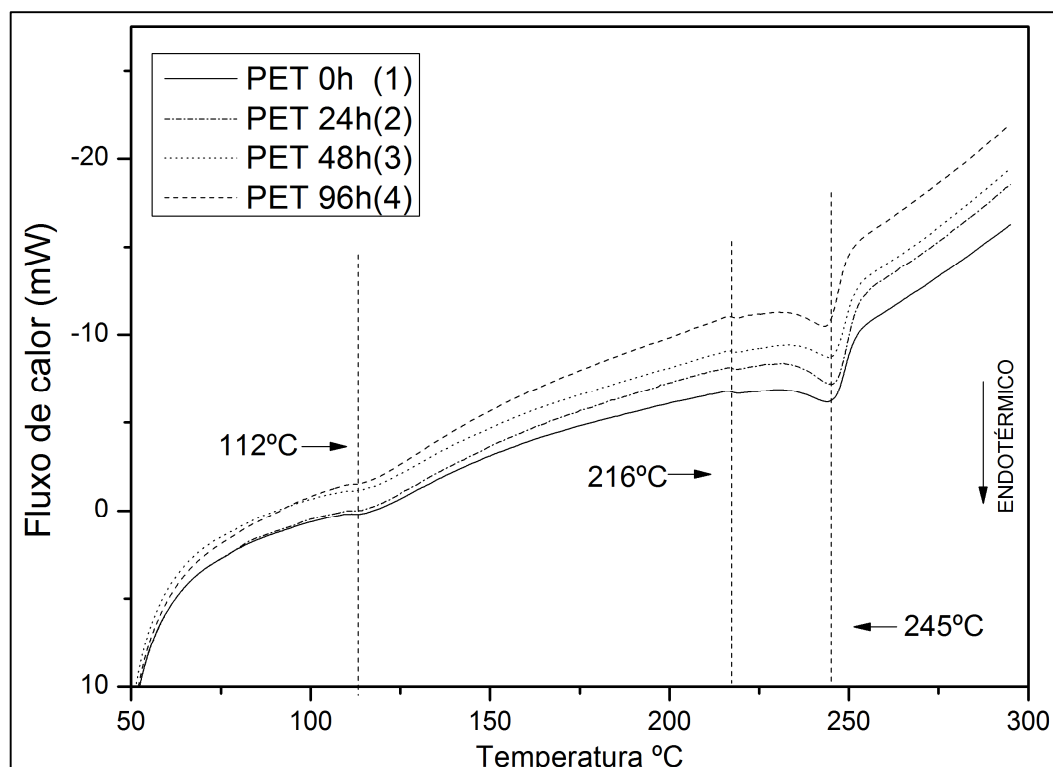


Gráfico 5 – Termograma de DSC para as amostras de PET nos diferentes níveis de irradiação UV.

No gráfico 6, é possível verificar a ampliação do sinal (pico) de absorção de calor (T_f °C) próximo a 245 °C que representa a fusão do polímero. O sinal mais intenso é verificado no PET com 96h de irradiação, em 247°C, os deslocamentos do pico de fusão entre os tratamentos, provavelmente seja atribuído à mudanças na estrutura das amostras em virtude da irradiação UV, assim como a pequena redução do ponto de fusão do PET24h em relação ao PET0h. Ainda, no gráfico 5 é possível observar uma pequena pré-cristalização que ocorre aproximadamente em 216°C.

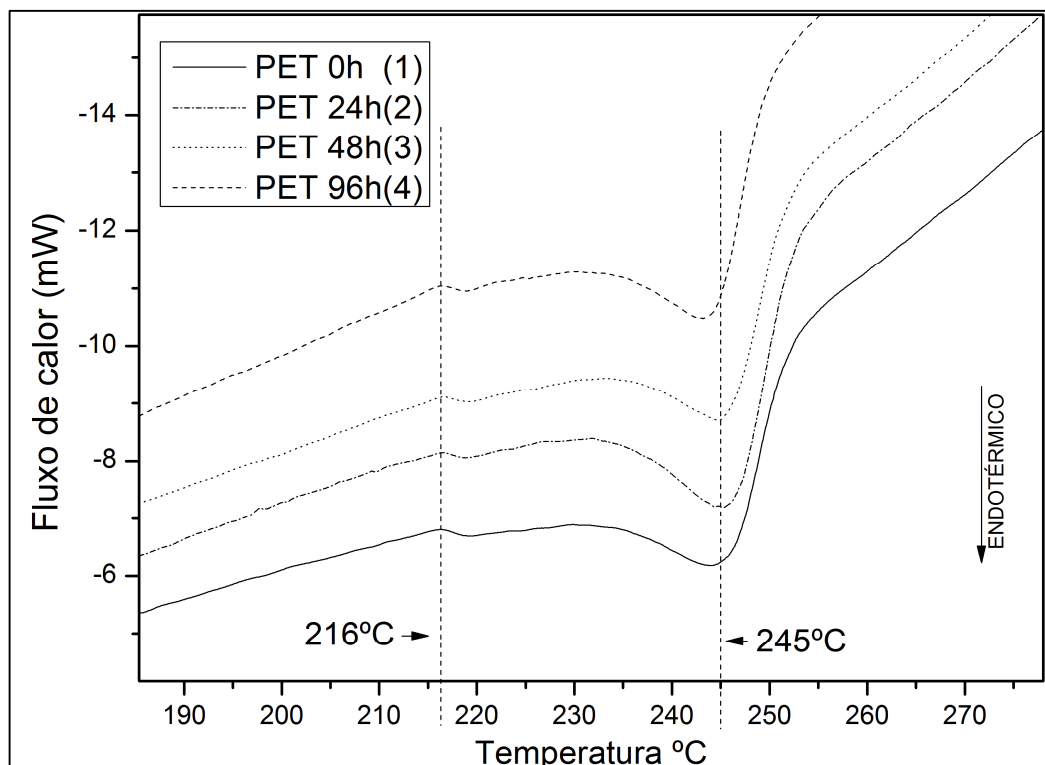


Gráfico 6 – Termograma de DSC para os materiais PET 0h de irradiação UV, PET 24h, 48h e 96h de Irradiação UV.

Por meio das curvas de TG, pode-se acompanhar a evolução da perda de massa em relação ao aumento da temperatura, essas informações subsidiam a investigação sobre a estabilidade térmica do PET, em relação aos níveis de degradação pela irradiação UV.

No Gráfico 7 são observadas as curvas para a termogravimetria dos diferentes tratamentos com irradiação UV.

Na parte superior enfatizada na TG – Gráfico 8, tendo como base o PET 0h, é possível observar que este apresentou uma curva mais estável, no sentido de que suporta uma temperatura maior, em relação às outras amostras, até iniciar o processo de degradação. As amostras de PET24h, 48h e 96h estiveram bem próximas, umas das outras. O ponto de intersecção entre as amostras irradiadas e o PET 0h estiveram para o PET 24h e 48h em torno de 377°C, já para o PET 96h apresentou intersecção com o PET0h em 381°C, cerca de 4°C superior.

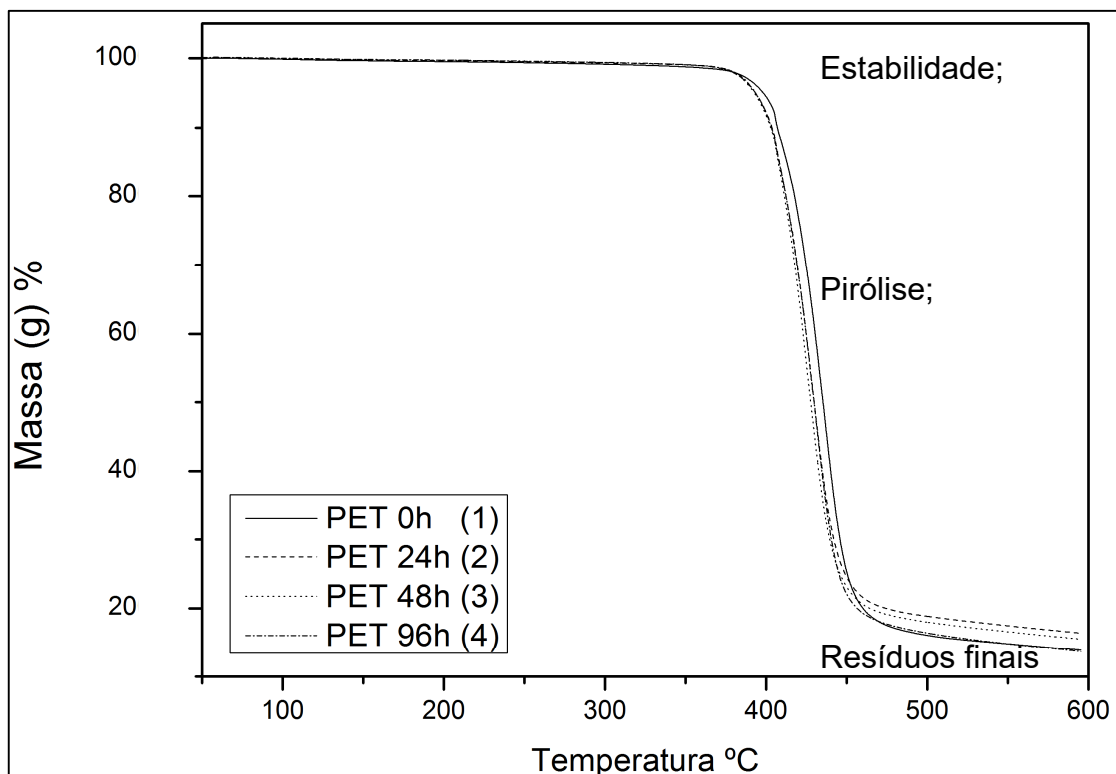


Gráfico 7 – Curvas Termogravimétricas para o PET em diferentes períodos de irradiação UV (0h, 24h, 48h e 96h).

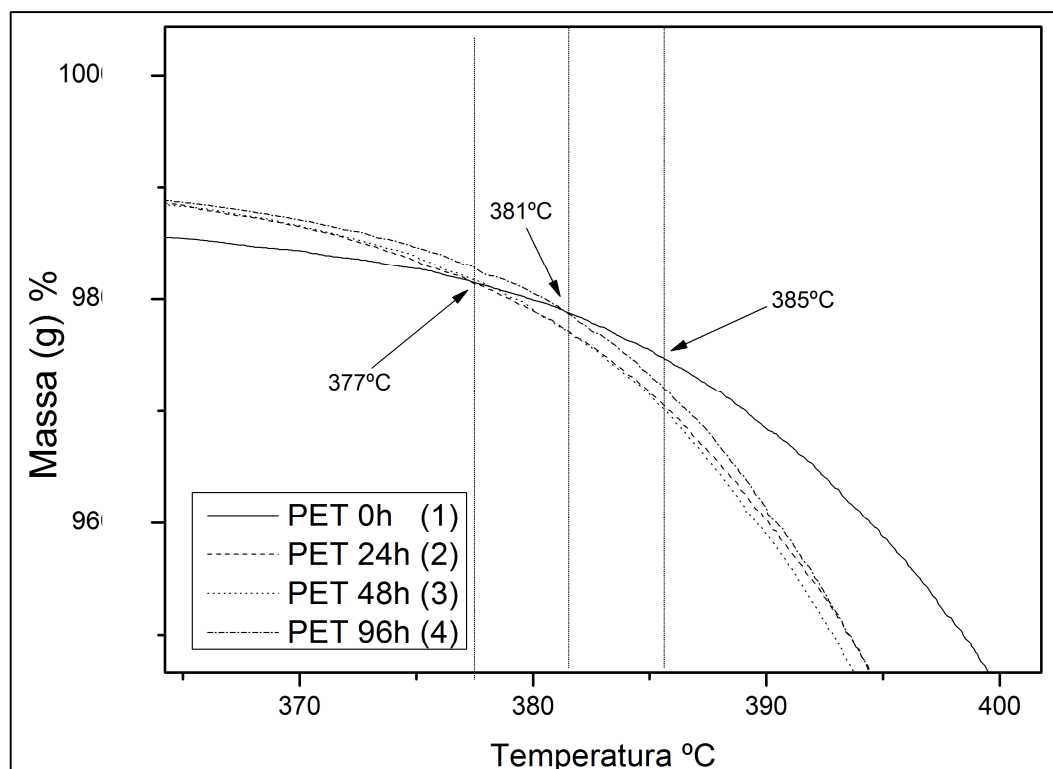


Gráfico 8 – Ênfase na parte superior da TG das amostras de PET.

O PET0h com maior estabilidade se destaca em relação as curvas dos outros tratamentos pois obtém aproximadamente 400°C para o declive de degradação na etapa de pirólise.

O Gráfico 9 enfatiza a parte inferior da curva de TG, onde é possível observar a etapa de combustão e formação dos resíduos finais, as temperaturas de interseção dos polímeros no momento em se iniciam esses processos para o PET24h é de 452°C, menor valor, para o PET48h é de 456°C, e para o PET96h é de 469°C, o PET0h atinge 490°C no maior percentual de perda de massa em porcentagem, em relação aos outros tratamentos.

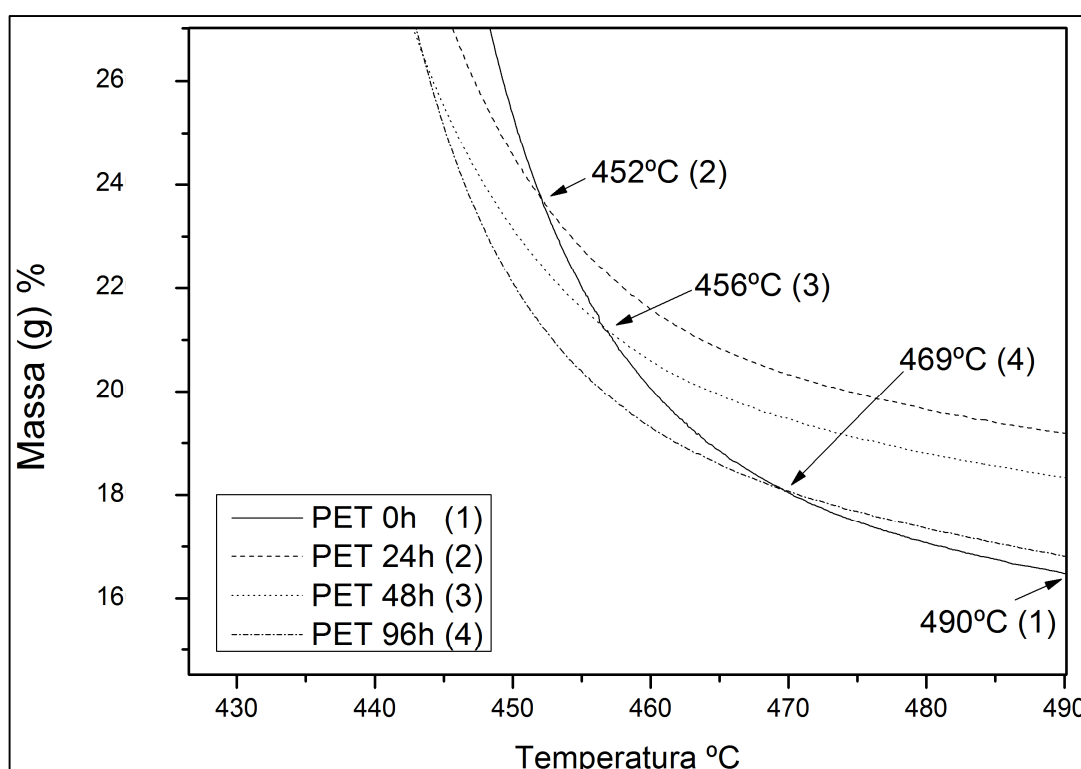


Gráfico 9 – Ampliação das curvas termogravimétricas para o PET 0h, 24h, 48h, e 96h de irradiação, com ênfase na faixa de 430°C até 490°C.

O fato do PET0h apresentar maior estabilidade pode ser atribuído a suas extensas ligações químicas e forças intermoleculares, que podem conferir maior estabilidade a amostra. Já as amostras irradiadas, presume-se que estas estejam em grau de degradação, com a cisão das ligações e reticulação, além da formação de grupos radicais carboxílicos, que podem deixá-las mais fragilizadas.

Pode-se observar na primeira derivada da TG a DTG – Gráfico 10, que as curvas enfatizam o comportamento de cada amostra relacionadas ao intervalo de decomposição e variação de intensidade de pico. Inicialmente, as massas das

diferentes amostras de PET mantem-se constantes, e quando atinge-se uma determinada temperatura, em torno de 375°C, ocorre a formação de um pico acentuado que corresponde à degradação da massa das amostras, até seu ponto máximo de estabilidade, considera-se a partir dos gráficos, evidente a confirmação das mudanças estruturais das amostras de PET0h em relação ao PET das diferentes faixas de irradiação.

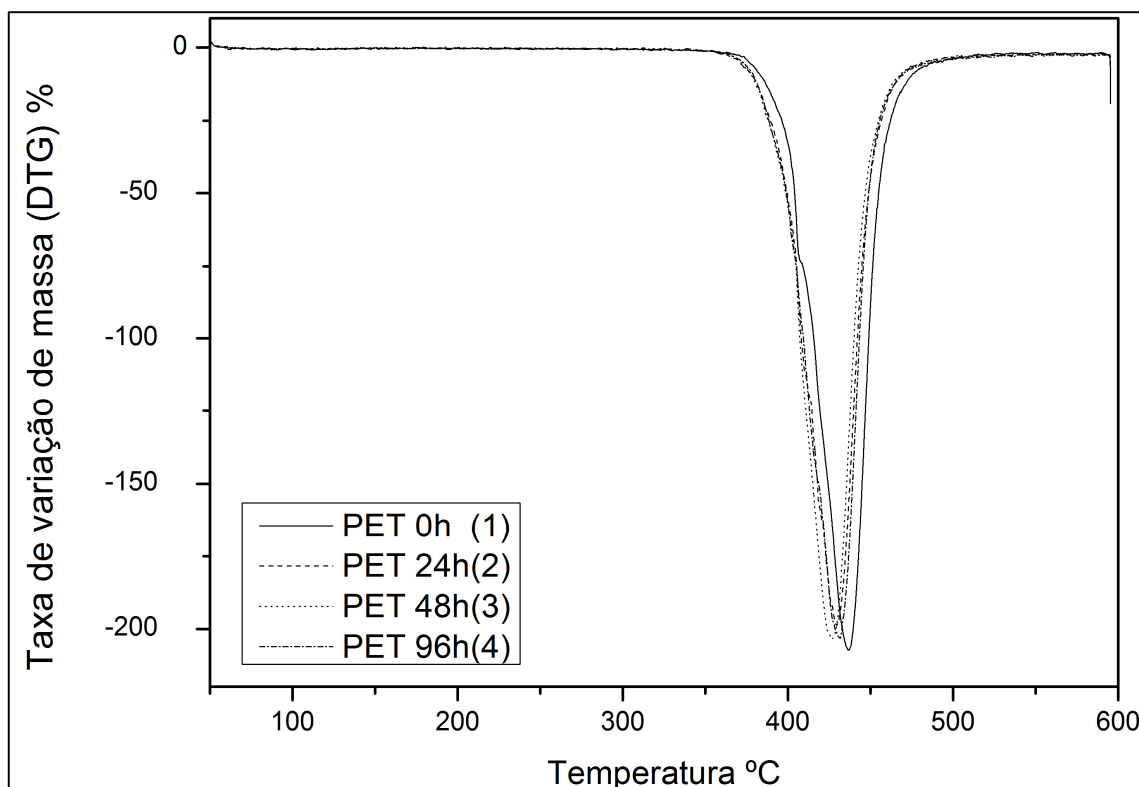


Gráfico 10 – Curva Termogravimétrica Derivada (DTG) para as amostras de PET 0h, 24h, 48h e 96h de irradiação UV.

Ao observar o final dos picos de degradação – Gráfico 11, constatou-se que o PET 0h apresentou pico final de degradação em 437°C, o maior evidenciado entre as amostras, ainda o PET 96h atinge 431,7°C, posteriormente o PET 24h com 429°C, e o PET 48h com fim do pico em 426°C. Isso reforça o fato de que a irradiação UV pode alterar as propriedades térmicas do PET.

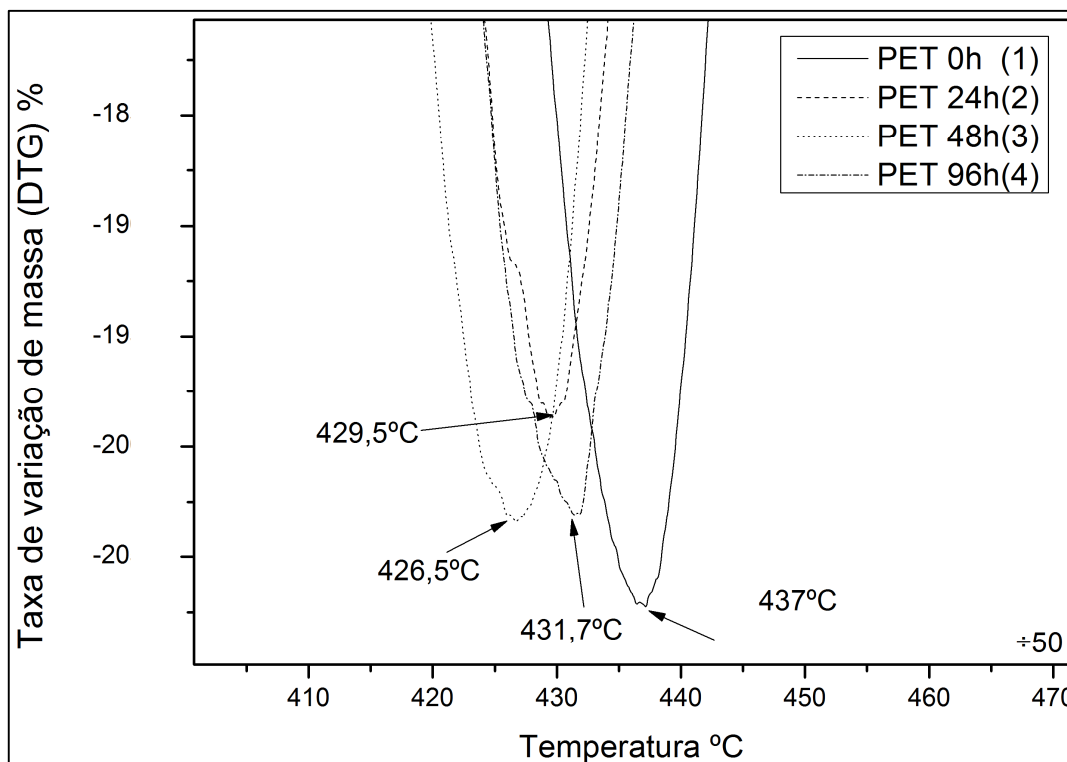


Gráfico 11 – Ênfase na parte inferior da curva DTG das amostras de PET irradiadas e não irradiadas.

No gráfico 12 é possível observar a variação da temperatura de fusão e do grau de cristalinidade das amostras nos diferentes períodos de irradiação UV, observa-se que para o período de 24h, o grau de cristalinidade reduz, enquanto a temperatura de fusão aumenta, o inverso ocorre em relação a 48h de irradiação UV nas amostras, pois o grau de cristalinidade nesse caso aumenta e a temperatura de fusão diminui, para o PET 96h, verifica-se que os valores de cristalinidade e ponto de fusão são superiores aos demais períodos. Essa variação pode ser explicada pelas alterações estruturais da molécula de PET, como as cisões e reticulações que afetam a estrutura em virtude da irradiação UV.

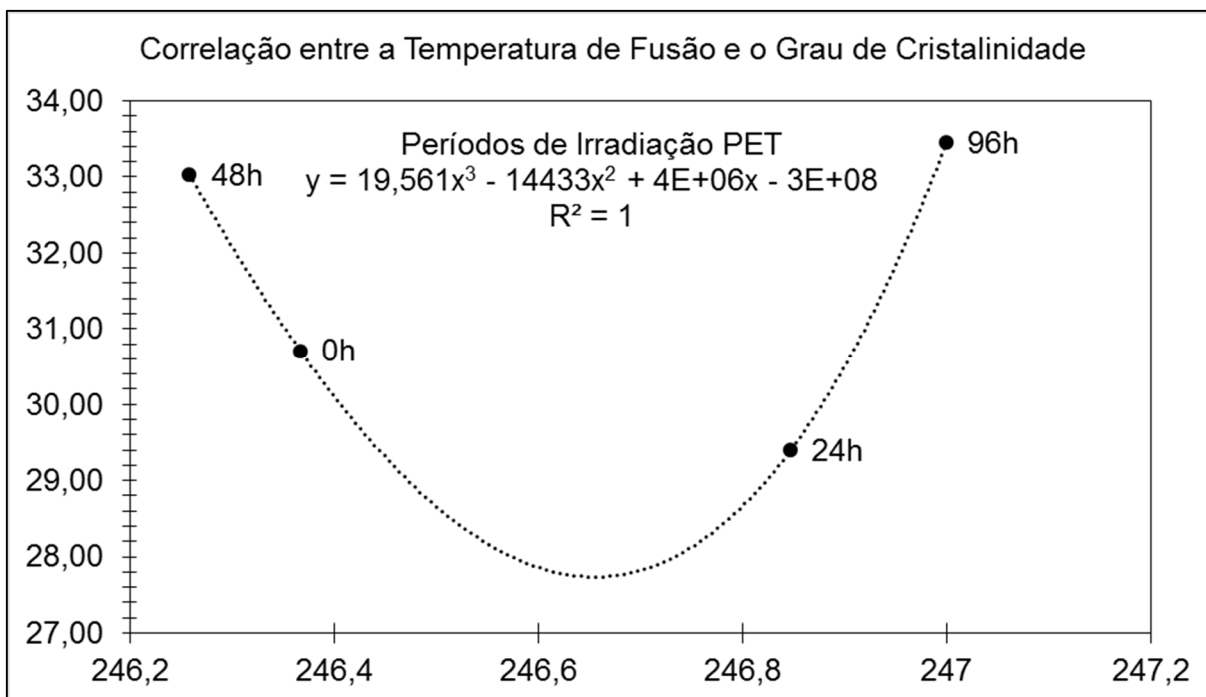


Gráfico 12 – Correlação entre a temperatura de fusão e o grau de cristalinidade nas amostras de PET.

As médias da temperatura de fusão foram submetidas a análise de variância, e os resultados consideraram que as médias não são diferentes estatisticamente ao nível de 5% de significância, os valores de entalpia de fusão, porém, apresentam o mesmo resultado registrado para o grau de cristalinidade, em virtude dos parâmetros serem proporcionais.

Na Tabela 5 são apresentados os dados da análise de variância (ANOVA) planejada em um delineamento inteiramente casualizado, e o teste de comparações múltiplas de Tukey ao nível de 95% de significância, para o parâmetro grau de cristalinidade ($\alpha_c(\%)$), obtido a partir dos termogramas de DSC realizados em triplicata.

Para o cálculo do grau de cristalinidade adotou-se para o PET 100% cristalino uma entalpia de fusão (ΔH_f ($J.g^{-1}$), de $120 J.g^{-1}$ (ROMÃO, 2009).

Observa-se que a entalpia de fusão é um valor proporcional ao grau de cristalinidade, portanto a análise de variância é igual para os dados da entalpia de fusão e grau de cristalinidade.

Ao analisar o valor de F da análise de variância – Tabela 6, constata-se que as médias dos tratamentos são diferentes ao nível de 1% de probabilidade. Com o teste Tukey constata-se que o PET24h e o PET 96h apresentaram diferenças significativas no grau de cristalinidade, assim pelo indicativo dos valores o PET 24h possui grau de cristalinidade inferior ao PET 96h, tendo efeito o tratamento aplicado por UV, ainda

não houve diferença entre os grupos PET0h, PET 24h e PET 48h, e entre os grupos PET 0h, 48h e 96h.

Tabela 6 - ANOVA e Teste Tukey para os dados do grau de cristalinidade (α_c) do PET 0h, 24h, 38h e 96h na caracterização inicial.

Análise – Grau de cristalinidade (%) do PET									
FV	GL	SQ	QM	F	F-crit	GL	GLR	p	
Tratamentos	3	95,68	31,895	5,321 **	4,9382	3	20	0,0073	
Resíduos	20	119,88	5,994						
Total	23	215,56							
** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ns não significativo ($p \geq 0,05$)									
Normalidade dos dados (alfa = 5%)				Médias do tratamento					
Teste (Estatística)	Valor	p-valor	Normal	0h	30,17492	ab		dms	3,9580
				24h	29,02307	b			
Shapiro-Wilk (W)	0,9585	0,41019	Sim	48h	32,79885	ab		CV%	7,77
				96h	34,02386	a			
FV: Fonte de variação; GL: Graus de liberdade; SQ: Soma de quadrado; QM: Quadrado médio; F: Estatística do teste F; MG: Média geral; CV%: Coeficiente de variação em %; DMS: Diferença mínima significativa;				As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade;					

A amostra PET0h teve um grau de cristalinidade determinado em 30,17%, posteriormente o PET24 apresentou menor cristalinidade (29,02%) essa tendência a redução no grau de cristalinidade nesse primeiro período de irradiação pode ser explicada devido as alterações que a irradiação UV provoca como a formação de grupos residuais como o etileno-glicol ($\text{CH}_2\text{-CH}_2$), resíduo que fornece a possibilidade de existência de dois isômeros de rotação, *trans* e *cis*. A parte cristalina consiste na forma *trans* e, a parte amorfa contém ambas as formas (*trans* e *cis*) de resíduo de etileno-glicol. O PET tem a capacidade de se cristalizar, formando estruturas embaladas e com alto grau de organização geométrica, ainda, a estrutura geométrica das moléculas com a irradiação UV, uma fonte de energia, pode causar a transição de uma forma *cis* para a forma *trans*, resultando num aumento da parte cristalina (ILIŠKOVIĆ e BRAVA, 1986). Esse fato é verificado nas amostras de 48h de irradiação e 96h, que apresentaram respectivos graus de cristalinidade em 32,79% e 34,02%, maiores do que o PET 0h.

Outra possível consideração para explicar a redução da cristalinidade no período inicial de 24h é a formação de uma fina camada foto-oxidada na superfície do polímero, que pode agir como uma barreira à absorção da luz, nesse primeiro momento, assim a fotodegradação do PET pode ocorrer inicialmente essencialmente

na superfície da amostra (VICHESSI e RUVOLO FILHO, 2008). Presume-se que a fotodegradação provocada por radiação UV possa ocorrer, principalmente, nas regiões não-cristalinas, com a degradação da fase amorfa do sistema. Inicialmente PET24h pode formar/ocasionar grupos terminais carboxílicos, e cisão das cadeias, mais efetivamente, e em 48h e 96h, ocorra a reticulação das cadeias poliméricas e ocasione o aumento da cristalinidade do polímero.

Podem ocorrer ainda a competição de dois tipos de degradação, a fotólise e a foto-oxidação, ou até mesmo da ocorrência simultâneo destes, com a reticulação/cisão das cadeias, e posteriormente uma estabilização nos processos fotodegradativos, sempre ocorrendo a destruição em partes amorfas e cristalinas. O fato de não existir uma relação linear entre o tempo de irradiação e as mudanças ocorridas nas propriedades do PET exposto à luz UV é pertinente para justificar as oscilações dos valores amostrados no grau de cristalinidade, na entalpia de fusão e na temperatura de fusão da amostra (ILIŠKOVIĆ *et al.*, 1986).

Outros estudos já relataram que a irradiação UV altera outras propriedades dos polímeros como o polietileno de baixa densidade (PEBD) (KARLSSON, LJUNGQUIST e ALBERTSSON, 1987), o poliestireno (YOUSIF e HADDAD, 2013), ou ainda, como no caso do PET em um estudo sobre as alterações em propriedades elétricas (ILIŠKOVIĆ e BRAVA, 1986).

5.2.2 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier.

A FTIR foi realizada de forma acoplada ao equipamento utilizado para a análise da TG/DSC, a partir dos gases liberados pela amostra, obteve-se o espectro. A amostra de aproximadamente 6,0 mg, adicionada ao equipamento TG/DSC, em porta amostras de platina aberto, variou de 50°C a 600°C, com uma taxa de aquecimento (β) de 10°C.min⁻¹ e atmosfera de nitrogênio com fluxo de 20 mL.min⁻¹.

Na figura 30 é possível observar o espectro de FTIR para o PET0h e para uma das suas fases de irradiação UV, o PET 96h.

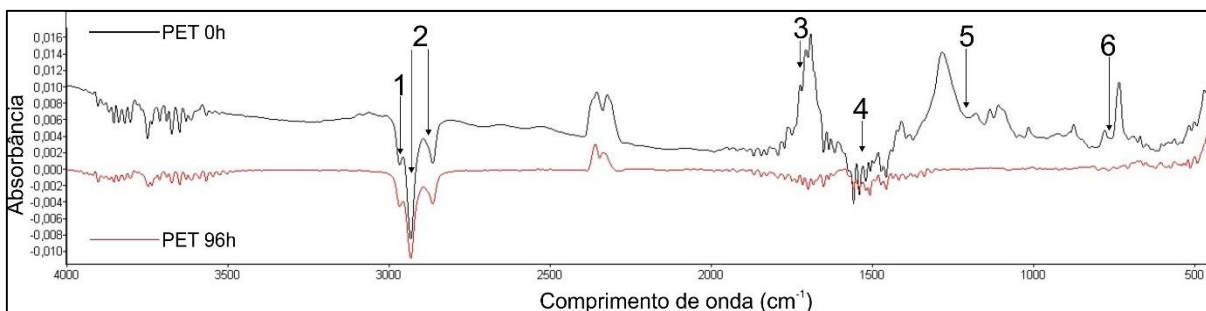


Figura 30 – Espectro de FTIR para as amostras de PET0h e PET 96h.

Os picos identificados no espectro podem ser atribuídos conforme a literatura para as bandas apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7 – Identificação das bandas de absorção do PET, e os respectivos comprimentos de onda.

	Bandas	Número de Onda (cm⁻¹)
1	Estiramento C-H aromático	2995 – 3030 - 3100
2	Estiramento C-H alifático	2960 - 2892
3	Estiramento C=O éster	1725
4	Estiramento C=C anel aromático	1575 – 1504 - 1446
5	Estiramento C (C=O)-O éster	1260
6	Deformação (C=C)-H fora do plano	728

Fonte: Adaptado de Oliveira, 2000.

Considera-se que a diminuição relativa de intensidade dos picos de absorção em 2960 e 2890 cm⁻¹, possa ser atribuída ao –CH₂– da cadeia molecular do PET, essa diminuição ocorre provavelmente devido ao rompimento/cisão da cadeia polimérica ou ainda, devido as reações que podem ocorrer entre o PET com o oxigênio atmosférico e/ou o ozônio residual que induzem a formação de grupos carboxílicos, carbonílicos e ainda carboxiterminais.

Pode ser observado o desaparecimento dos picos em 1720 cm⁻¹, relativo ao estiramento da ligação C=O éster, outro indício de rompimento da cadeia polimérica, com a reticulação da molécula, que possivelmente ocasionou a supressão deste pico.

Observa-se também modificações na composição dos picos entre 1575 cm⁻¹, 1504 cm⁻¹, 1446 cm⁻¹, característico do estiramento do anel aromático, esse é o grupo cromóforo, da absorção de irradiação UV e, possivelmente, por isso, apresentou alterações na estrutura, que ocasionaram as cisões das ligações e reticulações, estas também podem ser responsáveis pela supressão e redução significativa nos picos dos comprimentos de onda 1260 cm⁻¹, e 728 cm⁻¹, respectivamente do estiramento C-(C=O)-O éster e da deformação (C=C)-H fora do plano. Considera-se ainda que, na

fotodegradação ocorre a liberação de monóxido de carbono (CO₂) do sistema, fato que conseqüentemente acarreta a perda de massa do polímero.

5.2.3 Ensaio de Tração Mecânica.

O ensaio de tração, pode ser utilizado para avaliar as propriedades mecânicas do polímero, este permite a determinação do módulo de Young, ou módulo de elasticidade, medida que indica o nível de rigidez da amostra, além de indicar a tensão de estiramento que o polímero suporta.

O ensaio de tração mecânica para os espécimes de PET da caracterização inicial foi realizado com 6 repetições diferentes, que podem ser observadas nos gráficos gerados pela curva tensão *versus* deformação na sequência de gráficos do 13 ao 16.

No gráfico 13 é ilustrado a curva de tensão X deformação para o PET 0h, sem irradiação UV, observa-se que a distribuição das curvas entre os graficos é semelhante, e não há grandes variações observadas, o ponto máximo de tensão com a ruptura da amostra se concentra entre 22% e 30% de tensão aplicada.

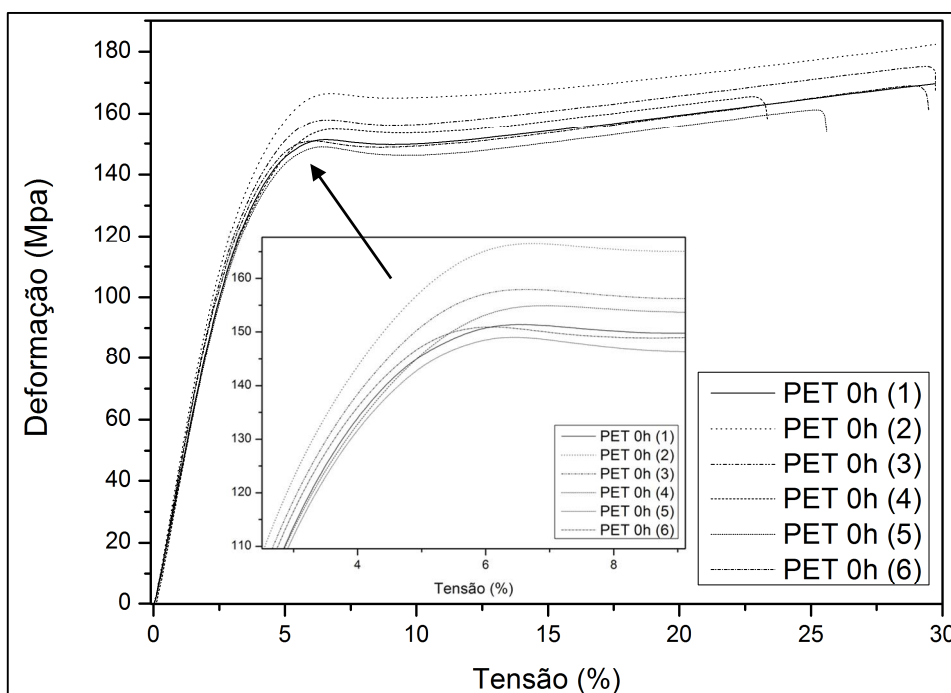


Gráfico 13 – Curvas do ensaio de tração mecânica para o PET0h.

No gráfico 14 são representadas as curvas do ensaio com 24h de irradiação UV, nota-se que existe uma disposição mais desarmônica entre as curvas, com maiores oscilações quando comparadas ao PET 0h, ainda, o ponto de rompimento para alguns espécimes apresentou um intervalo maior do que o PET0h, com uma variação de 28% até o máximo de 40% de tensão aplicada.

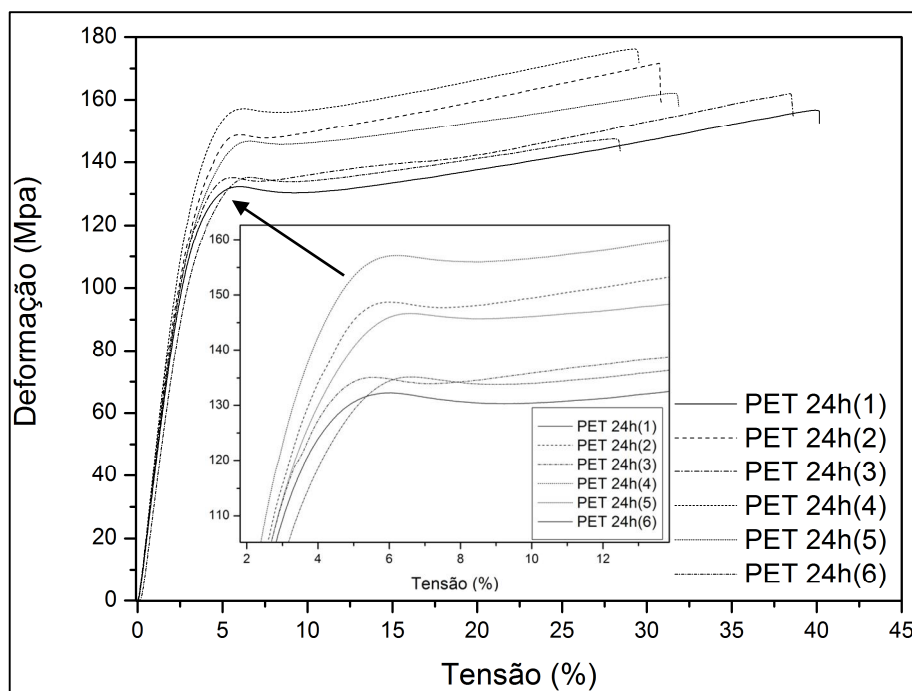


Gráfico 14 – Curvas do ensaio de tração mecânica para o PET 24h de irradiação UV.

São representadas no Gráfico 15 as curvas do ensaio com 48h de irradiação UV, nota-se como no comportamento das curvas de 24h, maiores oscilações em relação as curvas de PET 0h, porém o ponto de rompimento máximo para alguns espécimes variou de 25% a 38% de tensão aplicada, semelhante, porém inferior ao PET 24h.

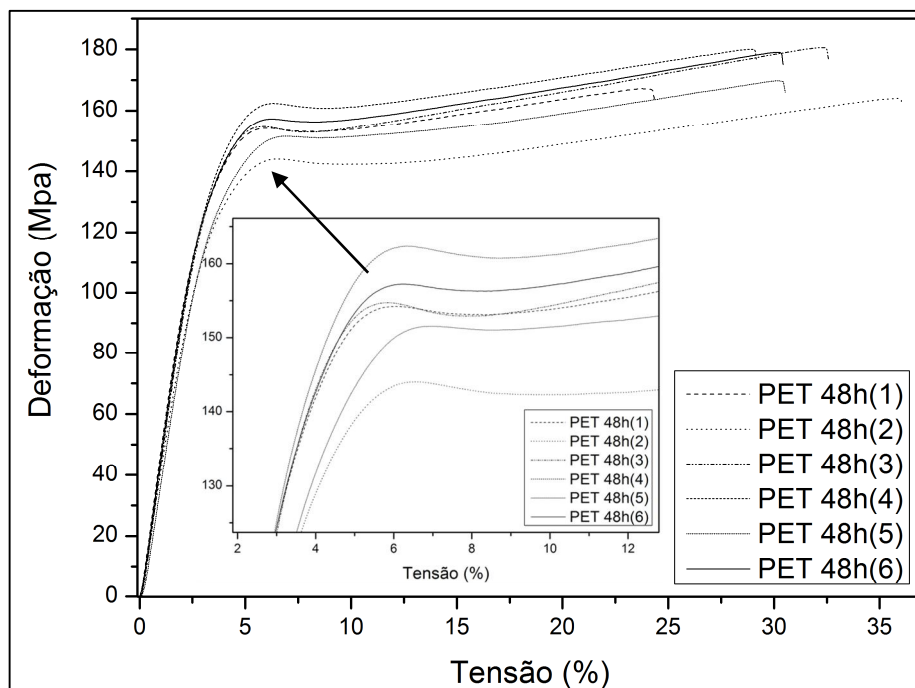


Gráfico 15 - Curvas do ensaio de tração mecânica para o PET 48h de irradiação UV.

No Gráfico 16 constam as curvas do ensaio com 96h de irradiação UV, nota-se um comportamento semelhante ao PET 0h, o ponto de ruptura variou de 15% a 30% de tensão aplicada, semelhante ao PET0h porém inferiores aos demais tratamentos.

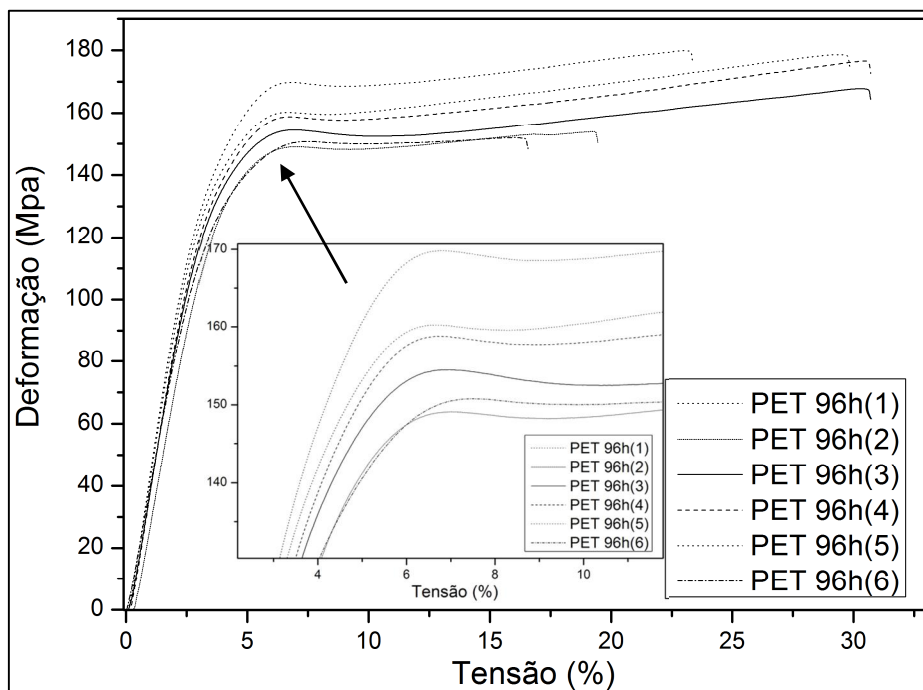


Gráfico 16 - Curvas do ensaio de tração mecânica para o PET 96h de irradiação UV.

A partir dos gráficos de tensão X deformação é possível obter informações como o módulo de Young, ou módulo de elasticidade, que é a medida de rigidez, e a tensão de estiramento medida em MPa.

No gráfico 17 pode-se observar a tensão de estiramento versus o módulo de Young, observa-se que as amostras apresentam padrão semelhante, que sugere um declínio da tensão de estiramento e do módulo de Young para o PET 24h, em relação ao demais tratamentos. Para o PET0h observa-se que inicialmente o módulo de Young é inferior aos tratamentos PET48h e PET96h, logo a tensão de estiramento do PET0h é semelhante ao PET 48h e 96h. Esse comportamento pode influenciar no processo de degradação biológica, especialmente para a amostra PET 24h que é menos rígida, e se rompe em menor tensão. O fato de PET0h apresentar menor rigidez e maior tensão se explica em virtude das propriedades exigidas para seu uso na indústria, logo com a irradiação UV nas amostras evidencia-se que essa relação se modifica, e poderá influenciar o processo de biodegradação.

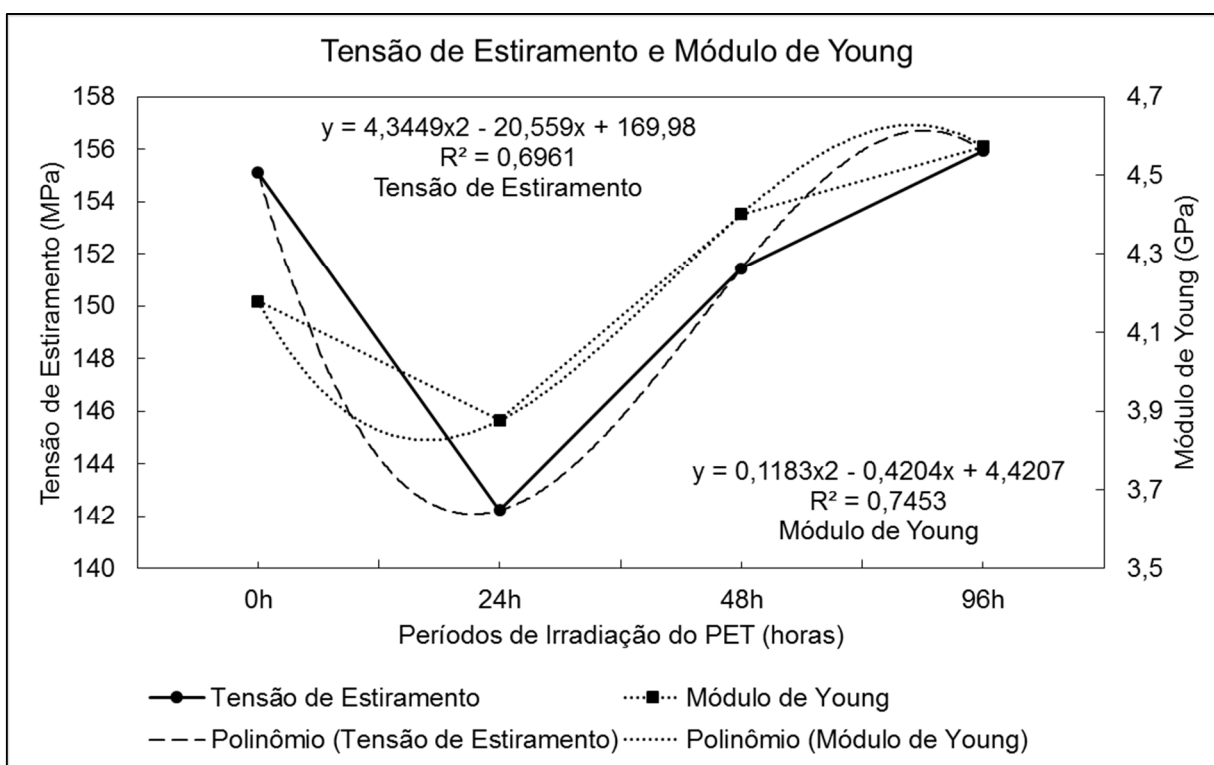


Gráfico 17 - Tensão de estiramento e módulo de Young das amostras de PET

Ainda, conforme o Gráfico 17, é possível traçar um ajuste polinomial de terceira ordem ao gráfico, e seus respectivos coeficiente de determinação, que indicam quanto a medida da proporção da variabilidade em uma variável pode se explicada pela variabilidade da outra, assim, quanto maior o R^2 (mais próximo a 1), mais explicativo

é o modelo utilizado, nesse sentido, o valor de R^2 obtido aproximadamente para os dados da tensão de estiramento e do módulo de Young é cerca de 72%, valor que indica uma forte relação entre as variáveis tensão de estiramento e módulo de Young em relação aos períodos de tempo de irradiação UV nas amostras de PET.

Para a análise dos dados do módulo de Young, constitui-se um delineamento inteiramente casualizado, e foi aplicada a análise de variância e o Teste de Tukey ao nível de 95% e 99% de confiança, os resultados são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 – ANOVA e Teste Tukey para a variável módulo de Young - Caracterização inicial. Análise – Módulo de Young PET 0h, 24h, 48h, 96h

FV	GL	SQ	QM	F	F-crit	GL	GLR	p
Tratamentos	3	1,63015	0,54338	9,0129 **	4,9382	3	20	0,0005
Resíduos	20	1,20579	0,06029					
Total	23	2,83594						

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ns não significativo ($p \geq 0,05$)

Normalidade dos dados (alfa = 5%)				Médias do tratamento					
Teste (Estatística)	Valor	p-valor	Normal	0h	24h	48h	96h	dms	CV%
Shapiro-Wilk (W)	0,9753	0,79674	Sim	4,1774	3,8767	4,4008	4,5733	ab	5,77

FV: Fonte de variação; GL: Graus de liberdade; SQ: Soma de quadrado; QM: Quadrado médio; F: Estatística do teste F; MG: Média geral; CV%: Coeficiente de variação em %; DMS: Diferença mínima significativa;

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade;

Conforme o valor de F da análise de variância sugere-se que as médias dos tratamentos são estatisticamente diferentes ao nível de 1% de probabilidade. Com o teste Tukey constata-se que o PET24h apresenta diferença para o módulo de elasticidade em relação aos demais tratamentos, exceto em comparação com o PET0h, este apresentou o menor valor 3,87 GPa, enquanto os outros tratamentos apresentaram-se superiores a 4 GPa, tendo efeito o tratamento aplicado por luz UV, ainda, não houve diferença entre as médias do PET0h, PET 48h e PET 96h.

O PET0 apresentou um módulo de elasticidade de 4,17 GPa, posteriormente os períodos de irradiação, constatou-se que o PET24h teve seu valor reduzido para 3,87 GPa, o menor índice entre as amostras, esse resultado é condizente com os dados da DSC, pois pressupõe-se que nesse período ocorreu uma maior cisão das ligações da amostra pela radiação UV, com a formação de grupos terminais

carboxílicos e que influencia a amostra através da maior desorganização das moléculas, até a formação da película foto-oxidada. A fase amorfa (desorganizada) possuem uma menor organização molecular, com menores forças entre as ligações atômicas, conseqüentemente menor rigidez.

A correlação entre as variáveis Tensão de estiramento e elasticidade pode ser observado no gráfico 18. Observa-se que o PET24h apresenta menor valor par o módulo de Young e menor tensão de estiramento, o PET48h é intermediário em relação a tensão de estiramento, assim como o PET 0h e 96h apresentaram valores de tensão de estiramento semelhantes. No entanto, o PET 96h apresentou maior módulo de Young, ou seja, a amostra esteve mais rígida.

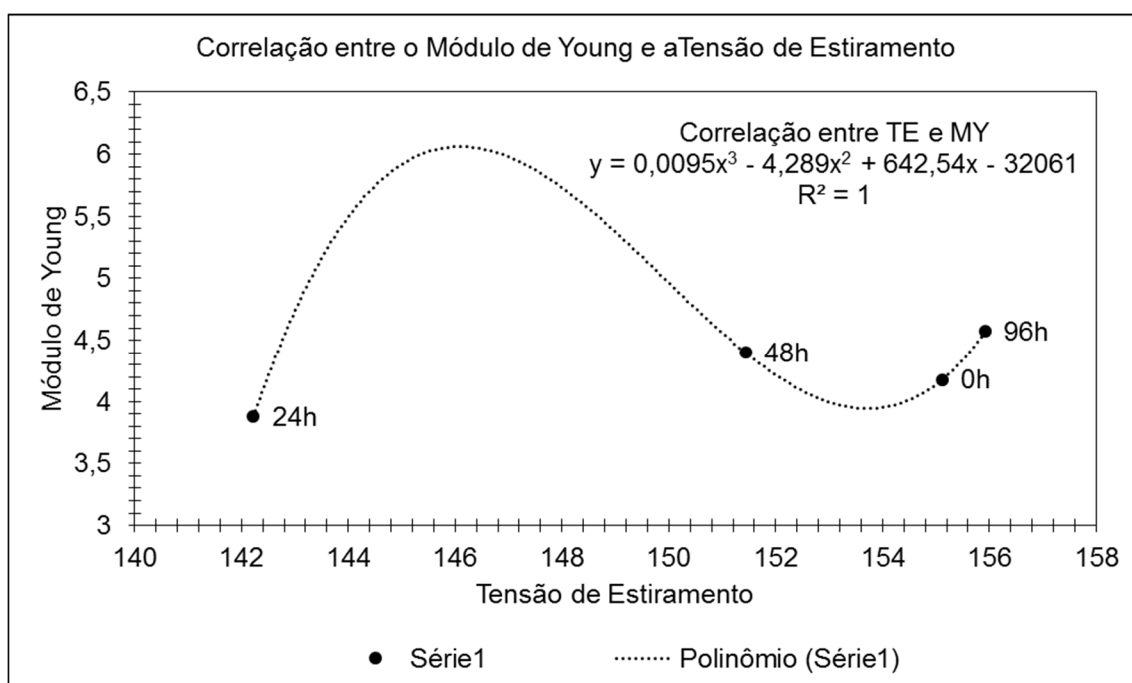


Gráfico 18 – Correlação entre os dados do Módulo de Young e a Tensão de Estiramento.

Nos polímeros semicristalinos as interações intermoleculares da fase cristalina fazem com estes sejam mais rígidos e resistentes, e apresentam um maior módulo de elasticidade, nesse sentido, indica-se que houve a reticulação das cadeias poliméricas, e os índices posteriores do PET48h e PET96h aumentaram em índices de 4,40 GPa e 4,57 GPa. Considera-se que com o aumento da irradiação UV a amostra tornou-se mais cristalina e em conseqüências mais rígida. Esse fato pressupõe e confirma que a irradiação altera significativamente as propriedades mecânicas do PET.

O comportamento das amostras, foi identificado em estudos preliminares (KOSCHEVIC, *et al.*, 2012), o ensaio reafirma as prováveis mudanças estruturais no PET provenientes da radiação UV, como as cisões e/ou reticulações entre cadeias poliméricas, ou ainda formação de ligações na estrutura molecular com modificação de grupos funcionais e destruição de parte da estrutura cristalina e amorfa das amostras, além de foto-oxidações com a formação de grupos carboxílicos.

Considera-se que a irradiação ultravioleta, em virtude das modificações estruturais promovidas no polímero, favoreça o processo de biodegradação por microrganismos do ambiente, visto que, muitos polímeros inertes têm mostrado maior suscetibilidade à biodegradação depois da foto-oxidação, em que alterações são promovidas em suas cadeias (BRANDALISE, 2008).

A biodegradação pode ser regida por diferentes fatores, que incluem características do polímero, tipo de organismo, e natureza do pré-tratamento. As características do polímero, tais como a sua mobilidade, tenacidade, a cristalinidade, o peso molecular, o tipo funcional e grupos substituintes presentes na sua estrutura, e plastificantes ou aditivos adicionados ao polímero, todos desempenham um papel importante no seu processo de degradação (SHAH, *et al.*, 2008).

Acerca da caracterização inicial do PET, por fim, pode-se considerar que a irradiação apresenta efeitos sobre as propriedades térmicas e mecânicas do PET, visto que conforme a análise de Termogravimetria, o PET0h de irradiação esteve mais estável, e suportou uma temperatura maior até a degradação, ainda com base na FTIR, foi possível observar que ocorrem quebras nas ligações carbônicas, alterações significativas entre o PET0h e o PET96h. Ainda o grau de cristalinidade das amostras em relação ao PET0h, o PET 24h reduz, e aumenta proporcionalmente em 48h e 96h de irradiação nas amostras. A elasticidade do PET oscila, em relação ao PET0h inicialmente aumenta PET24h, e posteriormente se reduz proporcionalmente PET 48h e 96h de irradiação UV nas amostras.

5.3 CARACTERIZAÇÃO DO PET FASE BIÓTICA

5.3.1 *Lentinula edodes* Características Morfológicas

Na composição das imagens apresentadas na Figura 31 é possível identificar algumas características microscópicas do *Lentinula edodes*.

Na figura 31-1 é apresentada uma ampliação do micélio fúngico em 4x, nota-se densidade de sua formação, e à medida que ocorre a ampliação torna-se mais perceptíveis características da formação micelial que constituem-se em um emaranhado de filamentos – Figura 32-2.

As Figuras 31-3 e 31-4 apresentam uma ampliação de 40x, é possível identificar a hifa fúngica com septos (repartições) e as fíbulas ou ansas de ligação do crescimento. Na figura 31-5 a microfotografia foi obtida pela técnica de micro cultivo (ANVISA, 2004), com a adição de corante lactato de fenol azul de metileno, é possível observar a formação de basidiósporos em grandes concentrações no interior do micélio. Na Figura 31-6, observa-se a ampliação em 100x da figura anterior na qual é possível observar a fusão das hifas fúngicas o interior do micélio.

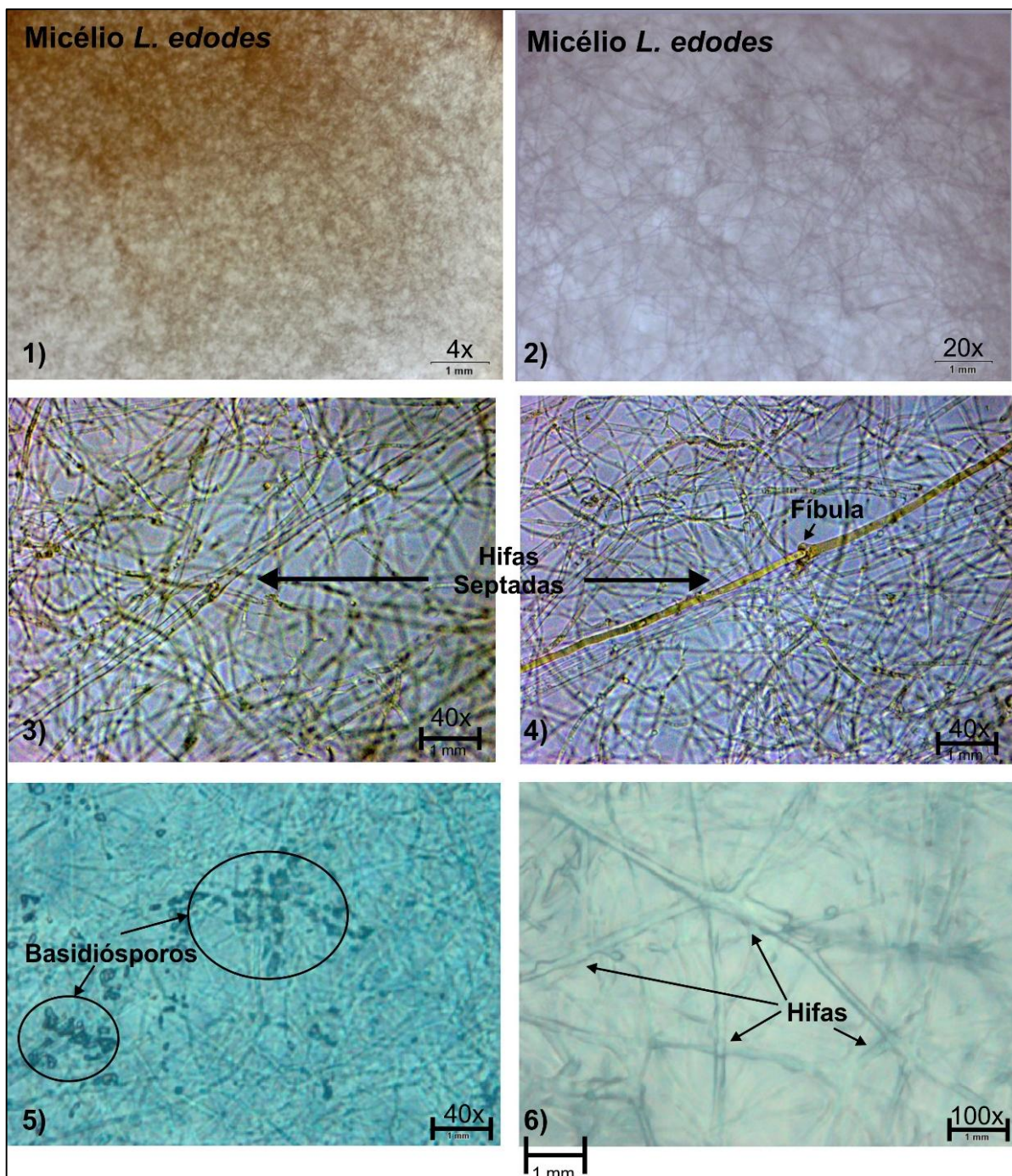


Figura 31 - Microfotografia do fungo *Lentinula edodes*, evidenciando suas características microscópicas.

5.3.2 Análise Qualitativa do Crescimento Microbiano

Na Tabela 9, é observada a análise qualitativa do crescimento do fungo *L. edodes* nos diferentes períodos de tempo do estudo.

Tabela 9 – Taxa de crescimento dos microrganismos.

Ensaio	Crescimento observado/Período de dias (d)							
	07 d	15 d	30 d	45 d	60 d	90 d	120 d	150d
Cultivo em Placas de Petri (CPP)	1	3	4	4	4	4	4	4
Cultivo em Tubos de Ensaio (CTE)	2	3	4	4	4	-	-	-
Fermentação Semissólida (FSS)	1	2	3	3	3	-	-	-
Cultivo Axênico (CA)	0	1	3	4	4	4	4	-

0: Nenhum crescimento; 1: Vestígios de crescimento inferiores a 10% do recipiente; 2: Crescimento ligeiro de 10 a 30% do recipiente; 3: Crescimento mediano de 30 a 60% do recipiente; 4: Crescimento denso de 60% acima para completar o recipiente;

Os cultivos em placas de petri e em tubo de ensaio se desenvolveram rapidamente nos primeiros 15 dias, logo os nutrientes do ágar batata dextrose estão mais disponíveis para favorecer o crescimento inicial.

Considera-se o *L. edodes* um fungo moderadamente lignocelulósico, pois em substratos sintéticos apresenta alta capacidade de degradação do amido, e dos polissacarídeos presentes (BITTENCOURT, 2007).

Os substratos como a fermentação semi-sólida e o cultivo axênico constituídos de resíduos agroindustriais e/ou serragem tiveram uma colonização mais lenta, em 30 dias registrou-se que o crescimento que ocupou cerca de 60% do recipiente, esse fato pode ser explicado em virtude do volume de material presente em cada ensaio, que era superior aos outros cultivos. Para que o fungo possa utilizar estes substratos lignocelulíticos, é necessário a secreção de enzimas, por meio das quais o fungo obterá os nutrientes necessários que serão utilizados no desenvolvimento da estrutura e na conversão da energia necessária para seu metabolismo e crescimento por meio de absorção (MONTINI, 2001).

Algumas imagens dos períodos iniciais dos tratamentos podem ser observadas na Figura 32.

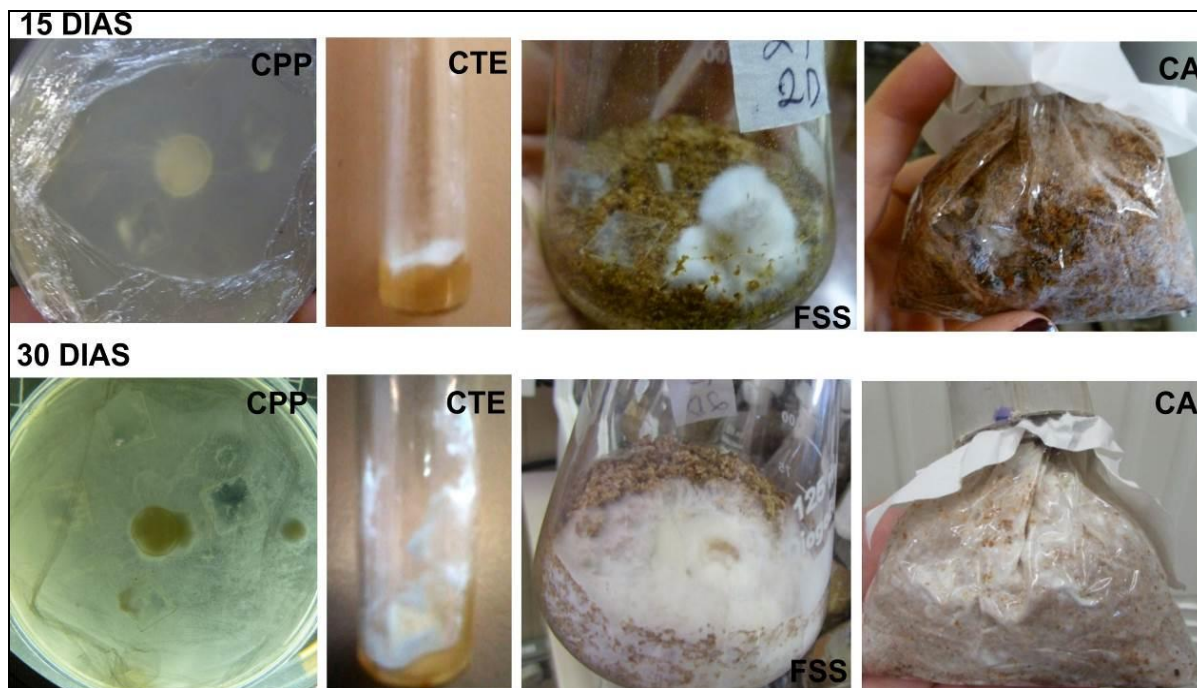


Figura 32 – Composição de imagens com os diferentes tipos de cultivos empregados no processo biodegradativo do PET por *L. edodes*.

A partir das imagens, observa-se que o fungo apresenta um crescimento algodoso, ou cotonoso, cujos pigmentos são inicialmente esbranquiçados, mas se modificam parcialmente ao longo dos períodos de tempo de estudo para uma variação de coloração iniciada em ocre-claro e posteriormente marrom claro até marrom escuro.

O crescimento do micélio é muito importante na colonização de um substrato, esse que pode ser dividido em duas partes, a “corrida do micélio” e a estabilidade, ou fase de maturação.

A “corrida do micélio”, acontece imediatamente após a inoculação, até que o substrato esteja totalmente colonizado pelo fungo, nessa etapa o fungo absorve nutrientes, que futuramente serão utilizados na estrutura e conversão da energia para o metabolismo e crescimento, nesta fase, o micélio utiliza o oxigênio e libera gás carbônico, posteriormente alcança-se a fase de maturação, fase que vai até o endurecimento da capa micelial protetora que se torna amarronzada (MONTINI, 2001; BITTENCOURT, 2007).

5.3.3 Ensaio em Placas de Petri

Na figura 33 pode ser observada a evolução do crescimento fúngico nas placas de petri durante os períodos de tempo em que permaneceu em interação com o substrato de ágar BDA e o polímero. Não houveram contaminações nos ensaios.

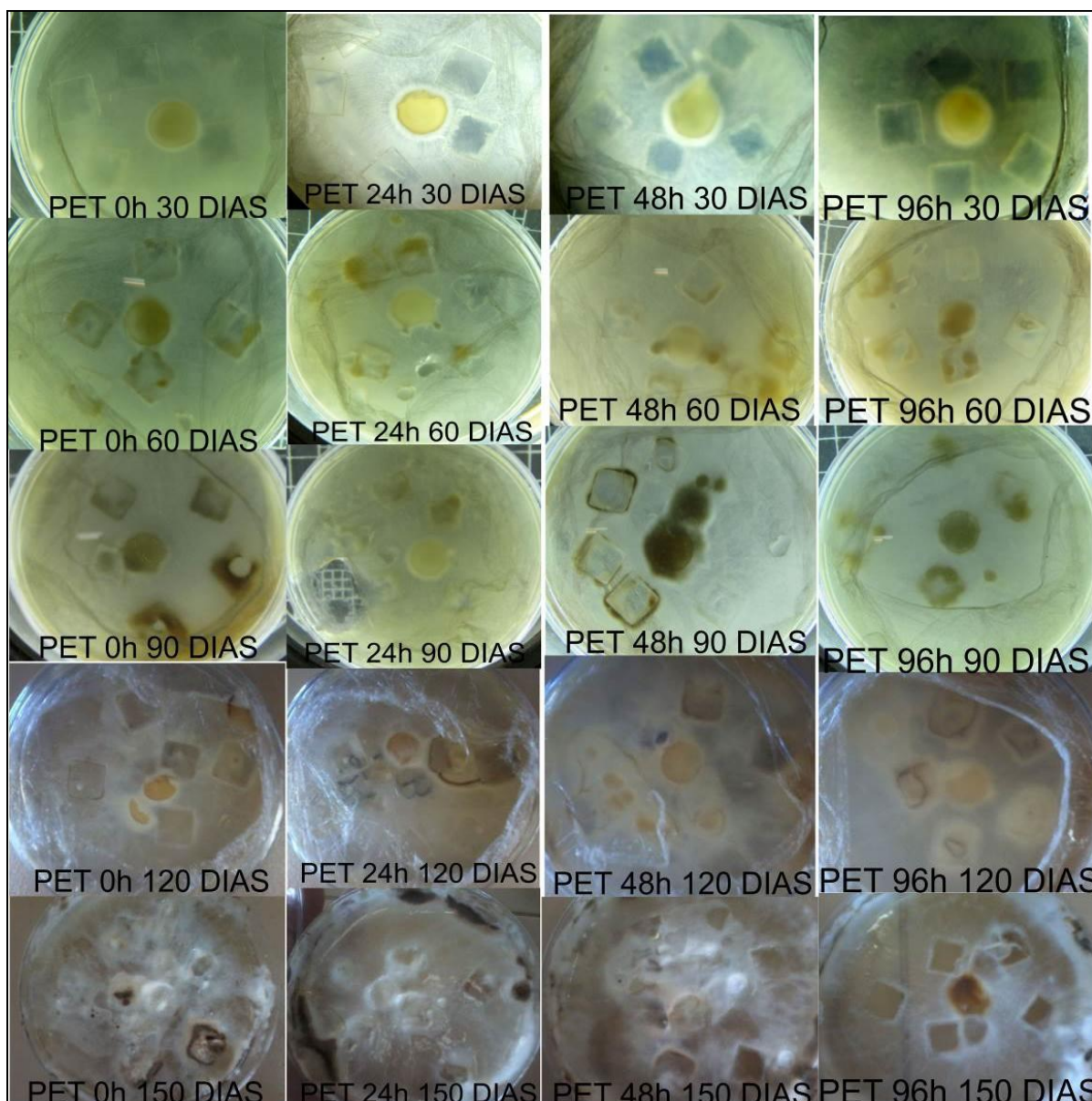


Figura 33 – Composição de imagens com os diferentes tipos de tratamentos do PET nos períodos de tempo do estudo.

A evolução macroscópica observada indica que o fungo cresceu no substrato, no entanto, este fato apenas não é garantia de que o polímero seja utilizado como

fonte de nutrientes, nesse sentido, é preciso verificar a matriz polimérica a nível microscópico para verificar o nível de intensidade e degradação das amostras.

É possível observar a formação característica de nódulos, ou “botões”, oriundos da fusão das hifas, estes seriam potenciais corpos de frutificação no estágio de maturação e estabilização do micélio (BITTENCOURT, 2007), estão localizados sobre o PET, e em outras regiões da placa, como as extremidades.

A partir de 90 dias o micélio começou a apresentar uma coloração ocre-claro, que com o passar do tempo se tornou marrom, isso indica que o micélio amadureceu, e está em fase anterior a frutificação, uma fase de estabilidade de seu processo de crescimento e absorção de nutrientes.

Além de depender da condição do micélio, outro fato que influenciará no processo de degradação é a condição físico-química da amostra que podem conter pequenas fissuras oriundas do processo de armazenagem e fabricação e falhas intrínsecas do polímero que são potenciais ponto de ataque para o fungo, com a penetração da hifa fúngica mais facilmente no polímero para secretar as enzimas e absorver os nutrientes.

Considera-se que a determinação de perda de massa de corpos de prova é amplamente aplicada em testes de degradação, no entanto, não são obtidas provas diretas de que ocorra a biodegradação, apenas são fornecidos indícios, pois podem surgir problemas com a limpeza correta do espécime, ou ainda o crescimento do fungo que pode causar inchaço em pequena escala e de ruptura, aumentando a massa inicial em virtude da penetração do fungo na matriz do polímero (SHAH, *et al.*, 2008).

Sabe-se que os materiais poliméricos como o PET, apresentam boa estabilidade ao ataque microbiano, assim, com o intuito de facilitar o processo de biodegradação foram realizados pré-tratamentos das amostras com três tempos distintos de irradiação UV 24h, 48h e 96h, para verificar se o polímero estaria mais suscetível a degradação biológica, determinou-se os percentuais de perda de massa após o tempo de incubação com o microrganismo. No gráfico 19, podem ser observados os dados de perda de massa, dispostos em um gráfico de barras, com os respectivos desvios, assim é possível verificar a distribuição dos dados nos períodos de tempo amostrados para cada fase de irradiação UV.

Ao observar o gráfico 19, enfatiza-se a relação que a irradiação UV promove alterações na matriz polimérica, pois todos os ensaios irradiados, conseguiram alcançar percentuais maiores de perda de massa do polímero.

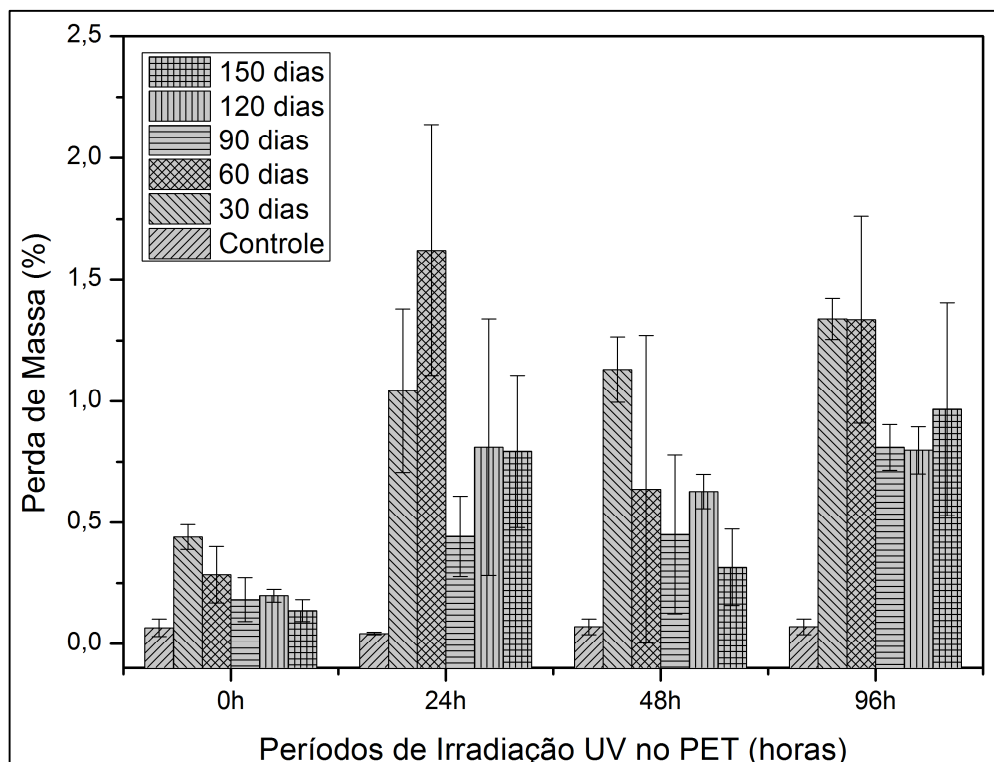


Gráfico 19 – Percentual de perda de massa do PET, nos períodos de irradiação e tempo amostrados.

No gráfico 20 é possível observar os períodos de tempo em relação a perda de massa, para o PET0h foi aplicado um ajuste linear, para o PET24h foi aplicado um ajuste polinomial de quarta ordem, e para o PET48h e 96h o ajuste foi polinomial de terceira ordem, observou-se que conforme os coeficientes de determinação em média de 92%, considera-se a existência de uma relação forte, na qual existe relação entre o aumento do tempo de tratamento em relação ao percentual de perda de massa, conforme os ajustes apresentados.

Nos ensaios de biodegradação determinar através do método gravimétrico é apenas um indicativo de que ocorram alterações, a variância para os dados amostrados pode ser explicada pelas interferências da complexidade do processo, pois, pode ocorrer a forte aderência do *L. edodes* na matriz polimérica, que acarreta a formação de resíduos no interior, e pode não ocorrer uma separação adequada na limpeza do espécime (SHAH, *et al.*, 2008).

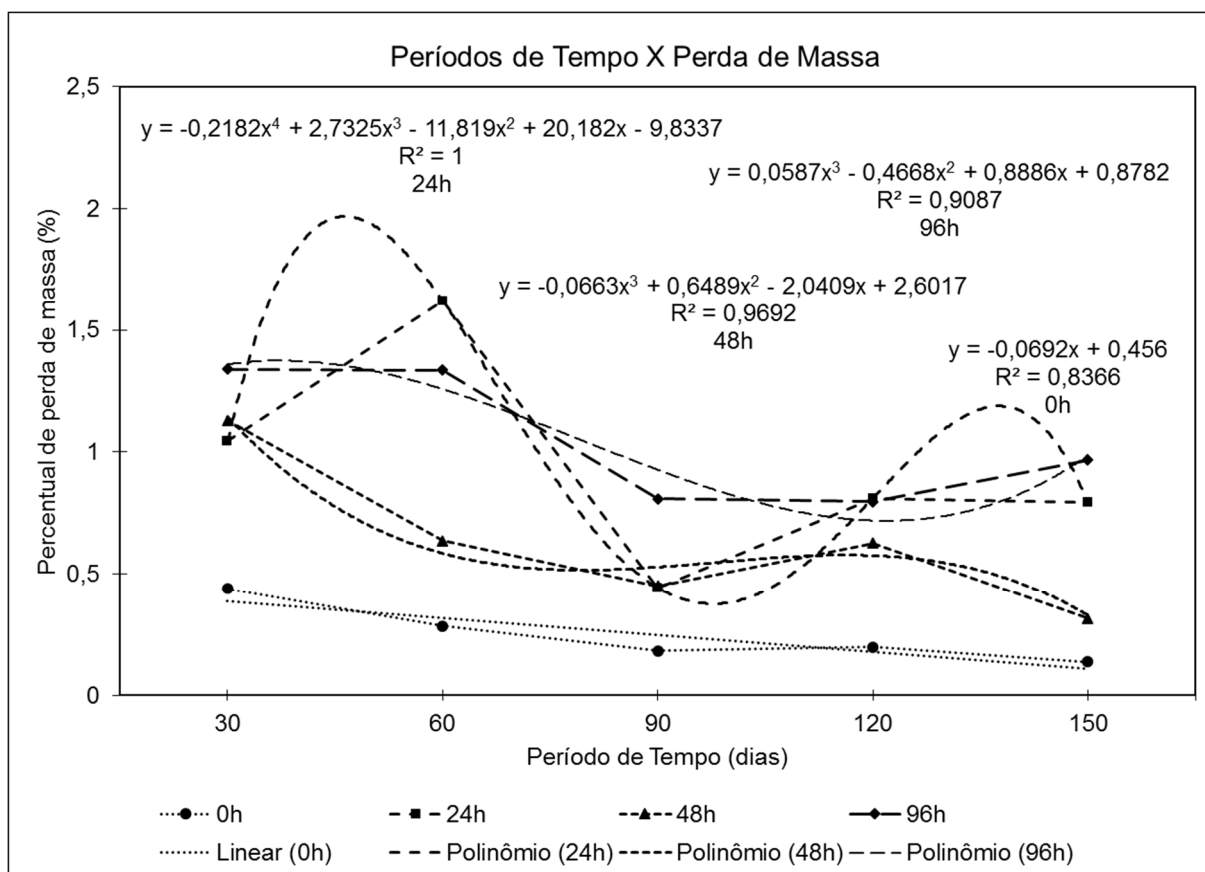


Gráfico 20 – Períodos de irradiação e o percentual de perda de massa ao longo do tempo de estudo.

Os dados de perda de massa foram submetidos a análise de variância e o teste Tukey com 95% de confiança, que são apresentados nas Tabelas 10, 11 e 12.

**Tabela 10 – ANOVA para os dados de percentual de perda de massa do PET – CPP.
Análise – Determinação de percentual de perda de massa (g) PET - CPP**

FV	GL	SQ	QM	F	F-crit	GL	GLR	p
Fator 1	3	5,82322	1,94107	21,4841 **	4,3126	3	40	<0,0001
Fator 2	4	2,83665	0,70916	7,8491 **	3,8283	4	40	<0,0001
Int. F1x F2	12	1,64309	0,13692	1,5155 ns	2,0035	12	40	0,159
Tratamentos	19	10,3029	0,54226	6,0018 **	2,393	19	40	<0,0001
Resíduos	40	3,61398	0,09035					
Total	59	13,9169						

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ns não significativo ($p \geq 0,05$)

Fator 1 = Irradiação Fator 2 = Tempo

FV: Fonte de variação; GL: Graus de liberdade; SQ: Soma dos quadrados; QM: Quadrado médio; F: Estatística do teste F;

Ao observar a Tabela 10, é possível identificar que conforme o valor de F, para a significância, considera-se as do fator 1 (0h, 24h, 48h, e 96h de irradiação UV), e as médias do fator 2 (30, 60, 90, 120 e 150 dias), bem como o tratamento, são significantes ao nível de 5% de probabilidade, a interação entre eles (Irradiação X

Tempo) não é significativa ao nível de 5% de probabilidade, para o percentual de perda de massa.

Na tabela 11 estão apresentados os valores das médias do fator 1 (0h, 24h, 48h, e 96h de irradiação UV) e 2 (30, 60, 90, 120 e 150 dias), aplicado teste de comparações múltiplas de Tukey, acerca das médias dos tratamentos com irradiação UV, observa-se que o PET 0h difere dos demais estatisticamente por ser o menor valor amostrado, o PET 48h também diferem estatisticamente, ao nível de 5% de significância, dos demais tratamentos, sendo um valor intermediário, enquanto as médias para os tratamentos PET 24h e PET 96h não diferem entre si, mas diferem dos outros dois tratamentos, e apresentam os maiores percentuais de perda de massa, 0,94% para o PET 24h e 1,04% para o PET 96h.

Tabela 11 – Teste Tukey para as médias dos tratamentos ao nível de 95% de significância - CPP.

Análise – Determinação de percentual de perda de assa (g) PET - CPP									
Médias do fator 1					Médias do fator 2				
0h	0,24840	c			30 dias	0,98802	a		
24h	0,94215	a			60 dias	0,96979	a	dms	0,35055
48h	0,63217	b	dms	0,29414	90 dias	0,47127	b		
96h	1,04978	a			120 dias	0,60855	b		
					150 dias	0,55300	b		

dms: Diferença mínima significativa;
Fator 1 = Irradiação Fator 2 = Tempo

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si,
Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade;

Sob as condições deste estudo o PET 0h, apresentou um percentual de perda de massa de 0,24%, inferior e diferente estatisticamente dos demais períodos de irradiação. A amostra 48h pode estar sobre o efeito da fina camada fotodegradada que atua como bloqueadora da irradiação UV, e pode ser formada sob a superfície polimérica, no entanto, sua média é intermediária, superior ao PET 0h, com 0,63% de perda de massa, e inferior ao PET24h e PET96h, essa oscilação pode ser atribuída as cisões e reticulações da cadeia polimérica durante o processo de irradiação UV, como o período de exposição é contínuo a radiação de alta energia, a amostra continua a ser degradada intensamente, a perda da estabilidade e suas propriedades alteradas também tendem a ser acessíveis à degradação dos microrganismos.

Ao observar o estudo de Dambrós, *et al.* (2014), com a utilização de cultivo em placas de petri, para pellets de PET virgem sem irradiação UV, com um substrato sintético de TDA (de extrato de trigo, dextrose e de ágar), e a utilização do fungo

Pleurotus djamor, cuja fonte de carbono principal era o polímero, verificou-se uma perda de massa em torno de 0,9% entre 76 e 150 dias de biodegradação, constatou-se que sob as condições deste estudo, foi obtido índices semelhantes de perda de massa nos polímeros, nos períodos de 30 e 60 dias, com ênfase aos polímeros irradiados por UV, que apresentaram melhores percentuais de perda de massa em relação o PET 0h de irradiação, assim como o *P. djamor*, pode-se inferir que o *L. edodes* também apresenta potencial para degradar o PET.

O conjunto dessas informações evidencia que a irradiação UV altera as propriedades da amostra e influencia positivamente na biodegradação, e que as ocorrências intermoleculares de cisão/reticulação da molécula durante as fases de irradiação oscilam e ocasionam comportamentos diferentes. No caso da amostra com 24h de irradiação, antes do processo de biodegradação, esteve com menores valores do grau de cristalinidade, e no módulo de elasticidade, conseqüentemente com suas moléculas mais desorganizadas, uma estrutura mais amorfa, fato que facilita a biodegradação. Já o PET 96h pode estar mais cristalino, mais rígido como evidenciado nas análises de DSC e tração mecânica, mas em virtude das cisões e reticulações das ligações ocasionadas pelo processo de fotodegradação origina a formação de outros compostos como a formação de grupos carboxílicos, carbonílicos e ainda carboxiterminais, que também podem facilitar o processo de biodegradação, sendo assimiláveis pelo fungo.

A tabela 11 também contém os dados da significância pelo teste Tukey (5%) das médias do fator 2, os períodos de tempo (30,60,90,120 e 150 dias), considera-se que o tempo tem efeito no tratamento, assim não diferem estatisticamente os períodos de tempo de 30 e 60 dias, tendo este os maiores valores médios de perda de massa (0,98% e 0,96%).

Para o fator tempo, a fase entre 30 a 60 dias, pode ser compreendida como a “corrida do micélio”, fase na qual o fungo busca armazenar os nutrientes através da colonização de todo substrato para seu crescimento e maturação, possivelmente ocorra uma degradação mais superficial, por esse motivo, a degradação ser mais superficial, e a remoção do micélio nos corpos de prova foi maior, ou total, após esse período 90 dias apresentou o menor percentual de perda de massa (0,47%), que não difere estatisticamente do período de 120 e 150 dias, essa fase de estabilização o fungo pode ter penetrado mais profundamente nas amostras, fato que acarretou uma

maior dificuldade da remoção do micélio, e que provavelmente tornou a perda de massa menor.

Considera-se que posteriormente ao período de corrida do micélio, este adquira estabilidade para o nível de maturação, nas fotografias da figura 38 foi possível observar a coloração alterada, tendendo ao ocre-claro, esse também é um indicativo de maturação do micélio, e nessa fase a absorção de nutriente pelo fungo pode ser reduzida, como pode ser mais profunda, no substrato, fato que enfatiza a uma provável aderência a matriz polimérica, na qual o método de remoção da massa micelial não foi suficientemente adequado para a completa remoção.

Na tabela 12 é observada a análise de interação entre os tratamentos compostos pelos períodos de irradiação UV em relação aos fatores.

O grupo de amostras apresentam um alto coeficiente de variação (41,86%), isso se explica pois existem condições que não são controladas, como o pH no interior do sistema, a umidade, difusão de oxigênio no interior das placas de petri, a adesão das hifas no interior do polímero, entre outras.

Tabela 12 – Análise da interação entre a perda de massa dos tratamentos com UV (PET0h, 24h, 48h e 96h) e os períodos de tempo (30,60,90,120 e 150 dias) - CPP.

Análise – Determinação de percentual de perda de massa (g) PET - CPP											
Interação: Fator 1 x Fator 2 (AxB)											
		30 dias		60 dias		90 dias		120 dias		150 dias	
1	0h	0,4396	bA	0,2849	bA	0,1821	aA	0,1986	aA	0,1368	bA
2	24h	1,0430	abAB	1,6216	aA	0,4427	aB	0,8106	aB	0,7929	abB
3	48h	1,1305	aA	0,6369	bAB	0,4506	aAB	0,6274	aAB	0,3155	abB
4	96h	1,3391	aA	1,3358	aA	0,8097	aA	0,7976	aA	0,9668	aA
CV% = 41,86											
dms para colunas: 0,6577						dms para linhas: 0,7011					
Classificação com letras minúsculas;						Classificação com letras maiúsculas;					
CV%: Coeficiente de variação em %						dms: Diferença mínima significativa;					
As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade;											
Fator 1 = Irradiação						Fator 2 = Tempo					
Normalidade dos dados (alfa = 5%)											
Teste (Estatística)		Valor		Vcrit		p-valor		Normal			
Kolmogorov- Smirnov (D)		0,10290		0,11408		p > 0,10		Sim			

Na análise da interação constata-se que o PET0h, não apresentou diferença estatística significativa entre as médias de tempo, em 30 dias alcançou 0,43%, em 60 dias o valor se tornou inferior 0,28%, e continuou decaindo até um percentual de 0,13% em 150 dias, como sugerido anteriormente o período após 60 dias indica um aprofundamento da hifa em virtude de sua estabilização, fato que pode ter induzido essa redução.

Para os períodos de tempo de 90 dias, 120 dias e 150 dias as médias não variaram significativamente, fato que sugere novamente o período de estabilização do crescimento do *L. edodes*.

O PET24h apresentou um comportamento de redução de massa superior e significativo ao nível de 5%, em relação a maioria dos tratamentos. É provável, que por esse período de irradiação causar alterações que deixaram a amostra menos cristalina, e menos rígida, assim com uma constituição mais amorfa, o processo de biodegradação seja favorecido. Ainda o PET 24h apresentou oscilações 30 e 60 dias, sendo em 60 dias o pico de percentual de perda de massa do ensaio no geral com 1,62%.

Pelo indicativo dos valores da interação o PET 24h teve os valores de sua perda de massa iguais em relação ao período de 30 dias com o PET48h e 96h, diferenciando-se estatisticamente da média do PET0h, ainda não houve diferença entre PET0h, PET 24h e PET 48h, o PET0h com a menor perda de massa e o PET96 com a maior perda de massa nesse período de tempo. Em 60 dias o PET 0h difere-se dos demais tratamentos ao nível de 5% de significância, exceto do PET48h, sendo o menor valor amostrado, enquanto o PET24h se destaca, e é igual ao PET 96h, e, ainda as médias do PET48h não diferem das médias do PET96, e do PET0h.

Acerca dos controles para esse cultivo, os dados foram submetidos a análise de variância, em um delineamento inteiramente casualizado, o qual pode ser observado na tabela 13:

Tabela 13 – ANOVA das amostras-controle - CPP.

Análise – Amostras controle								
FV	GL	SQ	QM	F	F-crit	GL	GLR	p
Tratamentos	3	0,00155	0,00052	0,6859 ns	0,069	3	8	0,5854
Resíduos	8	0,00604	0,00075					
Total	11	0,00759						
** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ns não significativo ($p \geq 0,05$)								
Normalidade dos dados (alfa = 5%)				Médias do tratamento				
Teste (Estatística)	Valor	p-valor	Normal	0h	0,06565	a	DMS	0,05181
				24h	0,04236	a	MG:	0,06185
Shapiro-Wilk (W)	0,89322	0,12965	Sim	48h	0,06971	a	CV%	44,41
				96h	0,06968	a		
FV: Fonte de variação; GL: Graus de liberdade; SQ: Soma dos quadrados; QM: Quadrado médio; F: Estatística do teste F; MG: Média geral; CV%: Coeficiente de variação em %; DMS = Diferença mínima significativa;				As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade;				

O percentual de perda de massa dos controles foi em uma média geral de 0,06%, as diferenças entre os períodos de irradiação não foram consideradas significativas ao nível de 95% de confiança.

Para auxiliar a interpretação das interações é possível observar as microfotografias obtidas do PET, por meio de microscopia óptica, nesse ensaio, comparadas entre si e em relação aos controles abióticos, ainda é possível sugerir as modificações superficiais ocorridas no PET.

Alguns pontos são indicados como prováveis modificações atribuídas as interações do fungo na superfície polimérica, nas imagens alguns desses pontos evidenciados com a indicação de setas e círculos, próximos aos eventos na Figura 34 e 35.

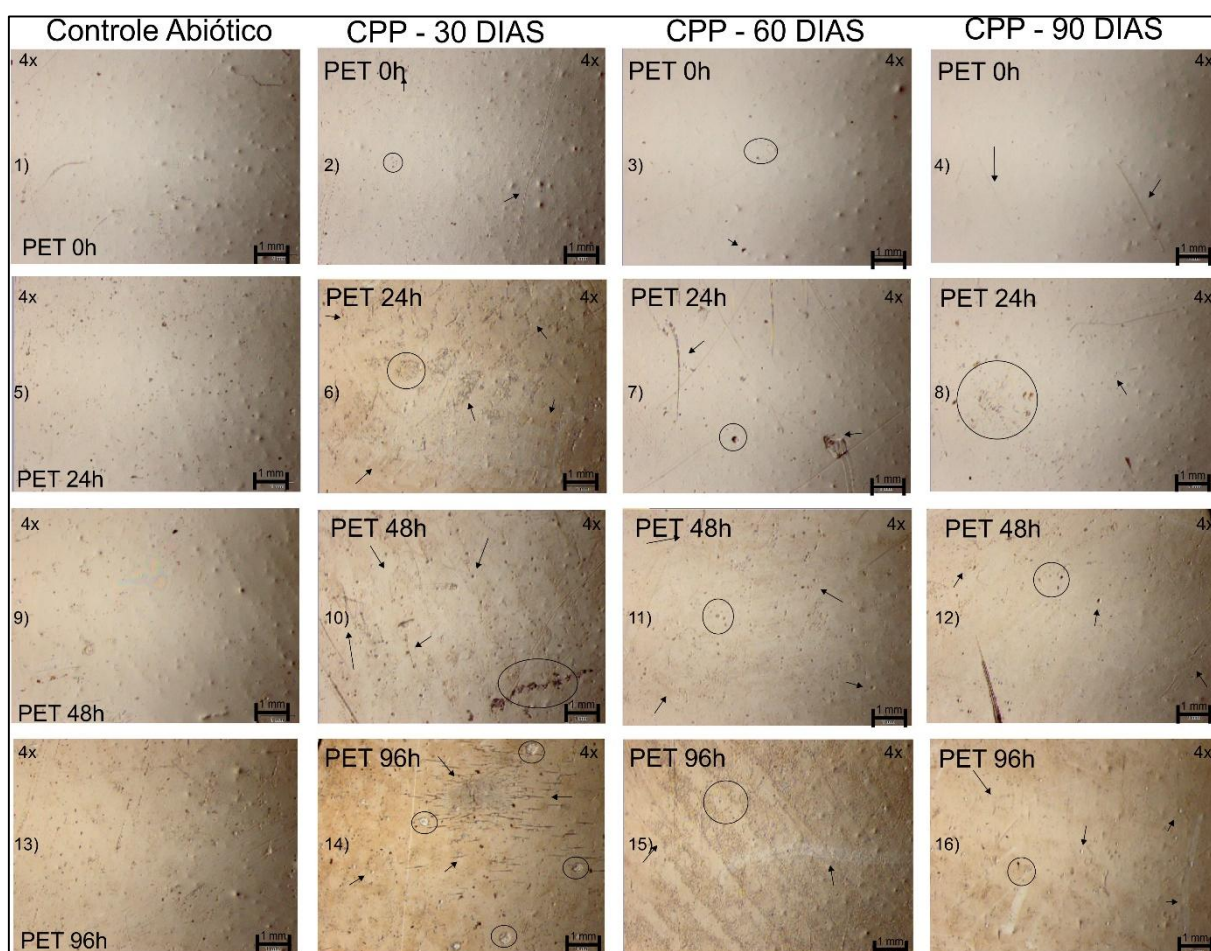


Figura 34 - Fotomicrografias do PET, em seus distintos períodos de irradiação UV, após o período de interação com o fungo, obtidas por microscopia óptica com ampliação de 4x.

Nas microfotografias é possível observar que a formação de protuberâncias no PET é atenuada com a irradiação UV, ainda, as amostras irradiadas em caráter geral

apresentaram mais falhas que o polímero sem irradiação, isso induz que a irradiação altera a estrutura química e a superfície da amostra, e que a ação de degradação do fungo é favorecida.

Os períodos iniciais de irradiação em 30 e 60 dias apresentam falhas superficiais mas significativas, a exemplo cita-se a Figura 34-14, do PET96, onde foi possível identificar a formação de poros e escavações.

Considera-se que a degradação de polímeros pode ocorrer de forma efetiva por meio da ação de microrganismos, quando estes são capazes de encontrar um substrato adequado e nele excretam diversas proteínas/enzimas que são capazes de interagir com o substrato, e com a clivagem das cadeias poliméricas, ocasionar erosões na superfície do polímero (MUELLER, 2006), fato este que pode ser identificado com as microfotografias neste estudo.

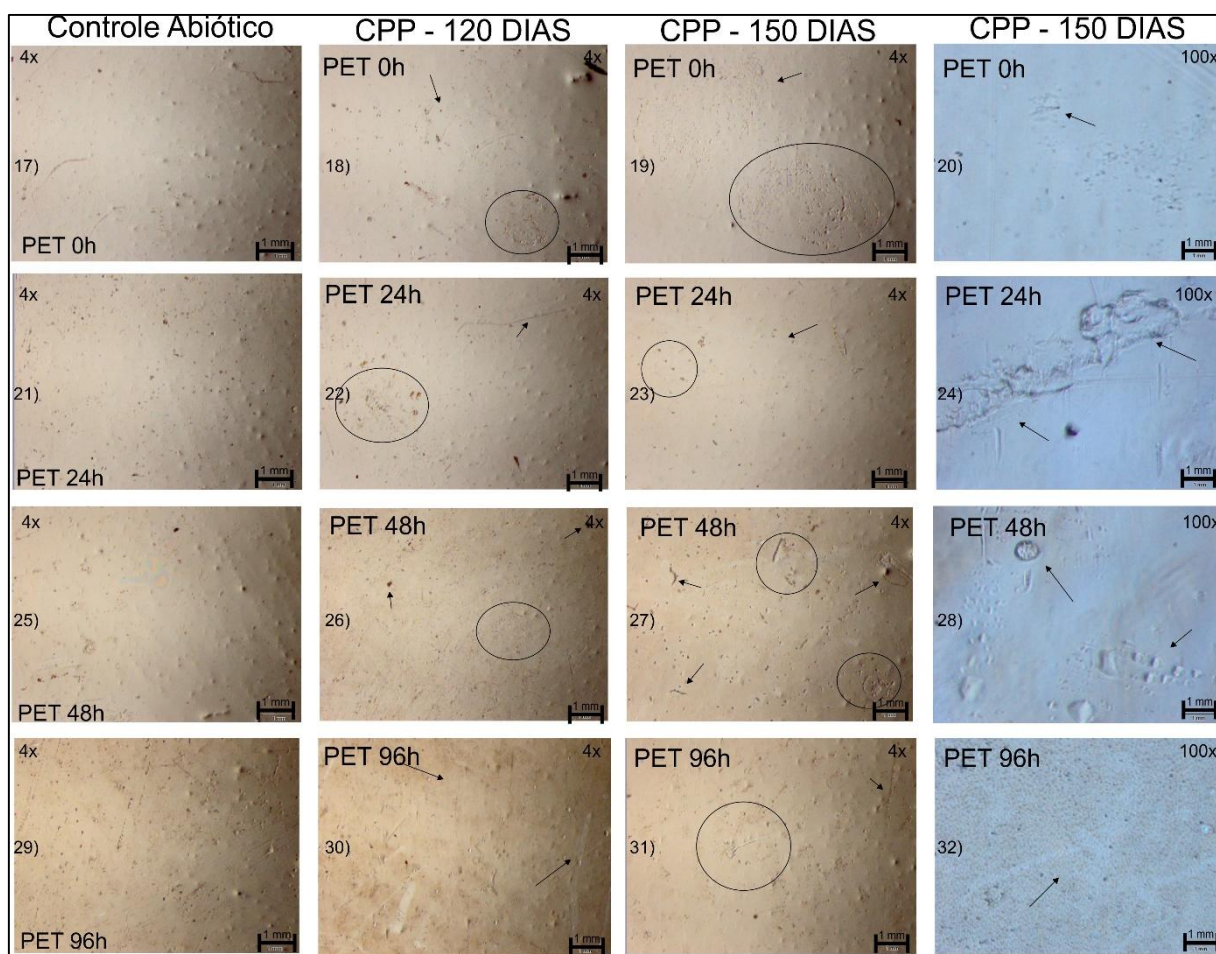


Figura 35 - Fotomicrografias do PET, em seus distintos períodos de irradiação UV, após o período de interação com o fungo, obtidas por microscopia óptica com ampliação de 4x e 100x.

Pode-se observar nas microfotografias da figura 34 e 35, que a estrutura do PET após o tratamento com o fungo *L. edodes* adquiriu porosidade, com escavações, e fissuramento em algumas regiões das amostras, consideradas alterações importantes para comprovar o processo de biodegradação das amostras, ainda são possíveis observar espécies de impressões digitais, os possíveis caminhos formados pelo biofilme que cresceu na superfície e que afetaram a coloração das amostras.

O fator que prejudica a determinação de perda de massa é a aderência da hifa fúngica fortemente ao interior da matriz polimérica, em virtude do avanço do tempo e que após o tratamento não foi possível extrair todos os vestígios interiores do fungo. Na figura 36 são ilustradas fotomicrografias do polímero após 150 dias de incubação, com vestígios de fragmentos da hifa fúngica, e uma porosidade acentuada, características da biodegradação sofrida pelos espécimes.

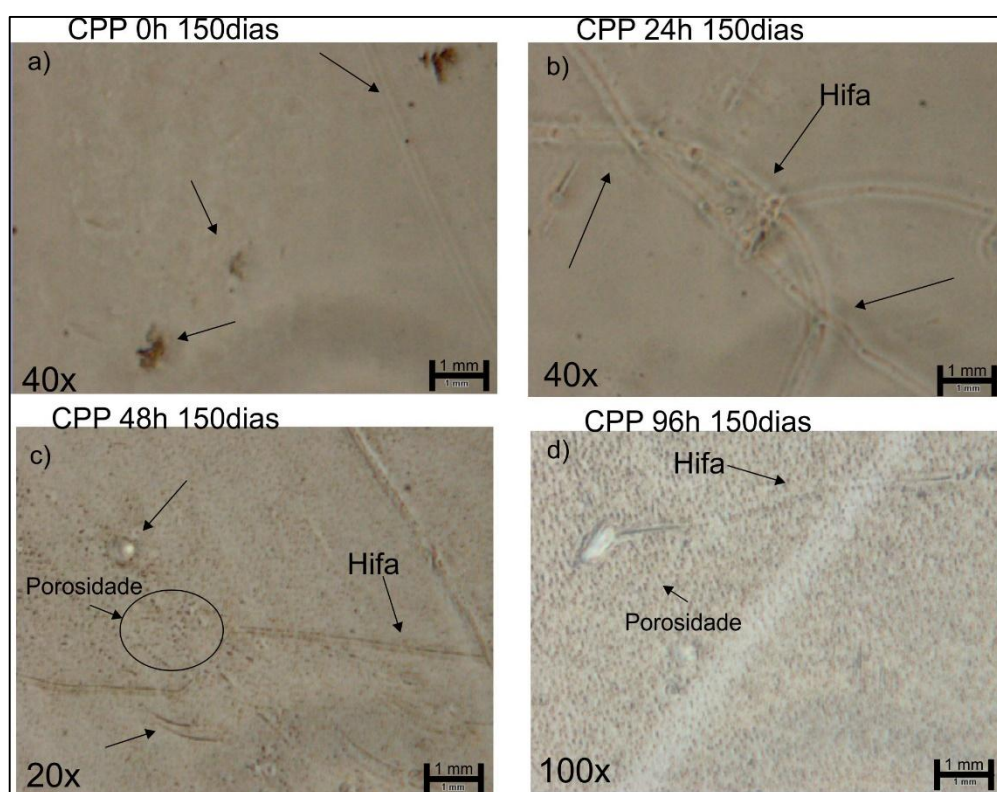


Figura 36 - Fotomicrografias do PET24h, após o período de 90 dias e interação com o fungo, obtidas por microscopia óptica.

Constata-se que as modificações estruturais causadas pela radiação UV, como cisões/reticulações da cadeia polimérica, conforme constatado pela análise de TG/DSC, FTIR e tração mecânica podem facilitar o processo de biodegradação.

Conforme os dados obtidos nesse trabalho, evidencia-se o estudo de Silva (2009) que através das análises de perda de massa para o PET sem irradiação UV, com a utilização de linhagem de fungo *Pleurotus* em cultivos fermentativos, constatou, que os mesmos não sofreram muitas modificações após incubação e sim somente uma pequena, porém considerável alteração em sua massa, atribuiu-se esse fato a boa estabilidade que os polímeros apresentam aos processos degradativos. Já no presente estudo conforme os polímeros receberam irradiação UV o processo biodegradativo pode ser observado pelas mudanças estruturais da superfície, bem como a alteração significativa de massa, e das propriedades térmicas. Enfatiza-se então a importância da irradiação UV nas amostras como facilitadora do processo de biodegradação.

Considera-se que a observação da degradação de um polímero é de extrema dificuldade, pois este fenômeno pode ocorrer sem que haja necessariamente a perda de massa do polímero, mas alterações na molécula do polímero podem ser observadas (SCOTT e GILEAD, 1995). No entanto, neste estudo a oscilação de massa foi um fator indicativo importante do processo de degradação biológica do PET pelo *L. edodes*.

Para as amostras de PET, posteriormente ao tratamento com o fungo foram realizadas as curvas de DSC, e avaliados o grau de cristalinidade ($\alpha_c(\%)$), a temperatura de fusão (T_f (°C)), e a entalpia de fusão ΔH_f (J.g⁻¹).

Elencam-se os gráficos 21, 22, 23 e 24 que representam as curvas de DSC após a atividade fúngica, agrupadas por período de irradiação, em relação ao tempo.

No gráfico 21 são apresentados os termogramas para o PET0h obtidos em cada período de tempo do estudo, é perceptível o deslocamento dos picos de fusão e a variação da intensidade dos mesmos, em relação aos períodos de tempo, a média da temperatura de fusão ficou em torno de 247°C e uma pré-cristalização pode ser observada em 226°C.

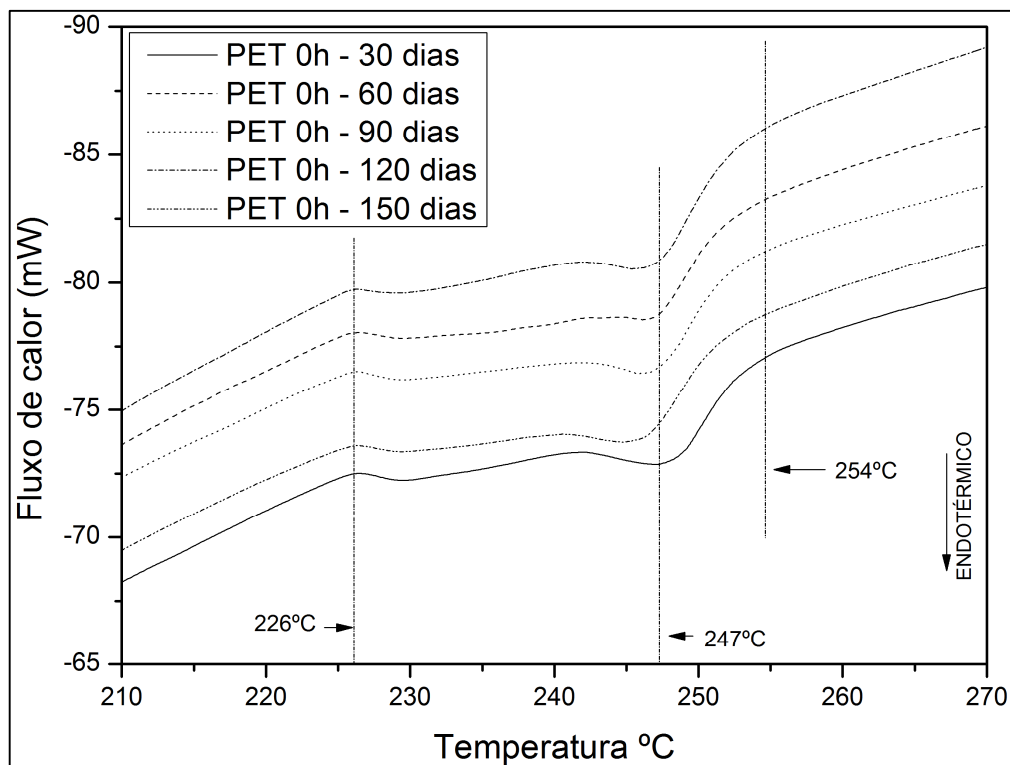


Gráfico 21 - Termograma DSC do PET 0h com ênfase na região do pico de fusão das amostras.

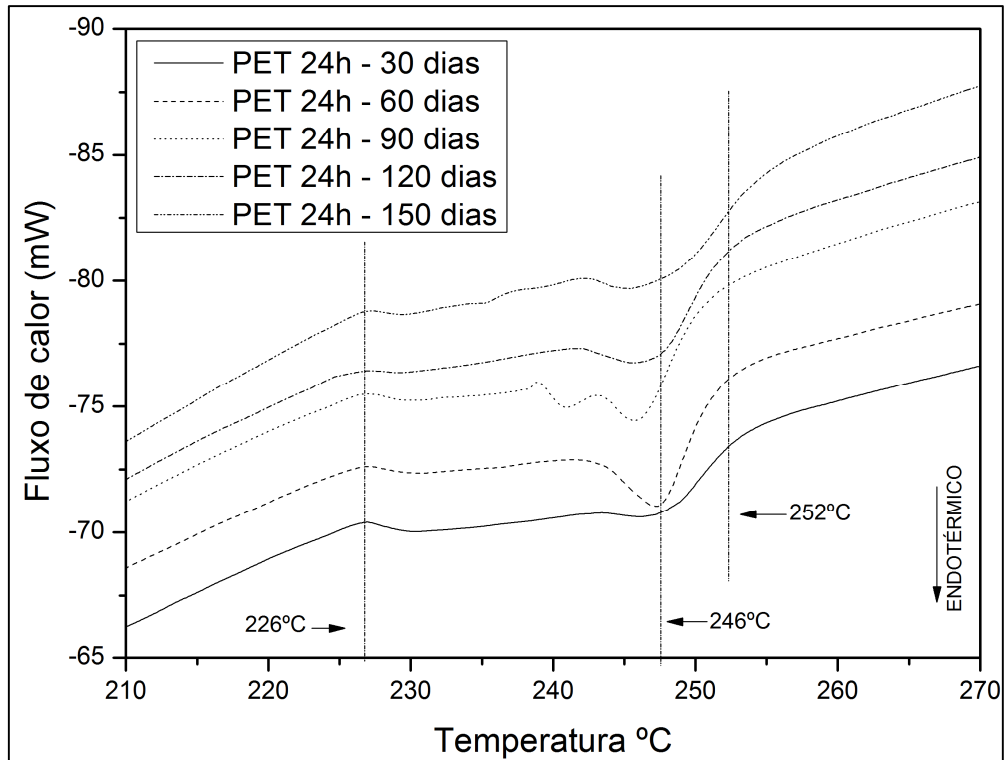


Gráfico 22 - Termograma DSC do PET 24h com ênfase na região do pico de fusão das amostras.

No gráfico 22 podem ser observadas as curvas ampliadas com ênfase ao pico de fusão, nesta também são perceptíveis alterações na formação dos picos, como a intensidade da temperatura em que ocorrem, como no ensaio anterior é possível observar uma pré-cristalização na faixa de 226°C e as médias da temperatura de fusão se mantiveram em torno de 246°C.

No Gráfico 23, são observados os termogramas de DSC para o PET48h, com ênfase ao pico de fusão das amostras, é possível observar a variação ocorrida entre os sinais, e uma pré-cristalização em torno de 225°C. A média dos picos permaneceu entre 246°C.

No gráfico 24 são apresentadas as curvas de DSC do PET 96h para os períodos de tempo relativos à interação com o fungo. Nota-se a variação na distribuição das curvas e na intensidade do sinal, uma pré-cristalização é observada em 225 °C, e a média permaneceu em torno de 24°C.

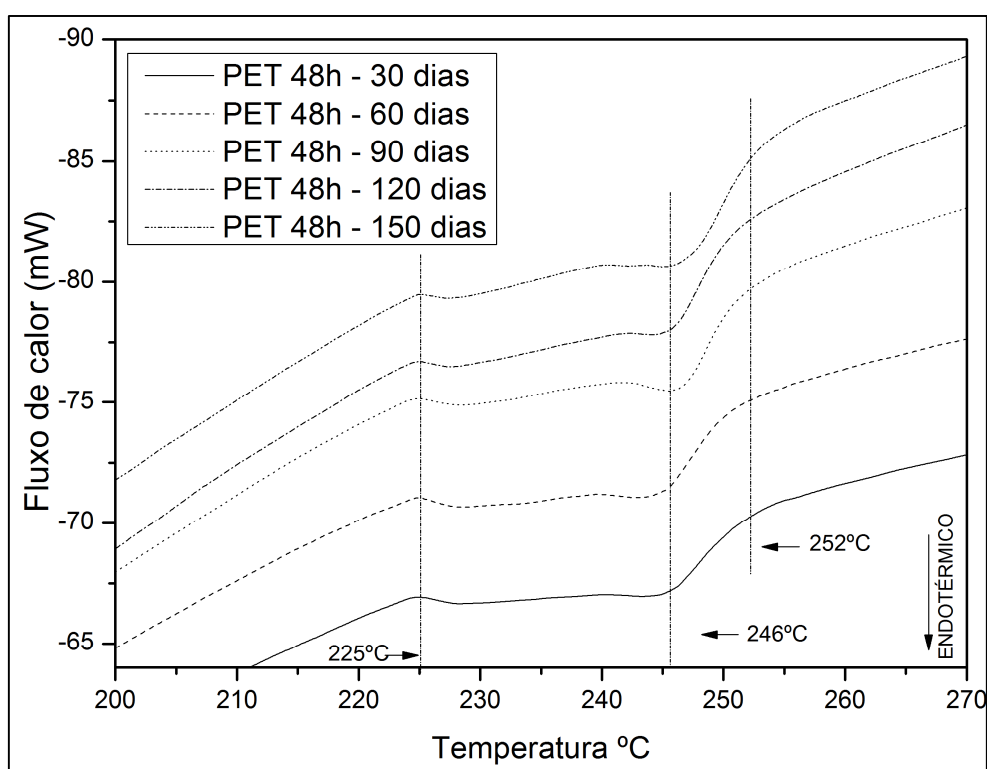


Gráfico 23 - Termograma DSC do PET 48h com ênfase na região do pico de fusão das amostras.

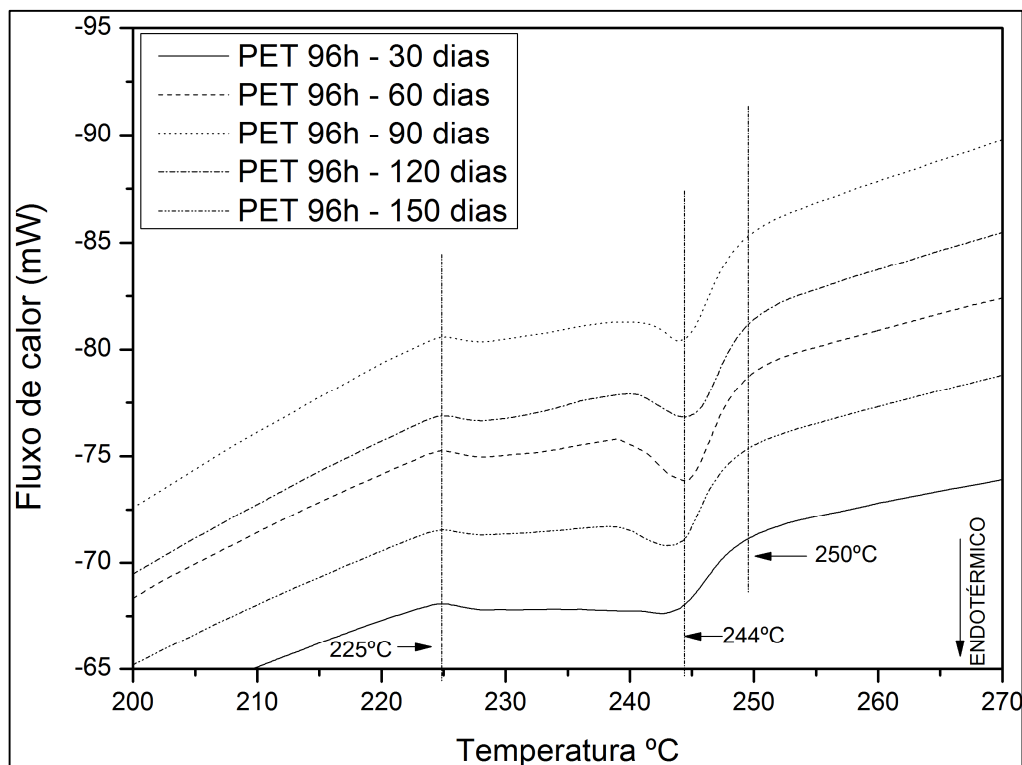


Gráfico 24 - Termograma DSC do PET 96h com ênfase na região do pico de fusão das amostras.

Considera-se que as curvas do PET0h e o PET48h apresentaram melhor estabilidade na TG, com o início do declive em 409°C, enquanto o PET24h e o PET 96h foram interceptados pelo PET0h em 393°C para o PET 24h e 396°C para o PET96h pontos indicados como o início do declive de degradação na etapa de pirólise.

No gráfico 25 foi ampliado o pico da curva DTG, por meio da qual observam-se a temperatura máxima da resistência dos polímeros após o tratamento com o fungo. O PET 0h apresentou uma temperatura de 437°C como pico, seguido pelo PET 48h com 436,5°C e pelo PET 24h com 433°C, e o menor valor em 432°C do PET 96h. A alteração indicada é pequena, mas superior aos dados obtidos do PET da caracterização inicial, essas sutis alterações podem ser indicativos que reforçam a ocorrência do processo de biodegradação na estrutura sintética pelo *L. edodes*.

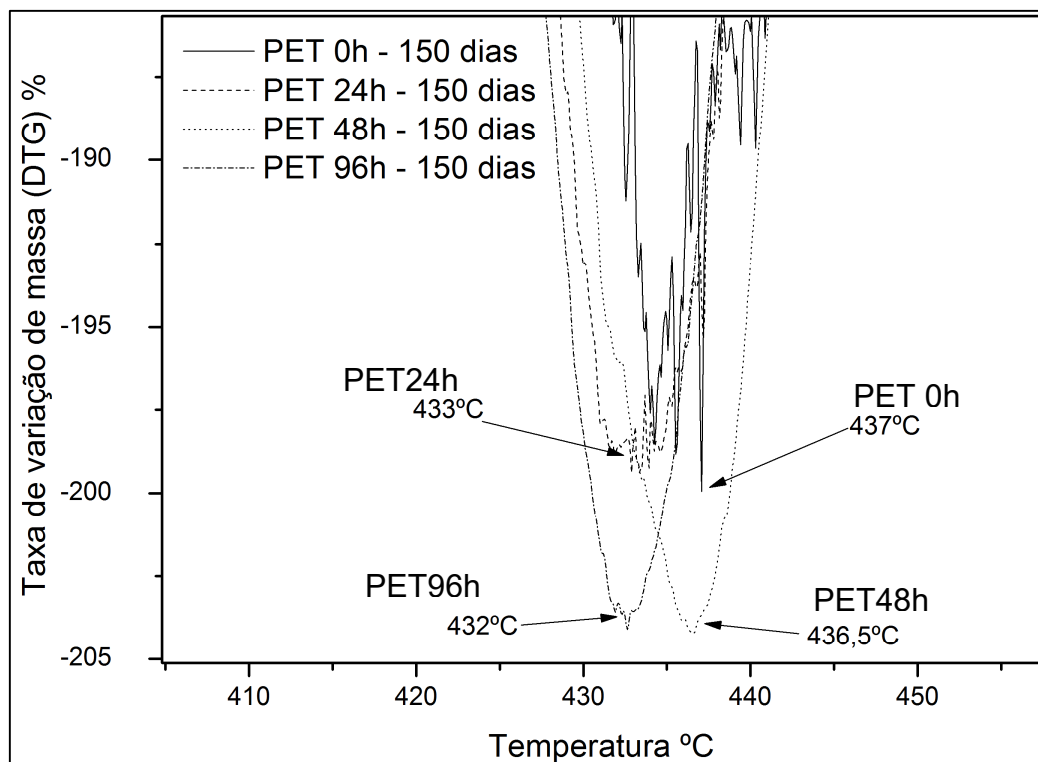


Gráfico 25 – Comparação entre as curvas de DTG do PET em suas fases de irradiação UV (0h, 24h, 48h, 96h) após 150 dias de incubação com o fungo, com ênfase na extremidade final do pico.

A partir das curvas de DSC foram obtidos os dados da entalpia de fusão, grau de cristalinidade e temperatura de fusão.

Os dados do grau de cristalinidade foram submetidos a análise de variância e constatou-se conforme a Tabela 14, que o fator 1 é significativo ao nível de 5% de probabilidade. O fator 2, a interação e o tratamento são significantes, ao nível de 1% de probabilidade, para o grau de cristalinidade.

Tabela 14 – ANOVA para o grau de cristalinidade determinando a partir dos termogramas de DSC das amostras após o CPP.

ANOVA – Grau de cristalinidade do PET - CPP

FV	GL	SQ	QM	F	F-crit	GL	GLR	p
Fator 1	3	23,97357	7,99119	3,3694 *	2,7192	3	80	0,0225
Fator 2	4	232,97356	58,24339	24,5578 **	3,5643	4	80	<0,0001
Int. F1XF2	12	586,82770	48,90231	20,6192 **	2,4162	12	80	<0,0001
Tratamentos	19	843,77482	44,40920	18,7248 **	2,1408	19	80	<0,0001
Resíduos	80	189,73468	2,37168					
Total	99	1033,5095						

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ns não significativo ($p \geq 0,05$)

Fator 1 = Irradiação Fator 2 = Tempo

FV: Fonte de variação; GL: Graus de liberdade; SQ: Soma dos quadrados; QM: Quadrado médio; F: Estatística do teste F;

A partir da análise sobre as médias de cristalinidade dos tratamentos – Tabela 15, infere-se que o PET 0h, 24h e 48h não diferem estatisticamente entre si, enquanto o mesmo fato ocorre ao com PET48h e PET96h. Constata-se que a cristalinidade do PET 0h de irradiação é de 32%, enquanto o maior índice de cristalinidade é de 33% do PET 24h, comportamento atribuído a biodegradação, visto que, o fungo consome mais substancialmente a parte amorfa do polímero, que possui menor força entre as ligações intermoleculares, mas, esse comportamento oscila conforme a perda de massa de cada grupo de tempo.

Tabela 15 – Teste Tukey para o grau de cristalinidade determinando a partir dos termogramas de DSC das amostras após o CPP.

Teste Tukey – Grau de cristalinidade do PET - CPP									
Médias do fator 1 (Irradiação)					Médias do fator 2 (Tempo)				
0h	32,12719	ab			30 dias	29,45110	c		
24h	32,95586	a			60 dias	31,94088	b	dms	1,36022
48h	32,47554	ab	dms	1,14424	90 dias	33,50135	a		
96h	31,61569	b			120 dias	33,21283	ab		
					150 dias	33,36170	a		

dms: Diferença mínima significativa;
As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si,
Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade;

Em relação as médias gerais dos períodos de tempo, observa-se que estas aumentam, a menor média pertence ao grupo de 30 dias que difere estatisticamente dos demais e, posteriormente, o grupo de 60 dias, essa fase novamente conceituada como a corrida do micélio fase onde o microrganismo requer alta quantidade de nutrientes para seu crescimento e preparo para a fase de maturação, a média dos próximos períodos de tempo não diferem estatisticamente entre si, mas, são superiores as médias dos outros períodos de tempo, fato que indica uma possível estabilidade do processo degradativo no período.

Para a análise do quadro de interação na tabela 16, observa-se que o PET0h, PET 24h, e PET 48h diferem estatisticamente em 30 dias do PET 96h (24,01%). Em 60 dias o PET 48h difere dos demais grupos, assim como em 90 dias é o menor valor de cristalinidade amostrado assim como o maior valor pertence ao PET 96h, em 120 dias apenas o PET 0h difere dos demais sendo o menor valor neste período (30%), em 150 dias novamente o PET 48h difere dos demais agora sendo o maior valor de cristalinidade amostrado no período.

Tabela 16 – Análise de interação para o grau de cristalinidade determinando a partir dos termogramas de DSC das amostras após o CPP.

Interação – Grau de cristalinidade do PET - CPP

Interação: Fator 1 x Fator 2											
		30 dias		60 dias		90 dias		120 dias		150 dias	
1	0h	31,218	aAB	32,294	abAB	33,788	bA	30,800	bB	32,534	bAB
2	24h	31,411	aBC	33,959	aABC	33,988	bAB	34,169	aA	31,240	bC
3	48h	31,159	aBC	29,760	bC	29,466	cC	33,376	aB	38,614	aA
4	96h	24,015	bC	31,748	abB	36,761	aA	34,504	aA	31,048	bB
CV% = 4,77											
dms para colunas: 2,5586						dms para linhas: 2,7204					
Classificação com letras minúsculas;						Classificação com letras maiúsculas;					
CV%: Coeficiente de variação em %						dms: Diferença mínima significativa;					
As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade;											
Normalidade dos dados (alfa = 5%)											
Teste (Estatística)		Valor		Vcrit		p-valor		Normal			
Shapiro-Wilk		0,92734		0,13724		p > 0,05		Sim			

O coeficiente de variação para o ensaio do grau de cristalinidade do PET é considerado baixo, inferior a 5%.

O PET 96h difere em 30 dias, dos demais tratamentos, com o menor valor de cristalinidade amostrado, a exemplo deste comportamento cita-se que na microfotografia da figura 34-14 observa-se o fissuramento da amostra, fato que pode ter influenciado na perda acentuada da cristalinidade.

O PET 48h em 30 dias apresenta o mesmo comportamento do PET0h e fica intermediário aos demais grupos, posteriormente é reduzido nos períodos de 60 dias e 90 dias, não diferindo estatisticamente do valor inicial, logo em 120 dias chega a 32% de cristalinidade e posteriormente em 150 dias a maior média de cristalinidade obtida, 38% de cristalinidade.

O PET 96h inicialmente apresenta 24% de cristalinidade em 30 dias esse valor aumenta e 60 dias e chega a 36% em 90 dias, o maior (36%) percentual obtido, por fim esse decresce novamente.

Como observa-se a partir dos dados apresentados, a variação do percentual de cristalinidade das amostras, pode estar relacionada ao processo biodegradativo sofrido com a interação do fungo.

5.3.4 Cultivo em Tubos de Ensaio

O cultivo em tubos de ensaio foi idealizado com o intuito de reduzir a área de contato do polímero com o fungo, e por meio desta restrição verificar se as interações de perda de massa também eram intensificadas. Esse ensaio não apresentou contaminação.

Os dados amostrados para a determinação da perda de massa podem ser observados no Gráfico 26.

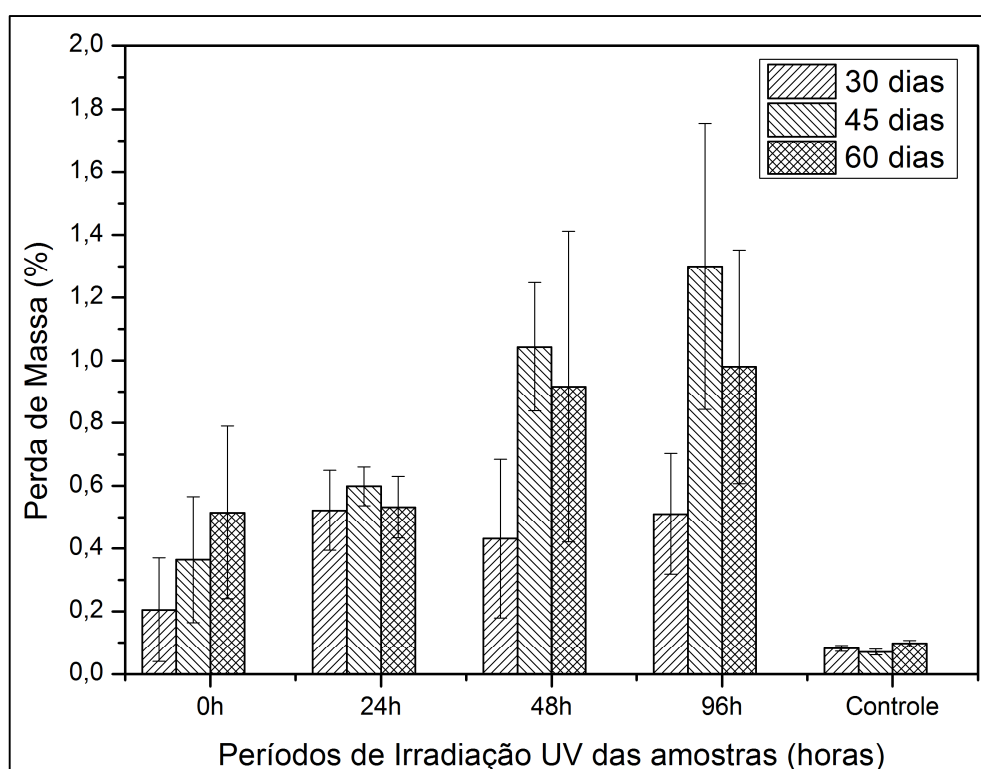


Gráfico 26 – Médias do cultivo em tubos de ensaio no período de 30, 45, e 60 dias.

Os dados da perda de massa foram submetidos a análise de variância e teste Tukey, apresentados na Tabela 17 e 18. A análise estatística dos dados considerou que as médias dos tratamentos (períodos de irradiação UV) foram significativas ao nível de 1% de probabilidade, as médias dos períodos de tempo foram consideradas significativas ao nível de 1% de probabilidade, a interação foi considerada não significativa, conforme os parâmetros utilizados, e os tratamento significativos a 1% de probabilidade, posteriormente o Teste de Tukey indicou as relações.

**Tabela 17 – ANOVA para a determinação do percentual de perda de massa no CTE.
Análise – Determinação de Perda de Massa em CTE**

FV	GL	SQ	QM	F	F-crit	GL	GLR	p
Fator1(F1)	2	2,88730	0,96243	12,7232 **	4,2192	3	48	<,0001
Fator2(F2)	3	1,84723	0,92362	12,2100 **	5,078	2	48	<,0001
Int. F1xF2	6	1,02539	0,17090	2,2592 ns	2,295	6	48	0,0532
Tratamentos	11	5,75993	0,52363	6,9223 **	2,6421	11	48	<,0001
Resíduos	48	3,63093	0,07564					
Total	59	9,39086						

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ns não significativo ($p \geq 0,05$)

Fator 1 = Irradiação Fator 2 = Tempo

FV: Fonte de variação; GL: Graus de liberdade; SQ: Soma dos quadrados; QM: Quadrado médio; F: Estatística do teste F;

Constatou-se com a análise da Tabela 17 que os períodos de tempo são significativos para o cultivo no tubo de ensaio. Na Tabela 18 estão os dados do teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 18 – Teste Tukey para a perda de massa do CTE.

Análise – Determinação de Perda de Massa em CTE

Médias do fator 1				Médias do fator 2			
				30 dias	0,41743	b	
PET 0h	0,36180	c		45 dias	0,82656	a	dms
PET 24h	0,55113	bc	dms	60 dias	0,73601	a	0,21033
PET 48h	0,79697	ab					
PET 96h	0,93009	a					

dms: Diferença mínima significativa;

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si;

Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade;

Normalidade dos dados (alfa = 5%)

Teste (Estatística)	Valor	Vcrit	p-valor	Normal
Kolmogorov_ Smirnov	0,16468	0,06861	$p > 0,05$	Sim

Constatou-se a partir da tabela 18 que, em 45 dias de tratamento foi registrado maior percentual de perda de massa 0,82%, esse dado é não difere estatisticamente do período de 60 dias, no entanto, o período de 45 e 60 dias, diferem do período de 30 dias (0,41%), pois este é o menor percentual de perda de massa registrado.

O processo de biodegradação condiciona-se as condições experimentais utilizadas, assim esse ensaio restringiu a área de contato entre o fungo e polímero, nessa interação os dados de perda de massa ficaram relativamente mais homogêneos em relação aos períodos de tempo de irradiação UV no PET.

Os controles também foram submetidos a análise de variância, porém a diferenças das médias não foram significativas, estes tiveram uma perda de massa de 0,08% em média.

As amostras que apresentaram melhor percentual de perda de massa (0h em 30 dias, 24h e 48h em 60 dias, e 96h em 45 dias) foram submetidas a análise de DSC, TG e DTG. As curvas de DSC podem ser observadas no gráfico 26, e a curva DTG no gráfico 27.

No gráfico 27 é ampliada a faixa que compreende o pico de fusão, constatou-se que ocorre um evento de pré-cristalização próximo a 216°C, logo o pico de fusão ocorre próximo a 250°C.

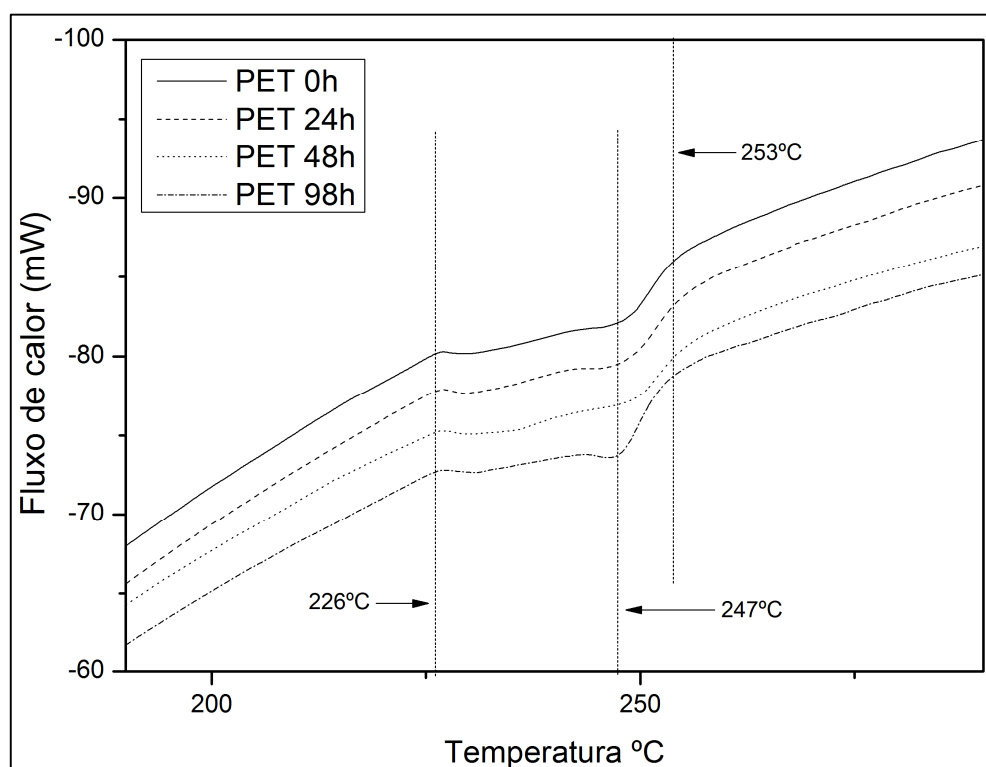


Gráfico 27 – Termograma de DSC obtido para os espécimes com menor perda de massa no CTE.

No gráfico 28 é apresentada a DTG, onde é possível observar informações sobre a estabilidade da amostra.

Na DTG ampliada no gráfico 29, pode-se observar a variação do pico de degradação da amostra, o PET0h, mais estável, apresenta uma temperatura máxima de 435,3 °C, semelhante ao valor aferido para o PET 24h que foi de 435°C, ainda para o PET 48h e 96h, esse valor máximo foi de 434°C.

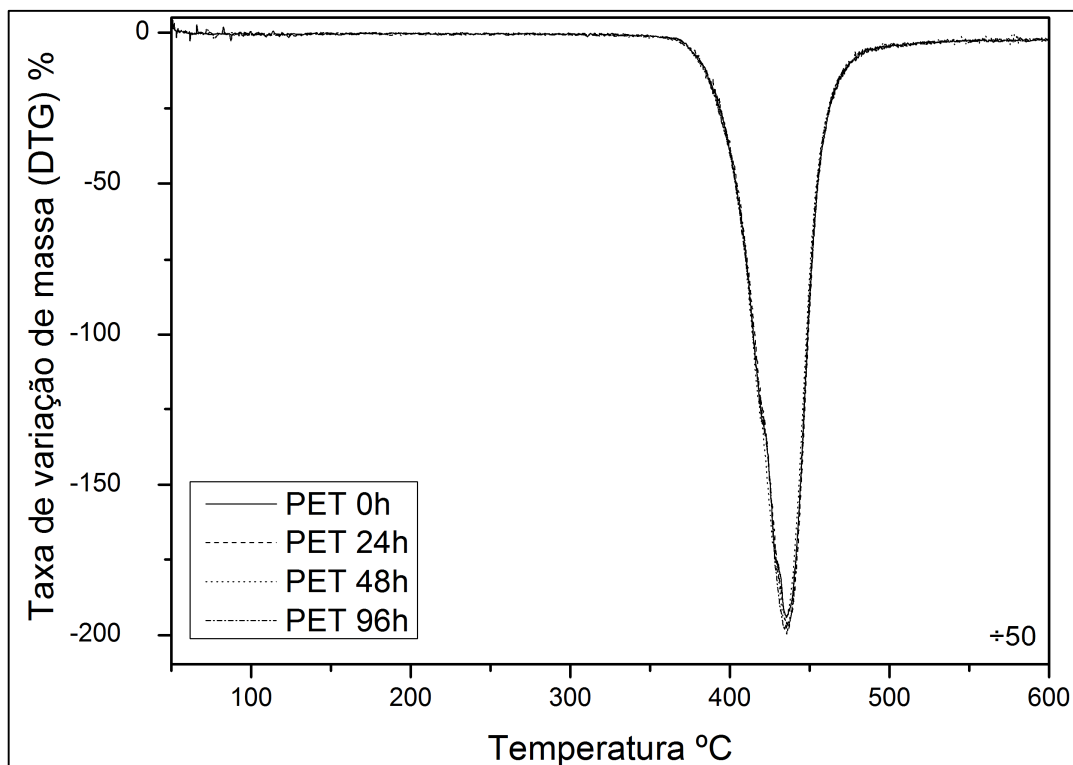


Gráfico 28 – Curva DTG para os espécimes com menor perda de massa no CTE.

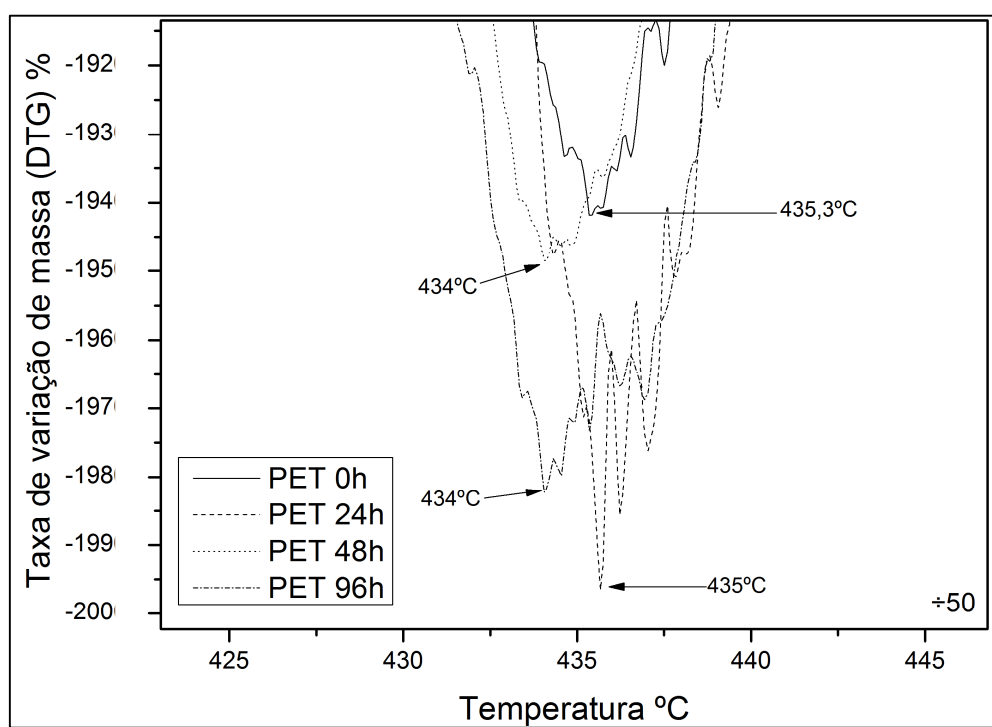


Gráfico 29 – Ampliação no pico das DTG's do PET em cultivo de Tubos de Ensaio.

O ensaio gerou dados do grau de cristalinidade, entalpia de fusão e temperatura de fusão. Os dados para a temperatura de fusão de cada ensaio e a entalpia de fusão podem ser observados na Tabela 19.

Tabela 19 – Dados da temperatura de fusão e entalpia de fusão para o PET do CTE

Trat.	T _m (°C)	ΔH _m (J.g ⁻¹)	σ ±
PET 0h	247,85	41,5654	1,53
PET 24h	248,17	39,701	1,78
PET 48h	249,09	40,3919	0,49
PET 96h	247,16	49,356075	0,80

T_m (°C): Temperatura média; ΔH_m (J.g⁻¹): Entalpia de fusão média; σ ±: Desvio padrão;

Os dados do grau de cristalinidade foram submetidos à análise de variância, em um delineamento inteiramente casualizado. Os resultados podem ser observados na Tabela 20.

Tabela 20 – Anova para o grau de cristalinidade para as amostras de PET após o CTE.

Análise – Grau de cristalinidade das amostras de PET CTE

FV	GL	SQ	QM	F	F-crit	GL	GLR	p
Tratamentos	3	166,3906	55,4635	47,4802 **	5,9525	3	12	<0,0001
Resíduos	12	14,01769	1,16814					
Total	15	180,4083						

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < 0,01); * significativo ao nível de 5% de probabilidade (0,01 ≤ p < 0,05); ns não significativo (p ≥ 0,05)

Médias do tratamento

PET 0h	34,63780	b			dms	2,26969
PET 24h	33,65990	b				
PET 48h	41,13007	a			CV%	3,03
PET 96h	33,08420	b				

FV: Fonte de variação; GL: Graus de liberdade;
SQ: Soma de quadrado; QM: Quadrado médio;
F: Estatística do teste F;
CV%: Coeficiente de variação em %;
DMS: Diferença mínima significativa;

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si;
Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade;

Observa-se a partir do valor de F – Tabela 20, da análise de variância que as médias dos graus de cristalinidade das amostras de PET submetidas ao CTE são significativas ao nível de 1% de probabilidade. Assim com a aplicação do Teste de Tukey, observou-se que a amostra PET 48h difere das demais por ter o maior grau de cristalinidade (41%), o PET0h, 24h e 48h não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade, o PET 24h (33%), seguido pelo PET 48h (34%) e o PET 0h (33%).

A relação entre a perda de massa e a cristalinidade pode ser observada no Gráfico 30:

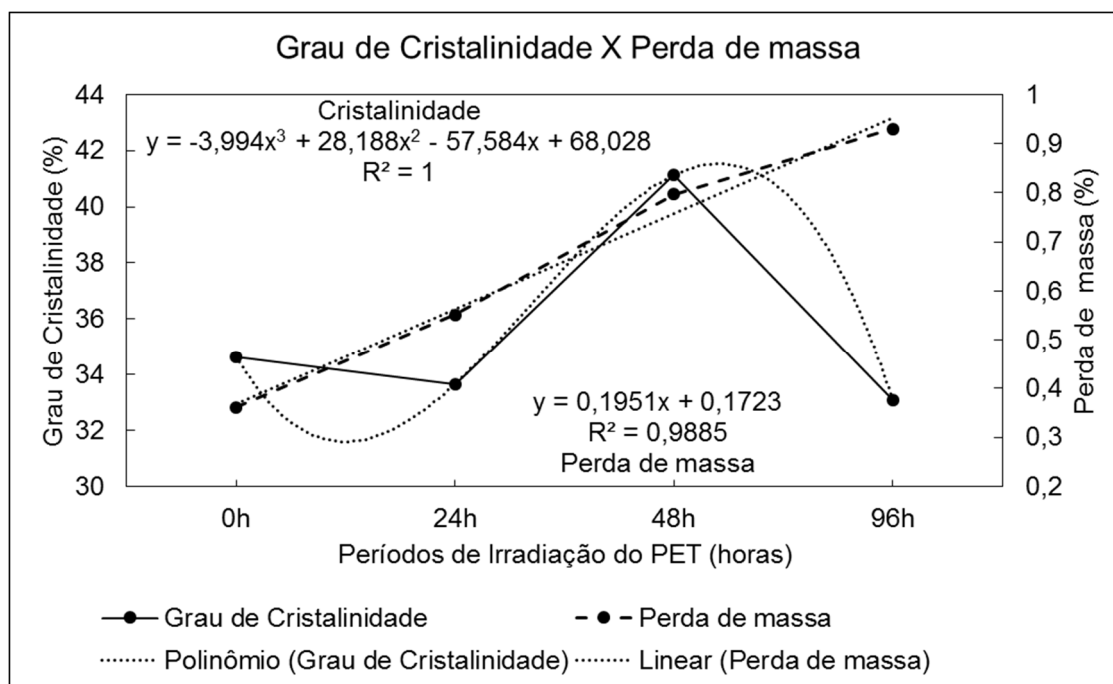


Gráfico 30 – Grau de cristalinidade em relação a perda de massa das médias de cada período de irradiação.

No gráfico 30, são traçados os parâmetros grau de cristalinidade em relação a perda de massa. Para o PET0h o grau de cristalinidade da amostra é de 35%, enquanto a perda de massa é a menor registrada 0,3%, para o PET24h, a cristalinidade diminui enquanto a perda de massa aumenta, no entanto, no PET 48h, a cristalinidade é a maior registrada (41%) e o percentual de perda de massa continua a aumentar, no PET96h, a cristalinidade reduz próximo aos valores do PET 0h e 24h, e a perda de massa continua aumentando com o maior valor registrado (0,9%).

Para a perda de massa sob as condições deste experimento é possível traçar um ajuste de regressão linear no gráfico e calcular o respectivo coeficiente de determinação. Este dado que indica o quanto o modelo consegue explicar os valores amostrados, o R^2 amostrado é de 0,98, uma valor considerado forte, nesse sentido, cerca de 98% das variações da massa do polímero podem ser explicadas pelo tempo de irradiação UV, sob essa condição de estudo. Já para a cristalinidade o ajuste realizado é polinomial de terceira ordem, e explica satisfatoriamente a relação entre as cristalinidade e os períodos de irradiação UV das amostras.

As mudanças na superfície dos polímeros destes períodos de tratamento podem ser observadas na Figura 37.

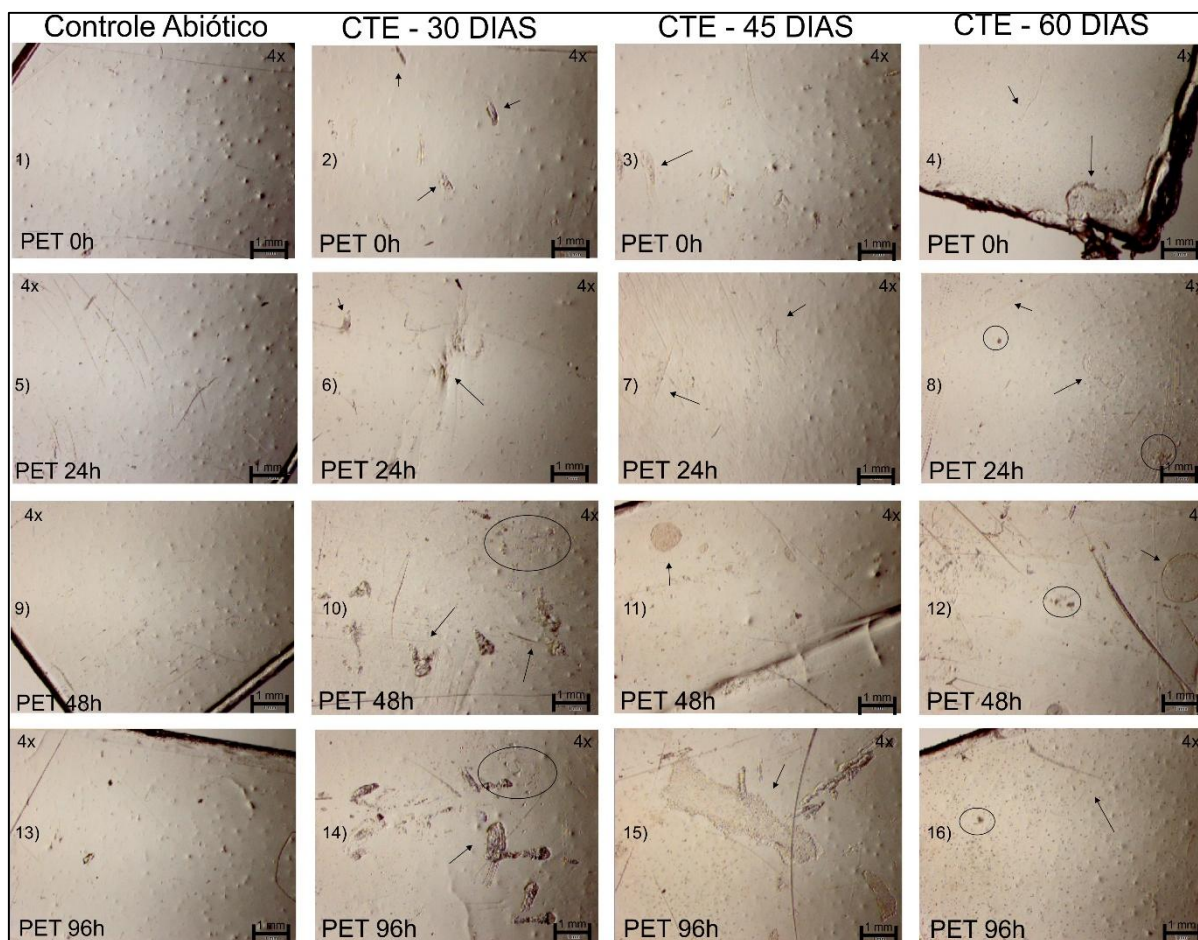


Figura 37 – Microfotografias obtidas por meio de microscopia eletrônica, para o PET após o CTE, ampliadas 4x.

A microscopia óptica indica que superficialmente mudanças ocorreram no PET em virtude da ação do *L. edodes*, como aumento na porosidade (F.37-16), escavações (F.37-14) entre outras, enfatiza-se que o PET 0h apresenta a superfície em melhores condições do que os demais tratamentos, fato que enfatiza que a irradiação UV altera as propriedades do polímero e facilita o processo de biodegradação. A Figura 37-4, mostra o início da degradação a partir das extremidades do PET, considerado um possível ponto de fácil acesso para a penetração da hifa na estrutura polimérica.

5.3.5 Ensaio em Fermentação Semissólida

O ensaio de fermentação semissólida não pode ser concluído conforme planejamento inicial, em virtude de problemas técnicos, que causaram o superaquecimento da incubadora durante o período de crescimento do fungo, após 60 dias de tratamento, portanto, para esse ensaio foi analisada a perda de massa em um período de 30 e 60 dias, bem como avaliada a oscilação do pH dos extratos no período de tratamento, e realizada a DSC com a determinação do grau de cristalinidade ($\alpha_c\%$), da temperatura de fusão (T_f °C), e a entalpia de fusão ΔH_f (J.g⁻¹).

Na fermentação semissólida (FSS), ocorreu um percentual de 14,5% de contaminação das amostras que continham PET, reduzindo os ensaios a duplicatas.

No Gráfico 31 por meio da disposição em barras, exemplifica-se os percentuais de perda de massa para esse ensaio. Observa-se que para os ensaios de PET 24h é possível verificar cerca de 2,35% de perda de massa, maior valor registrado para o ensaio.

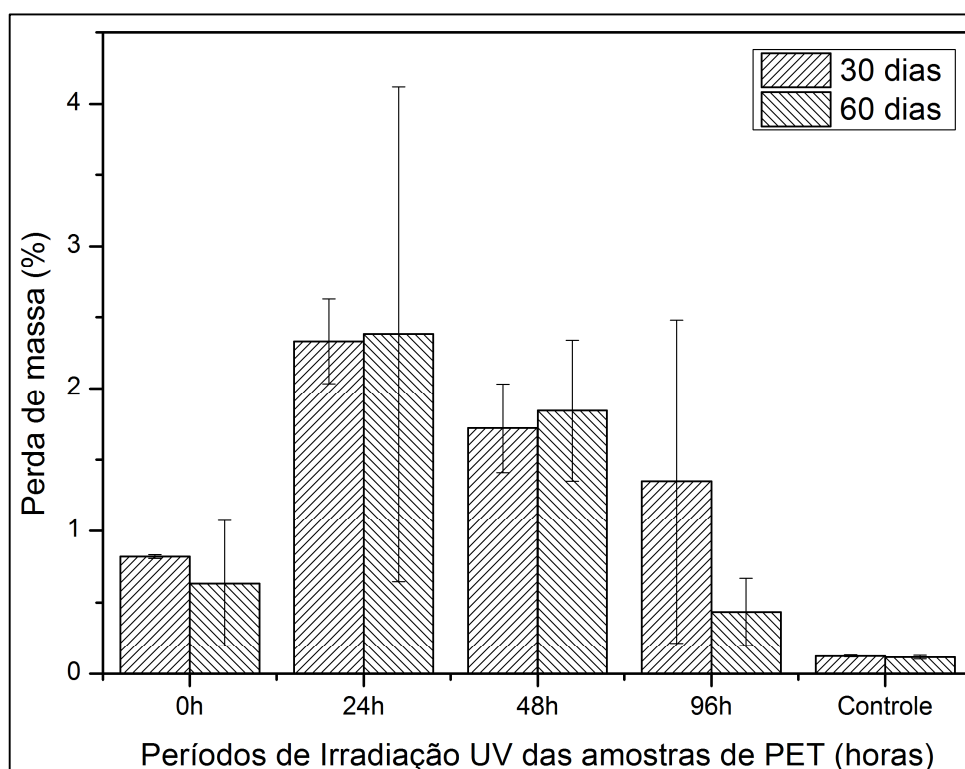


Gráfico 31 – Percentual de perda de massa no PET em ensaio de Fermentação Semissólida

Com base no gráfico 31, ainda, a média para o PET 0h também pode ser considerada satisfatório, porém inferior aos períodos de irradiação, assemelhando-se ao PET 96h, com cerca de 0,7% de perda de massa. O PET 48h é intermediário e apresentou cerca de 1,7% de perda de massa.

Os fatos que podem explicar as oscilações entre a perda de massa dos diferentes períodos de tempo de irradiação em relação aos períodos do tratamento são as mudanças estruturais sofridas pela molécula em virtude da irradiação UV e a complexidade dos mecanismos de interação do PET com o substrato e com o fungo.

Ao observar os dados obtidos e possível compará-los ao estudo de Silva (2009) sobre biodegradação do PET por linhagens do fungo *Pleurotus*, na qual a autora utilizou a fermentação semissólida e obteve em percentual de redução de massa para o PET proveniente de garrafas pós-consumo, em 30 dias, de uma média de 0,13%, em 60 dias, uma média de 0,24% e em 90 dias uma média de 0,36%. Constata-se que os polímeros sob as condições deste estudo, e pelo fungo utilizado, apresentaram maior perda de massa, especialmente após a irradiação UV nas amostras, outro indicativo de que a irradiação UV influencia positivamente o processo de degradação biológica do material, assim como, o fungo estudado apresentou um bom potencial para o emprego em processos biodegradativos como os empregados neste estudo.

A determinação de perda de massa do PET no ensaio de fermentação semissólida, foi submetida a análise de variância e ao Teste Tukey de comparação de médias, os resultados podem ser observados nas tabelas 21 e 22.

**Tabela 21 - ANOVA para a determinação do percentual de perda de massa na FSS.
Análise – Determinação de percentual de perda de massa (g) PET – Fermentação Semissólida**

FV	GL	SQ	QM	F	F-crit	GL	GLR	p
Fator 1	4	12,68130	3,17033	5,9665 *	3,478	4	10	0,0101
Fator 2	1	0,17046	0,17046	0,3208 ns	0,001	1	10	0,5835
Int. F1xF2	4	0,71961	0,17990	0,3386 ns	0,113	4	10	0,8459
Tratamentos	9	13,57137	1,50793	2,8379 ns	3,0204	9	10	0,0599
Resíduos	10	5,31352	0,53135					
Total	19	18,88490						

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ns não significativo ($p \geq 0,05$)

Fator 1 = Irradiação Fator 2 = Tempo

FV: Fonte de variação; GL: Graus de liberdade; SQ: Soma dos quadrados; QM: Quadrado médio; F: Estatística do teste F;

Na tabela 21 é possível observar que conforme o valor de F as médias do fator 1, contemplado com os períodos de irradiação difere significativamente ao nível de 5% de confiança.

Este ensaio apresentou percentual de perda de massa superior ao cultivo em placas de PET e cultivo em tubos de ensaio, este fato pode ser justificado pelas diferenças entre os substratos utilizados no cultivo, e condição de temperatura empregada na execução do ensaio.

Na tabela 22, é possível verificar que o PET 24h apresenta o maior valor de perda de massa amostrado (2,35%), enquanto o PET 48h apresentou 1,78% de perda de massa, posteriormente o PET 96h apresentou 0,89%, e o PET 0h com 0,72% de perda de massa, os controles ficaram com cerca de 0,11% de perda de massa que pode ser atribuído ao processo de desinfecção das amostras.

Tabela 22 – Teste Tukey para a determinação do percentual de perda de massa na FSS. Análise – Determinação de percentual de perda de massa (g) PET – Fermentação Semissólida

Médias do fator 1					Médias do fator 2				
0h	0,72675	ab			30 dias	1,26903	a	dms	0,72611
24h	2,35718	a			60 dias	1,08439	a		
48h	1,78893	ab	dms	1,6984					
96h	0,89143	ab							
Controle	0,11928	b							

dms: Diferença mínima significativa;
Fator 1 = Irradiação UV Fator 2 = Tempo

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si,
Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade;

CV% = 61,95

Normalidade dos dados (alfa = 5%)				
Teste (Estatística)	Valor	Vcrit	p-valor	Normal
Kolmogorov- Smirnov (D)	0,14250	0,19238	p > 0,15	Sim

O substrato utilizado nesse ensaio, assim como no cultivo axênico pode ser considerado mais atrativo para o crescimento fúngico, pois o *L. edodes*, apresenta capacidade de utilizar a lignina, celulose e hemicelulose, como fonte de carbono e nutrientes, além da utilização de resíduos agroindustriais como suplementos nutricionais importantes pois são fontes de proteínas, carboidratos e nutrientes essenciais para o crescimento do fungo (MONTINI, 2001).

Durante a degradação de um polímero, inicialmente este é convertido em monômeros e, posteriormente, os monômeros são mineralizados. Para tanto, as grandes cadeias carbônicas precisam ser despolimerizadas em monômeros, para serem absorvidas através da membrana celular, e se biodegradar no interior do organismo (SHAH, *et al.*, 2008). Para fazer essa cisão das cadeias poliméricas, os fungos utilizam seu aparato enzimático, e pressupõe-se que os cultivos que utilizam condições naturais de substrato sejam favorecidos.

Considera-se que o *L. edodes* é capaz de produzir altas quantidades de hidrolases e oxidases durante o processo de bioconversão de resíduos lignocelulósicos. Na fase da colonização do substrato especialmente, enzimas extracelulares são secretadas e são capazes de degradar a matéria orgânica, e por meio da transformação desta em compostos orgânicos solúveis, que posteriormente são passíveis de absorção pelas hifas (BITTENCOURT, 2007).

As microfotografias podem auxiliar na identificação das degradações sofridas pelo polímero em diferentes níveis de variações, e podem ser observadas na Figura 38.

Dentre as alterações observadas é possível perceber incrustações, escavações, falhas, resíduos de hifas, porosidade e rugosidade, além do aspecto heterogêneo conferido as amostras.

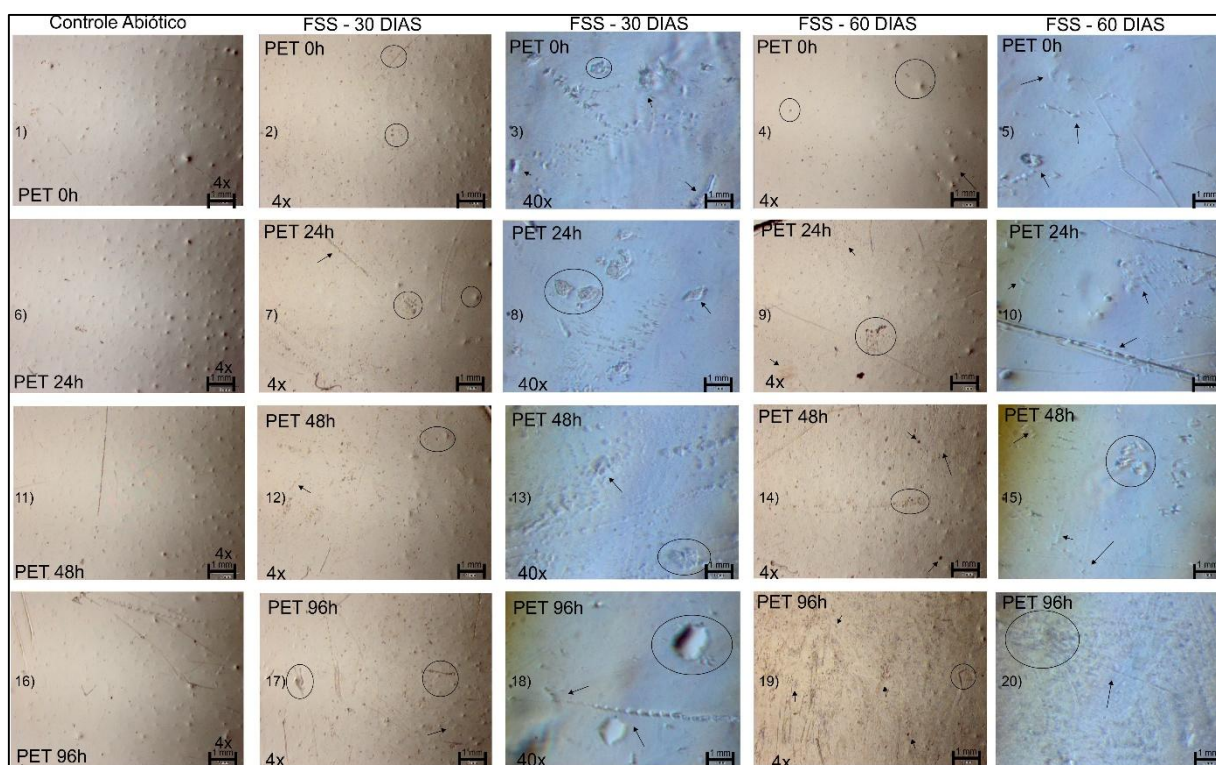


Figura 38 – Composição de microfotografias do PET, em seus distintos períodos de irradiação UV, após o período de interação com o fungo no cultivo de FSS, obtidas por microscopia óptica com ampliação de 4x e 40x.

Espécimes de cada grupos de ensaios, foram submetidos a análise de DSC, a partir das curvas foram calculados o grau de cristalinidade ($\alpha_c(\%)$), a temperatura de fusão (T_f ($^{\circ}\text{C}$)), e a entalpia de fusão ΔH_f (J.g^{-1}).

Os termogramas de DSC das amostras podem ser observadas nos gráficos 32, 33, 34 e 35.

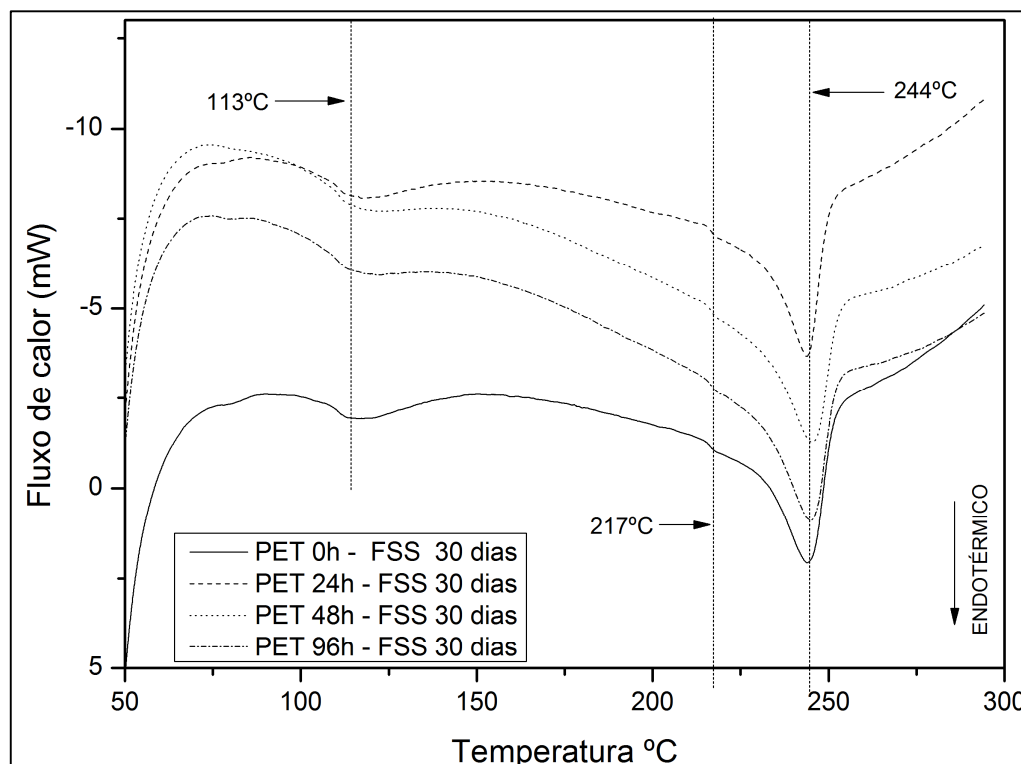


Gráfico 32 – Termogramas de DSC para o PET após o ensaio de FSS em 30 dias.

No gráfico 32 é possível observar um evento em torno da temperatura de 113°C, atribuído a uma possível transição vítrea da amostra, posteriormente o ocorre uma pré-cristalização na temperatura em torno de 217°C, logo, o pico de fusão das amostras se caracteriza em 244°C.

No gráfico 33 é possível observar a ampliação da faixa do ponto de fusão. Pequenas variações são observadas em relação a intensidade e estrutura do pico de fusão, ainda é possível observar a pré-cristalização na faixa de 216°C.

No gráfico 34 observa-se o termograma completo de DSC das amostras de PET após um período de 60 dias em interação com o fungo.

Observa-se o mesmo evento do termograma de 30 dias em 111°C, considerado uma transição vítrea, uma pré cristalização em torno de 214°C e a fusão do material próximo de 245°C.

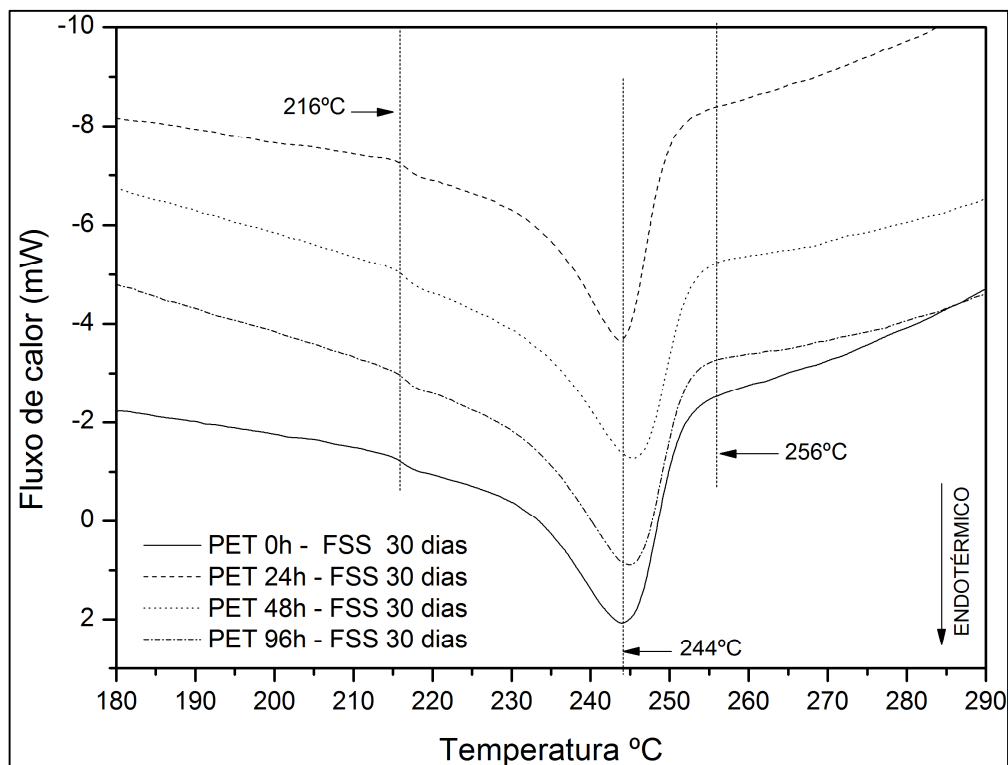


Gráfico 33 – Termogramas de DSC com ênfase no pico de fusão das amostras de PET após o ensaio de FSS em 30 dias.

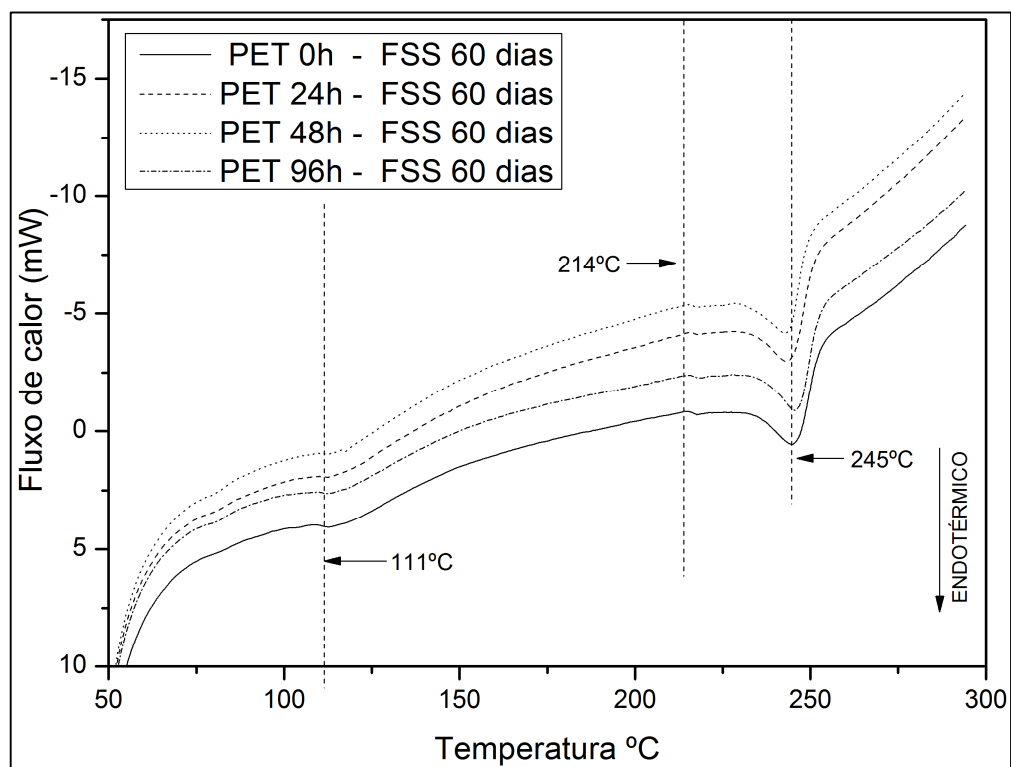


Gráfico 34 – Termogramas de DSC para o PET após o ensaio de FSS em 60 dias.

No gráfico 35 é ampliado o pico de fusão dos espécimes coletados após 60 dias no ensaio de fermentação semissólida. Evidencia-se a formação de uma região de pré-cristalização na faixa de 216°C, e a fusão próxima a 245°C.

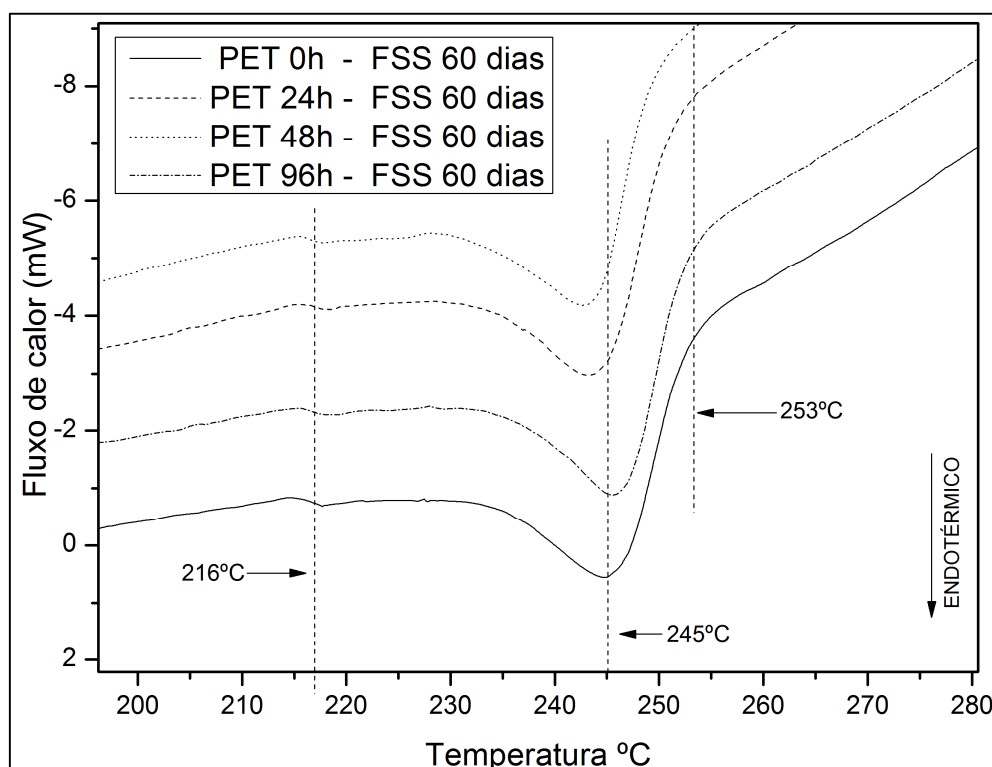


Gráfico 35 - Termogramas de DSC com ênfase no pico de fusão das amostras de PET após o ensaio de FSS em 60 dias.

Os dados do grau de cristalinidade foram submetidos a análise de variância e do Teste Tukey, os resultados são observados na Tabela 23.

Tabela 23 – ANOVA para o grau de cristalinidade dos polímeros do ensaio de FSS.

Análise – Determinação da cristalinidade do PET - FSS

FV	GL	SQ	QM	F	F-crit	GL	GLR	p
Fator1(F1)	3	206,43376	68,81125	10,0977 **	5,2922	3	16	0,0005
Fator2(F2)	1	787,07765	787,07765	115,4993 **	8,531	1	16	<,0001
Int. F1xF2	3	130,97885	43,65962	6,4068 **	5,2922	3	16	0,0046
Tratamentos	7	1124,49025	160,64146	23,5733 **	4,0259	7	16	<,0001
Resíduos	16	109,03304	6,81457					
Total	23	1233,52330						

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ns não significativo ($p \geq 0,05$)

Fator 1 = Irradiação UV Fator 2 = Tempo

FV: Fonte de variação; GL: Graus de liberdade; SQ: Soma dos quadrados; QM: Quadrado médio; F: Estatística do teste F;

Com a análise de variância da tabela 23, com base no valor de F, constata-se que os fatores 1 e 2 (Irradiação UV e Tempo), a interação entre eles e os tratamentos influenciam de forma significativa a cristalinidade do PET, ao nível de 5% de probabilidade. Assim, aplicou-se o teste de comparação de médias de Tukey, ao nível de 95% de confiança, o resultado pode ser observado na Tabela 24.

**Tabela 24 – Teste Tukey para o grau de cristalinidade dos polímeros do ensaio de FSS.
Análise – Determinação da cristalinidade do PET - FSS**

Médias do fator 1				Médias do fator 2					
0h	42,83080	a							
24h	37,42278	b			30 dias	47,56258	a	dms	2,26074
48h	41,53278	ab	dms	4,31617	60 dias	36,10921	b		
96h	45,55723	a							
dms: Diferença mínima significativa; Fator 1 = Irradiação UV Fator 2 = Tempo									
As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade;									
Médias de interação: Fator 1 x Fator 2 (Ax B)									
	30 dias				60 dias				
0h	51,0639	aA		0h	34,5977	bB			
24h	41,0658	bA		24h	33,7798	bB			
48h	49,4057	aA		48h	33,6599	bB			
96h	48,7149	aA		96h	42,3995	aB			
CV% = 6,24									
dms para colunas: 6,1040					dms para linhas: 4,5215				
Classificação com letras minúsculas;					Classificação com letras maiúsculas;				
CV%: Coeficiente de variação em %					dms: Diferença mínima significativa;				
As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade;									
Fator 1 = Irradiação UV Fator 2 = Tempo									
Normalidade dos dados (alfa = 5%)									
Teste (Estatística)	Valor	Vcrit		p-valor					Normal
Kolmogorov- Smirnov (D)	0,17659	0,17679		p > 0,05					Sim

Na tabela 24 é possível constatar que as médias para os tratamentos do PET 24h (37%) não difere do PET 48h (41%), mas o PET 24h diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade, dos maiores valores para a cristalinidade, 42% do PET 0h e 45% do PET 96h. Observa que os valores do grau de cristalinidade de um período para o outro reduzem, este pode ser um indicativo do consumo do polímero pelo fungo.

O grau de cristalinidade em relação aos períodos de tempo do estudo apresentou diferença média significativa estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade. Com base nos dados infere-se que é possível que o PET torne-se menos cristalino após o tratamento com o *L. edodes*. Esse fato sugere que o fungo consoma efetivamente para este ensaio tanto a parte amorfa do polímero, quanto a fase cristalina.

No gráfico 36, é possível observar os dados das médias de perda de massa para os dois períodos de tempo, relacionados às médias do grau de cristalinidade, obtidos por meio das curvas de DSC. Observa-se que a relação que pode ser estabelecida é de que inicialmente o PET0h apresenta uma cristalinidade de 43%, e um pequeno índice de perda de massa, 0,7%, logo a relação se inverte em 24h a cristalinidade é inferior com cerca de 38%, enquanto se registra-se a maior perda de massa 2,3%, posteriormente no PET48h a cristalinidade é semelhante a apresentada pelo PET 0h, levemente inferior, porém a perda de massa é superior ao comparativo com cerca de 1,7% de perda de massa, por fim o PET 96h apresentou um declínio em relação a perda de massa com o valor em torno de 0,7%, e uma cristalinidade superior a todos os outros períodos, com 45% de cristalinidade.

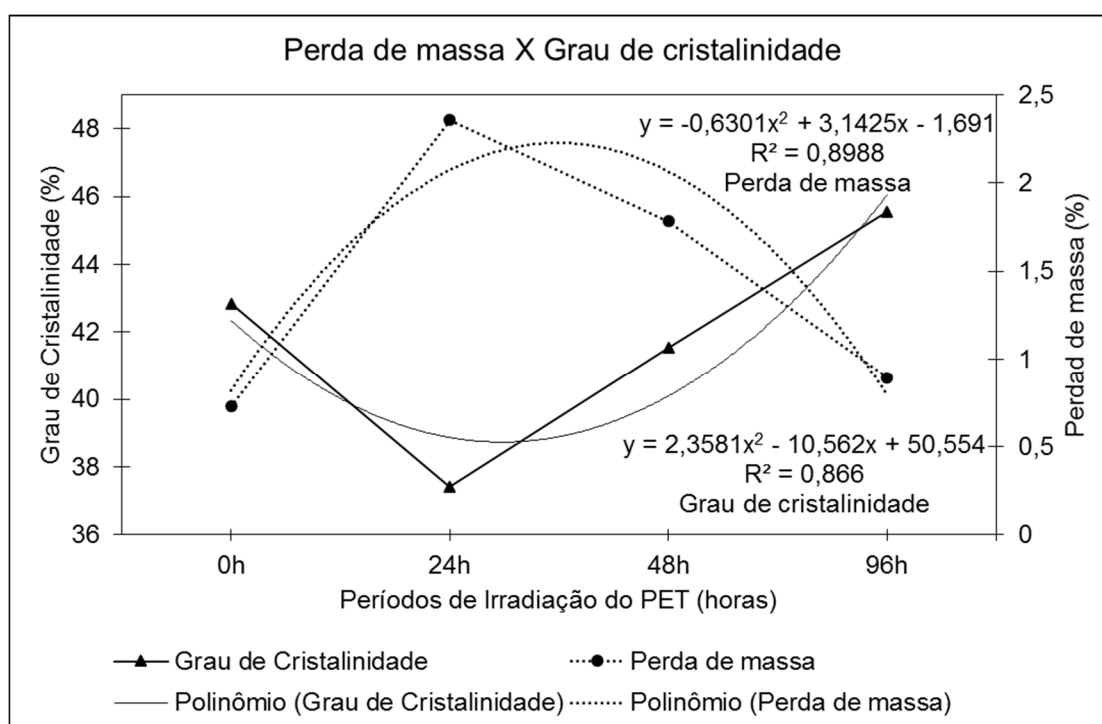


Gráfico 36 – Relação entre o Grau de Cristalinidade e a perda de massa das amostras de PET do ensaio em FSS.

Conforme o Gráfico 36, é possível traçar um ajuste polinomial quadrático, e calcular os respectivos coeficiente de determinação, que podem indicar quanto a medida de uma variável pode se explicada pela variabilidade da outra, assim, quanto maior o R^2 (mais próximo a 1), mais explicativo é o modelo utilizado, nesse sentido, o valor de R^2 obtido para o grau de cristalinidade e o percentual de perda de massa, é de 86% e 89% respectivamente, valores que indicam uma forte relação entre as

variáveis grau de cristalinidade e o percentual de perda de massa em relação aos períodos de tempo de irradiação UV nas amostras de PET deste tratamento.

Considera-se que o crescimento fúngico é influenciado pelo pH de diferentes formas, sobretudo na propriedade de afetar a produção enzimática que proporciona a degradação do substrato, além de afetar a solubilidade dos compostos (BITTENCOURT, 2007).

Jara (2007) em seu estudo sobre a produção de biofilmes e enzimas sintetizadas no processo de degradação também observou oscilação no pH dos ensaios, logo sugere-se que há presença de metabólitos oriundos do processo de uma possível degradação no polímero, cause alteração do pH do substrato.

Após o período de incubação com o fungo, ocorreu a retirada dos extratos, inicialmente era prevista a determinação enzimática, no entanto apenas o pH foi determinado.

No gráfico 37, apresenta-se uma relação entre a perda de massa e o pH amostrado nos ensaios. Para o pH verifica-se que ocorre o aumento do mesmo conforme aumenta-se o período de tempo de irradiação das amostras PET. O pH é uma medida que pode refletir a partir da despolimerização do material, por meio do aparato enzimático do fungo *L. edodes*.

Ao relacionar a perda de massa com o pH, observa-se que para o pH (Gráfico 37) é possível traçar uma reta de ajuste por meio de uma regressão linear e calcular o respectivo coeficiente de determinação, um dado que indica o quanto o modelo consegue explicar os valores observados, nesse sentido, cerca de 89% das variações do pH podem ser explicadas pelos períodos de irradiação UV, no entanto, não seguem o mesmo padrão da perda de massa, discutido anteriormente. Este fato pode indicar que para o PET 96h, a interação com o substrato e com o fungo ocasionou um pH com o maior valor registrado, 5,59, e possivelmente não seja ideal para esse cultivo pois a perda de massa foi semelhante a do PET 0h, uma média de 0,8%.

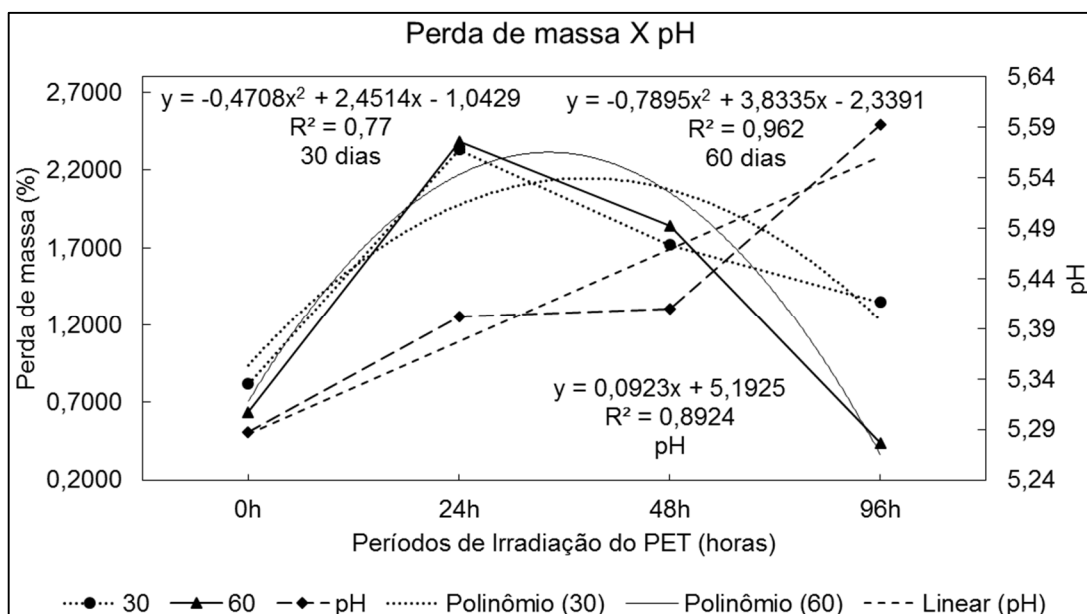


Gráfico 37 – Distribuição das médias de perda e ganho de massa na FSS.

Com as informações coletadas pressupõe-se que a produção de enzimas atua de forma fundamental na biodegradação dos polímeros, e pode ocasionar até modificações intermoleculares, em virtude da interação fungo-substrato-polímero.

Os dados amostrados para o pH, em duplicatas, foram submetidos a análise estatística, e os resultados podem ser observados na Tabela 25.

Tabela 25 - ANOVA para os valores de pH obtidos na FSS.

Análise – Determinação do pH - FSS

FV	GL	SQ	QM	F	F-crit	GL	GLR	p
Fator 1	5	1,904	0,380	1364,409**	5,0643	5	12	<0,0001
Fator 2	1	0,003	0,003	10,8806 **	9,3302	1	12	0,0068
Int. F1xF2	5	0,333	0,066	238,8448 **	5,0643	5	12	<0,0001
Tratamentos	11	2,240	0,203	729,7408 **	4,2193	11	12	<0,0001
Resíduos	12	0,003	0,0002					
Total	23	2,244						

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ns não significativo ($p \geq 0,05$)

Fator 1 = Irradiação

Fator 2 = Tempo

FV: Fonte de variação; GL: Graus de liberdade; SQ: Soma dos quadrados; QM: Quadrado médio; F: Estatística do teste F;

A análise de variância constatou que existe uma influência significativa para o pH, ao nível de 1% de probabilidade para os Fatores 1 e 2 (Irradiação e tempo), para a interação entre eles, e para os tratamentos e seus respectivos controles.

A análise do Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade pode ser observada na tabela 26.

**Tabela 26 – Teste Tukey para os valores de pH obtidos na FSS.
Análise – Determinação do pH -FSS**

Médias do fator 1				Médias do fator 2			
Cont. Abiótico	6,15250	a					
PET 0h	5,28750	d		30 dias	5,59000	a	dms
PET 24h	5,40250	c	dms	60 dias	5,56750	b	0,01486
PET 48h	5,41000	c					
PET 96h	5,59250	b					
Cont. Biótico	5,62750	b					

dms: Diferença mínima significativa;

Fator 1 = Irradiação

Fator 2 = Tempo

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si,
Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade;

O pH variou entre os tratamentos de forma que o controle abiótico (sem o *L. edodes*) apresentou o maior valor, (6,15), média que difere ao nível de significância dos demais tratamentos. O Controle Biótico (substrato e *L. edodes*) apresentou médias sem diferenças apenas ao PET96h.

O PET24h é estatisticamente igual ao PET 48h, e apresentaram médias diferentes dos demais tratamentos, logo, o menor valor e diferente de todos os tratamentos foi o PET 0h com um pH de 5,28. Em relação aos períodos de tempo o período de 60 dias apresentou média de pH menor do que em 30 dias.

Considera-se que no PET os monômeros estão ligados através de ligações éster e as enzimas podem degradar por hidrólise essas ligações, em especial a enzima esterase, considerada intrínseca em organismos vivos (SHARON e SHARON, 2012). A alteração do pH dos ensaios pode ser indicadora da ocorrência do processo de hidrólise do PET por meio das enzimas secretadas pelo fungo.

Com base nas informações é possível observar que a composição do substrato para os ensaios foi a mesma, constatada a alteração esta pode ser atribuída ao tratamento do polímero pela radiação UV, que disponibilizou maior quantidade de grupos carboxílicos e glicóis para a hidrólise proporcionada pela atividade enzimática do meio e sua interação com o fungo.

A redução do pH de um período para outro também pode ser atribuída ao fato do micélio estar próximo ao período de maturação e logo a frutificação, nessa faixa o pH ideal é entre 3,5 e 5 (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990).

A análise de interação entre os tratamentos do PET e os períodos de tratamento com o fungo, compõem a tabela 27.

Tabela 27 - Análise de interação para o pH na FSS.

Análise – Determinação do pH - FSS					
Interação: Fator 1 x Fator 2 (AxB)					
		30 dias		60 dias	
1	Cont. Abiótico	6,0250	aB	6,2800	aA
2	PET 0h	5,1300	eB	5,4450	cA
3	PET 24h	5,5300	dA	5,2750	dB
4	PET 48h	5,5450	dA	5,2750	dB
5	PET 96h	5,6850	bA	5,5000	cB
6	Cont. Biótico	5,6250	aB	5,6300	bA
CV% = 0,30					
DMS para colunas: 0,0561			DMS para linhas: 0,0364		
Classificação com letras minúsculas;			Classificação com letras maiúsculas;		
CV%: Coeficiente de variação em %			dms: Diferença mínima significativa;		
As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade;					
Fator 1 = Irradiação			Fator 2 = Tempo		
Normalidade dos dados (alfa = 5%)					
Teste (Estatística)	Valor	Vcrit	p-valor	Normal	
Kuiper (V)	0,28199	0,29103	p > 0,05	Sim	

Em relação a interação – Tabela 27, no controle abiótico, PET 0h e controle biótico, o pH em 60 dias diferiu significativamente dos demais tratamentos, sendo superiores, em 30 dias, os mesmos grupos diferem e são inferiores ao PET 24h, 48h e 96h.

O PET 48 diferiu em relação aos tratamentos do PET controle biótico e abiótico e do PET0h e do PET96, mas não diferiu em relação ao período de tempo do estudo, em 30 e 60 dias. O PET 96 diferiu em relação ao período de tempo de tratamento com uma redução do pH em 60 dias. O controle biótico diferiu em relação as médias dos tratamentos em 30 dias e em 60 dias equiparou-se com o PET 0h.

Ressalta-se que o teor de acidez condiciona as atividades enzimáticas que são as principais responsáveis pelo processo de biodegradação.

É importante enfatizar que o crescimento do fungo é influenciado pelo pH, no cultivo de *L. edodes*, considera-se que o pH ótimo do inóculo é entre 3,9 e 5,7, e o pH ótimo para que ocorra a frutificação seja entre 3,5 a 5 (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990). Constata-se que o pH esteve em uma faixa aceitável para o cultivo do fungo.

5.3.6 Cultivo Axênico

O cultivo axênico apresentou um índice de contaminação de 20% dos ensaios, reduzindo-o de quintuplicatas a quadruplicatas, a interação do fungo com o PET foi determinada pela análise da determinação de perda de massa e através do ensaio de tração mecânica.

Após o período de incubação, foram coletados os extratos dos cultivos e o pH determinado. A análise estatística para o pH do cultivo axênico pode ser observada na Tabela 28.

O pH do substrato é um dos fatores considerados essenciais para o desenvolvimento do *L. edodes*. O pH ótimo para que ocorra a degradação da madeira é entre 4,5 a 5,5, assim como, para o crescimento micelial pode-se considerar um pH ideal entre 3,5 a 4,3 (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990).

Tabela 28 – ANOVA para o pH dos ensaios de cultivo axênico.

Análise – Determinação do pH no cultivo axênico,

FV	GL	SQ	QM	F	F-crit	GL	GLR	p
Fator1(F1)	4	12,61796	3,15449	1250,5416 **	4,4307	4	20	<0,0001
Fator2(F2)	3	6,69947	2,23316	885,2947 **	4,9382	3	20	<0,0001
Int. F1xF2	12	14,71130	1,22594	486,0025 **	3,2311	12	20	<0,0001
Tratamentos	19	34,02873	1,79099	710,0042 **	2,9614	19	20	<0,0001
Resíduos	20	0,05045	0,00252					
Total	39	34,07918						

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ns não significativo ($p \geq 0,05$)

Fator 1 = Irradiação Fator 2 = Tempo

FV: Fonte de variação; GL: Graus de liberdade; SQ: Soma dos quadrados; QM: Quadrado médio; F: Estatística do teste F;

Tabela 29 – Teste Tukey para o pH dos ensaios de cultivo axênico.

Análise – Determinação do pH no cultivo axênico,

Médias do fator 1				Médias do fator 2			
PET 0h	4,16125	b		30 dias	4,1580	c	
PET 24h	4,07375	c		60 dias	4,3010	b	dms 0,0628
PET 48h	4,21750	b	dms 0,07529	90 dias	4,1430	c	
PET 96h	4,16500	b		120 dias	4,4010	a	
Controle Abiótico	5,55375	a					

dms: Diferença mínima significativa;

Fator 1 = Irradiação Fator 2 = Tempo

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si;

Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade;

A análise de variância conforme o valor de F, constatou que rejeita-se a hipótese de nulidade para os fatores 1 e 2, a interação e os tratamentos, ao nível de 1% de probabilidade.

Na tabela 29, a partir do teste de Tukey é possível inferir que as diferenças entre as médias, estão no controle abiótico que apresentou maior pH (5,5) em relação aos demais tratamentos, assim como o PET24h, que apresentou o menor valor de pH registrado durante o tratamento. Considera-se ainda que o PET0h, PET48h e PET96h apresentam valores intermediários e não diferem estatisticamente entre si.

Em relação aos períodos do estudo, as médias apresentaram aumento significativo entre os períodos de tempo apenas em 30 e 60 dias são iguais ao nível de 5% de probabilidade para alguns tratamentos.

Considera-se que o pH dos substratos esteve adequado para o crescimento micelial do *L. edodes*.

Tabela 30 – Análise da interação dos tratamentos de irradiação UV nos tempos para o pH dos estratos do cultivo axênico.

Análise – Determinação do percentual de perda/ganho de massa no cultivo axênico,									
Interação: Fator 1 x Fator 2 (AxB)									
Trat.		30 dias		60 dias		90 dias		120 dias	
1	0h	4,4150	aA	3,7750	dC	4,0900	bcB	4,3650	cA
2	24h	3,7450	bD	4,3900	aA	4,1750	bB	3,9850	dC
3	48h	4,3650	aA	4,2200	bB	3,9400	cC	3,9400	cAB
4	96h	3,7600	bD	3,9750	cC	4,1200	bB	4,8050	bA
5	Controle Abiótico	4,5050	aC	4,3900	aC	5,1450	aB	8,1750	aA
CV% = 1,13									
dms para colunas: 0,1506					dms para linhas: 0,1406				
Classificação com letras minúsculas;					Classificação com letras maiúsculas;				
CV%: Coeficiente de variação em %					dms: Diferença mínima significativa;				
As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade;									
Fator 1 = Irradiação					Fator 2 = Tempo				
Normalidade dos dados (alfa = 5%)									
Teste (Estatística)	Valor	Vcrit	p-valor	Normal					
Kolmogorov_Smirnov	0,09117	1	p > 0,05	Sim					

Na tabela 30 é possível observar a análise de interação entre os tratamentos de UV e os períodos de tempo para o pH dos estratos obtidos no cultivo axênico. Observa-se que em relação aos períodos de tempo as médias não diferem no controle abiótico apenas.

As oscilações do pH para o controle abiótico, cujo maior valor registrado foi de 8,17 em 120 dias, indicam que também pode ocorrer a interação substrato-PET, em virtude da umidade e condições ambientais submetidas ao sistema.

Algumas curvas representativas do ensaio de tração mecânica, para cada período de irradiação UV, em relação ao tempo de tratamento, podem ser observadas na sequência de gráficos 38, 39, 40 e 41.

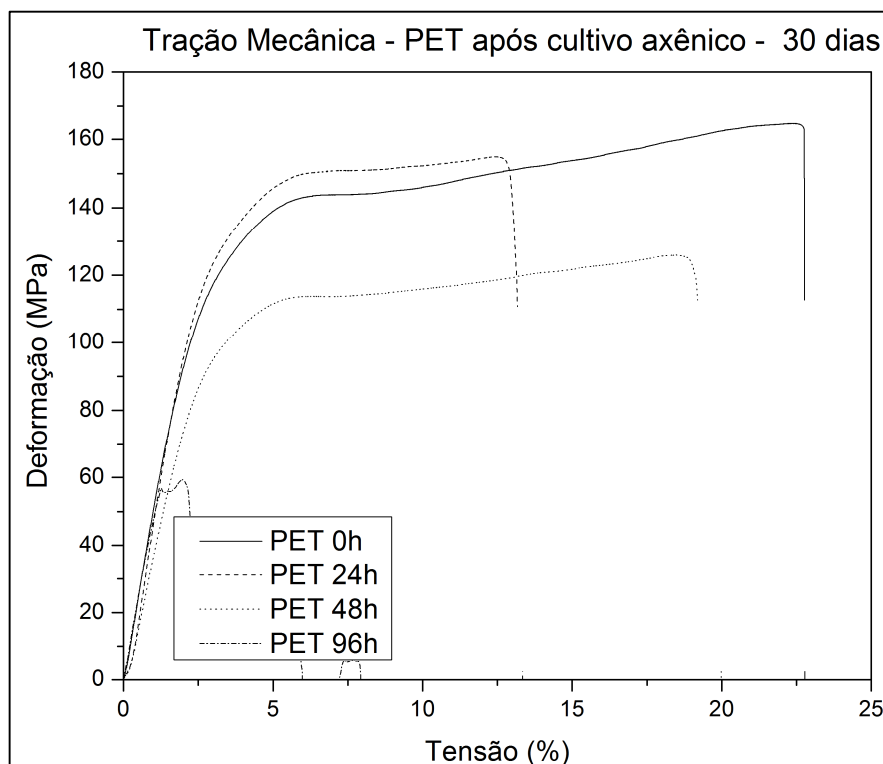


Gráfico 38 – Curva de tensão deformação para o PET, após 30 dias em cultivo axênico.

Considera-se a partir do gráfico 38 que o ponto de ruptura variou entre as diferentes amostras de PET após o ensaio de degradação biótica, fato pouco observado para o comportamento inicial do PET, ainda constata-se que o PET0h é o mais estável, e suporta até 22,5% de tensão, seguido pelo PET48h com 20%, mas um dos menores valores para a tensão de estiramento em 110 MPa. O PET 24h suportou até 13% de tensão, e apresentou a maior tensão de estiramento em 150 MPa. O PET 96h rompeu antes de 60 MPa, estando muito fragilizado, para essa representação do ensaio em 30 dias.

Em 60 dias observa-se uma maior homogeneidade entre as curvas dos espécimes de PET, com o ponto de ruptura próximo a 18% - Gráfico 39, indica-se que o PET 0h e o PET 48h tiveram redução no percentual de tensão para ruptura, quando comparados ao período de 30 dias. Já o PET 24h e o PET96h estiveram mais estáveis, suportando uma tensão maior do que no ensaio anterior em 30 dias.

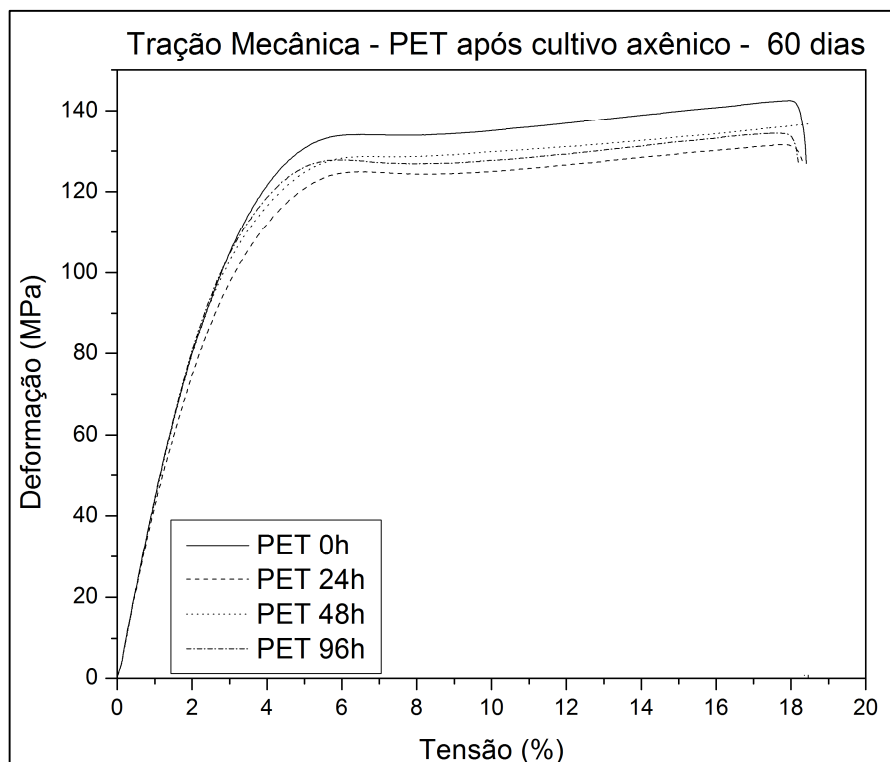


Gráfico 39 - Curva de tensão deformação para o PET, após 60 dias em cultivo axênico.

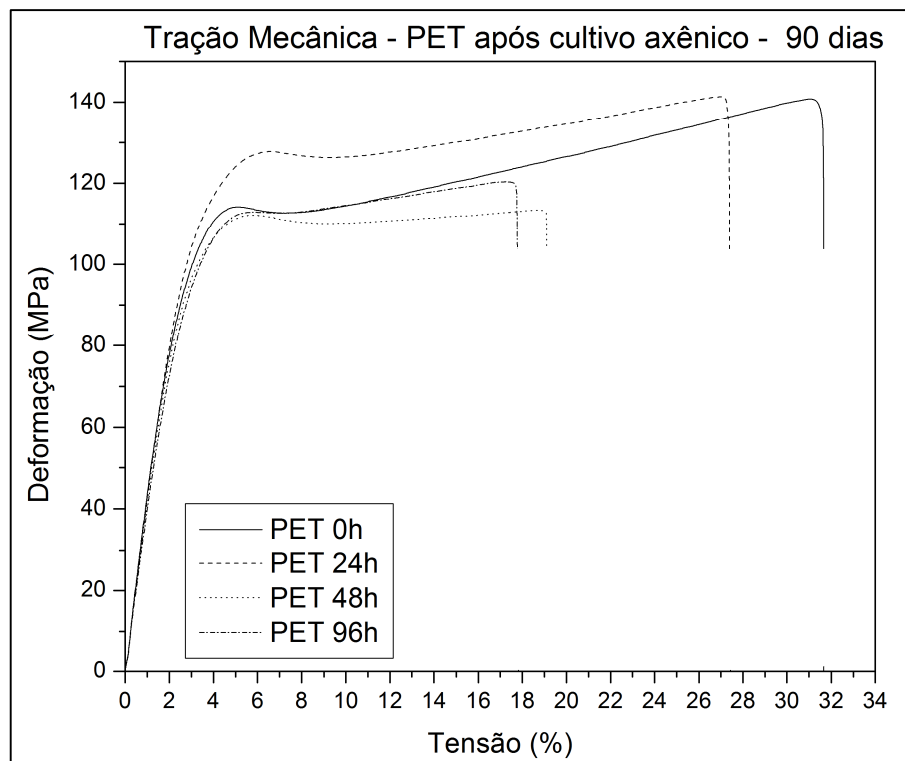


Gráfico 40 - Curva de tensão deformação para o PET, após 90 dias em cultivo axênico.

No gráfico 40, em 90 dias o PET 0h apresenta o maior ponto de ruptura próximo a 32%, seguido pelo PET 24h, que apresenta um ponto de ruptura em torno de 28%, enquanto as outras amostras PET 48h e 96h estiveram entre 18% e 20% para o ponto de ruptura.

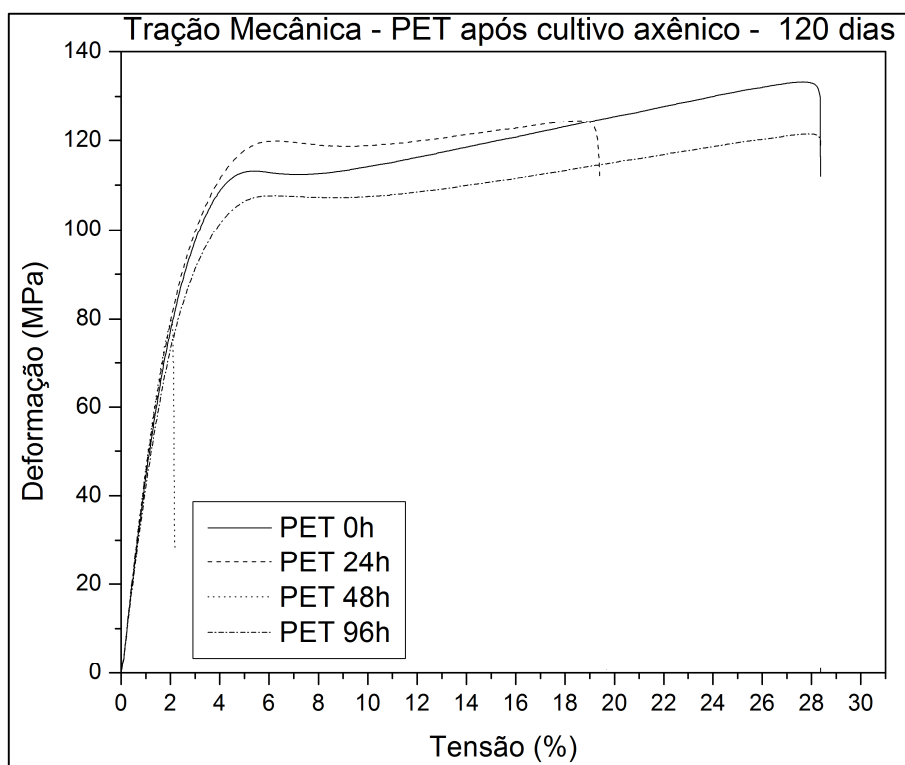


Gráfico 41 - Curva de tensão deformação para o PET, após 120 dias em cultivo axênico.

Na curva de 120 dias, representada no gráfico 41, pode-se observar que o PET48h esteve extremamente frágil, e se rompeu antes do comportamento elástico, para as demais amostras o ponto de ruptura esteve próximo a 28% no PET0h e 96h, enquanto o PET 24h rompeu em 20% de tensão.

A partir das curvas de tensão versus deformação foram extraídos os dados da Tensão de Estiramento (MPa) e do Módulo de Young (GPa).

No gráfico 42 é possível observar os valores médios do Módulo de Young em relação aos períodos de tempo, para os períodos de irradiação UV nas amostras de PET. Percebe-se que inicialmente em 30 dias estão os valores mais elevados para o módulo e estes tendem a se reduzirem com o passar do tempo, ou seja inicialmente a amostra está mais rígida, e se torna menos rígida com o passar do tempo de tratamento. Essa oscilação pode ser explicada pela interação entre o substrato-fungo-polímero, com os fatores ambientais de temperatura e umidade.

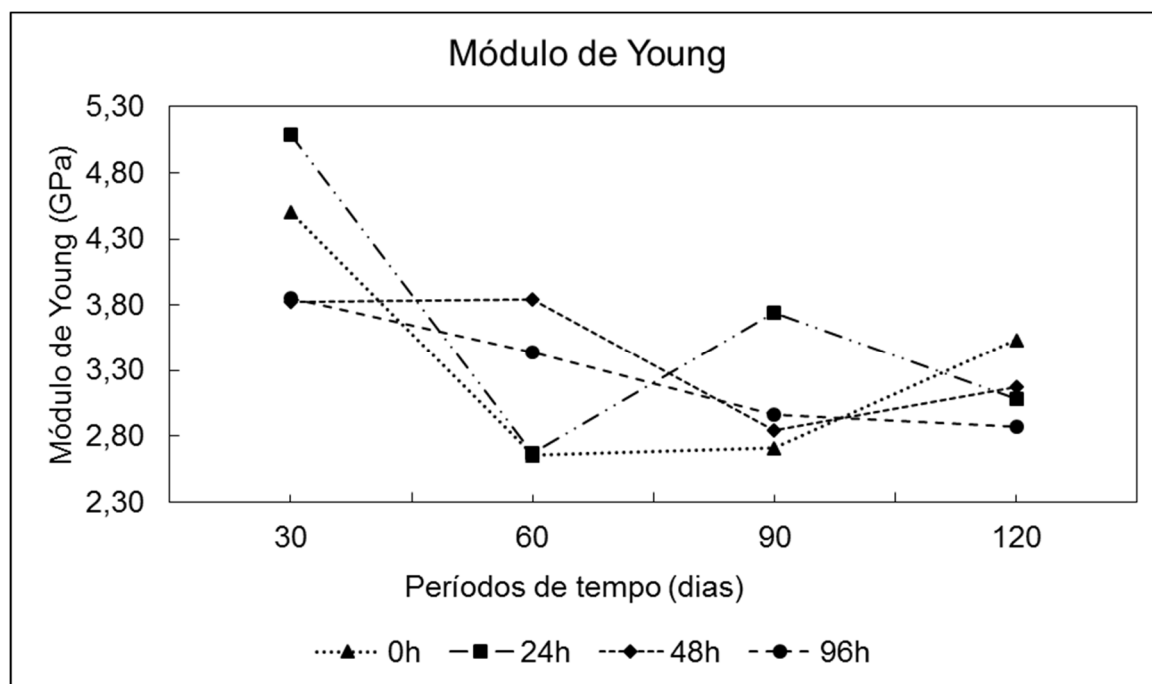


Gráfico 42 – Variação do Módulo de Young em relação aos períodos de tempo do tratamento.

Para os dados do módulo de Young, módulo de elasticidade, medida que fornece informações sobre a rigidez do material, foi aplicada a análise de variância e o teste de Tukey ao nível de 95% e 99% de confiança, o resultado pode ser observado na tabela 31.

O fator 1, considerado período de irradiação UV das amostras não foi significativo, no entanto, o Fator 2, correspondente aos períodos de tratamento, assim como a interação entre os fatores 1 e 2 e o tratamento, foram considerados significativos ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 31 – ANOVA para o módulo de Young dos ensaios de tração mecânica com o PET após o CA.

Análise – Módulo de Young amostras de PET após o Cultivo Axênico								
FV	GL	SQ	QM	F	F-crit	GL	GLR	p
Fator1(F1)	3	1,20115	0,40038	1,4898 ns	2,7984	3	48	0,2292
Fator2(F2)	3	17,12166	5,70722	21,2359 **	4,2192	3	48	<0,0001
Int. F1xF2	9	10,80428	1,20048	4,4668 **	2,8031	9	48	0,0002
Tratamentos	15	29,12710	1,94181	7,2252 **	2,437	15	48	<0,0001
Resíduos	48	12,90017	0,26875					
Total	63	42,02727						

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ns não significativo ($p \geq 0,05$)
 Fator 1 = Irradiação Fator 2 = Tempo

FV: Fonte de variação; GL: Graus de liberdade; SQ: Soma dos quadrados; QM: Quadrado médio; F: Estatística do teste F;

Na tabela 32 são apresentados os dados do Teste de Tukey para os valores obtidos a partir do Módulo de Young, ao nível de 5% de probabilidade, observa-se que entre os períodos de tempo, fator 2. Em 30 dias as amostras apresentaram o maior módulo em 4,31 GPa, pode-se pressupor que em 30 dias as amostras estiveram mais rígidas, logo, em 60 dias esse valor reduziu para 3,15 um indicativo de que em substratos naturais com a produção de enzimas o processo de biodegradação seja, desde a etapa da corrida do micélio, até sua maturação.

Tabela 32 – Teste Tukey para o módulo de Young dos ensaios de tração mecânica com o PET após o CA.

Médias do fator 1					Médias do fator 2				
PET 0h	3,34854	a			30 dias	4,31631	a		
PET 24h	3,64414	a	dms	0,48796	60 dias	3,15018	b	dms	0,48796
PET 48h	3,41982	a			90 dias	3,06218	b		
PET 96h	3,27942	a			120 dias	3,16324	b		

dms: Diferença mínima significativa;
Fator 1 = Irradiação Fator 2 = Tempo
As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si;
Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade;

Na tabela 33, a análise da interação sugere que em relação dos períodos de irradiação em 30 dias diferem ao nível de 5% de significância, o PET48h, em 60 dias. O PET 48h e 96h superiores ao 0h e 24h, ainda em 90 dias as médias dos tratamentos dos períodos de irradiação não diferem, e em 120 dias o PET96h é o menor valor amostrado.

Tabela 33 - Análise de interação para o módulo de Young dos ensaios de tração mecânica com o PET após o CA.

Análise – Módulo de Young amostras de PET após o CA									
Interação: Fator 1 x Fator 2 (AxB)									
Trat.		30 dias		60 dias		90 dias		120 dias	
1	0h	4,5038	abA	2,6528	bC	2,7059	bB	3,5317	aAB
2	24h	5,0869	aA	2,6688	bC	3,7385	aB	3,0823	aBC
3	48h	3,8195	bAB	3,8432	aA	2,8454	abB	3,1713	aAB
4	96h	3,8551	bA	3,4359	abAB	2,9591	abAB	2,8676	aB

CV% = 15,15

dms para colunas: 0,8648 dms para linhas: 0,8648
Classificação com letras minúsculas; Classificação com letras maiúsculas;
CV%: Coeficiente de variação em % dms: Diferença mínima significativa;
As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si;
Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade;
Fator 1 = Irradiação Fator 2 = Tempo

Normalidade dos dados (alfa = 5%)

Teste (Estatística)	Valor	Vcrit	p-valor
Watson (U2)	0,10952	0,11510	p > 0,05

Na tabela 33, em relação aos períodos de tempo o PET24h em 30 dias apresentou o maior valor (5) para o Módulo de Young, em 60 dias esse valor se reduziu (2,66), esse comportamento inicial pode combina as alterações sofridas pelo polímero pela irradiação UV, que somadas aos efeitos da interação com o fungo alteraram-se, tornado as amostras menos rígidas.

No gráfico 43 são apresentadas as curvas para os valores médios do módulo de Young combinados ao pH, por períodos de irradiação UV das amostras de PET, percebe-se que inicialmente no PET0h o pH esteve em 4,6, e o módulo de Young esteve em 3,30 GPa, posteriormente com o PET24h o pH decresce (4,07), enquanto o módulo de Young é o maior valor registrado entre os períodos de irradiação UV, em relação ao pH em 48h e 96h este se estabiliza superior aos dados iniciais em torno de 4,21, enquanto o módulo de elasticidade decai nos tratamentos 48h (3,4) e 96h (3,25).

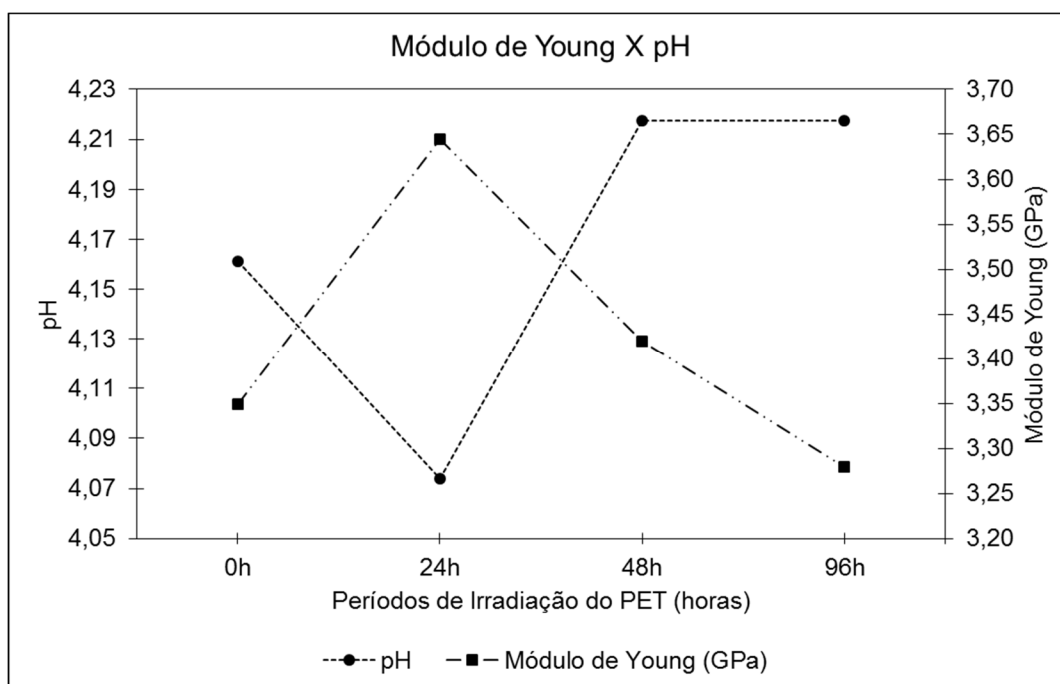


Gráfico 43 – Módulo de Young em relação ao comportamento do pH

Os dados obtidos para a tensão de estiramento também foram submetidos a análise de variância e ao teste de comparação de médias de Tukey. Os resultados podem ser observados na Tabela 33. O Fator 1, Fator 2, a interação entre os fatores, e os tratamentos, conforme o valor de F, são considerados significativos ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 34 – ANOVA para a Tensão de Estiramento dos ensaios de tração mecânica com o PET após o CA.

Análise – Tensão de Estiramento amostras de PET após o Cultivo Axênico								
FV	GL	SQ	QM	F	F-crit	GL	GLR	p
Fator1(F1)	3	4186,7759	1395,591	6,0182 **	4,2192	3	48	0,0014
Fator2(F2)	3	8290,6111	2763,537	11,9172 **	4,2192	3	48	<0,0001
Int. F1xF2	9	15879,418	1764,379	7,6086 **	2,8031	9	48	<0,0001
Tratamentos	15	28356,805	1890,453	8,1522 **	2,437	15	48	<0,0001
Resíduos	48	11130,928	231,8943					
Total	63	39487,733						

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ns não significativo ($p \geq 0,05$)
 Fator 1 = Irradiação Fator 2 = Tempo

FV: Fonte de variação; GL: Graus de liberdade; SQ: Soma dos quadrados; QM: Quadrado médio; F: Estatística do teste F;

Na Tabela 34 são apresentados os valores da significância para cada fator, logo, o PET 48h difere especificamente do PET 24h, respectivamente o menor e o maior valor amostrado, em relação aos períodos de tempo em dias, apenas 120 dias apresentou diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade.

Em relação as médias do fator 1, o PET 48 difere dos demais como o menor valor de tensão de estiramento registrada, 106 Mpa, igualando-se ao PET 96h com 111Mpa, por sua vez o PET 96 também é igual estatisticamente ao PET 0h que apresenta 122 Mpa, e se torna igual estatisticamente ao PET 24h.

Tabela 35 – Teste Tukey para a Tensão de Estiramento dos ensaios de tração mecânica com o PET após o CA.

Análise – Tensão de Estiramento amostras de PET após o Cultivo Axênico									
Médias do fator 1					Médias do fator 2				
PET 0h	122,45310	ab			30 dias	129,56060	a		
PET 24h	127,04810	a	dms	14,33343	60 dias	122,25440	a	dms	14,33343
PET 48h	106,92190	c			90 dias	117,42310	a		
PET 96h	111,57750	bc			120 dias	98,76250	b		

dms: Diferença mínima significativa; Fator 1 = Irradiação Fator 2 = Tempo
 As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si;
 Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade;

A tabela 35 apresenta a análise de interação, para os fatores 1 e 2 (IrradiaçãoX Tempo), em relação aos períodos de irradiação UV, considera-se que em 60 dias o PET24 apresentou o menor valor, assim como em 90 dias o PET0h apresentou o menor valor, acerca dos períodos de tempo, 30 dias com o PET 96h apresentou significância igual ao PET48h em 120 dias, menores valores amostrados.

Constata-se que o PET 0h reduz em relação ao passar do tempo o valor da tensão de estiramento. Para o PET24h existe uma oscilação entre redução e aumento

durante os períodos de tempo o mesmo fato ocorre com o PET 48h e 96h que inicialmente aumentam e posteriormente reduzem.

Tabela 36 - Análise de interação para a Tensão de Estiramento dos ensaios de tração mecânica com o PET após o CA

Análise – Tensão de Estiramento amostras de PET após o Cultivo Axênico

Interação: Fator 1 x Fator 2 (AxB)									
Trat.		30 dias		60 dias		90 dias		120 dias	
1	0h	141,5100	aA	119,7925	aAB	108,3300	aB	120,1800	aAB
2	24h	148,6875	aA	112,2925	aB	133,8825	aAB	113,3300	aB
3	48h	126,8100	abA	137,1925	aA	111,6875	aA	51,9975	bB
4	96h	101,2350	bA	119,7400	aA	115,7925	aA	109,5425	aA

CV% = 13,02

dms para colunas: 28,6669				dms para linhas: 28,6669			
Classificação com letras minúsculas;				Classificação com letras maiúsculas;			
CV%: Coeficiente de variação em %				dms: Diferença mínima significativa;			
As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si;							
Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade;							
Fator 1 = Irradiação				Fator 2 = Tempo			

Normalidade dos dados (alfa = 5%)

Teste (Estatística)	Valor	Vcrit	p-valor
Kolmogorov_Smirnov	0,13741	0,16247	p > 0,05

No gráfico 44 são representados os dados das médias após o tratamento com o fungo, da tensão de estiramento e do módulo de Young.

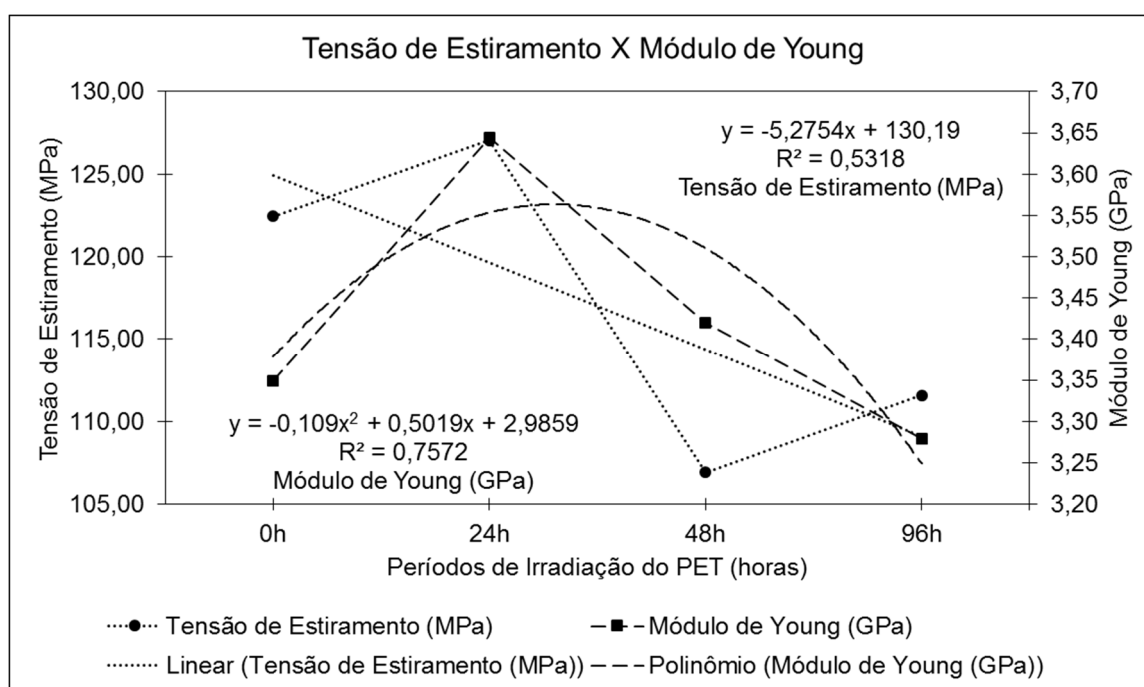


Gráfico 44 – Tensão de estiramento em relação ao módulo de Young no PET do cultivo axênico.

A partir do Gráfico 44, observa-se que ao comparar o PET0h para o PET 24h a tensão de estiramento aumenta, comportamento semelhante ao da curva do módulo de Young e logo em PET48h diminui, a tensão de estiramento aumenta levemente para o PET 96h, já o módulo de Young decai novamente a partir do PET 48h. É possível observar o ajuste do gráfico por meio de uma regressão linear e seu respectivo coeficiente de determinação para a tensão de estiramento, é de 53%, ou seja 53% da variação na tensão de estiramento é influenciada pelo aumento do tempo de irradiação UV das amostras. Ainda, é possível traçar um ajuste polinomial quadrático e calcular o respectivo coeficiente de determinação, para o módulo de Young, o valor de R^2 é de 0,75, ou seja 75%, valor que indica que existe 75% de relação entre os dados amostrados para o módulo de Young em relação aos períodos de irradiação UV. Considera-se que as demais relações que não são previsíveis pelo modelo, podem ser atribuídas às interações decorrentes do processo de biodegradação.

Acerca da fase de degradação biótica do PET pode-se constatar que este é um processo de complexo, no qual os ensaios apresentados fornecem fortes indícios da ocorrência de processos biodegradativos. As oscilações podem ser atribuídas a fatores não controláveis como a difusão de oxigênio nos sistemas, e a própria cinética de crescimento do *L. edodes*, estes fatores conferem variabilidade aos tratamentos. Ainda o processo biológico de degradação pode ser favorecido pela irradiação no polímero, bem como podem ser observadas alterações nas propriedades térmicas e mecânicas, indícios da biodegradação. Considera-se que os substratos lignocelulósicos demandem maior produção enzimática, e está influenciada positivamente no processo de biodegradação, e pode ser percebida na determinação de perda de massa e nas alterações das propriedades térmicas e mecânicas do PET.

6. CONCLUSÃO

A exposição de amostras de PET a radiação ultravioleta acelerada, por meio de mecanismos de fotodegradação, causa a cisões e reticulações da cadeia principal (anel aromático) e dos grupos éster (C=O), e estimula a formação de radicais carboxílicos, e a liberação de compostos gasosos como o gás carbônico e ozônio, fato que causa alterações nas propriedades moleculares do PET, como consequências a amostra irradiada perde massa (g), alteram-se também as propriedades térmicas e mecânicas, que oscilam, reduzidas no período de 24 horas (amostras mais amorfas e elásticas) e elevadas em 48 e 96 horas (mais cristalinas e rígidas). Também pode causar alteração na cor aparente do PET (amarelamento e opacidade).

Falhas superficiais, como riscos e microfissuras, ocasionadas pelo processamento, transporte e armazenamento das garrafas, podem ser alvos prováveis do ataque do fungo *L. edodes* à matriz polimérica. Constatou-se que o fungo *L. edodes* é capaz de promover processos biodegradativos em amostras de PET, não irradiadas, e irradiadas por luz ultravioleta acelerada em fases de 24h, 48h, e 96 horas. O processo biológico mais eficiente em termos de perda de massa se concentraram na faixa de irradiação ultravioleta de 24 horas e 96 horas. São perceptíveis alterações na estrutura superficial do polímero após a ação biológica de degradação e essas compreendem a formação de escavações, fissuras, e porosidade acentuada, até a impregnação de partículas da hifa fúngica e basidiósporos na matriz polimérica.

Verifica-se que o processo de degradação biológica promovido pelo fungo *L. edodes*, altera as propriedades térmicas e mecânicas do PET. Constata-se que o fungo consome preferencialmente a fase amorfa do polímero, ocasionando o aumento da cristalinidade da amostra após a biodegradação, mas também é capaz de consumir a fase cristalina e outros compostos gerados pelas modificações estruturais ocasionadas no PET pela radiação UV, em diferentes níveis de biodegradação. Em termos de perda de massa pode-se considerar que o ensaio em fermentação semissólida apresentou maior índice de perda de massa.

Com base em todos os indícios levantados, essa pesquisa conclui que o PET, considerado estável à degradação ambiental, é susceptível a biodegradação em certas condições, como as condições as quais este material foi submetido nesta pesquisa.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sugere-se uma continuidade para a pesquisa, que perpassasse pela otimização do processo de biodegradação do PET irradiado pelo fungo *L. edodes*, bem como a utilização de outras linhagens fúngicas para estabelecer um comparativo com o potencial de biodegradação do *L. edodes*, ainda, é possível verificar a viabilidade econômica para a utilização do resíduo sólido de garrafas PET pós consumo, como substrato agregado para o cultivo do shiitake, assim como a análise e investigação sobre a possível toxicidade do shiitake após a biodegradação para emprego na alimentação humana, e por fim a análise da produção enzimática do processo de biodegradação, correlacionando esta variável com as demais estudadas.

8. REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA. **Resolução nº 105**. Mai.1999. Regulamento Técnico Disposições Gerais para Embalagens e Equipamentos Plásticos em contato com Alimentos. Brasil, 1990.

_____. ANVISA. **Resolução nº 17**. Jan.2008. Dispõe sobre Regulamento Técnico sobre Lista Positiva de Aditivos para materiais Plásticos destinados à Elaboração de Embalagens e Equipamentos em Contato com Alimentos. Brasil, 2008.

_____. ANVISA. **Resolução nº 20**. Mar.2008. Regulamento Técnico sobre embalagens de polietileno tereftalato (PET) pós-consumo reciclado grau alimentício (PET-PCR grau alimentício) destinados a entrar em contato com alimentos. Brasil, 2008.

_____. ANVISA. **Resolução nº 51**. Nov.2010. Dispõe sobre migração em materiais, embalagens e equipamentos plásticos destinados a entrar em contato com alimentos. Brasil, 2010.

_____. ANVISA. **Resolução nº 56**. Nov.2012. Dispõe sobre a lista positiva de monômeros, outras substâncias iniciadoras e polímeros autorizados para a elaboração de embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos. Brasil, 2012.

_____. ANVISA. **Deteção e Identificação dos Fungos de Importância Médica**. Módulo VII. 2004. Brasil, 2004.

AKCELRUD, Leni. **Fundamentos da Ciência dos Polímeros**. Barueri/SP: Manole, 2007.

ALMEIDA, Igor Santos *et al.* Reciclagem de garrafas PET para fabricação de telhas. **Caderno de Graduação - Ciências Exatas e Tecnológicas - UNIT**, [S.l.], v. 1, n. 3, p. 83-90, out. 2013. ISSN 2316-3135. Disponível em: <<https://periodicos.set.edu.br/index.php/cadernoexatas/article/view/897>>. Acesso em: 12 Dez. 2014.

ALVES, Márcia Aurelina de Oliveira. **Efeito da adição de absorvedor de UV sobre a qualidade de óleo de soja embalado em polietileno tereftalato (PET)**. 2004. Xf. Dissertação Pós Graduação em Ciência dos Alimentos - Universidade Federal de Santa Catarina/UFSC, Florianópolis, 2004. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/87132>>. Acesso em: 20 mai. 2014.

AMORIM, Fábio Alan Carqueija, LOBO, Ivon Pinheiro; SANTOS, Vera Lucia C. S. FERREIRA, Sérgio Luis Costa. Espectrometria de absorção atômica: o caminho para determinações multi-elementares. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 31, n. 7, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422008000700033&lng=en&nrm=iso> Acesso em: 06 dez. 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-4042200800070>

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM D 3418-12**: Standard Test Method for Transition Temperatures and Enthalpies of Fusion and Crystallization of Polymers by Differential Scanning Calorimetry. ASTM International, West Conshohocken, PA, 2012.

_____. **ASTM D5247-92**: Standard Test Method for Determining the Aerobic Biodegradability of Degradable Plastics by Specific Microorganisms (Withdrawn 2004). ASTM International, West Conshohocken, PA, 1992.

_____. **ASTM D638-10**: Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics. ASTM International, West Conshohocken, PA, 2010.

_____. **ASTM D6400-12**: Standard Specification for Labeling of Plastics Designed to be Aerobically Composted in Municipal or Industrial Facilities. ASTM International, West Conshohocken, PA, 2012.

_____. **ASTM G151-10**: Exposing Nonmetallic Materials in Accelerated Test Devices that Use Laboratory Light Sources. ASTM International, West Conshohocken, PA, 2010.

_____. **ASTM G154-12**: Standard Practice for Operating Fluorescent Ultraviolet (UV) Lamp Apparatus for Exposure of Nonmetallic Materials. ASTM International, West Conshohocken, PA, 2012.

_____. **ASTM G160-12**: Standard Practice for Evaluating Microbial Susceptibility of Nonmetallic Materials By Laboratory Soil Burial. ASTM International, West Conshohocken, PA, 2012.

_____. **ASTM G21-13**: Standard Practice for Determining Resistance of Synthetic Polymeric Materials to Fungi. ASTM International, West Conshohocken, PA, 2013.

ANDRADY, A.L.; HAMID, S.H.; HU, X.; TORIKAI, A. Effects of increased solar ultraviolet radiation on materials. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**. 46, 96–103. 1998.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO PLÁSTICO. ABIPLAST. **Perfil 2012**. Disponível em: <<http://www.abiplast.org.br/site/estatisticas>>. Acesso em: 20 ago. 2013.

ATIKINS, Peter; JONES, Loretta. **Princípios da Química: Questionando a vida moderna e o meio ambiente**. 5 ed. Porto Alegre: Bookman, 2012.

ATLAS, Ronald. M.; BARTHA, Richard. **Microbial Ecology: Fundamentals and Applications**; Benjamin. Cummings Publishing Company; Canadá, 1997.

BETTIN, Fernanda. **Cinética de crescimento e produção de lacases do fungo *Pleurotus sajor-caju* PS-2001 (Fr.) singer em processo submerso em biorreator com agitação mecânica**. 2010, 230 f. Tese Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia - Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul/RS, 2010. Disponível

em: <http://tede.ucs.br/tde_arquivos/4/TDE-2011-02-25T130636Z-451/Retido/Tese%20Fernanda%20Bettin.pdf>. Acesso em: 20.mai.2014.

BITTENCOURT, Carolina Nilsen Vianna. **Cultivo axênico de shiitake (*Lentinula edodes*) em resíduos do processamento da palmeira-real-da-austrália (*Archontophoenix alexandrae*)**. 2007. 110 f. Dissertação Mestrado em Engenharia Ambiental - Centro de Ciências Tecnológicas da Universidade Regional de Blumenau/FURB. Blumenau/SC. 2007. Disponível em: <http://proxy.furb.br/tede/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=393>. Acesso em: 10 mai. 2013.

BORRELLY, Daniel Fernandes. **Estudo comparativo da degradação de poliestireno e de poliestireno de alto impacto por envelhecimentos natural e artificial**. 2002. Dissertação Mestrado em Engenharia Química - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/3/3137/tde-15052002-090301/>>. Acesso em 30 ago. 2013.

BRANDALISE, Rosmary Nichele. **Avaliação da degradação biótica e abiótica da mistura polimérica de polietileno de alta densidade com o poli(álcool vinílico)**. 2008. 166f. Tese Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/14861>>. Acesso em: 20 mai. 2014.

BRITZKI, Luis Gustavo Panegassi; FECHINE Guilhermino J. M. Fotoestabilização do Compósito Polipropileno/Fibra De Vidro “Longa”. Etapa II. **In: VII Jornada de Iniciação Científica**. 2011. Disponível em: <http://www.mackenzie.com.br/fileadmin/Pesquisa/pibic/publicacoes/2011/pdf/emat/luis_gustavo_panegassi.pdf>. Acesso em: 20 mai. 2014.

CANEVAROLO Jr., Sebastião V. **Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. 2 ed. São Paulo: Artliber Editora, 2006.

CARVALHO, Tamires; ABREU FILHO, George; PACHECO, Clissiane Soares Viana; FERREIRA, Alexsandra Nascimento; ROCHA, Thiago José Onório; FRANCO Marcelo. Produção de enzimas hidrolíticas por fermentação em estado sólido da palma doce (*Nopalea coccinellifera*) utilizando modelos estatísticos significativos. **Revista de estudos ambientais (Online)**. v.14, n.3, p.48-57, jan./jun. 2012. Disponível em: <<http://proxy.furb.br/ojs/index.php/rea/article/viewFile/2884/2098>>. Acesso em: 20 mai. 2014.

CIOLACU, Calin Flaviu Ladasiu; CHOUNDHURY, Namita Roy, DUTTA, Naba. K. Colour formation in poly(ethylene terephthalate) during melt processing. **Polymer Degradation and Stability**. v. 91, p. 875-885, 2006.

COLTRO, Leda; BURATIN, Ana Elisa P. Garrafas de PET para Óleo Comestível - Avaliação da Barreira à Luz. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, vol. 14, n 3, p. 206-211, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-14282004000300018>. Acesso em: 20 mai. 2013.

COSTA, E.L.G. da; BERNARDI, E.; NASCIMENTO, J.S. do. Entomofauna associada ao cultivo de shiitake [*Lentinula edodes* (Berk.) Plegier] no município de Arroio do Padre, RS, Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.73, n.4, p.471-474, out./dez., 2006. Disponível em: < http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v73_4/costa.pdf>. Acesso em: 15 set. 2013.

COSTA, Melissa Riani. **Uso da respirometria para avaliação da biodegradação aeróbia de lixiviado de resíduos sólidos urbanos em Latossolo Vermelho-Escuro. [Distrito Federal].** 2009, 109p. Dissertação Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos - Universidade de Brasília, Brasília, 2009. Disponível em: < http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/9878/1/2009_MelissaRianiCosta.pdf>. Acesso em: 20 mai. 2014.

COELHO, Alberta Augusta Santos. **Desenvolvimento morfológico sob deformação de nanocompósitos de PET e nanotubos de carbono.** 2013, 141fl. Dissertação (Pós Graduação em Engenharia de Polímeros). Universidade do Minho. Braga, Portugal. Disponível em:<<http://hdl.handle.net/1822/30385>>. Acesso em 20.dez.2014.

CUOTO, Susana Rodríguez; TOCA-HERRERA, José Luis, Industrial and biotechnological applications of laccases: A review. **Biotechnology Advance**, v. 24, p 500-513, 2006. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975006000619#>>. Acesso em: 20 mai. 2014.

DALMOLIN, Emilene. **Avaliação da degradação de polietilenos contendo aditivo pró-degradante.** 2007. 59f. Dissertação Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007. Disponível em: < <http://hdl.handle.net/10183/11123> >. Acesso em: 20 mai. 2014.

DAMBRÓS, Poliana; CAPPELARI, Karoline Pignat; POFFO, Caroline; WISBECK Elisabeth. Avaliação da biodegradação de polímeros por *Pleurotus djamor*. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais.** n 31, Mar. 2014. Disponível em: < http://www.rbciamb.com.br/images/online/Materia_3_artigos388.pdf>. Acesso em: 20 mai. 2014.

DIAS, Marcos L.; PACHECO, Elen B.A.V.; NASCIMENTO, Christine R.; SILVA, Suédina Ramos; FERNANDES, Maria J.A. **Uso de aditivos para melhoria das propriedades físicas de PET.** 2004 Disponível em: <<http://comlurbnet.rio.rj.gov.br/extranet/sysbibli/arquivos/av2241.pdf>>. Acesso em 01 set. 2013.

DAY, M.; WILES, D. M. Photochemical degradation of poly(ethylene terephthalate). I. Irradiation experiments with the xenon and carbon arc. **J. Appl. Polym. Sci.**, 16: 175–189. 1972. doi: 10.1002/app.1972.070160116

DAY, M.; WILES, D. M. Photochemical degradation of poly(ethylene terephthalate). II. Effect of wavelength and environment on the decomposition process. **J. Appl. Polym. Sci.**, 16: 191–202. 1972. doi: 10.1002/app.1972.070160117

DAY, M.; WILES, D. M. Photochemical degradation of poly(ethylene terephthalate). III. Determination of decomposition products and reaction mechanism. **J. Appl. Polym. Sci.**, 16: 203–215. 1972. doi: 10.1002/app.1972.070160118

DEL MONEGO, Andressa. FLORES, Éder L. de M. EYNG, Eduardo; FRARE, Laercio M; BITTENCOURT, Paulo R. S. **Modificação das propriedades físico-químicas do politereftalato de etileno em garrafas de refrigerante expostos à radiação ultravioleta**. In: 11º Congresso de Polímeros CBPol. Out. 2011. Campos do Jordão/SP, 2011.

DUARTE, Luciana Tavares; LINS, Vanessa de Freitas Cunha; MARIANO, César; BRANCO, José Roberto Tavares; COLLARES, Magno Pinto; GALERY, Roberto. Recobrimentos de poli (tereftalato de etileno) depositados em aço por aspersão térmica a partir de pós obtidos em diferentes condições de moagem. **Polímeros [online]**. v.13, n.3, 2003, p. 198-204. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0104-14282003000300010&script=sci_arttext>. Acesso em: 20 mai. 2014.

FERNANDES, Gerson Avelino. **Desenvolvimento de espumas semi-rígidas de poliestireno com propriedades oxi-biodegradáveis**. 2009. 110f. Dissertação Pós graduação em Engenharia Química - Universidade Federal de Santa Catarina/UFSC, Florianópolis, 2009. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/92203>>. Acesso em: 20 mai. 2014.

FLEMMING, Hans Curt. Biodeterioration of synthetic materials – A brief review. **Materials and Corrosion**. v. 61, n. 12. 2010, 986 - 992 p. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/maco.201005837/abstract>>. Acesso em: 20 mai. 2014.

FORMIGONI, Alexandre, CAMPOS, Ivan Pérsio de Arruda. **Reciclagem de PET no Brasil**. Universidade Estadual Paulista – UNESP. Disponível em: <http://www.aedb.br/seget/artigos07/1200_1200_ARTIGO%20RECICLAGEM%20DE%20PET%20NO%20BRASIL.pdf>. Acesso em: 20 mai. 2014.

FRANCHETTI, Sandra Mara Martins; José Carlos MARCONATO. Polímeros biodegradáveis – uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. **Química. Nova**, Vol. 29, No. 4, 811-816, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422006000400031&script=sci_arttext>. Acesso em 20.dez.2014.

HATAKEYAMA, T. **Thermal analysis: fundamentals and applications to polymer science**. Quinn. 2 ed. 1999.

HOLLER, F. James; SKOOG, Douglas A.; CROUCH, Stanley R. **Princípios de Análise Instrumental**. 6 ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

ILIŠKOVIĆ, N.; BRAVAR, M. Correlation of Physico-chemical, Mechanical and Electrical Properties of Ultraviolet-degraded Poly(Ethylene Terephthalate). **Polymer Degradation and Stability** 15. 15 p.173; 1986.

JARA, Alícia Maria Andrade Torres. **Biofilmes e enzimas sintetizados no processo de degradação do tereftalato de polietileno por *Bacillus subtilis* e *Phanerochaete chrysosporium***. 2007, 88 f. Dissertação Pós-Graduação em Desenvolvimento de Processos Ambientais - Universidade Católica de Pernambuco. Recife, 2007. Disponível em: < http://www.unicap.br/tede/tde_busca/processaPesquisa.php?pesqExecutada=1&id=241>. Acesso em: 20.abr.2013.

KARLSSON, Sigbritt; LJUNGQUIST, Ollee; ALBERTSSON, Ann-Christine. Biodegradation of Polyethylene and the Influence of Surfactants **Polymer Degradation and Stability**. 21.237-250. 1988.

KINT, Darwin; MUÑOZ-GUERRA, Sebastian. A review on the potential biodegradability of poly(ethylene terephthalate). **Polymer International**. 48:346±352. 1999.

KOSCHEVIC, M. T., BITTENCOURT, P. R. S., SANTOS, M. A. S., SERVAT, A., LENHARD, D. C., TORQUATO, A. S., FLORES, E. L. M., COSTA, M. B. Efeitos da radiação UV nas propriedades térmicas e mecânicas do Politereftalato de Etileno (PET) – fase de degradação abiótica In: 12º Congresso Brasileiro de Polímeros, 2013, Florianópolis, SC. In: **12º Congresso Brasileiro de Polímeros**, 2013.

LEE, Byungtae; POMETTO III, Anthony L.; FRATZKE, Alfred; BAILEY JR, Theodore B. Biodegradation of Degradable Plastic Polyethylene by *Phanerochaete* and *Streptomyces* Species. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 57, n. 3. Mar. 1991, p. 678-685.

LEJA, Katarzyna; LEWANDOWICZ, Grażyna. Polymer Biodegradation and Biodegradable Polymers – a Review. **Polish J. of Environ. Stud.** v. 19, n. 2. 2010, 255-266 p. Poznań, Poland. Disponível em: < <http://www.pjoes.com/pdf/19.2/255-266.pdf>>. Acesso em: 20 mai. 2014.

LEWIN, Menachem, PEARCE, Eli M. **Fiber Chemistry: Handbook of Fiber Science and Technology**. Hardcover, 3ed, New York, 1114 p. 2007.

LINO, Hélio Francisco Corrêa. **A Indústria de Reciclagem e a Questão Ambiental**. 2011. 291 f. Tese Programa de Pós Graduação em História - Universidade de São Paulo. São Paulo, 2011. Disponível em: < <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/8/8137/tde-27102011-085538/pt-br.php>>. Acesso em: 20 mai. 2014.

LOPES, Diana Maria Pereira Pedras da Cruz. **Estudo de Alternativas de Valorização de Resíduos de Etil-Vinil-Acetato (EVA) na Indústria do Calçado**. 2012, 185 f. Dissertação Mestrado em Engenharia do Ambiente. Universidade do Porto. Porto. 2012. Disponível em: <<http://repositorio-aberto.up.pt/handle/10216/64916>>. Acesso em: 20 mai. 2014.

LOPES, Sônia. **Bio**: volume único. São Paulo. Saraiva, 2004.

LUCAS, Elizabete. F., SOARES, Bluma. G., MONTEIRO, Elisabeth. **Caracterização de Polímeros: Determinação de Peso Molecular e Análise Térmica**. Rio de Janeiro: E-papers, 2001. 366 p.

MACIEL, William Pereira. **Cultivo de *Lentinula edodes* em diferentes condições de substrato e temperatura**. 2012. Dissertação Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola – Universidade Federal de Lavras. Lavras/MG. 2012. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/1007/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O_Cultivo%20de%20Lentinula%20edodes%20em%20diferentes%20condi%C3%A7%C3%B5es%20de%20substrato%20e%20temperatura.pdf>. Acesso em: 20.mai.2014.

MADIGAN, Michel T; MARTINKO, John M; DULAP, Paul V; CLARK, David P. **Microbiologia de Brock**. Tradução: Andréia Queiroz Maranhão [et. al.]. 12 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

MANCINI Sandro D.; BEZERRA, Maxwell N.; ZANIN, Maria. Reciclagem de PET Advindo de Garrafas de Refrigerante Pós-Consumo. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**. Abr/Jun. 1998. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/po/v8n2/8320.pdf>>. Acesso em: 20 mai. 2014.

MANO, Eloisa Biasotto; PACHECO, Élen B. A. V.; BONELLI, Cláudia M. C. **Meio Ambiente, Poluição e Reciclagem**. São Paulo: Edgard Blucher, 2005.

MARCONCINI, José M.; RUVOLO FILHO, Adhemar. Análise termodinâmica do comportamento mecânico na região elástica de blendas de poli (tereftalato de etileno) reciclado e poliolefinas recicladas. **Polímeros**, São Carlos, v. 16, n. 4, Dec. 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-14282006000400013&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 12 Dez. 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-14282006000400013>.

MARTIN, Natalia, SILVA; Roberto Da; GOMES, Eleni. **Estudo do Tempo de Cultivo na Produção de Pectinases por *Penicillium sp* EGC5 e *Moniella sp* 9SB em Fermentação Semi-Sólida (FSS) de Resíduos Agrícolas**. 2003. Disponível em: <http://www.enq.ufsc.br/eventos/sinaferm/trabalhos_completos/t226.doc>. Acesso em: 06 jun. 2013.

MARTINHO, J.M.G.; FARINHA P.S., PIÇARRA, S. **Fluorescência em Sistemas Poliméricos: Dinâmica e Morfologia, em Química de Polímeros**. J.S. Seixas de Melo, M.J. Moreno, H.D. Burrows, M.H. Gil, Imprensa da Universidade de Coimbra: Coimbra. p. 335-378. 2004.

M&G. MANUAL TÉCNICO RESINA PET. **M&G Polímeros Brasil S.A.** 2009. Disponível em: <<http://pt.scribd.com/doc/152950399/Manual-Tecnico-Resina-Pet-3#scribd>>. Acesso em: 20 dez. 2013.

MELO, José Wellington de. **Produção e caracterização de pó de PET – Poli (Tereftalato de etileno), obtido a partir de garrafas pós-consumo**. Dissertação (Pós-Graduação em Engenharia de Materiais). 2004. 122 fl. Rede Temática em Engenharia de Materiais UFOP, CETEC, UEMG. Belo Horizonte, 2004. Disponível em:<

<http://www.redemat.ufop.br/arquivos/dissertacoes/2004/producao%20e%20caracterizacao.pdf>>. Acesso em 20.dez.2014.

MILLER, G. Tyler. **Ciência Ambiental**. 11 ed. Tradução: All Tasks. Revisão técnica: Wellington Brás de Carvalho Delitti. São Paulo, SP: Thompson Learning, 2007.

MIRANDA, Leila Figueiredo de; SILVA, Talita de C. Estudo comparativo das propriedades do poli (tereftalato de etileno) virgem e reciclado. Abr. 2004. 24 f. **Revista Mackenzie On-Line**. São Paulo. 2004. Disponível em: < www.mackenzie.com.br/fileadmin/Graduacao/EE/Revista_on_line/Estudo_Comparativo_Poli.pdf>. Acesso em: 20 mai. 2014.

MONTINI, Renato Mamede de Castro. **Efeito de linhagens e substratos no crescimento miceliano e produtividade em cultivo axênico do cogumelo shiitake (Lentinula edodes (Berk.) Pegler)**.2001. 106f. Tese Pós Graduação em Agronomia - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Botucatu/SP. 2001. Disponível em: < <http://base.repositorio.unesp.br/handle/11449/101743>>. Acesso em: 06 jun. 2013.

MOORE-LANDECKER, Elizabeth. **Fundamentals of the Fungi**.4 ed. New Jersey: Prentice Hall, 1996, 574p.

MOURA, Márcio Cleto Soares de. **Desenvolvimento e caracterização de compósitos Poli(tereftalato de etileno) reciclado (PET reciclado) com flocos de vidro**. 2011. 140f. Tese Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011. Disponível em: < <http://repositorio.ufrn.br:8080/jspui/handle/1/6450> >. Acesso em: 20 mai. 2014.

NASSER, Ana Lúcia Martiniano; LOPES, Lucia Maria Xavier; MONTEIRO, Magali. Oligômeros em embalagem de PET para água mineral e suco de fruta. Uma revisão. **Alim. Nutr.** v. 16, n. 2, abr./jun. 2005,183-194 p. Araraquara/SP. Disponível em: < <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/319/309>>. Acesso em: 20.mai.2014.

NORMAS PARA ELABORAÇÃO DE TRABALHOS ACADÊMICOS. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Comissão de Normalização de Trabalhos Acadêmicos. - Curitiba: UTFPR, 2008.

NOVAES, Antonio Pereira de. **Dispositivo para ampliação da magnificação do microscópio óptico**. / Antônio Pereira de Novaes, Paulo Sérgio de Paula Herrmann Jr, Rubens Bernardes Filho, Felipe Benette Marques. – São Carlos: Embrapa Instrumentação, 2010.

NUNES, Adriana da Silva. **Fungos amazônicos com potencial para degradar chorume in natura obtido do lixão municipal de Parintins – AM**. 2012, 82p. Dissertação Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais - Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2012. Disponível em: <<http://www.pos.uea.edu.br/data/area/titulado/download/29-1.pdf>. Acesso em: 20 mai. 2014.

OJEDA, Telmo Francisco Manfron. **Biodegradabilidade de materiais poliméricos**. 2008. 128 f. Tese Doutorado em Ciência do Solo - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2008. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10183/17265>>. Acesso em: 20 mai. 2014.

OLIVEIRA, Anie Karina da Rosa. **Modificação superficial do PET (poli tereftalato de etileno) para beneficiamento na reciclagem**. 2011. 81f. Dissertação (Mestrado em Engenharia) Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/61006>>. Acesso em: 20 mai. 2014.

OLIVEIRA, Ricardo Vinícius Bof de. **Blendas PET/OS: Efeito do compatibilizante SMA e da reciclagem nas propriedades microscópicas**. 2000. 78f. Dissertação (Mestrado em Química) Programa de Pós-Graduação em Química - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2000. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/78406/177723.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 20 mai. 2014.

OSSWALD, Tim A., HERNÁNDEZ-ORTIZ, Juan. Pablo. **Polymer Processing: modeling and simulation**. Hanser Gardner Publications, Madison, 2006.

PAULA, E.J.; PLASTINO, E.M.; OLIVEIRA, E.C.; BERCHEZ, F.; CHOW, F.; OLIVEIRA, M.C. **Introdução à biologia das criptógamas**. Instituto de Biociências. USP. 2007.

PAOLI, Marco-Aurélio De. **Degradação e estabilização de polímeros**. 2ª ed. 2008.

PELCZAR Jr., Michael Joseph. **Microbiologia: Conceitos e Aplicações**. v.1. 5ª ed. São Paulo: Makron Books, 2008.

PHILIPPI JR, Arlindo; PELICIONI, Maria Cecília Focesi (Orgs.) **Educação ambiental e sustentabilidade**. São Paulo: Manole, 2009.

PIATTI, Tânia Maria; RODRIGUES, Reinaldo Augusto Ferreira. **Plásticos: características, usos, produção e impactos ambientais**. Série: Conversando sobre Ciências em Alagoas. Maceió: EDUFAL, 2005.

PICCININ, Everaldo. **Cultura do cogumelo Shiitake (*Lentinula edodes*) em toras de eucalipto: teoria e prática**. Piracicaba: ESALQ. Divisão de Biblioteca e Documentação, 2000. 53 p.: il. (Série Produtor Rural, Edição Especial).

PRZYBYLOWICZ, Paul; DONOGHUE, John. **Shiitake Growers Handbook – The art and science of mushroom cultivation**. Dubuque, Iowa: Kendall / Hunt, 1990. 217p.

RABELLO, M.S., FECHINE, G.J.M, SOUTO MAIOR R.M., CATALANI L.H. Surface characterization of photodegraded poly(ethylene terephthalate). The effect of ultraviolet absorbers. **Polymer**. 45. 2303–2308. 2004.

RAMIREZ, Aurelio; NAVARRO, Leticia Guadalupe; CONDE ACEVEDO, Jorge. Degradación química del poli(etilen tereftalato). **Rev.Colomb.Quim.**, Bogotá , v. 39, n. 3, Dec. 2010 . Available from <http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-28042010000300002&lng=en&nrm=iso>. access on 12 Dec. 2014.

ROSSI, I.H. *et al.* Supplementation of sugarcane bagasse with rice bran and sugarcane molasses for shiitake (*Lentinula edodes*) spawn production. **Brazilian Journal of Microbiology**.v. 34, p.61-65, 2003.

REYES, Luciana Frias. **Estudo da degradação de Polietileno Tereftalato (PET) por Fungos Basidiomicetes Lignofílicos**. 2003. 104f. Dissertação Mestrado em Ciência de Alimentos - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003. Disponível em: < http://volans.fea.unicamp.br/alimentarium/ver_documento.php?did=761>. Acesso em: 20 mai. 2014.

RODRIGUES, Leonardo Pereira Sarmiento. **Efeitos do envelhecimento ambiental acelerado em compósitos poliméricos**. 2007 ,127 f. Dissertação Pós-Graduação em Engenharia - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2007. Disponível em: <<http://repositorio.ufrn.br:8080/jspui/handle/1/11206?mode=full>>. Acesso em: 22 set. 2013.

ROMÃO, Wanderson. **Metodologia para detectar a presença do pet reciclado em embalagens PET para alimentos**. Dissertação Pós Graduação em Química na área de Físico-Química - Universidade Estadual de Campinas. Campinas/SP. 2009. Disponível em: <<http://biq.iqm.unicamp.br/arquivos/teses/000446344.pdf>>. Acesso em: 20 mai. 2014.

ROMÃO, Wanderson; SPINACÉ Márcia A. S.; PAOLI, Marco A. De. Poli (Tereftalato de Etileno), PET: Uma Revisão Sobre os Processos de Síntese, Mecanismos de Degradação e sua Reciclagem. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, vol. 19, n 2, p. 121-132, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/po/v19n2/v19n2a09>>. Acesso em: 20 mai. 2014.

SANTOS, Bruno Carvalho Marques dos. Análise do ciclo de vida da embalagem de polietileno tereftalato. In: **VII Congresso Nacional de Excelência em Gestão**. 2011. Disponível em: <http://www.excelenciaemgestao.org/portals/2/documents/cneg7/anais/t11_0392_2138.pdf>. Acesso em 20.dez.2014.

SANTOS, Diego Tresinari dos; SARROUH, Boutros Fouad; SANTOS, Júlio César dos; PÉREZ, Víctor Haber; SILVA, Silvio Silvério da. **Potencialidades e aplicações da fermentação semi-sólida em biotecnologia**. Janus, Lorena, a.3, n. 4, 2006.

SANTOS, Paulo A.; OLIVEIRA, Marina N.; PAOLI Marco A. De; FREITAS, Vanessa G.; ROSA, Derval S. Avaliação do Efeito Pró-Oxidante no PP, em Blendas com PHB. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, vol.23, n.3, p.432-439, 2013. Disponível em: < <http://www.redalyc.org/pdf/470/47027957009.pdf>>. Acesso em: 28 set. 2013.

SCOTT, Gerard. Abiotic Control of Polymer Biodegradation. **Elsevier Trends Journals**. v. 5, n. 11. 1997, 361-368 p. Poznań, Poland. Disponível em: <<http://www.pjoes.com/pdf/19.2/255-266.pdf>>. Acesso em: 20 mai. 2014.

SCOTT, Gerard; GILEAD Dan. **Degradable Polymers: Principles and applications**. 1995. (eBook). Disponível em: < <http://link.springer.com/book/10.1007/978-94-011-0571-2>>. Acesso em: 20 mai. 2014.

SHAH, Amer Ali, HASAN, Fariha, HAMEED, Abdul, AHMED, Safia. Biological degradation of plastics: A comprehensive review, **Biotechnology Advances**, Volume 26, Issue 3, May–June 2008, Pages 246-265, ISSN 0734-9750, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.12.005>.
(<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975008000141>)

SHARON, Chetna; SHARON, Madhuri. Studies on Biodegradation of Polyethylene terephthalate: A synthetic polymer. **Journal of Microbiology and Biotechnology Research**. 2 (2):248-257. 2012.

SHIMAMOTO, Gustavo G.; KAZITORIS, Bianca, Luis F. R. de Lima; ABREU, Nathassia D. de; SALVADOR, Vitor T.; BUENO, Maria Izabel M. S.; CASTRO, Eustáquio V. R. de; FILHO, Elói A. S.; ROMÃO, Wanderson. Quantificação de antimônio em garrafas de politereftalato de etileno (PET) brasileiras por fluorescência de raios-x e avaliação quimiométrica para verificar a presença de PET reciclado através do teor de ferro. **Quim. Nova**, v. 34, n. 8, 1389-1393, 2011.

SILVA, André Luis Bonfim Bathista e; SILVA, Emerson Oliveira da. **Conhecendo materiais poliméricos**. Universidade Federal de Mato Grosso. Instituto de ciências Exatas e da Terra. Departamento de Física. 2003. 86 f. Disponível em: < http://www.livrosgratis.com.br/arquivos_livros/ea000223.pdf>. Acesso em: 20 mai. 2014.

SILVA, Edilsa Rosa da. **Biodegradação fúngica de resíduos agroindustriais para a produção de biomassa microbiana, enzimas ligninocelulolíticas e redução de fitatos**. 2001. [s.n.]. Tese Pós Graduação de Ciência de Alimentos - Faculdade de Engenharia de Alimentos - Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP, Campinas/SP, 2001. Disponível em: <http://volans.fea.unicamp.br/alimentarium/admin/ver_documento.php?did=1016>. Acesso em: 20 mai. 2014.

SILVA, Kethlen Rose Inácio da. **Biodegradação de Polietileno Tereftalato (PET) por fungos ligninolíticos**. 2009, 193 f. Dissertação Ciência de Alimentos - Faculdade de Engenharia de Alimentos - Universidade Estadual de Campinas. Campinas/SP. Brasil, 2009. Disponível em: < <http://www.bv.fapesp.br/pt/bolsas/104038/biodegradacao-de-polietileno-tereftalato-pet-por-fungos-ligninoliticos/>>. Acesso em: 20 mai. 2014.

SILVA, F. de A. S.; AZEVEDO, C. A. V. de. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.4,n.1, p71-78,2002.

SOARES, Eliane Pires. **Fungos amazônicos com potencial para degradação de Polietileno Tereftalato-PET**. 2012. 106 f. Dissertação Pós Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia - Universidade do Estado do Amazonas. Manaus/AM. 2012. Disponível em: <<http://www.pos.uea.edu.br/data/area/titulado/download/29-13.pdf>>. Acesso em: 19 mai. 2013.

SOARES, Graça Maria Barbosa. **Aplicação de Sistemas enzimáticos à degradação de corantes têxteis**. 2000. 173f. Tese Doutorado em Engenharia Têxtil – Universidade do Minho, Braga, Portugal, 2000. Disponível em: <https://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/3448/1/Gra%C3%A7a_Soares.pdf>. Acesso em: 20 mai. 2014.

SOARES JÚNIOR, Aldo Batista. **Produção do poli(tereftalato de etileno) modificado com glicerol e derivados**. 2010, 87 f. Dissertação Pós-graduação em Engenharia Química - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <http://objdig.ufrj.br/60/teses/coppe_m/AldoBatistaSoaresJunior.pdf>. Acesso em: 20 mai. 2014.

SOUZA, Aline Francisca; ROSADO, Fábio Rogério. Utilização de fungos basidiomicetes em biodegradação de efluentes têxteis. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v.2, n.1, jan./abr. 2009, p. 121-139. Disponível em: <http://www.cesumar.br/pesquisa/periodicos/index.php/rama/article/viewArticle/777>>. Acesso em: 20 mai. 2013.

SOUZA, Marcos Rogério de. **Blenda de poli (tereftalato de etileno) com polietileno de baixa densidade**. 2007. Dissertação Mestrado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/3/3133/tde-03062008-173546/>>. Acesso em: 31 ago. 2014.

SOUZA, Rosane Liége Alves de. **Produção de pectinases por fermentação semi-sólida utilizando resíduo do maracujá como substrato**. 2008, 97f. Dissertação Mestrado em Engenharia Química - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia. Campina Grande/SP, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415-43662010000900011&script=sci_arttext>. Acesso em: 06 jun. 2013.

SPINACÉ, Márcia Aparecida da Silva; PAOLI e Marco Aurelio De. A tecnologia da reciclagem de polímeros. **Química Nova**, Vol. 28, No. 1, 65-72, 2005.

TAKAHASHI, Yoshio, SAKUMA, K, ITAI, T, ZHENG, G, MITSUNOBU, S. Speciation of antimony in PET bottles produced in Japan and China by X-ray absorption fine structure spectroscopy. **Environ Sci Technol**. 2008. Dec 15;42(24):9045-50.

TAVARES, Felipe Fernando da Costa. **Influência da irradiação gama no comportamento mecânico e estrutural de chapa de poliéster**. 2007. 152fl. Dissertação Pós-graduação em Ciência dos Materiais. Instituto Militar de Engenharia. Rio de Janeiro. 2007. Disponível em: <

http://www.ime.eb.br/arquivos/teses/se4/cm/influenciaradiacao_felipetavares.pdf>.
Acesso em 20.dez.2014.

TONINI, R.C.G.; SANTOS, F.; ISHIKAWA, N.K.; TAVARES, L.B.B., **Crescimento Micelial de *Lentinula edodes* em Resíduo do Processamento do palmito**. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS (SINAFERM), 15, 2005, Recife. **Anais...** p.1-7. CDRom.

TROMBETTA, Ernani. **Utilização de fibra natural de pinus (serragem) como reforço em componentes automotivos compostos de polipropileno**. 2010, 104f. Dissertação Mestrado em Engenharia Mecânica – Universidade Federal do Paraná. Curitiba/PR. 2010. Disponível em: <
http://www.pgmecc.ufpr.br/dissertacoes/dissertacao_114_ernani_trombetta.pdf>.
Acesso em: 06 jun. 2013.

VALT, Renata Bachmann Guimarães. **Ciclo de vida de embalagens para bebidas no Brasil**. Brasília: Thesaurus, 2007.

VICHESSI, Raquel B.; RUVOLO FILHO, Adhemar C. Estudo do efeito do envelhecimento sob radiação UV no transporte de água em filmes de PET reciclados de bebidas carbonatadas. **Polímeros [online]**. 2008, vol.18, n.4, pp. 326-333. ISSN 0104-1428. Disponível em: <
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-14282008000400012>.
Acesso em: 06 jun. 2013.

WELZ, B.; SPERLING, M.; **Atomic Absorption Spectrometry**, 3rd ed., Wiley-VCH: Weinheim, 1999.