

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE QUÍMICA

GABRIELA ALBARA LANDO

**ESTUDO DA BIODEGRADAÇÃO POR FUNGOS FILAMENTOSOS DE
POLIURETANO MODIFICADO SUPERFICIALMENTE POR IRRADIAÇÃO UV
ASSISTIDA**

Porto Alegre

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE QUÍMICA

GABRIELA ALBARA LANDO

**ESTUDO DA BIODEGRADAÇÃO POR FUNGOS FILAMENTOSOS DE
POLIURETANO MODIFICADO SUPERFICIALMENTE POR IRRADIAÇÃO UV
ASSISTIDA**

Trabalho de conclusão apresentado junto à atividade de ensino “Trabalho de Conclusão de Curso - QUI” do Curso de Química, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Química.

Prof. Dr. Daniel Eduardo Weibel
Orientador

Porto Alegre

2013

Dedico este trabalho aos meus pais, Iva e Edgar. Através deles tive forças para seguir em frente e concluir meu sonho de vida profissional.

AGRADECIMENTOS

Aos meus queridos pais, pelo suporte, auxílio, incentivo e amor por todos estes longos anos longe de casa.

Ao Stéphano, pelo companheirismo, por atender meus pedidos de ajuda e silêncio e compreender minhas inseguranças, dúvidas, crises, horas de estudo e trabalho.

Aos meus amigos da vida, por entenderem minha indisponibilidade nos momentos de provas e trabalhos.

Aos colegas que, ao longo do convívio, tornaram-se meus grandes amigos: Letícia, Carol, Karen, Jamili, Fabrício, Vane. Sem vocês, o caminho teria sido ainda mais árduo!

Aos colegas do LAFOS, meu muito obrigada por todos os momentos de auxílio, de risadas, de correções, de cafés e chimas! Aos colegas dos “laboratórios-irmãos”, LINDIM, LMC, pelos empréstimos de materiais e troca de experiências.

À Letícia Marconatto, por tanto ter ajudado a desenvolver a interdisciplinaridade que eu procurava no trabalho.

Ao “meu doutorando” Felipe Kessler, por ter depositado em mim sua confiança de seguir seu trabalho, mesmo à distância.

Ao professor Daniel, um exemplo de profissional, de orientador e de mestre! Sem ele eu não teria descoberto o mundo polimérico e suas aplicações. Obrigada por ter me aceito como sua bolsista e orientanda, mesmo não tendo sido um exemplo de aluna em sala de aula.

*“Above the cloud with its shadow is the star with its light.
Above all things reverence thyself.”*

Pythagoras

RESUMO

O Poliuretano é um polímero estudado desde os anos 30 e utilizado largamente em diversas indústrias e para diversos fins. Por assumir características tanto rígidas, quanto flexíveis, é empregado na manufatura de pneus e estofados de automóveis, adesivos de alto desempenho, colchões, isolantes térmicos e acústicos, entre muitos outros, o que leva a uma grande quantidade de PU fabricada e, conseqüentemente, extenso descarte desse polímero.

Com a extensa fabricação e utilização do PU, seu descarte incorreto e falta de reciclagem pós consumo traz grandes problemas ao meio ambiente. Para amenizar essa situação sem comprometer a economia e o estilo de vida das pessoas, a modificação superficial do poliuretano, a fim de torná-lo mais suscetível à biodegradação, é considerada uma alternativa bastante viável.

A etapa inicial no processo de biodegradação polimérica se dá através da modificação de suas propriedades superficiais inertes, aumentando sua energia livre de superfície e, em conseqüência, sua capacidade de interagir com o meio externo. Assim, tratou-se filmes de poliuretano com radiação de Luz Ultravioleta na presença de Oxigênio e vapores de Ácido Acrílico, acarretando na aquisição de características hidrofílicas no PU. Utilizou-se do fungo filamentososo *Metarhizium Anisopliae* para estudar a biodegradação do poliuretano modificado.

As técnicas utilizadas para a caracterização da superfície e observação da degradação foram WCA, gravimetria, perfilometria, MEV e FTIR-ATR. A combinação de todas as técnicas levou à conclusão de que o poliuretano, mesmo sendo um polímero inerte, consegue ser modificado através da técnica de irradiação UV assistida, enxertando-se novos grupos funcionais em sua superfície. Melhores resultados de ataque fúngico foram obtidos ao se modificar o PU com ácido acrílico, o que gerou um filme de PAA em sua superfície, servindo como substrato para o desenvolvimento do fungo. Ao se desenvolver, o microorganismo secretou enzimas que levaram à erosão superficial das amostras e, conseqüentemente, à sua biodegradação.

Palavras Chave: poliuretano, modificação superficial, luz ultravioleta, biodegradação, fungo filamentososo.

LISTA DE ABREVIATURAS

AA – Ácido Acrílico

cos - cosseno

FTIR-ATR – Espectrometria de Infravermelho por Transformada de Fourier no Módulo de Refletância Total Atenuada

GPC – Cromatografia de Permeação em Gel

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

Mton – Milhões de toneladas

NEXAFS – Espectroscopia de Absorção de Raios-X de Estrutura Fina Próxima da Borda

PAA – Poli (ácido acrílico)

PHB - Polihidroxibutirato

PLA – Poli (ácido láctico)

PS/DVB – Poli (estireno/divinil benzeno) (coluna cromatográfica de GPC)

PU – Poliuretano

SR - Síncrotron

THF – Tetrahydrofurano

UV – Ultravioleta

VUV – Ultravioleta de Vácuo

XPS – Espectroscopia de Fotoelétrons de Raios-X

WCA – Ângulo de Contato em Água

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Produção mundial de plásticos em 2011, em milhões de toneladas (Outros plásticos ~45 Mton)	1
FIGURA 2 - Diagrama da reação de obtenção de PU.....	3
FIGURA 3 - Cultura em placa de petri do fungo <i>M. anisopliae</i> CG97.....	9
FIGURA 4 - Esquema do reator utilizado nas fotólises com atmosfera de vapor de AA.....	12
FIGURA 5 - Representação do equilíbrio de forças de superfície que resultam o WCA.....	13
FIGURA 6 - Gráfico de representação da porcentagem de perda de massa das amostras estudadas.....	16
FIGURA 7 - Microscopia eletrônica mostrando o perfil de um filme de PU.....	18
FIGURA 8 - Perfilometria de um filme de PU tratado por 30 minutos com AA e incubado por 30 dias.....	19
FIGURA 9 - Resultado da perfilometria de um filme de PU e a deposição de PAA sobre ele.....	19
FIGURA 10 - Microscopias Eletrônicas do filme de PU. (a) Sem tratamento. (b) Sem tratamento e após meio Cove por 30 dias. (c) Fotólise em O ₂ de 30 minutos e em meio Cove por 30 dias. (d) Fotólise em O ₂ de 120 minutos e em meio cove por 30 dias.....	21
FIGURA 11 - Imagem de microscopia eletrônica da amostra de PU incubadas por 30 dias: (a) sem tratamento; (b) tratada por 30 minutos com O ₂ ; (c) tratada por 120 minutos com O ₂	22
FIGURA 12 - Representação da ação de microorganismos na degradação de polímeros.....	23

FIGURA 13 - Imagem de microscopia eletrônica da amostra de PU tratada por 120 minutos e cultivada por 60 dias.....	24
FIGURA 14 - Imagens de microscopia eletrônica de amostra de PU sem tratamento (a); e PU tratado com AA por 30 minutos (b)	25
FIGURA 15 - Imagens de microscopia eletrônica de amostras de PU fotolisadas com AA por 15 minutos e cultivadas por 10 (a,b) e 30 (c,d) dias.....	26
FIGURA 16 - Imagens de microscopia eletrônica de amostras de PU fotolisadas com AA por 30 minutos e cultivadas por 10 (a,b) e 30 (c,d) dias.....	27
FIGURA 17 - Imagem de MEV de PU tratado com ácido acrílico por 30 minutos.....	28
FIGURA 18 - Espectro de infravermelho do polímero PU.....	29
FIGURA 19 - Espectro de infravermelho do fungo <i>M. Anisopliae</i> seco.....	30
FIGURA 20 - Espectro de infravermelho comparando o PU original com os tratamentos com oxigênio, por 30 minutos e por 120 minutos. (a). Aumento da região de 3600-3000 cm^{-1} . (b). Aumento da região de 1800-1400 cm^{-1} . (c). Aumento da região de 1300-1000 cm^{-1}	31
FIGURA 21 - Espectro de infravermelho comparando o PU original com PU sem tratamento incubados por 30 e 60 dias.....	32
FIGURA 22 - Espectro de infravermelho comparando o PU original com PU tratado por 30 minutos, sem incubação e com incubações de 30 e 60 dias. (a) Aumento da região de 3600-2800 cm^{-1} . (b) Aumento da região de 1800-1200 cm^{-1} . (c) Aumento da região de 1300-400 cm^{-1}	33

FIGURA 23 - Espectro de infravermelho comparando o PU original com PU tratado por 120 minutos, sem incubação e com incubações de 30 e 60 dias. (a) Aumento da região de 3600-2800 cm^{-1} . (b) Aumento da região de 1800-800 cm^{-1}	34
FIGURA 24 - Espectro de FTIR de um filme de poli (ácido acrílico)	35
FIGURA 25 - Espectro de infravermelho comparando o PU original com os tratamentos com AA, por 30 minutos e por 120 minutos, e com o filme de PAA. (a) Aumento da região de 3600-2400 cm^{-1} . (b) Aumento da região de 1800-1200 cm^{-1} . (c) Aumento da região de 1300-600 cm^{-1}	36
FIGURA 26 - Espectro de infravermelho comparando o PU original com as amostras tratadas por 15 minutos com AA, não incubada e incubadas por 10 e 30 dias. (a) Aumento da região de 3600-2400 cm^{-1} . (b) Aumento da região de 1800-1300 cm^{-1} . (c) Aumento da região de 1300-500 cm^{-1}	38
FIGURA 27 - Espectro de infravermelho comparando o PU original com as amostras tratadas por 30 minutos com AA, não incubada e incubadas por 10 e 30 dias. (a) Aumento da região de 3600-2400 cm^{-1} . (b) Aumento da região de 1800-1300 cm^{-1} . (c) Aumento da região de 1300-500 cm^{-1}	40

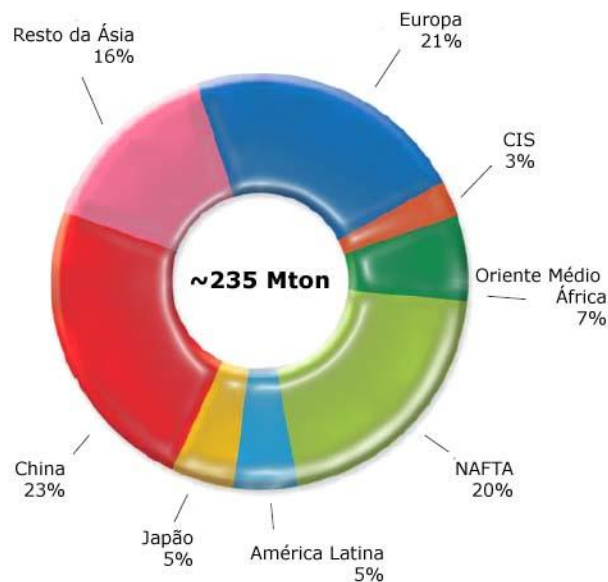
SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVO.....	10
2.1 Objetivo Geral.....	10
2.2 Objetivos Específicos.....	10
3. METODOLOGIA.....	11
3.1 Preparo dos Filmes.....	11
3.2 Fotólises.....	11
3.3 Microorganismos.....	12
3.4 Inoculação dos Fungos nas Amostras.....	12
3.5 Análises e Caracterização.....	13
3.5.1 Ângulo de Contato em Água (WCA).....	13
3.5.2 Avaliação Gravimétrica.....	14
3.5.3 Avaliação da Perfilometria do Filme.....	14
3.5.4 Avaliação do Crescimento Fúngico.....	14
3.5.5 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	14
3.5.6 Cromatografia de Permeação em Gel (GPC).....	14
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	15
4.1 WCA.....	15
4.2 Gravimetria.....	15
4.3 Perfilometria.....	18
4.4 MEV.....	20
4.5 FTIR.....	28
4.6 GPC.....	41
5. CONCLUSÕES.....	42
6. REFERÊNCIAS.....	43

1. INTRODUÇÃO

Plásticos são definidos como materiais orgânicos de longas cadeias poliméricas, estudados e utilizados pelo homem há mais de 70 anos. Introduzidos no mercado como um substituto de materiais naturais em praticamente todas as áreas de consumo, é difícil hoje imaginar a vida sem eles. Encontrados em edificações, embalagens alimentícias, móveis, revestimentos, espumas, etc, a produção mundial de polímeros plásticos em 2011 foi de 280 milhões de toneladas, com um crescimento que vem se mantendo em torno de 9% ao ano, desde 1950 (PLASTICSEUROPE, 2012). A Figura 1 apresenta, em forma de gráfico, a distribuição dessa produção ao redor do mundo no ano de 2011.

Figura 1. Produção mundial de plásticos em 2011, em milhões de toneladas. (Outros plásticos ~45 Mton).



Fonte: Adaptado de PLASTICSEUROPE (2012)

Para atender a demanda e exigência das indústrias ao longo dos anos, foram desenvolvidos polímeros plásticos com durabilidade e estabilidade, resistentes aos diversos fatores do meio ambiente. Com o aumento da produção e consumo, aliado ao fator da resistência, a existência dos polímeros sintéticos se tornou um grave problema ambiental. O descarte após a utilização dos materiais poliméricos contribui para a poluição de solos e águas, e seu acúmulo nas redes de esgoto das cidades

pode gerar inundações e grandes prejuízos para a população, sendo então o gerenciamento dos resíduos sólidos de extrema importância para a preservação ambiental, a redução da geração de resíduos e a saturação dos espaços utilizados para aterros sanitários.

Este gerenciamento pode ser efetivado pela reutilização ou reciclagem dos resíduos poliméricos. Há 3 formas conhecidas de se reciclar polímeros:

- Reciclagem Mecânica, onde ocorre a transformação dos resíduos em grânulos para a fabricação de novos produtos;
- Reciclagem Energética, que se procede à recuperação da energia térmica intrínseca dos resíduos;
- Reciclagem Química, onde se faz a conversão dos resíduos em intermediários químicos, que são reintegrados à cadeia petroquímica.

No Brasil não há uma política de reciclagem de polímeros, mas os dados de 2011 mostram que a reciclagem mecânica dos materiais plásticos pós-consumo atingiu a marca média de 21% do total produzido, sendo que a capacidade seria de 37%, levando-se em conta toda a infraestrutura de coleta seletiva e usinas de reciclagem espalhadas pelo país (PLASTIVIDA, 2011).

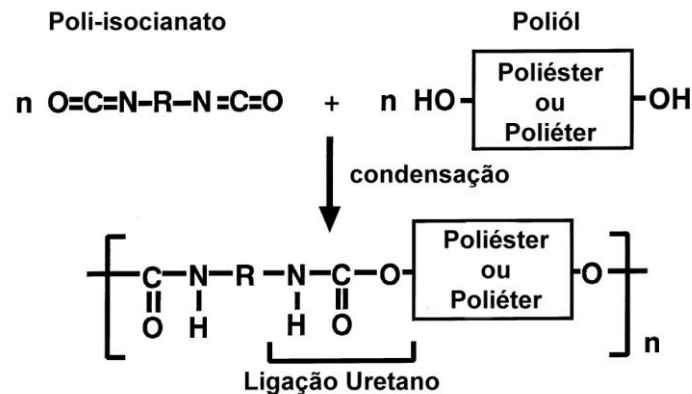
Para amenizar o problema do acúmulo de resíduos de polímeros no meio ambiente, diversos estudos vêm sendo realizados para a criação de novos biopolímeros ou tratamentos para tornar degradáveis os polímeros já existentes, sem afetar as propriedades mecânicas dos materiais.

De acordo com RIEGER *et al.* (2012) biopolímeros são classificados como “macromoléculas principalmente derivadas de fontes renováveis, que podem ser degradadas enzimaticamente ou hidroliticamente em produtos de menor peso molecular. Estas partes podem ser reabsorvidas por microorganismos, que idealmente as convertem em CO₂ e água”. Podem ser citados como exemplos de biopolímeros o polihidroxibutirato (PHB), que provém da superalimentação de bactérias, que armazenam energia sob a forma de poliéster, e o poliácido láctico (PLA), derivado do amido de milho ou mandioca.

O polímero Poliuretano (PU) foi descoberto por Otto Bayer em 1937, derivado de uma reação de condensação de poli-isocianatos e polióis, contendo uma ligação

uretana intramolecular (NAKAJIMA-KAMBE *et al.*, 1999; VILAR, 2002), conforme mostra a Figura 2.

Figura 2. Diagrama da reação de obtenção de PU



Fonte: Adaptado de NAKAJIMA-KAMBE *et al.* (1999)

Dependendo da estrutura química dos poli-isocianatos e polióis utilizados na sua síntese, o PU pode se apresentar com diferentes propriedades físicas e químicas, fazendo com que este polímero ocupe uma posição muito importante no mercado mundial de polímeros sintéticos. A produção europeia de PU, em 2011, foi de 7% do total de polímeros produzidos (PLASTICSEUROPE, 2012). A grande diversidade de propriedades leva-o a ser empregado na manufatura de pneus e estofados de automóveis, adesivos de alto desempenho, colchões, isolantes térmicos e acústicos, entre muitos outros.

Baseados nos problemas ambientais crescentes causados pelo acúmulo de polímeros, diversos tratamentos surgiram para modificar suas estruturas e superfícies e torná-los mais suscetíveis à degradação. Isto se deve ao fato de que, geralmente, os polímeros possuem superfícies relativamente inertes química e biologicamente, dificultando a interação com grupos polares, como a água e enzimas produzidas por fungos e bactérias, o que leva a grandes períodos de tempo necessários para que ocorra a sua degradação no meio ambiente.

A modificação de superfícies poliméricas, sem alterar as propriedades físico-químicas necessárias para sua utilização, vem sendo estudada há muitos anos e

ainda é um desafiante campo de estudo para novas aplicações dos materiais modificados, especialmente nos campos da biotecnologia e bioengenharia. As maiores vantagens em se modificar a superfície dos polímeros são deixar a matriz do material inalterada, mantendo suas propriedades originais, e não precisar criar uma cadeia polimérica nova, já que são enormes as quantidades de materiais já conhecidos e estudados (CHEN *et al.*, 2008; MA *et al.*, 2007; MURAKAMI *et al.*, 2005; WEIBEL *et al.*, 2007).

As técnicas desenvolvidas e utilizadas, ao longo desses muitos anos de estudo de modificação superficial, são: tratamento com plasma, plasma à pressão atmosférica, polimerização por plasma, enxertia por copolimerização e tratamento com luz ultravioleta (UV)/ ozônio (O₃).

A modificação superficial de polímeros tem como objetivo alterar apenas a superfície do material, deixando inalteradas as características físicas, térmicas e mecânicas de sua matriz. Segundo GUILLET (1985), considera-se alguns fatores para que ocorra a modificação superficial:

- Para não alterar as propriedades mecânicas do material, é necessário modificar apenas camadas finas da superfície;
- Para que a modificação seja efetiva ao longo do tempo, necessita-se da criação de ligações covalentes;
- Camadas finas de modificações não alteram as propriedades óticas do material, quando assim requerido;
- Há de se considerar a viabilidade dos processos quanto à homogeneidade, reprodutibilidade, estabilidade, velocidade e custo;
- O controle sobre os grupos funcionais deve ser preciso, apesar de muitos deles não poderem ser diferenciados pela técnica no momento em que são enxertados.

As técnicas de modificação superficial já tradicionalmente estudadas alcançam resultados muito positivos, mas possuem limitações que podem interferir no produto esperado. O tratamento com plasma (CHAN *et al.*, 1996) constitui na formação de um conjunto de partículas ionizadas que, em contato com o polímero, promove a formação de radicais e íons na superfície, podendo ser estes as espécies

ativas a serem enxertadas na superfície ou, se expostas a algum gás ou monômero, promoverem ligações covalentes (PETHRICK, 1993; SANCHIS *et al.*, 2008; VORONIN *et al.*, 2006). Mesmo com o controle experimental de potência, pressão de gases, etc, no tratamento com plasma não há como controlar quais as ligações químicas deveriam ser preservadas, ou seja, não há controle da química superficial obtida no final do processo. O tratamento com descarga em corona (BLYTHE *et al.*, 1978) ou plasma à pressão atmosférica, segue o mesmo princípio da técnica com plasma, mas ocorre em temperatura e pressão ambiente (PETHRICK, 1993; VORONIN *et al.*, 2006). Por este motivo, a contaminação do material pelas espécies gasosas presentes no ambiente durante a descarga não permite o total controle sobre os grupos enxertados na superfície. O enxerto por meio químico (CHOI *et al.*, 2004) utiliza compostos químicos para promover a introdução de grupos específicos na superfície polimérica. Mesmo possuindo as vantagens de modificação da superfície através da escolha do monômero e ter um certo controle na introdução desses e promoção de ligações covalentes, como a técnica se dá pela interface polímero/reagente (sólido/líquido), ocorre a plastificação da matriz polimérica, bem como a possível contaminação pelo uso de solventes (BHATTACHARYA e MISRA, 2004).

O enxerto induzido por radiação eletromagnética baseia-se na excitação eletrônica das moléculas da superfície polimérica através da radiação UV (MITCHELL *et al.*, 2005, p. 108), radiação VUV (WIRSÉN *et al.*, 2005; WIRSÉN *et al.*, 2005) ou radiação síncrotron (SR) (FUJII *et al.*, 1998), que forma radicais na região superficial e pode também levar ao rompimento das ligações. Por sua vez, os radicais, em contato com outro composto ou monômero, podem formar ligações covalentes, enxertando os novos grupos funcionais na superfície. A técnica também se baseia na interface polímero/reagente mas neste caso, o reagente é gasoso, evitando a plastificação ou contaminação da superfície. Contudo, ou o polímero deve conter em sua estrutura um grupo capaz de absorver fótons e ativar-se, promovendo um estado metaestável que irá se ligar ao grupo a ser posteriormente enxertado ou a espécie a ser enxertada deve conter tal grupo fotorreativo. Caso polímero e enxerto não possuam grupos fotorreativos, há de se usar compostos fotossensibilizadores ou fotoiniciadores (HE *et al.*, 2009).

Pela variedade de fontes de radiação eletromagnética, controle dos parâmetros experimentais necessários, como fluxo de gás ou monômero e a não necessidade do uso de solventes ou fotocatalisadores, a técnica de enxerto induzido por radiação eletromagnética, principalmente UV e VUV, é altamente vantajosa frente às outras técnicas relatadas, obtendo-se superfícies com baixo grau de contaminação e bastante homogêneas. Há de se citar também que o aparato experimental é muito simples e de baixo custo, sendo o tempo longo de irradiação (da ordem de minutos) a principal desvantagem da técnica, frente à técnica de plasma (da ordem de segundos).

A modificação superficial do PU usando radiação UV já foi estudada e caracterizada através de análises de FTIR, XPS e NEXAFS. Estes estudos (RAJAJEYAGANTHAN *et al.*, 2011; WEIBEL *et al.*, 2009; WEIBEL *et al.*, 2007) mostram que, quando a modificação se dá na presença de oxigênio, há um aumento na concentração de grupos oxigenados na amostra, enquanto a concentração de carbono diminui em concentrações correspondentes. Este aumento da concentração do oxigênio pode ser correlacionado ao aumento da hidrofiliabilidade do PU. Em modificações na presença de vapores de AA, observou-se a formação de um filme de poli(ácido acrílico) (PAA) sobre a amostra do polímero e se confirmou a presença dos grupos carbonil e hidroxil na superfície do mesmo.

Os mecanismos de reações de fotoenxerto de grupos funcionais na superfície do PU não estão bem definidos na literatura. Os trabalhos referentes à PU e fotoquímica tratam, em sua maioria, da sua fotodegradação (THAPLIYAL e CHANDRA, 1990), e não de enxerto via fotólise. Sabe-se, contudo, que a excitação por radiação UV de polímeros pode seguir por mecanismos de reação do tipo Norrish I e Norrish II. A reação Norrish I baseia-se na clivagem de carbonilas excitadas de poliésteres, podendo levar à formação de radicais ou cisões homolíticas. A reação de Norrish II trata da abstração intramolecular de hidrogênio pela carbonila excitada de éster (CALVERT e PITTS, 1966). Já a fotoquímica do AA é bem estudada e estabelecida. A absorção da luz em certos comprimentos de onda pelas carbonilas, seguindo de sua excitação, pode resultar em clivagens ou formações de radicais, que podem reagir com os outros radicais formados na cisão homolítica do poliéster ou abstrair hidrogênios da cadeia polimérica. Esses radicais são os responsáveis pela eficiente reação de polimerização observadas em WEIBEL

(2010) e WEIBEL *et al.* (2009), que formam uma camada de PAA quando se irradia os polímeros na presença de vapores de AA.

Sabendo-se da eficiência da técnica de modificação de superfícies poliméricas utilizando radiação UV (KESSLER *et al.*, 2013; RAJAJEYAGANTHAN *et al.*, 2011; WEIBEL, 2010; WEIBEL *et al.*, 2009; WEIBEL *et al.*, 2007), com preciso controle e hidroflicidade requerida, começou-se a avaliar a possibilidade de aplicação dos materiais modificados na área de biotecnologia, como em produtos biocompatíveis e em biodegradação por fungos.

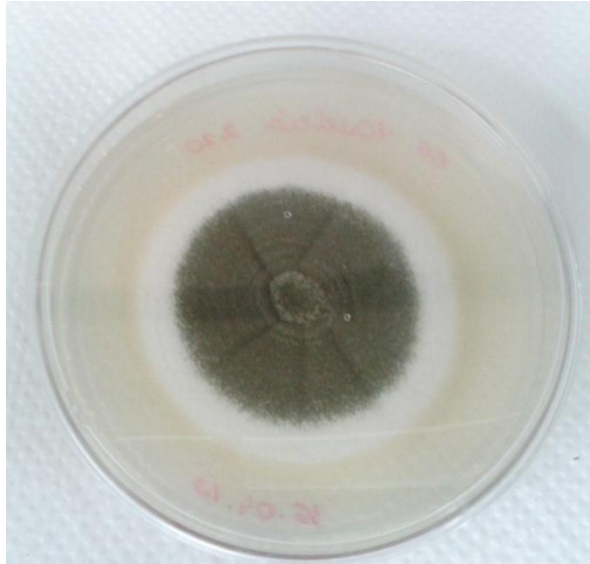
DARBY e KAPLAN (1968) demonstraram que poliuretanos poliésteres sofrem ataques fúngicos, mas poliuretanos poliéteres, polímero utilizado no presente trabalho, são resistentes a estes ataques. Desde então, vários trabalhos (BENTHAM *et al.*, 1987; CRABBE *et al.*, 1994) isolaram e caracterizaram fungos com capacidade de degradar PU. Vários pesquisadores sugeriram que o ataque microbiano ao PU se deve à ação enzimática de hidrolases, como ureases, proteases e esterases (FILIP, 1978; GRIFFIN, 1980). HUANG e ROBY (1986) observaram que a degradação do PU procedede maneira seletiva, com as regiões amorfas sendo degradadas prioritariamente frente às regiões cristalinas. O estudo de BENTHAM *et al.* (1987) mostra que o estresse mecânico do polímero aumenta a degradação do mesmo, em relação ao polímero não estressado. A degradação foi comprovada tanto visualmente, quanto por medidas físicas. DALE e SQUIRRELL (1990) chegaram às mesmas conclusões do trabalho de Bentham *et al.*, com o acréscimo de que, para amostras de poliéter poliuretano, reportadas como resistentes ao ataque fúngico, em condições específicas de estresse e em contato com solo por 8 semanas, é passível de sofrer deterioração.

Fungos ambientais que atuaram na deterioração de amostras de PU coloidal foram isolados por CRABBE *et al.* (1994) que definiu que as enzimas endopoliuretanoesterase e exopoliuretanoesterase são os responsáveis diretos na degradação. A atividade da enzima endopoliuretanoesterase diminuiu o grau de polimerização, clivando ligações ao longo da cadeia de PU, reduzindo a sua força de tensão. Diversos tipos de PU foram sintetizados por KIM e KIM (1998), alterando isocianatos na formulação. Comprovaram que os diisocianatos alifáticos sofreram maior taxa de biodegradação que diisocianatos aromáticos, indicando que a presença de um segmento mais rígido no PU influencia na biodegradação em

condições de compostagem. Em RUSSELL *et al.* (2011) foi estabelecido uma alta atividade de degradação de poliuretano sob condições anaeróbicas, onde o PU serviu como única fonte de carbono para o fungo se desenvolver. O trabalho foi o primeiro a demonstrar que fungos endofíticos podem ser potencialmente aplicados em biorremediações.

Para estudar a biodegradação de PU no presente trabalho, foi escolhido o fungo filamentosso *Metarhizium anisopliae* linhagem CG97, que se trata de um fungo ambiental, podendo ser isolado a partir de solos ou carapaça de artrópodes. Este micro-organismo oferece vantagens como a facilidade de manipulação e manutenção em laboratório, capacidade de suportar amplas faixas de pH, variando de 2,0 a 8,5. Além disso, por ser um fungo ambiental, não oferece riscos aos seres humanos durante o seu processo de manipulação. O seu uso já é amplamente estudado e conhecido como pesticida natural, por ser um fungo classificado como entomopatogênico. Seu crescimento se dá em forma de hifas (micélio), o que pode facilitar o processo de degradação pois, uma vez havendo qualquer fissura na superfície do polímero, estas hifas conseguem penetrar até a matriz. Outra característica importante desse fungo, durante seu processo de infecção, é o desenvolvimento de uma estrutura chamada apressório (LUBECK *et al.*, 2008) a partir da qual surge um grampo de penetração que exerce pressão mecânica sobre a superfície no qual está aderido, além de secretar diversas enzimas (ARRUDA *et al.*, 2005). A Figura 3 apresenta a imagem captada pelo Laboratório de Biologia Celular e Molecular de Fungos Filamentosos da UFRGS de uma cultura do fungo *M. anisopliae* isolado CG97 em placa de petri.

Figura 3. Cultura em placa de petri do fungo *Metarhizium anisopliae* isolado CG97



A aplicação da técnica de modificação de superfícies em polímeros sintéticos sem modificar suas propriedades de matriz e, em contato com um ambiente propício para o desenvolvimento de fungos, iniciarem sua biodegradação, é de grande importância ambiental. Esta técnica já tem sua eficiência comprovada por diversos trabalhos anteriores, já citados, evidenciando-se as mudanças superficiais necessárias para que os processos de degradação ou biodegradação ocorram. O presente trabalho traz como novidade a facilidade da técnica de modificação UV-assistida e a inovação da utilização de um fungo filamentososo na degradação de um polímero sintético sabidamente inerte, podendo ser uma técnica a ser explorada na biorremediação dos polímeros, impactando positivamente no meio ambiente.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Estudo da biodegradação de superfícies poliméricas modificadas pela combinação da radiação eletromagnética com gases e vapores reativos.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Modificação da superfície de filmes do polímero sintético Poliuretano, induzida por radiação UV em presença de O₂ e AA;
- Estudo da ação do fungo filamentoso *Metarhizium anisopliae* sobre as superfícies modificadas.

3. METODOLOGIA

3.1. PREPARO DOS FILMES

O polímero utilizado neste trabalho foi elastômero Poliuretano Ellastolan[®] da BASF[®] (nome comercial PU 1185A10). Para a solução de PU utilizou-se THF Fluka. Os gases, Oxigênio 99,99% e Nitrogênio 99,999% da Air Liquide Brazil Ltda., foram utilizados como recebidos. Ácido Acrílico >99% obtido da Merck S.A.

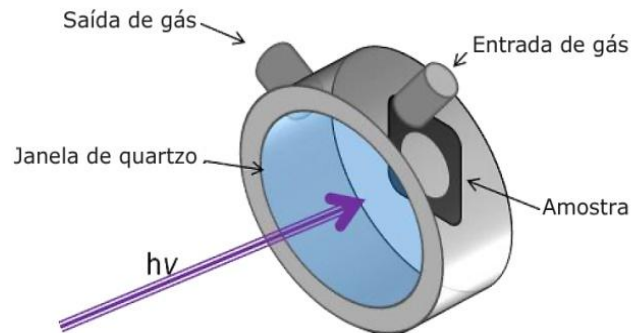
Todos os instrumentos e materiais utilizados foram lavados com uma sequência de três solventes, em ordem crescente de suas polaridades, a fim de remover qualquer contaminação orgânica. Os solventes utilizados foram Heptano Synth (99,0%), Clorofórmio Fmaia (99,8%) e Álcool Isopropílico Synth (99,5%).

As amostras foram preparadas pela técnica de *casting* (evaporação do solvente), utilizando-se 12,5 mL de solução 5×10^{-4} mol.L⁻¹ de PU em THF em placas de petri de vidro Pyrex.

3.2. FOTÓLISES

As irradiações com luz UV foram realizadas a temperatura ambiente em um reator de bancada composto por uma caixa retangular em alumínio, com controles de entrada e saída dos gases e 5 lâmpadas germicidas de 6 W. Para as amostras tratadas com Ácido Acrílico, o sistema foi adaptado com um segundo reator interno (Figura 4), com janela de quartzo, com fluxo de N₂ de 5 cm³/s, utilizado para introduzir os vapores do AA dentro do reator citado. Os tempos de irradiação das amostras com AA foram de 0, 15 e 30 minutos. As fotólises em atmosfera de O₂, também com um fluxo de 5 cm³/s, se deram nos tempos 0, 30 e 120 minutos.

Figura 4. Esquema do reator utilizado nas fotólises com atmosfera de vapor de AA.



3.3. MICROORGANISMOS

O fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* foi disponibilizado pelo Laboratório de Biologia Celular e Molecular de Fungos Filamentosos da UFRGS. A linhagem CG97 foi mantida em meio Cove (MCc) a 4 °C (COVE, 1966).

3.4. INOCULAÇÃO DOS FUNGOS NAS AMOSTRAS

Um meio de cultura foi utilizado para avaliar o comportamento de crescimento em todas as amostras: meio mínimo de cultura (MNM) contendo, em massa por volume, glicose 1%, NaNO_3 0,6% e ágar 1,5%. A esse meio foi adicionado uma solução salina contendo (em massa por volume (m/v)) KCl 2,6%, $\text{Mg}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2,6%, KH_2PO_4 7,6% e elementos traço ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,004%, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,04%, FeSO_4 0,001%, $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,08% $\text{Na}_2\text{Mo}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,08%, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,08%). As amostras, tratadas e não tratadas, foram lavadas com etanol 70% para esterilização e colocadas em placas de Petri contendo meio de cultura. Aproximadamente 10^7 esporos do fungo foram inoculados no centro dos filmes poliméricos e incubados à 28°C por 10 e 30 dias, no caso dos polímeros tratados com AA, e 30 e 60 dias, para os polímeros tratados com O_2 . Após o tempo de incubação, os filmes foram novamente lavados com etanol 70% para eliminar os fungos presentes na superfície polimérica. As amostras foram submersas em água destilada e lavadas com auxílio de ultrassom por 15 minutos. Placas não inoculadas foram consideradas como controle da experiência.

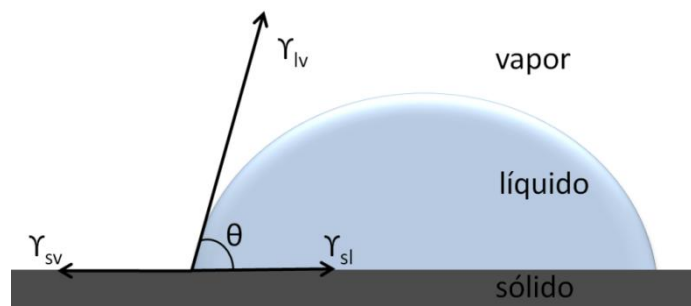
3.5. ANÁLISES E CARACTERIZAÇÃO

3.5.1. Ângulo de Contato em Água (WCA)

O WCA de uma superfície indica, através das propriedades físico-químicas dos meios de contato (sólido, líquido, vapor), se essa possui características hidrofílicas ou hidrofóbicas.

O ângulo de contato θ , mostrado na Figura 5, é determinado pelo balanço de forças das tensões superficiais (γ), ao longo da linha de contato entre a superfície e a gota.

Figura 5. Representação do equilíbrio de forças de superfície que resultam o WCA.



Este ângulo é representado pela Equação de Young:

$$\theta = \cos^{-1}[\gamma_{sv} - \gamma_{sl} / \gamma_{lv}]$$

O comportamento da gota sobre a superfície de estudo indica o grau de molhabilidade que esta possui. Para $0^\circ < \theta < 90^\circ$ a superfície é tida como hidrofílica e para $90^\circ < \theta < 180^\circ$ a superfície é considerada hidrofóbica.

Para as medições dos ângulos de contato das amostras de PU, utilizou-se o equipamento Krüss DSA30, com a análise realizada pelo software DAS – DropShapeAnalysis – versão 1.92.1.1(HS).

3.5.2. Avaliação Gravimétrica

A gravimetria consiste em analisar perdas ou ganhos de massa das amostras após as inoculações com o fungo. Foi utilizada balança com precisão analítica para essa determinação, após as amostras serem lavadas em ultrassom com água destilada e armazenadas em dessecadores até a retirada completa da umidade residual.

3.5.3. Avaliação do Perfil dos Filmes

A espessura média dos filmes foi medida através de imagens de Microscopia Eletrônica da Varredura (JEOL – JSM 6060) e a espessura do filme de PAA sobre o filme de PU foi obtida utilizando perfilômetro Ambios XP-2.

3.5.4. Avaliação do Crescimento Fúngico

Para a avaliação do crescimento fúngico, utilizou-se da Microscopia Eletrônica da Varredura (JEOL – JSM 6060), em 10kV.

3.5.5. Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

As análises de infravermelho das amostras de PU tratadas e não tratadas, antes e após a inoculação fúngica, foram realizadas em aparelho Bruker, modelo Alpha-P de módulo ATR com prisma de diamante. Os espectros foram obtidos em corridas de 24 scans, com resolução espectral de 4 cm^{-1} .

3.5.6. Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)

As amostras não tratadas, tratadas, antes e após inoculação fúngica, foram enviadas para análises de massa molecular. O equipamento a ser utilizado é Viscotek VE 2001 com detector triplo (Índice de Refração, Viscosimétrico e por Espalhamento de Luz) Viscotek TDA 302, utilizando solvente orgânico THF, em colunas de PS/DVB.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. WCA

Os ângulos de contato das amostras foram medidos antes e depois dos tratamentos, a fim de monitorar as mudanças na hidrofobicidade da superfície. Os dados foram obtidos em triplicatas sobre cada amostra e, cada réplica submetida à 3 medidas pelo equipamento. Os valores médios encontrados são descritos a seguir, na Tabela 1:

Tabela 1. Ângulos de contato das amostras de PU antes e após fotólise

Tempo de fotólise (min)	WCA (graus)	
	PU + O ₂	PU + AA
0	92	92
15	-	60
30	43	29
120	35	-

As valores encontrados estão de acordo com trabalhos anteriores (WEIBEL *et al.*, 2009; WEIBEL *et al.*, 2007) e a redução no ângulo de contato demonstra que as amostras adquiriram características hidrofílicas. O polímero original (sem tratamento) é considerado hidrofóbico e, conforme o aumento no tempo de ambos os tratamentos, o grau de hidrofobicidade também aumenta.

Observa-se que o tratamento com AA é mais efetivo na busca da hidrofobicidade em comparação com o tratamento com O₂ pois, em tempos mais curtos, adquire-se ângulos de contato menores.

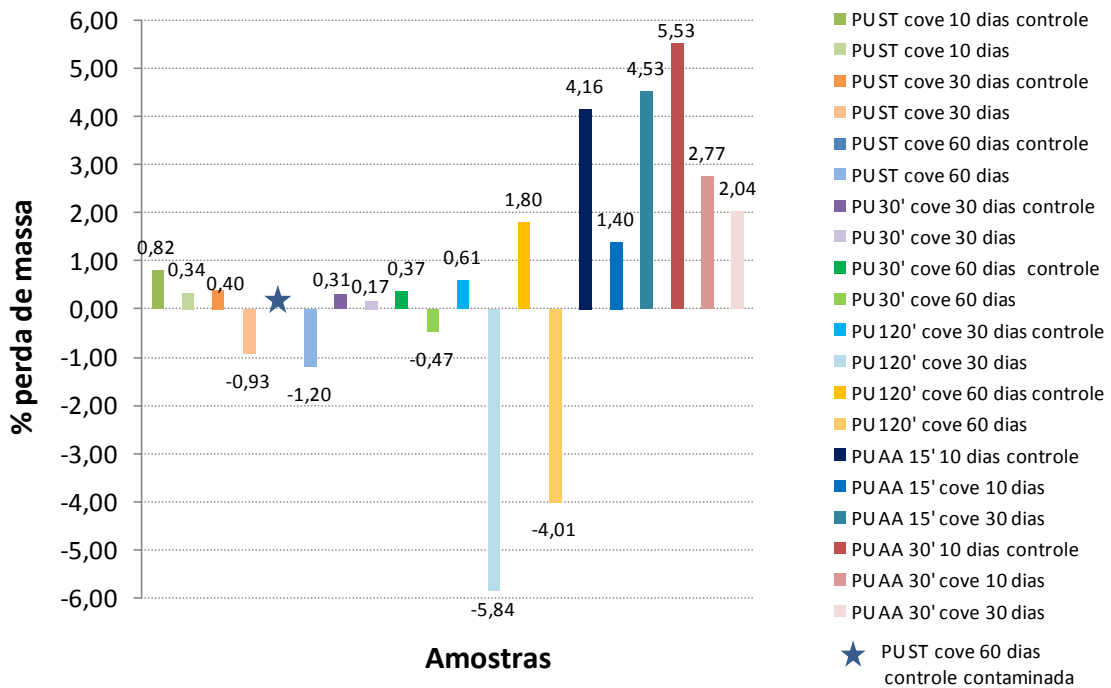
4.2. GRAVIMETRIA

De acordo com SHAH *et al.* (2008) a perda de massa é um dos testes padrão utilizados para verificar a degradação polimérica. Mesmo sendo altamente utilizada

em testes com filmes ou barras de polímeros, a perda de massa, por si só, não é uma prova da sua degradação, mas uma indicação de polímero residual presente na amostra após os ensaios de biodegradação.

As amostras, que foram pesadas antes de serem inoculadas, após o tempo de incubação foram lavadas em banho de ultrassom com água destilada, a fim de remover o excesso de fungos sobre a superfície, deixando-a mais disponível para as análises. Logo depois, as amostras foram guardadas em dessecador. Cada amostra foi pesada diversas vezes, até atingir a estabilidade. As amostras ditas controles são aquelas deixadas em meio Cove, mas que não foram inoculadas com o fungo. A Figura 6 apresenta a compilação dos dados de gravimetria sob forma de gráfico de barras.

Figura 6. Gráfico de representação da porcentagem de perda de massa das amostras estudadas



As amostras não tratadas foram comparadas entre seus controles e as inoculadas durante 10, 30 e 60 dias. Observa-se que as amostras sem tratamento controle de 10 e 30 dias obtiveram uma perda de menos de 1% de sua massa inicial, bem como a amostra sem tratamento inoculada por 10 dias. O controle de 60 dias perdeu-se devido a uma contaminação externa. As amostras não tratadas, mas

inoculadas por 30 e 60 dias, obtiveram um acréscimo na sua massa inicial de 0,93% e 1,20%, respectivamente. Este aumento de massa pode ser atribuído à adesão e crescimento do fungo sobre o polímero durante o longo tempo de incubação, afetando o peso da amostra.

Ao analisar as amostras controle tratadas por 30 minutos com O₂, observa-se que elas seguem o mesmo padrão de perda de massa, menores que 1%. A amostra tratada por 30 minutos em O₂, inoculada por 30 dias, teve uma perda de massa praticamente insignificante, de 0,17%. Já a amostra inoculada por 60 dias obteve um aumento de 0,47% em sua massa inicial.

Passando para as amostras que foram tratadas por 120 minutos em O₂, percebe-se mudanças mais significativas. Os controles novamente apresentaram perda em suas massas originais, mas desta vez mais pronunciadamente, chegando ao valor de 1,8% de perda. O aumento da massa nas amostras tratadas 120 minutos e inoculadas por 30 e 60 dias apresentaram um acréscimo significativo de 5,83% e 4,1%, respectivamente. Este acréscimo pode ser atribuído a uma maior adesão, proliferação e secreção de proteínas pelo fungo sobre esta superfície tratada.

As amostras tratadas com AA mostram um comportamento bem diferenciado das amostras com O₂. Os controles foram observados por 10 dias em meio Cove, para as amostras tratadas com AA por 15 e 30 minutos. Ambos obtiveram perdas de massa de mais de 4%, muito superior às anteriores tratadas com O₂. As amostras tratadas por 30 minutos obtiveram perdas de 2,77% para a inoculada por 10 dias e 2,04% para a inoculada por 30 dias. Nas amostras tratadas por 15 minutos observou-se uma perda de massa ainda mais acentuada, equiparando-se às perdas dos controles. Seguindo a tendência dos controles em perder, em média, 4,8% de suas massas, as amostras com fungo também deveriam ter esta tendência, mas como apresentam massas com menor perda, pode-se argumentar que estes valores são uma soma da perda de massa devido ao crescimento fúngico e suas proteínas secretadas, pois estas podem percolar em profundidade na matriz polimérica dando continuidade ao processo de degradação.

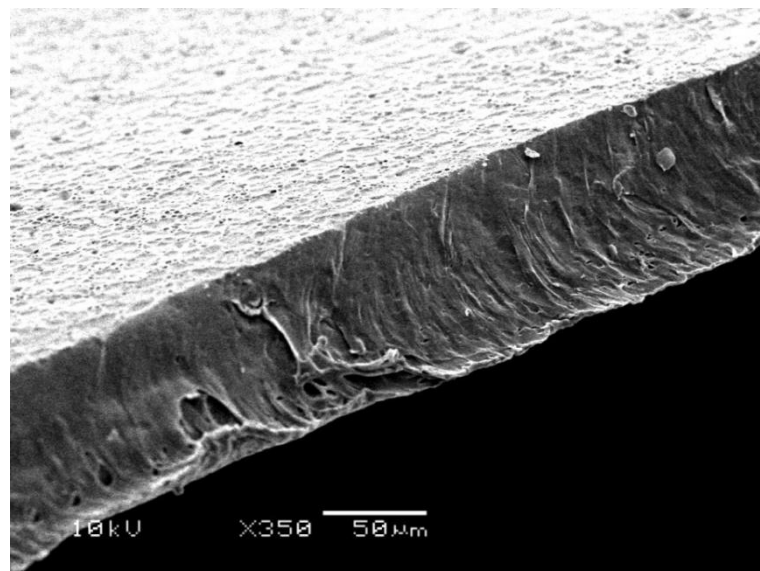
No trabalho de SADI *et al.* (2010), filmes do polímero natural PHB com espessuras de 0,3 mm, sob condições de compostagem, perderam 12,2% de suas massas em 46 dias. Em GUILLET *et al.* (1988), a perda de massa de uma amostra de poliestireno comercial foi avaliada pela evolução de CO₂ quando em meio fúngico por 6 meses, diminuindo em 5% sua massa inicial. De acordo com SEAL e PANTKE

(1986), as perdas de massa para PU, em seis meses de contato com solo, foram de 0,6%. Assim, as perdas de massa encontradas nas amostras de PU tratadas com AA são muito significativas, levando em conta o curto espaço de tempo de cultivo o uso de somente um fungo e não de um consórcio de microorganismos, como nos demais trabalhos.

4.3. PERFILOMETRIA

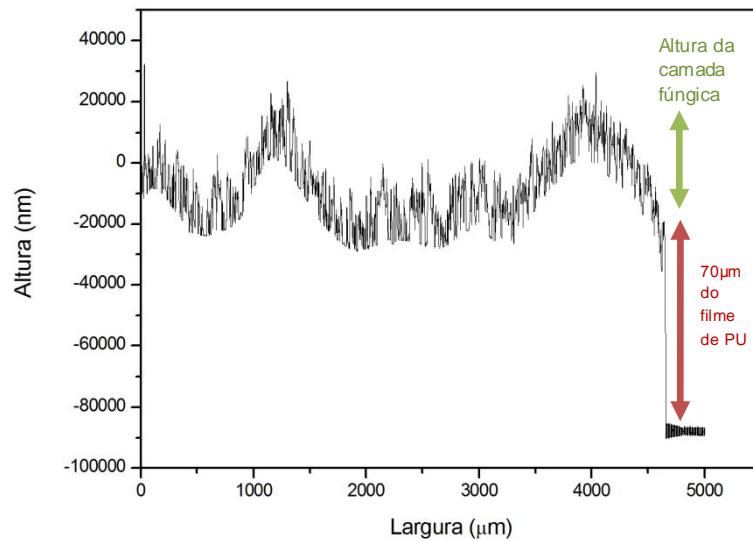
A espessura média dos filmes foi medida através de imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura, como apresentado na Figura 7. A espessura do filme de PAA foi obtida utilizando perfilômetro Ambios XP-2.

Figura 7. Microscopia eletrônica mostrando o perfil de um filme de PU.



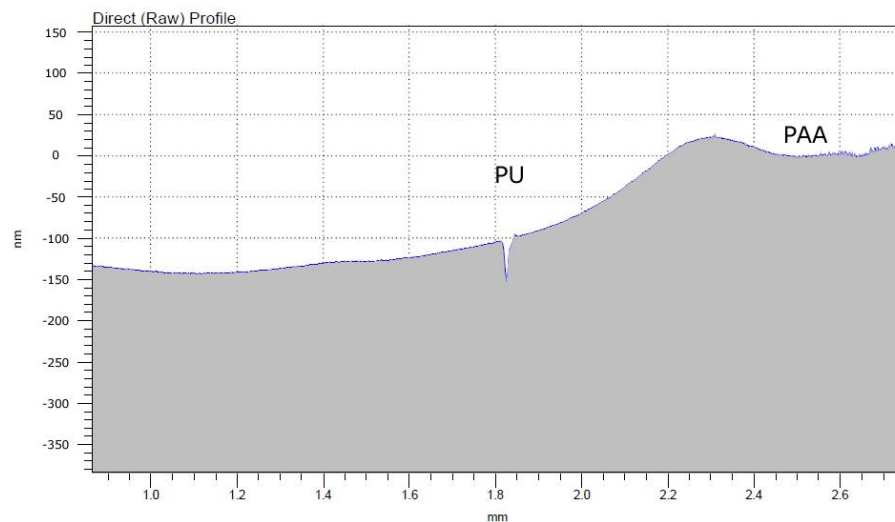
Foi observada um espessura média de 70 μm nas amostras de PU por MEV. Sabendo-se deste dado e diminuindo este valor da perfilometria indicada pela Figura 8, chega-se à um valor 20-40 μm de espessura das camadas de fungo. Esta análise foi realizada após a lavagem da amostra.

Figura 8. Perfilometria de um filme de PU tratado por 30 minutos com AA e incubado por 30 dias



A perfilometria também foi realizada para se investigar a espessura do filme de PAA depositado sob as amostras de PU. Um lado da amostra foi recoberto por uma lamínula de vidro, a fim de que o ácido acrílico não entrasse em contato com a superfície durante a fotólise de 30 minutos. A Figura 9 mostra a mudança entre as duas áreas, de onde encontra-se um valor médio de 50 à 150 nm de PAA, estando de acordo com o trabalho de WEIBEL *et al.* (2009).

Figura 9. Resultado da perfilometria de um filme de PU e a deposição de PAA sobre ele.

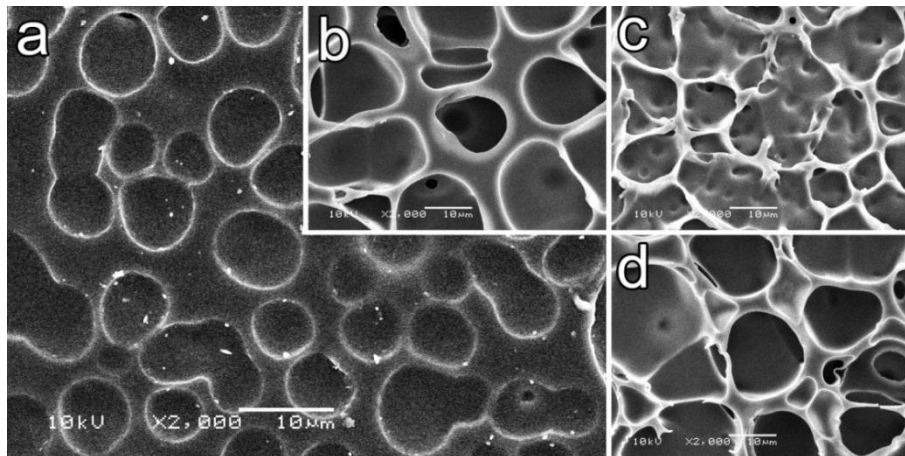


4.4. MEV

Os filmes de PU obtidos através da técnica de casting, ou seja, a solução de PU e THF deixada em placa de petri até o solvente evaporar, foram analisados por microscopia eletrônica de varredura, a fim de se conhecer sua morfologia. Todas as imagens foram capturadas em áreas onde era possível visualizar a superfície do polímero, não apenas células fúngicas.

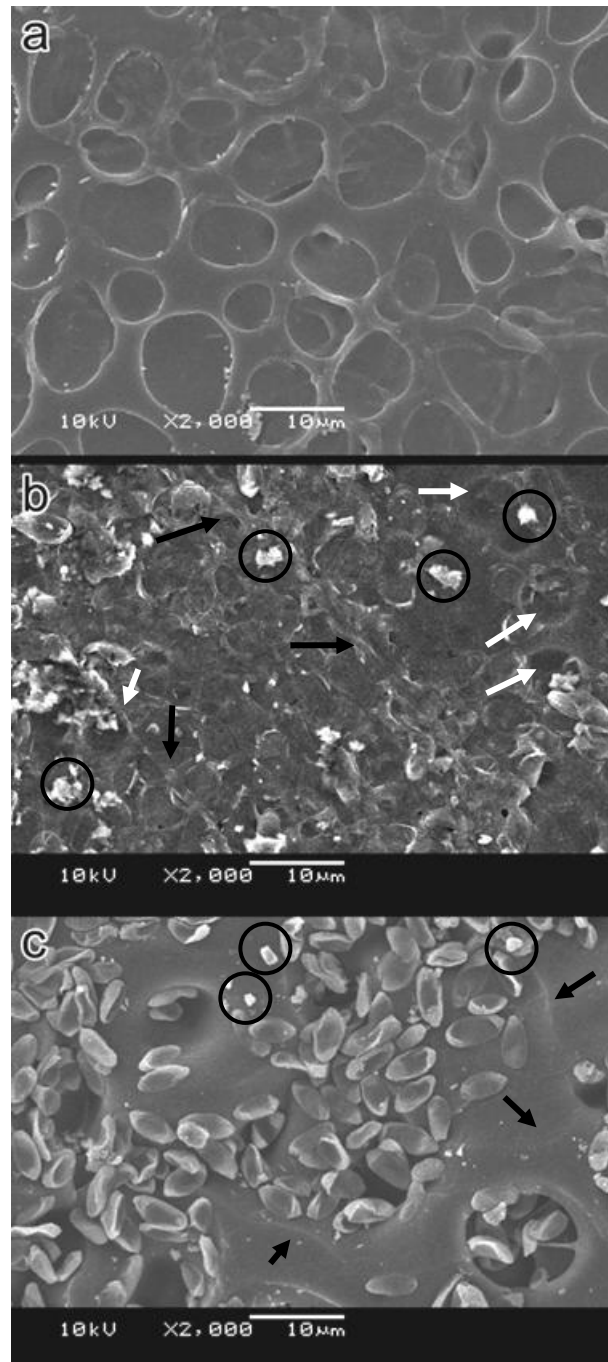
A Figura 10a mostra o filme de PU sob um aumento de 2000 vezes, de onde consegue se observar uma estrutura totalmente porosa. Os poros adquirem formatos circulares irregulares, com diâmetro de 5-10 μm . Em Fig.10b o polímero ainda sem tratamento ficou em contato com o meio Cove por 30 dias, o que fez aumentar consideravelmente os poros (15-20 μm), tanto em diâmetro, quanto em profundidade. Este pode ser um indício de que o meio interage com o polímero, justificando as perdas de massa encontradas nos controles, como visto na seção anterior. A Fig. 10c é a imagem do PU tratado por 30 minutos com O_2 e UV em meio Cove por 30 dias, fazendo com que os poros se tornem totalmente irregulares, mas aumentem em profundidade, obtendo um aspecto de colmeia. Após a fotólise de 120 minutos e a permanência no meio Cove por 30 dias, o filme apresenta poros ainda maiores, de 15 à 25 μm , e visualizam-se poros cada vez mais profundos, formando uma rede interna (Fig. 10d). Devido à alta hidrofiliabilidade adquirida pelo material durante os tratamentos e à característica porosa da membrana, pode-se dizer que os tratamentos ajudam a aumentar a presença de umidade na superfície, o que é extremamente necessário para o crescimento e desenvolvimento do fungo.

Figura 10. Microscopias Eletrônicas do filme de PU. (a) Sem tratamento. (b) Sem tratamento e após meio Cove por 30 dias. (c) Fotólise em O₂ de 30 minutos e em meio Cove por 30 dias. (d) Fotólise em O₂ de 120 minutos e em meio cove por 30 dias.



A imagem do PU sem tratamento incubado por 30 dias não mostra nenhum indício de crescimento do fungo (Figura 11a). Em Figura 11b é possível observar, além de esporos, algumas hifas (setas pretas), ou seja, com o tratamento de 30 minutos utilizando O₂, houve um favorecimento do crescimento fúngico, uma vez que este oxigênio estava disponível para uso imediato. As hifas são estruturas do estágio de crescimento fúngico, servindo de fixação ao substrato e com função de reprodução e digestão extracelular. Em trabalhos de degradação envolvendo outros polímeros (LOPEZ-LLORCA e COLOM VALIENTE, 1993; SHAH *et al.* 2008), a presença de grânulos ou esferulitas é uma forte indicação de biodegradação do material, juntamente com o desenvolvimento e penetração de hifas. Estas esferulitas podem ser explicadas pela degradação preferencial da parte amorfa do polímero e a parte cristalina, não consumida pelo fungo, deixada na superfície como um resto da digestão fúngica. Na Figura 11b estão circuladas as estruturas que se acreditam ser as esferulitas. Indicados por setas brancas encontram-se os poros característicos da superfície do PU.

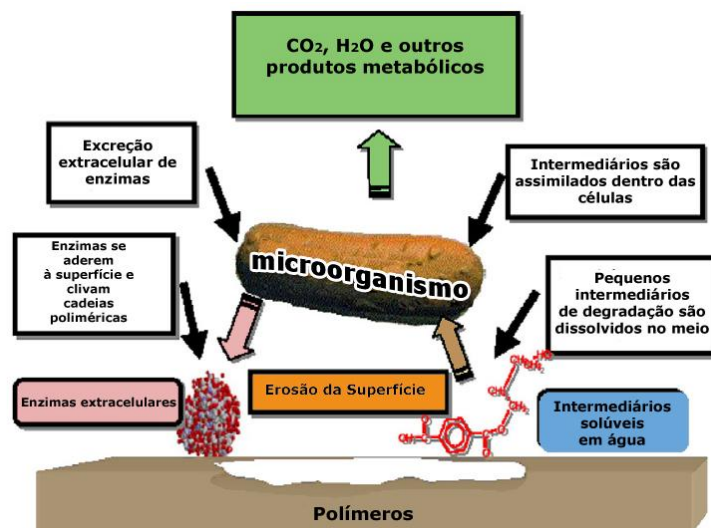
Figura 11. Imagem de microscopia eletrônica da amostra de PU incubadas por 30 dias: (a) sem tratamento; (b) tratada por 30 minutos com O₂; (c) tratada por 120 minutos com O₂.



As mesmas estruturas são visualizadas na Figura 11c, imagem da amostra de PU fotolisada por 120 minutos e incubada por 30 dias. Os grânulos estão circulado em preto e indícios de hifas são indicadas pelas setas. A imagem, mesmo tendo sido realizada após a lavagem da amostra em água destilada e ultrassom, mostra uma ampla camada de esporos de fungos sobre a amostra, indicando uma grande aderência do microorganismo ao polímero.

Segundo MUELLER (2006), a degradação dos plásticos ocorre quando os microorganismos conseguem encontrar um substrato adequado, excretando diversas proteínas capazes de interagir com o substrato, que clivam as cadeias poliméricas, gerando uma erosão na superfície do polímero, o que está exemplificado na Figura 12. Na Figura 11c é possível identificar os poros provindos do PU, mas de forma a estarem com uma aparência morfológica mais suave. Acredita-se que esta suavização é devido ao recobrimento da superfície pelas proteínas secretadas pelo fungo e que podem já estar atuando na erosão dela.

Figura 12. Representação da ação de microorganismos na degradação de polímeros.



Fonte: Adaptado de MUELLER (2006)

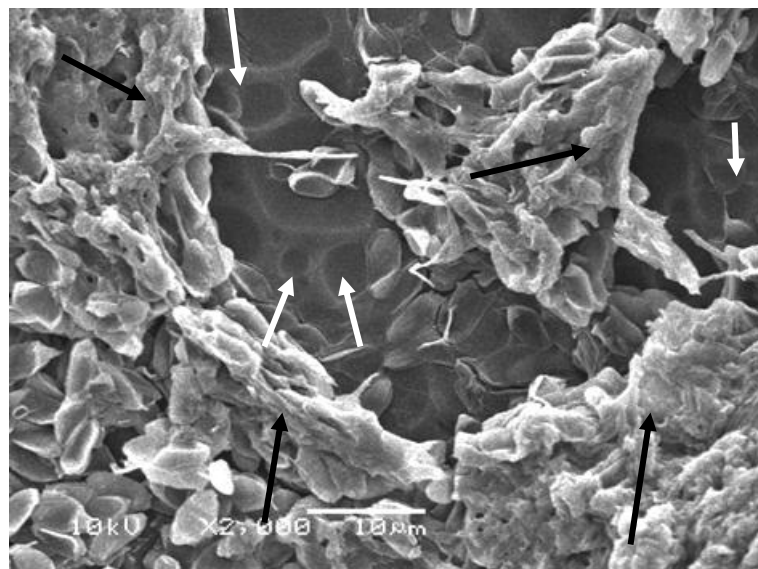
O filme de PU sem tratamento, incubado por 60 dias, apresentou o mesmo comportamento que o incubado por 30 dias, sem quaisquer indícios de desenvolvimento do fungo. O ganho de massa encontrado anteriormente para estas duas amostras pode ser interpretado como a adesão de esporos à superfície, que não se conseguiu retirar totalmente com a lavagem em ultrassom.

Para a amostra tratada por 30 minutos e incubada por 60 dias, foram encontradas algumas diferenças quando comparadas à amostra que sofreu mesmo tratamento, mas que ficou em contato com o fungo por 30 dias. Há um crescimento e desenvolvimento fúngico mais expressivo, o que pode ser constatado também através da análise gravimétrica. A amostra cultivada por 30 dias apresenta uma leve perda de massa, adicionando-se a massa do pouco crescimento do fungo à perda de massa do seu controle correspondente. Já a amostra cultivada por 60 dias

apresenta um ganho significativo em relação à sua massa inicial, indicando assim uma maior quantidade de fungo presente, mesmo após as lavagens das amostras

A Figura 13 apresenta a amostra de PU tratada por 120 minutos com O_2 e cultivada por 60 dias. Nota-se, comparativamente à amostra incubada por 30 dias, uma maior presença do fungo em todas as suas etapas de desenvolvimento, formando um grande aglomerado fúngico (setas pretas indicando hifas). Nota-se também que os poros da superfície do polímero (setas brancas) estão menos acentuados do que os poros do PU apenas tratado por 120 minutos, possivelmente por já terem sofrido a erosão pelas enzimas excretadas pelo fungo. Juntando as informações gravimétricas, pode-se associar o menor ganho de massa da amostra cultivada 60 dias pela ação degradativa das enzimas secretadas, ou seja, que esta amostra já esteja sofrendo degradação pelo fungo em função do tempo, algo que ainda está iniciando na amostra cultivada por 30 dias.

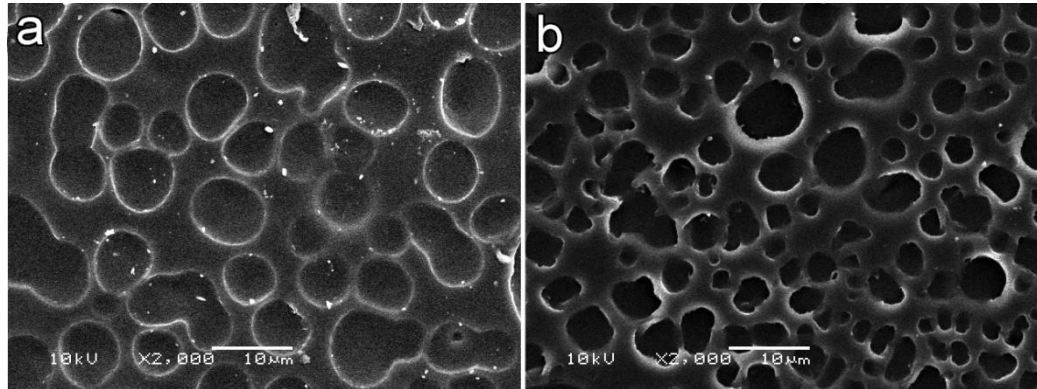
Figura 13. Imagem de microscopia eletrônica da amostra de PU tratada por 120 minutos e cultivada por 60 dias.



O tratamento com ácido acrílico modificou consideravelmente a superfície do polímero, tornando os poros menores do que no PU original. Pela imagem, acredita-se que o filme de PAA formado recobre os poros, tornando-os menores. A Figura 14a mostra, novamente, o polímero sem tratamento e sua morfologia em poros, enquanto a Figura 14b trata do PU modificado com AA por 30 minutos. O comportamento para o tratamento de 15 minutos de ácido acrílico é semelhante,

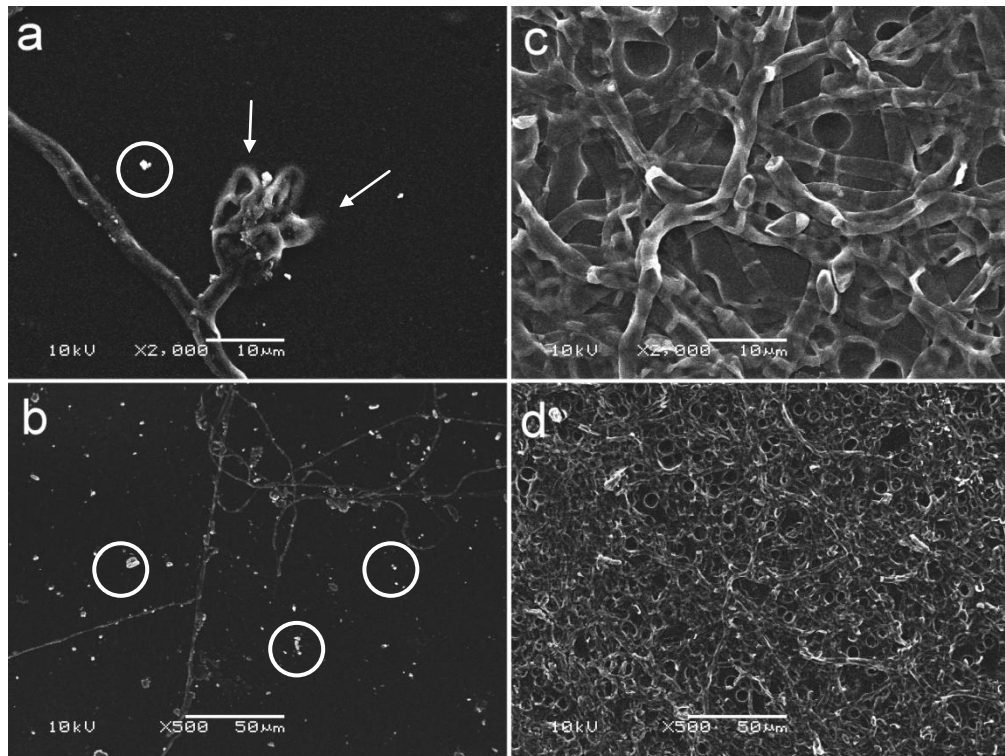
mas em menor quantidade de recobrimento pelo PAA, ou seja, os poros não são tão profundos quanto na Figura. 14b.

Figura 14. Imagens de microscopia eletrônica de amostra de PU sem tratamento (a); e PU tratado com AA por 30 minutos (b).



Para as amostras de PU tratadas com AA por 15 minutos, há um drástico aumento do crescimento fúngico, ao se levar em conta os dias de cultivo. Após 10 dias de cultivo, nota-se a presença de hifas aderidas ao polímero. A Figura 15a mostra em detalhe uma hifa se ramificando a partir de uma estrutura que está penetrando na superfície da amostra (seta). Encontram-se também aqui as esferulitas de degradação (círculos). Já com 30 dias de incubação observa-se um aumento no desenvolvimento fúngico, o que possivelmente ocorre pela adaptação deste micro-organismo ao substrato ali disponível (PAA + PU). Em Figura 15c temos a mesma magnificação de 15a, mostrando o enorme crescimento através das hifas e a presença de novos esporos. Visualiza-se também os poros do polímero com características dos poros do PU sem tratamento, o que leva a crer que o fungo, nesta etapa, consumiu o filme de poli (ácido acrílico) da fotólise. Em Figura 15d, com um aumento de 500x, nota-se novamente a evolução do fungo com o aumento no tempo de cultivo.

Figura 15. Imagens de microscopia eletrônica de amostras de PU fotolisadas com AA por 15 minutos e cultivadas por 10 (a,b) e 30 (c,d) dias.

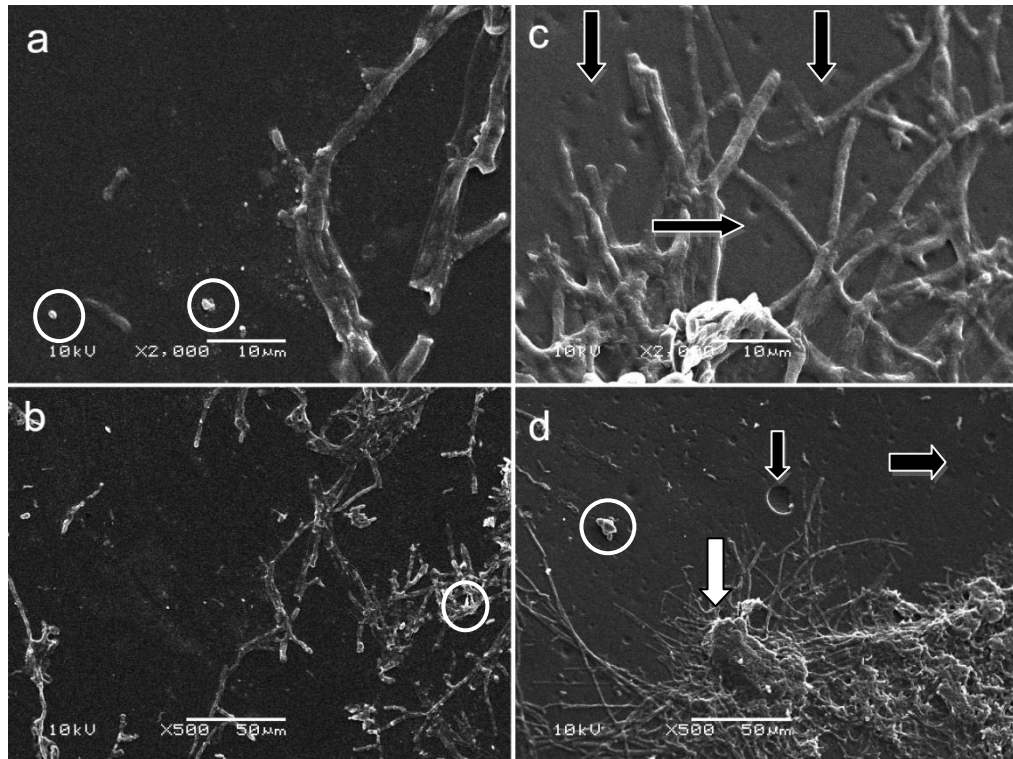


Assim como para a fotólise por 15 minutos, as amostras fotolisadas em AA por 30 minutos (Figura 16) apresentam variação entre os tempos de incubação. As amostras que foram incubadas por 10 dias mostram um maior desenvolvimento e ramificação de hifas que a amostra fotolisada por 15 minutos e incubada pelo mesmo período. Quando observadas as amostras fotolisadas por 30 minutos e cultivadas por 30 dias, nota-se um maior desenvolvimento e crescimento fúngico, passando pelas etapas de reprodução diversas vezes. Na Figura 16d percebe-se um acúmulo grande do fungo (seta branca) em todos os seus estágios de crescimento, mesmo após a lavagem em ultrassom. Ao tentar se acessar a superfície polimérica destas amostras, nota-se que os poros estão amenizados, menos superficiais. Acredita-se, como no caso das amostras com oxigênio, que há uma grande produção e secreção de enzimas pelo fungo e estas recobrem a superfície do polímero, começando a sua erosão, o que pode dar o aspecto possível de ser identificado na Figura 16(c) e 16(d) (setas pretas).

Estas informações corroboram com as perdas de massa encontradas para as amostras de PU + AA, onde os controles tiveram uma maior perda do que as amostras com fungo, levando a crer que estas perdas são um somatório dos fatores

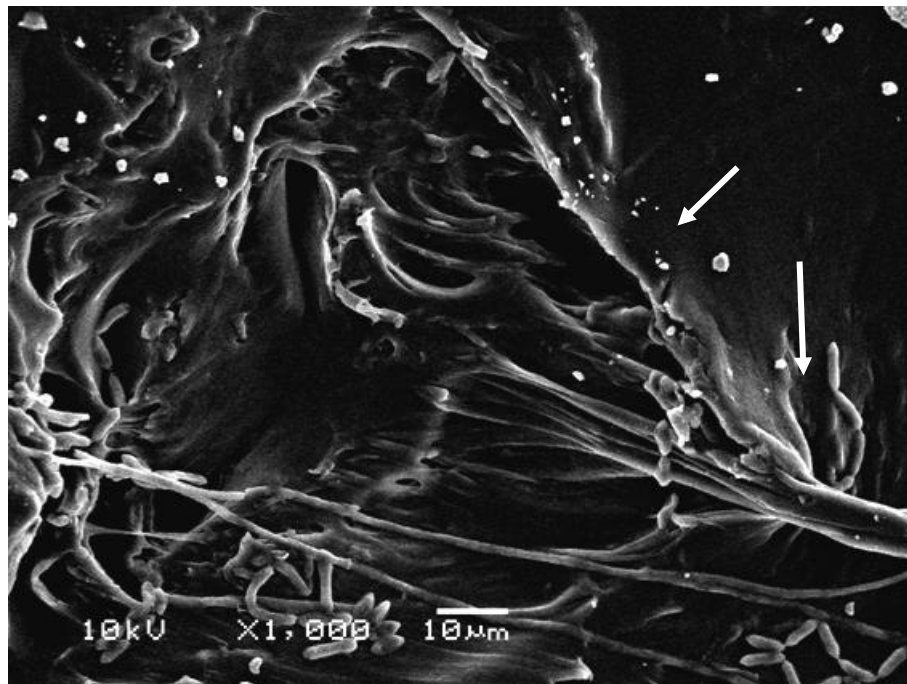
envolvidos: perda de massa equiparável ao controle correspondente, ganho de massa em função da presença de proteínas e grande quantidade de fungo, perda de massa pela biodegradação do polímero.

Figura 16. Imagens de microscopia eletrônica de amostras de PU fotolisadas com AA por 30 minutos e cultivadas por 10 (a,b) e 30 (c,d) dias.



Com os resultados da perfilometria pode-se avaliar na Figura 17 a interação das hifas do fungo com a superfície do polímero. A escala da imagem é de 10 μm , enquanto a espessura do filme de PAA é na ordem de 100 nm. Supõe-se que o fungo conseguiu utilizar o poli (ácido acrílico) como fonte de alimento, consumindo-o e acessando o PU, secretando proteínas para a degradação da superfície. Esses subprodutos e proteínas já secretados devem percolar para a matriz não modificada, ou seja o processo de degradação depende especificamente do primeiro contato do fungo com o polímero. Uma vez desenvolvidos os produtos da atividade metabólica, continuam a degradação na matriz não tratada. Na imagem é visto que as hifas podem estar produzindo estresse mecânico, formando fissuras e adentrando na matriz polimérica.

Figura 17. Imagem de MEV de PU tratado com ácido acrílico por 30 minutos



4.5. FTIR-ATR

As análises de FTIR-ATR foram realizadas após a lavagem das amostras e após serem deixadas em dessecador para retirar qualquer vestígio de água remanescente.

O espectro de infravermelho do PU original (Figura 18), ou seja, que não passou por nenhum tratamento prévio, apresenta uma banda característica em 3332 cm^{-1} , que corresponde à deformação axial do grupo N-H. As bandas em 2939 cm^{-1} e 2853 cm^{-1} podem ser atribuídas às deformações axiais assimétrica e simétrica, respectivamente, do grupo CH_2 (C-H). A banda de vibração na região da carbonila ($1660\text{-}1760\text{ cm}^{-1}$) pode ser considerada como a soma de dois picos de áreas próximas, sendo o pico de 1729 cm^{-1} atribuído à carbonila de ésteres e o pico 1700 cm^{-1} entendido como carbonila da ligação uretana (amida 1^a) (ROSU *et al.*, 2009).

Figura 18. Espectro de infravermelho do polímero PU

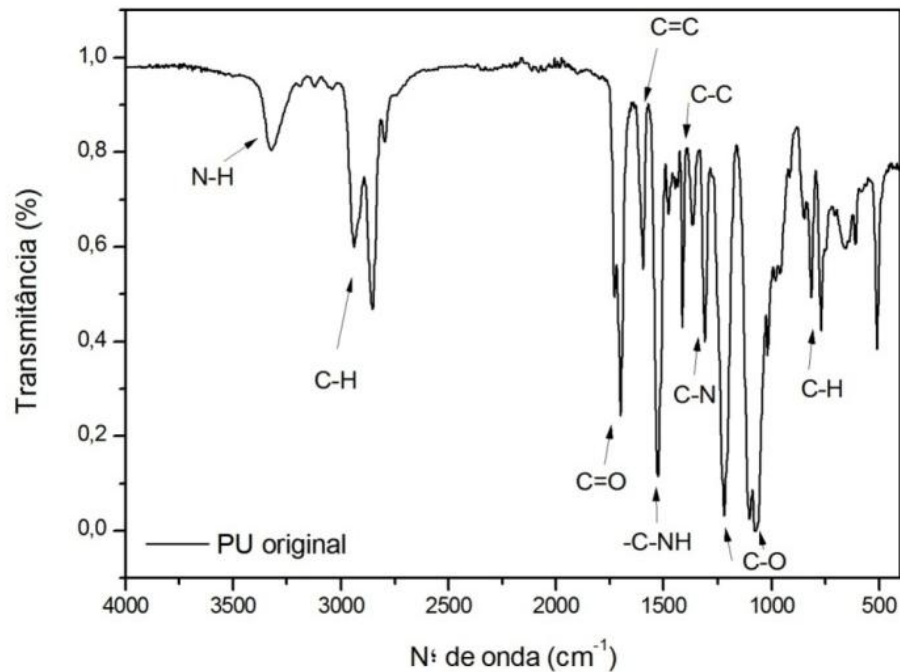


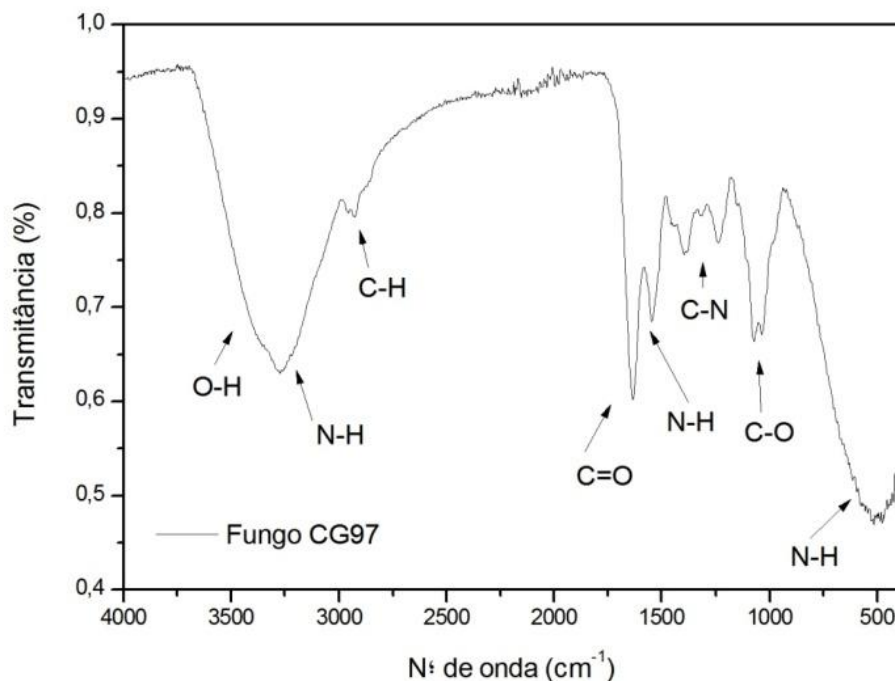
Tabela 3. Bandas de um espectro de infravermelho do PU

Frequência (cm ⁻¹)	Atribuições
3332	N-H
2939 – 2853	ν (C-H)
1729 e 1700	ν (C=O) (uretana e éster)
1596	ν (C=C) (anel)
1528	ν (C-N) + δ (N-H) (amida 2 ^a)
1479	δ (C-H)
1360	ν (C-N) + δ (N-H) (amida 3 ^a)
1219 e 1075	ν (C-O) (uretana)
1117	ν (C-O) (poliéter)
815	ω (C-H) (anel)
769	ρ (C-H) (poliéter)

Fonte: ALVES *et al.* (2009); ROSU *et al.* (2009); SILVERSTEIN *et al.* (2005); STUART (2004).

O espectro de infravermelho do extrato seco do fungo (Figura 19) apresenta uma larga banda em $3600 - 2500 \text{ cm}^{-1}$ (ν (O-H)) sobrepondo-se à banda referente à deformação axial do grupo N-H ($3400-3250 \text{ cm}^{-1}$). Os picos em 2959 e 2925 cm^{-1} podem ser atribuídos às deformações axiais assimétrica e simétrica, respectivamente, do grupo CH_2 (C-H). De acordo com STUART (2004), células microbianas podem conter a sobreposição de centenas de modos de infravermelho, mas para bactérias e fungos, o espectro apresenta predominantemente a sua parte protéica. Baseando-se nisto, acredita-se que o pico em 1633 cm^{-1} é composto por cerca de 80% de deformação axial C=O, 10% de deformação axial C-N e 10% de deformação angular de N-H. O pico em 1548 cm^{-1} é formado 60% por ρ (N-H) e 40% por ν (C-N). A região de $920 - 400 \text{ cm}^{-1}$ apresenta uma banda intensa característica de deformação angular simétrica fora do plano ω (N-H).

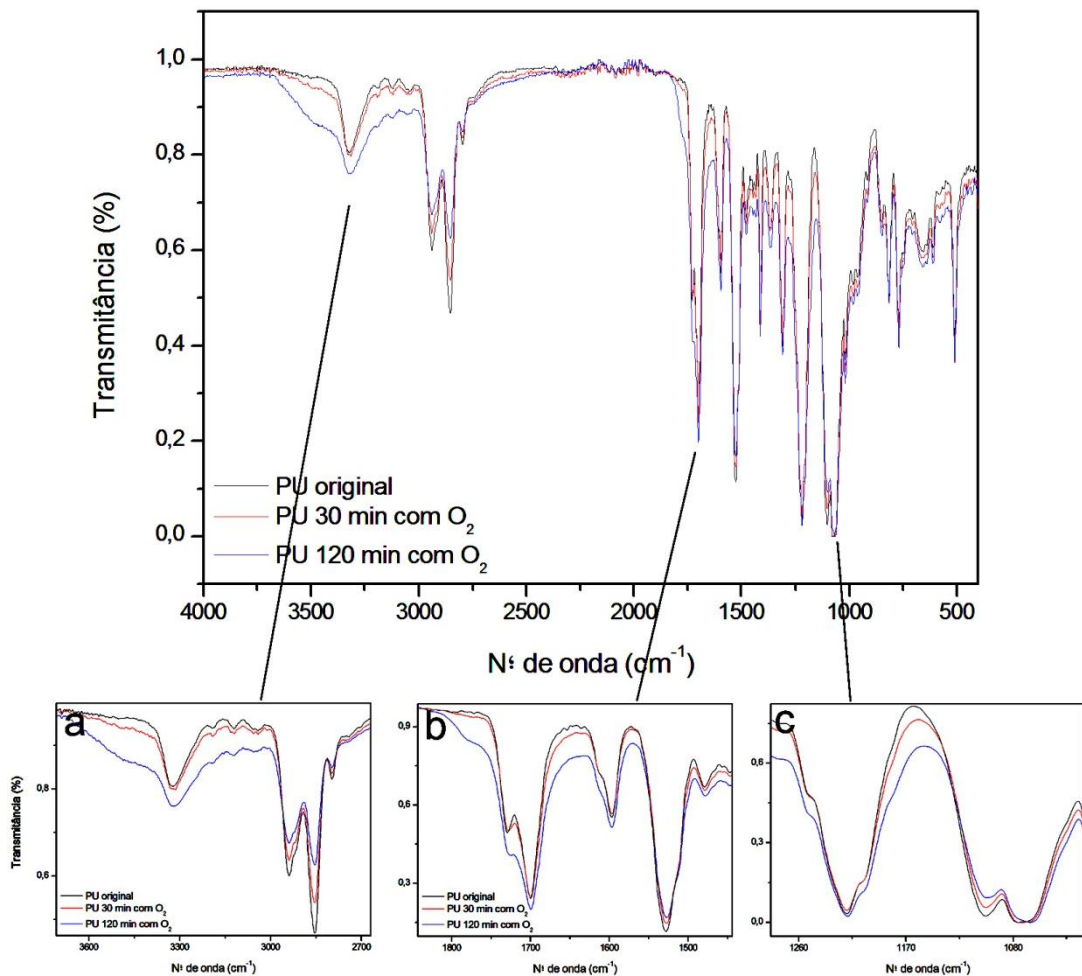
Figura 19. Espectro de infravermelho do fungo *M. Anisopliae* seco



O FTIR-ATR foi realizado nas amostras sem tratamento e nas amostras de 30 e 120 minutos de tratamento com UV e O_2 . A Figura 20 faz o comparativo entre os 3 espectros, demonstrando que há uma mudança significativa entre as amostras. Em Fig.20a, que mostra o aumento da área de $3700-2700 \text{ cm}^{-1}$, percebe-se o surgimento de uma banda mais larga se sobrepondo à banda referente ao N-H. Esta

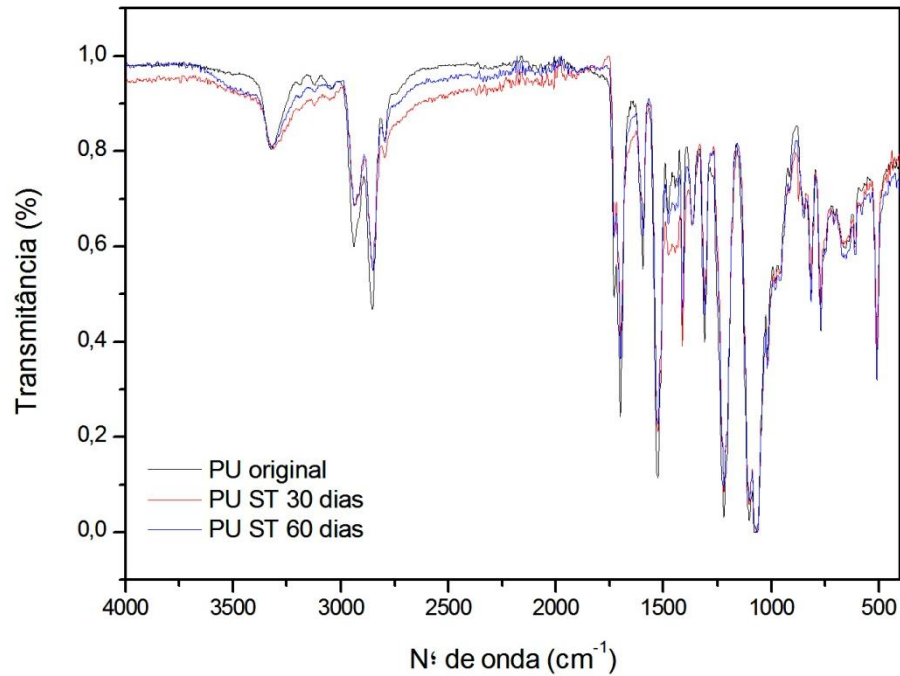
nova banda é atribuída aos grupos O-H formados durante a fotólise. Com este surgimento, há uma diminuição das bandas de C-H, evidenciada com o passar do tempo do tratamento. A área de aumento de $1800-1400\text{ cm}^{-1}$, representada pela Fig.20b, mostra que não há um decréscimo da banda de C=O, mas sim um aumento do pico 1729 cm^{-1} na PU fotolisada por 120 minutos, associado ao aumento de grupos carbonila de tipo ésteres. O mesmo comportamento é visto no aumento da área de $1300-1000\text{ cm}^{-1}$ (Fig.20c), onde os picos de C-O estão localizados.

Figura 20. Espectro de infravermelho comparando o PU original com os tratamentos com oxigênio, por 30 minutos e por 120 minutos. (a) Aumento da região de $3600-3000\text{ cm}^{-1}$. (b) Aumento da região de $1800-1400\text{ cm}^{-1}$. (c) Aumento da região de $1300-1000\text{ cm}^{-1}$.



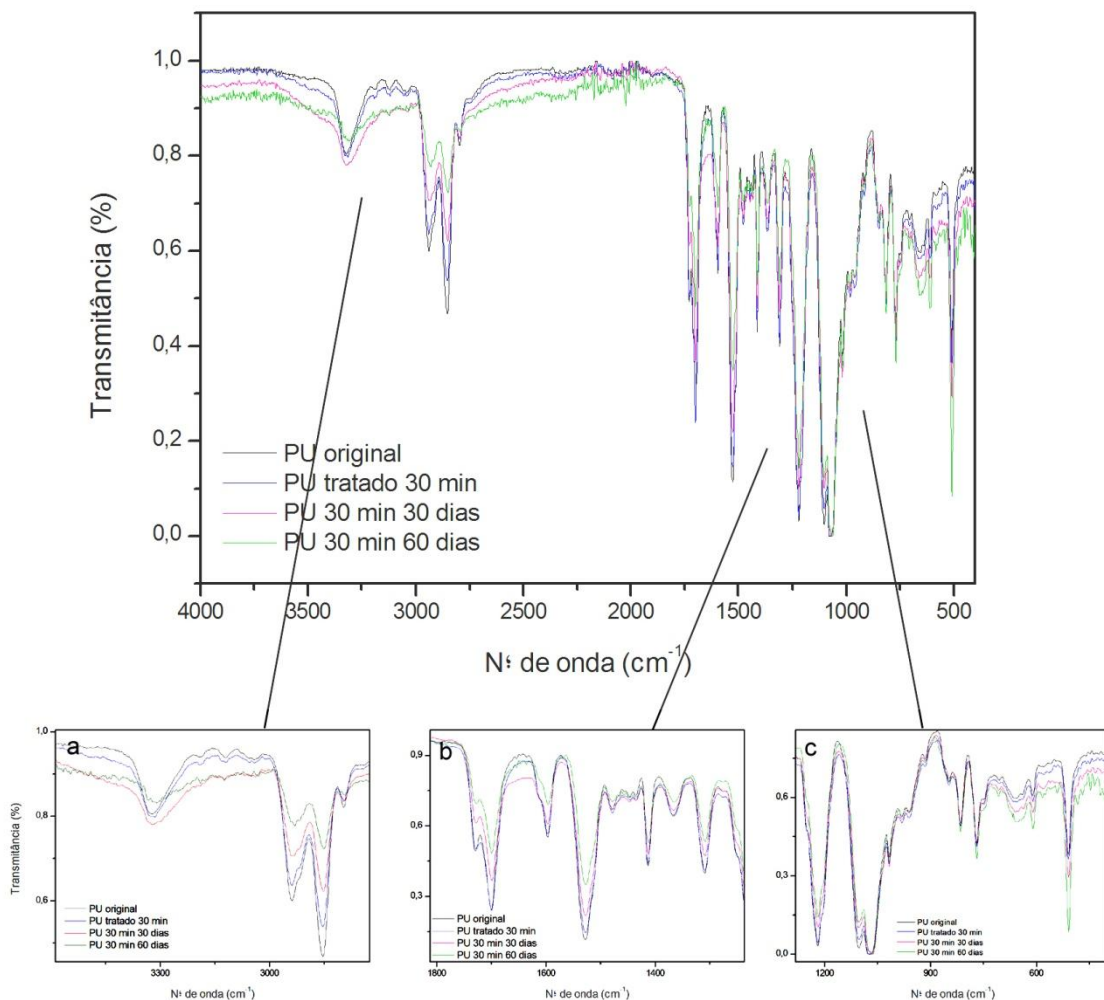
A comparação entre os tempos de incubação utilizando o polímero sem tratamento é apresentada na Figura 21. O espectro não apresenta nenhum pico referente ao fungo, o que é condizente com os dados de MEV.

Figura 21. Espectro de infravermelho comparando o PU original com PU sem tratamento incubados por 30 e 60 dias.



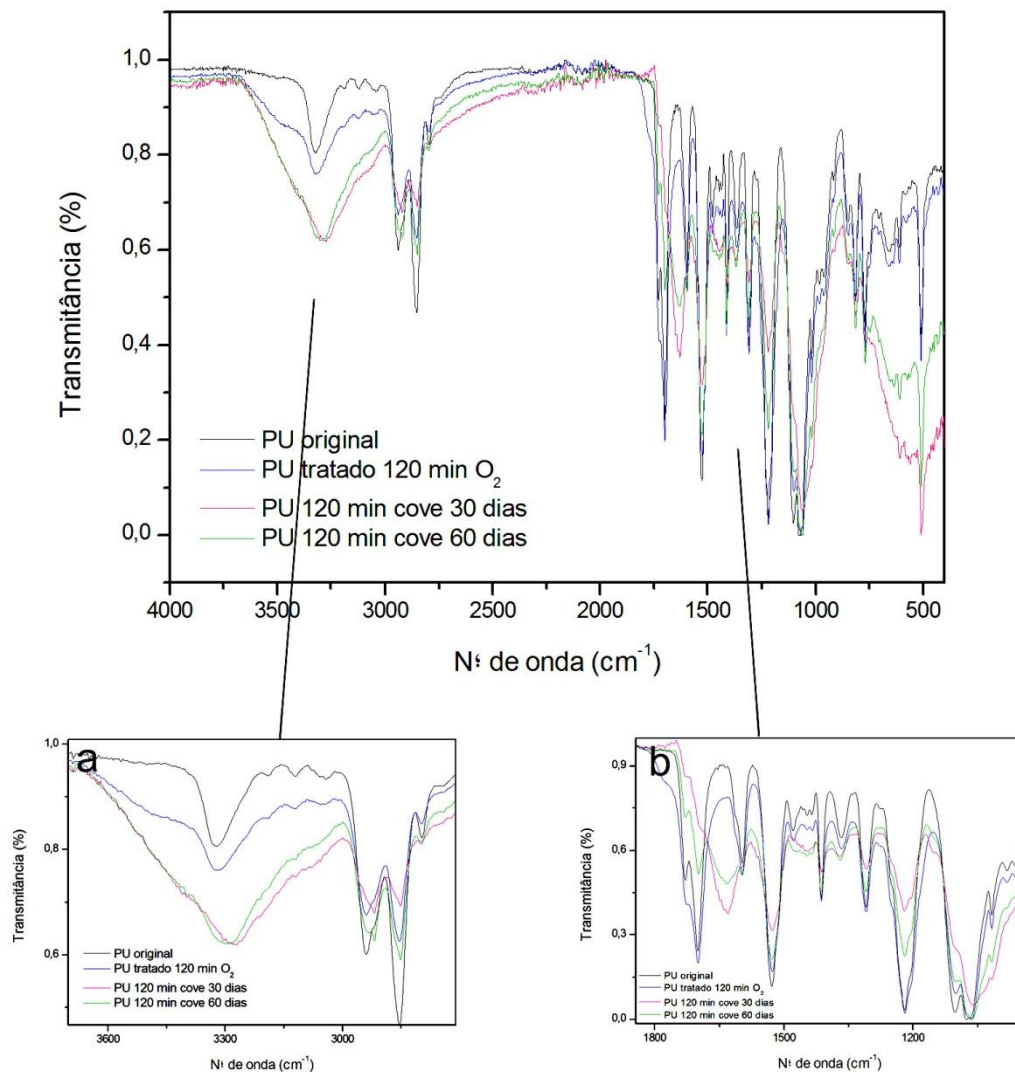
A Figura 22 apresenta os espectros de FTIR do PU sem tratamento, com tratamento de 30 dias e suas incubações em 30 e 60 dias. As amostras incubadas mostram um leve aumento na banda de O-H e um alargamento do sinal de N-H ($3600-3000\text{ cm}^{-1}$). Todas as outras bandas relevantes são reduzidas conforme o tempo de incubação, levando a crer que, mesmo sem aparecerem bandas referentes ao fungo, há uma modificação química da superfície causada pelos microorganismos, que são visualizados através das microscopias eletrônicas.

Figura 22. Espectro de infravermelho comparando o PU original com PU tratado por 30 minutos, sem incubação e com incubações de 30 e 60 dias. (a) Aumento da região de $3600-2800\text{ cm}^{-1}$. (b) Aumento da região de $1800-1200\text{ cm}^{-1}$. (c) Aumento da região de $1300-400\text{ cm}^{-1}$.



Fazendo a mesma comparação anterior, mas agora para as amostras tratadas com O_2 por 120 minutos (Figura 23), a presença do fungo já é comprovada através do grande alargamento da banda de O-H, sobrepondo-se à banda de N-H. A banda de deformação angular simétrica fora do plano ω (N-H), na região abaixo de 1000 cm^{-1} , característica do fungo (Figura 19) também aparece nestes espectros. O ataque aos grupos contendo carbonila, formando hidrólises e formação de ácido carboxílico, citado por LUO *et al.* (2010) é comprovado aqui através da diminuição do pico de C=O e -C-NH e o alargamento do pico referente ao C-O (ácido carboxílico).

Figura 23. Espectro de infravermelho comparando o PU original com PU tratado por 120 minutos, sem incubação e com incubações de 30 e 60 dias. (a) Aumento da região de $3600\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$. (b) Aumento da região de $1800\text{-}800\text{ cm}^{-1}$.



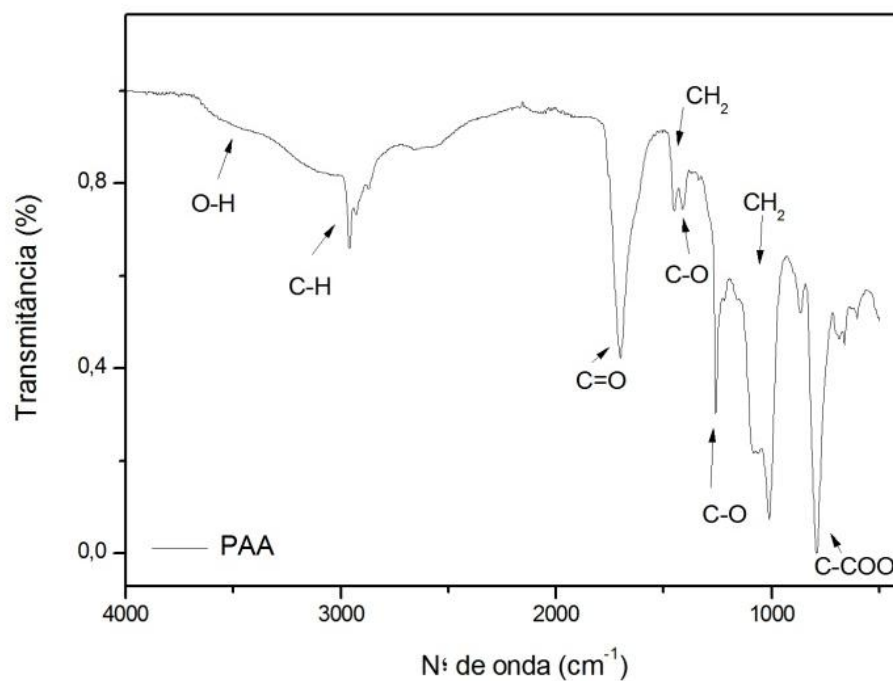
O filme de poli (ácido acrílico) também foi caracterizado por FTIR. Suas bandas principais estão descritas na Tabela 4.

Tabela 3. Bandas de um espectro de infravermelho do filme de PAA

Frequência (cm^{-1})	Atribuições
3687 – 2717	O-H
2959 – 2870	ν (C-H)
1702	ν (C=O) ou ν_{ass} (COO ⁻)
1450	δ (C-H)
1413	ν (C-O) + δ (O-H)
1258	ν (C-O) + δ (O-H)
1010	ρ (CH ₂)
789	ν (COOH)

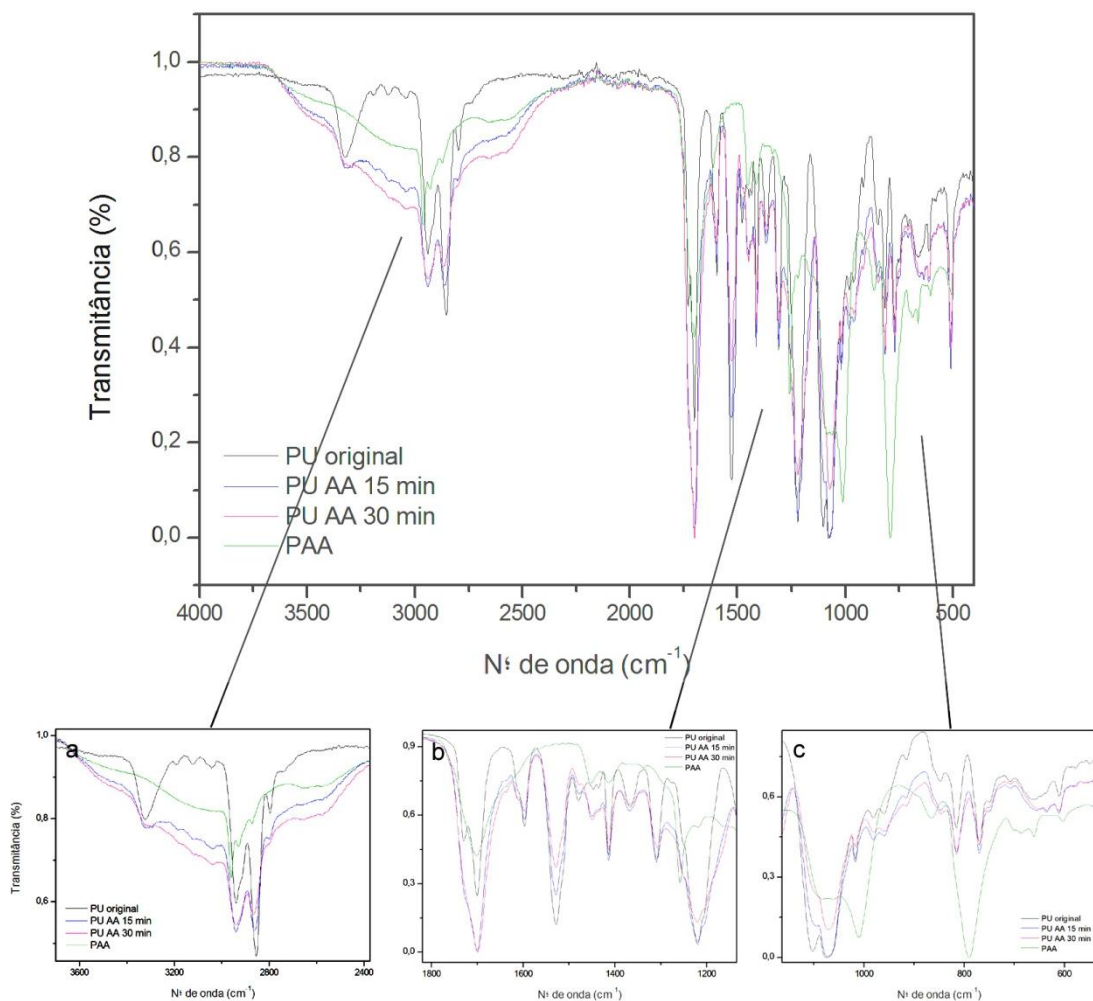
Fonte: BARDET *et al.* (2005); LEYTE *et al.* (1967); SILVERSTEIN *et al.* (2005); STUART (2004).

Figura 24. Espectro de FTIR de um filme de poli (ácido acrílico)



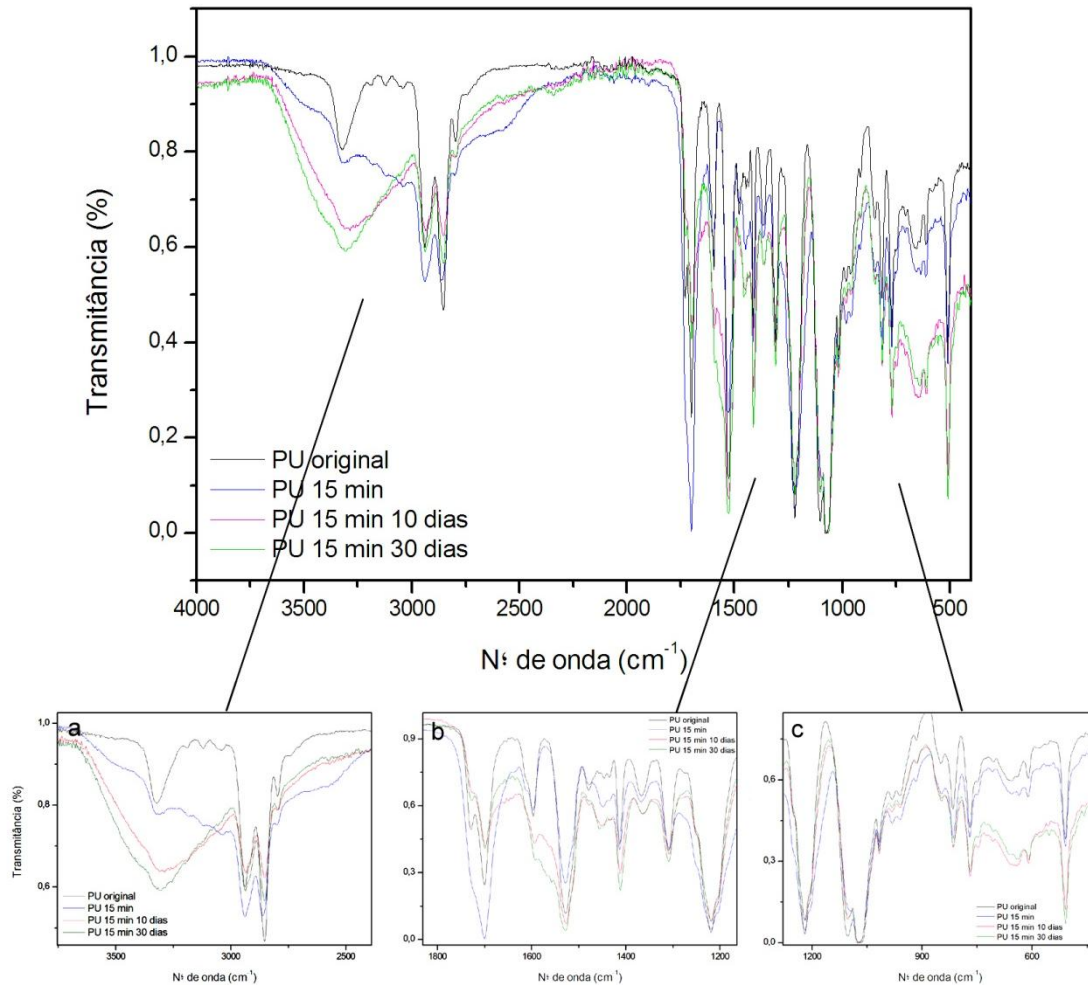
As amostras de PU tratadas com AA por 15 e 30 minutos são comparadas ao PU original e ao PAA na Figura 25. Quanto maior o tempo de fotólise, maior é a banda de O-H, sobrepondo-se aos picos de C-H e banda de N-H do PU; e mais intenso é o pico referente à carbonila. Os sinais que são atribuídos à ν (C-O) (1219 e 1075 cm^{-1} e 1117 cm^{-1}) de uretana e éter no PU original, depois do tratamento tornam-se mais estreitos, provavelmente devido ao ataque do tratamento aos grupos éteres do poliuretano, mudando-os para éster.

Figura 25. Espectro de infravermelho comparando o PU original com os tratamentos com AA, por 15 minutos e 30 minutos, e com o filme de PAA. (a) Aumento da região de 3600 - 2400 cm^{-1} . (b) Aumento da região de 1800 - 1200 cm^{-1} . (c) Aumento da região de 1300 - 600 cm^{-1} .



A Figura 26 mostra a comparação entre o PU não tratado, o modificado com AA por 15 minutos e as amostras modificadas e incubadas por 15 e 30 dias. Conforme o tempo de incubação, há um aumento na banda referente ao grupo O-H (26a) e uma expressiva diminuição do pico da carbonila, que é o principal sítio de ataque fúngico (26b). Ocorre também o alargamento do pico $-C-NH$ do PU original, em função do tempo de incubação da amostra, o que poderia ser o somatório deste primeiro pico com o pico referente ao N-H do fungo, em 1525 cm^{-1} (26b). Analisando o FTIR e as imagens de MEV destas amostras, mais a gravimetria, é possível argumentar que os microorganismos estão presentes na superfície polimérica, começando a interagir com as carbonilas e realizando hidrólises, o que resultaria na grande banda de O-H vista nesta figura, bem como na perda de massas aumentando em função do maior tempo de incubação.

Figura 26. Espectro de infravermelho comparando o PU original com as amostras tratadas por 15 minutos com AA, não incubada e incubadas por 10 e 30 dias. (a) Aumento da região de 3600-2400 cm^{-1} . (b) Aumento da região de 1800-1300 cm^{-1} . (c) Aumento da região de 1300-500 cm^{-1} .

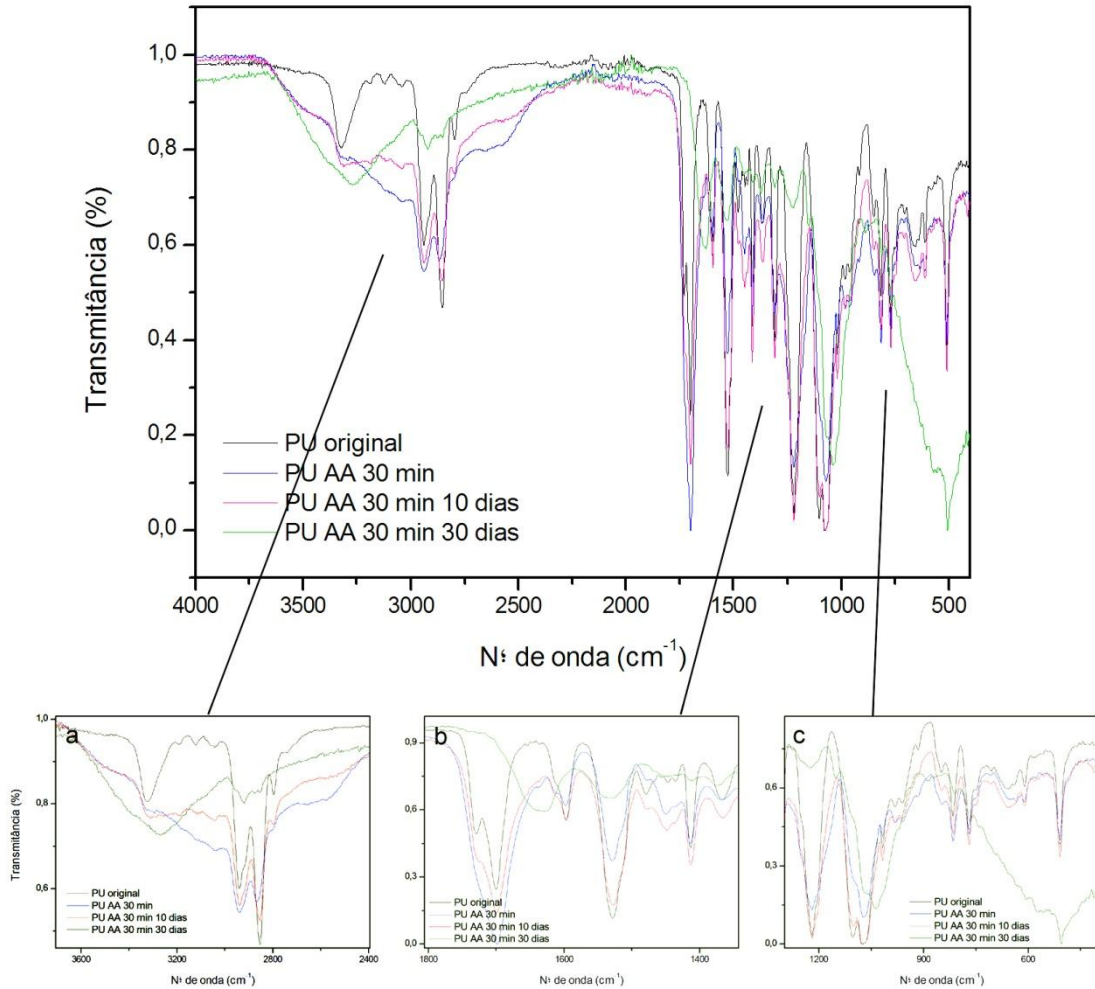


O espectro de infravermelho das amostras com maior tempo de fotólise em AA, 30 minutos, apresentam as maiores mudanças observadas até então. Na Figura 27a é possível notar que a amostra incubada por 10 dias apresenta uma diminuição da banda de sobreposição do O-H e N-H em relação à amostra que foi apenas tratada, mas não incubada. Este decréscimo do sinal pode estar associado ao consumo do PAA pelo fungo, comprovando que poli (ácido acrílico) é o substrato utilizado para germinação e desenvolvimento inicial e, após crescimento sobre esta superfície, gerar proteínas degradativas, acessar o PU e degradá-lo. O pico correspondente à carbonila também é reduzido no cultivo de 10 dias (27b). A banda de deformação angular simétrica fora do plano ω (N-H), na região abaixo de 1000 cm^{-1} , característica do fungo (Figura 19) não aparece neste espectro do cultivo de 10

dias, ou seja, o fungo não foi detectado pelo FTIR, mas as mudanças ocasionadas por ele na superfície polimérica sim. Já no cultivo de 30 dias, essa mesma banda é muito proeminente, mostrando a elevada quantidade de fungo que se fixou ao polímero após este tempo de incubação. Esta afirmação se baseia na quase não existência de nenhum outro pico característico, nem do PAA, nem do PU, no espectro de PU tratado por 30 minutos com AA e cultivado por 30 dias. Todas as bandas de 1800 à 1200 cm^{-1} diminuíram (27c), apenas sobrando o pico referente ao grupo COOH, ou seja, mais um indício do mecanismo de ação do fungo, que realiza hidrólises ao atacar a carbonila, gerando ácido carboxílico (LUO *et al.* 2010; SHAH *et al.* 2008). Esta afirmação também se comprova ao visualizar a banda de O-H em 3630-2994 cm^{-1} e o quase desaparecimento dos picos referentes ao C-H, na mesma região (27a).

Associando estes dados aos de MEV e gravimetria, é possível constatar que o fungo conseguiu degradar o polímero, secretando diversas proteínas capazes de realizar o ataque ao PU.

Figura 27. Espectro de infravermelho comparando o PU original com as amostras tratadas por 30 minutos com AA, não incubada e incubadas por 10 e 30 dias. (a) Aumento da região de 3600-2400 cm^{-1} . (b) Aumento da região de 1800-1300 cm^{-1} . (c) Aumento da região de 1300-500 cm^{-1} .



4.6. GPC

As análises de GPC não puderam ser realizadas, pois o equipamento da Central Analítica do Instituto de Química da UFRGS encontra-se inoperante desde o início das análises para este trabalho. Espera-se que futuramente essas mesmas análises sejam efetuadas e anexadas à este trabalho.

Os resultados esperados para as análises de GPC seriam próximos aos resultados reportados por LUO *et al.* (2010) e SHAH *et al.* (2008). Os grupos ésteres e ligações -NH-C- da PU são sensíveis ao ataque de microorganismos e à hidrólise. Os grupos ésteres são geralmente hidrolizados a ácidos carboxílicos e álcoois, enquanto os ácidos carboxílicos formados atuam como catalisadores de novas hidrólises, causando assim a quebra da cadeia polimérica. Este processo está associado à perda de massa do polímero, bem como a diminuição de sua massa molar média, detectável pela análise de GPC.

5. CONCLUSÕES

A modificação superficial utilizando radiação UV na presença de gases e vapores reativos é um método efetivo, visto que houve o enxerto de grupos funcionais e a alteração química na superfície do polímero, comprovado pelas técnicas de WCA e FTIR. A modificação pelo tratamento utilizando UV sob atmosfera de AA foi mais efetiva na busca da hidrofiliabilidade, pois atingiu ângulos de contato menores em menor tempo de fotólise, quando comparado ao tratamento de UV sob atmosfera de O₂. O método apresenta a vantagem de ser realizado em meio seco, evitando contaminações indesejadas e ainda a facilidade técnica, não necessitando de aparatos caros ou de muita tecnologia.

As amostras modificadas superficialmente com UV e oxigênio por 30 minutos obtiveram resultados pouco satisfatórios quanto ao ataque fúngico. *M. anisopliae* não conseguiu se desenvolver sobre a superfície polimérica pois, provavelmente, é capaz de reconhecer alguns grupos do PU como inibidores de seu crescimento. Porém, com os indícios de que o desenvolvimento começa a ocorrer após períodos mais longos de incubação (60 dias) e que o fungo filamentososo consegue se fixar nos polímeros modificados em 120 minutos de fotólise, conclui-se ser possível biodegradar o poliuretano tratado com UV e O₂ pelo fungo filamentososo utilizado no presente trabalho.

O tratamento com ácido acrílico se mostrou uma excelente alternativa para modificar o PU para que o mesmo possa ser atacado por fungos e, assim, degradá-lo. Utilizando-se do filme de PAA, formado sobre a superfície do poliuretano via fotopolimerização, como fonte de alimento, o *M. anisopliae* consegue se desenvolver e secretar proteínas suficientes para chegar ao PU e não ser inibido. Mesmo tendo sido utilizado um poliuretano comercial especialmente desenvolvido para evitar a degradação por hidrólise e o ataque de fungos, a biodegradação ocorreu e pode ser comprovada pelas técnicas de FTIR e MEV.

Conclui-se, então, que a técnica de modificação superficial UV-assistida na presença de vapores e gases reativos é efetiva na alteração da superfície do poliuretano, tornando-a suscetível ao ataque do *Metarhizium anisopliae* e, portanto, pode ser utilizada como método a ser aplicado no pós-descarte de produtos feitos de tal polímero, a fim deste ser degradado e não mais acumulado no meio ambiente.

6. REFERÊNCIAS

- ALVES, P., et al. Surface modification and characterization of thermoplastic polyurethane. **European Polymer Journal**, v. 45, n. 5, p. 1412-1419, 2009.
- ARRUDA, W., et al. Morphological Alterations of *Metarhizium anisopliae* During Penetration of *Boophilus microplus* Ticks. **Experimental & Applied Acarology**, v. 37, n. 3-4, p. 231-244, 2005.
- BARDET, L., et al. Étude de la transition conformationnelle de l'acide polyacrylique syndiotactique en solution aqueuse par spectroscopie de vibration. **Journal of Molecular Structure**, v. 24, n. 1, p. 153-164, 1975.
- BASF®. "Elastollan - Material Properties", 2010. Último acesso em 03/07/2013. Disponível em http://www2.basf.us/urethanechemicals/tpu/img/pdf/Elastollan_Material_PropertiesR1.pdf.
- BENTHAM, R. H., et al. Rapid assessment of the microbial deterioration of Polyurethanes. **International Biodeterioration**, v. 23, n. 6, p. 377-386, 1987.
- BHATTACHARYA, A. e B. N. MISRA. Grafting: a versatile means to modify polymers: Techniques, factors and applications. **Progress in Polymer Science**, v. 29, n. 8, p. 767-814, 2004.
- BLYTHE, A. R., et al. Surface modification of polyethylene by electrical discharge treatment and the mechanism of autoadhesion. **Polymer**, v. 19, n. 11, p. 1273-1278, 1978.
- CALVERT, J. G. e J. N. J. PITTS. **Photochemistry**. New York: John Wiley & Sons, 1966.
- CHAN, C. M., et al. Polymer surface modification by plasmas and photons. **Surface Science Reports**, v. 24, n. 1-2, p. 1-54, 1996.
- CHEN, H., et al. Biocompatible polymer materials: Role of protein-surface interactions. **Progress in Polymer Science**, v. 33, n. 11, p. 1059-1087, 2008.
- CHOI, H.-S., et al. Plasma-induced graft co-polymerization of acrylic acid onto the polyurethane surface. **Surface and Coatings Technology**, v. 182, n. 1, p. 55-64, 2004.
- COVE, D. J. Induction and repression of nitrate reductase in fungus *Aspergillus nidulans*. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v. 113, n. 1, p. 51-&, 1966.
- CRABBE, J. R., et al. Biodegradation of a colloidal ester-based polyurethane by soil fungi. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 33, n. 2, p. 103-113, 1994.
- DALE, R. e D. J. SQUIRRELL. A rapid method for assessing the resistance of polyurethanes to biodeterioration. **International Biodeterioration**, v. 26, n. 6, p. 355-367, 1990.
- DARBY, R. T. e A. M. KAPLAN. Fungal susceptibility of polyurethanes. **Applied Microbiology**, v. 16, n. 6, p. 900-&, 1968.
- FILIP, Z. Decomposition of polyurethane in a garbage landfill leakage water and by soil microorganisms. **European journal of applied microbiology and biotechnology**, v. 5, n. 3, p. 225-231, 1978.
- FUJII, K., et al. Photon stimulated ion desorption of deuterated polystyrene thin films induced by core excitation. **Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena**, v. 88-91, n. 0, p. 837-842, 1998.
- GRIFFIN, G. J. L. Synthetic polymers and the living environment. **Pure and Applied Chemistry**, v. 52, n. 2, p. 399-407, 1980.

- GUILLET, J. E. **Polymer photophysics and photochemistry**. Cambridge: Press Syndicate of the University of Cambridge, 1985.
- GUILLET, J. E., et al. Studies of the biodegradability of photodegraded plastic compositions. **Abstracts of Papers of the American Chemical Society**, v. 195, n. 18-PMSE, 1988.
- HE, D., et al. Photo-irradiation for preparation, modification and stimulation of polymeric membranes. **Progress in Polymer Science**, v. 34, n. 1, p. 62-98, 2009.
- HUANG, S. J. e M. S. ROBY. Biodegradable polymers poly(amide-urethanes). **Journal of Bioactive and Compatible Polymers**, v. 1, n. 1, p. 61-71, 1986.
- KESSLER, F., et al. Controlling the surface wettability of poly(sulfone) films by UV-assisted treatment: benefits in relation to plasma treatment. **Polymer International**, v. 62, n. 2, p. 310-318, 2013.
- KIM, Y. D. e S. C. KIM. Effect of chemical structure on the biodegradation of polyurethanes under composting conditions. **Polymer Degradation and Stability**, v. 62, n. 2, p. 343-352, 1998.
- LEYTE, J. C., et al. An i.r. investigation of polyion-counterion interactions. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy**, v. 23, n. 5, p. 1397-1407, 1967.
- LOPEZ-LLORCA, L. V. e M. F. COLOM VALIENTE. Study of biodegradation of starch-plastic films in soil using scanning electron microscopy. **Micron**, v. 24, n. 5, p. 457-463, 1993.
- LUBECK, I., et al. Evaluation of *Metarhizium anisopliae* strains as potential biocontrol agents of the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* and the cotton stainer *Dysdercus peruvianus*. **Fungal Ecology**, v. 1, n. 78-88, 2008.
- LUO, Y.-L., et al. Degradation Behavior and Biocompatibility of PEG/PANI-Derived Polyurethane Co-polymers. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 21, n. 8-9, p. 1143-1172, 2010.
- MA, Z., et al. Surface modification and property analysis of biomedical polymers used for tissue engineering. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 60, n. 2, p. 137-157, 2007.
- MITCHELL, S. A., et al. Orientation and confinement of cells on chemically patterned polystyrene surfaces. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 46, n. 2, p. 108-116, 2005.
- MUELLER, R.-J. Biological degradation of synthetic polyesters—Enzymes as potential catalysts for polyester recycling. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 10, p. 2124-2128, 2006.
- MURAKAMI, T. N., et al. Modification of PS films by combined treatment of ozone aeration and UV irradiation in aqueous ammonia solution for the introduction of amine and amide groups on their surface. **Applied Surface Science**, v. 249, n. 1-4, p. 425-432, 2005.
- NAKAJIMA-KAMBE, T., et al. Microbial degradation of polyurethane, polyester polyurethanes and polyether polyurethanes. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 51, n. 2, p. 134-140, 1999.
- PETHRICK, R. A. **Polymer surface modification and characterization**. Nova York: John Wiley & Sons, Ltd., 1993.
- PLASTICSEUROPE. "Plastics - The Facts 2012", 2012. Disponível em <http://www.plasticseurope.org/Document/plastics-the-facts-2012.aspx?FolID=2>.
- PLASTIVIDA. "Monitoramento dos Índices de Reciclagem Mecânica de Plástico no Brasil (IRmP) 2011", 2011. Último acesso em 06/05/2013. Disponível em http://www.plastivida.org.br/2009/pdfs/IRmP/Apresentacao_IRMP2011.pdf.

- RAJAJEYAGANTHAN, R., et al. Surface Modification of Synthetic Polymers Using UV Photochemistry in the Presence of Reactive Vapours. In: 10^o CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS. 13/10/2009. Foz do Iguaçu. **Macromolecular Symposia**. WILEY-VCH Verlag, v. 299-300, p. 175-182.
- RIEGER, B., et al., Synthetic Biodegradable Polymers. In: **Advances in Polymer Science**. B. Rieger, A. Kunkel, G. W. Coates et al. New York: Springer, 2012, p. 245-374.
- ROSU, D., et al. IR-change and yellowing of polyurethane as a result of UV irradiation. **Polymer Degradation and Stability**, v. 94, n. 4, p. 591-596, 2009.
- RUSSELL, J. R., et al. Biodegradation of Polyester Polyurethane by Endophytic Fungi. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 17, p. 6076-6084, 2011.
- SADI, R. K., et al. Photodegradation of poly(3-hydroxybutyrate). **Polymer Degradation and Stability**, v. 95, n. 12, p. 2318-2327, 2010.
- SANCHIS, M. R., et al. Characterization of the surface changes and the aging effects of low-pressure nitrogen plasma treatment in a polyurethane film. **Polymer Testing**, v. 27, n. 1, p. 75-83, 2008.
- SEAL, K. J. e M. PANTKE. An interlaboratory investigation into the biodeterioration testing of plastics, with special reference to polyurethanes .1. Petri dish test. **Material Und Organismen**, v. 21, n. 2, p. 151-164, 1986.
- SHAH, A. A., et al. Biological degradation of plastics: A comprehensive review. **Biotechnology Advances**, v. 26, n. 3, p. 246-265, 2008.
- SILVERSTEIN, R. M., et al. **Spectrometric identification of organic compounds**. 7, New York: John Wiley & Sons, 2005.
- STUART, B. H. **Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications**. New York: Wiley, 2004.
- THAPLIYAL, B. P. e R. CHANDRA. Advances in photodegradation and stabilization of polyurethanes. **Progress in Polymer Science**, v. 15, n. 5, p. 735-750, 1990.
- VILAR, W. D. **Química e Tecnologia dos Poliuretanos**. 3, Rio de Janeiro: Vilar Consultoria Técnica, 2002.
- VORONIN, S. A., et al. Time-resolved mass and energy spectral investigation of a pulsed polymerising plasma struck in acrylic acid. **Surface and Coatings Technology**, v. 201, n. 3-4, p. 768-775, 2006.
- WEIBEL, D. E. Polymer Surface Functionalization Using Plasma, Ultraviolet and Synchrotron Radiation. **Composite Interfaces**, v. 17, n. 2-3, p. 127-136, 2010.
- WEIBEL, D. E., et al. Ultraviolet-induced surface modification of polyurethane films in the presence of oxygen or acrylic acid vapours. **Thin Solid Films**, v. 517, n. 18, p. 5489-5495, 2009.
- WEIBEL, D. E., et al. Surface modification of polyurethane membranes using acrylic acid vapour plasma and its effects on the pervaporation processes. **Journal of Membrane Science**, v. 293, n. 1-2, p. 124-132, 2007.
- WIRSÉN, A., et al. Solvent-Free Vapor-Phase Photografting of Acrylamide onto Poly(ethylene terephthalate). **Biomacromolecules**, v. 6, n. 5, p. 2697-2702, 2005.
- WIRSÉN, A., et al. Solvent free vapour phase photografting of acrylamide onto poly(methyl methacrylate). **Polymer**, v. 46, n. 13, p. 4554-4561, 2005.