

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE ENERGIA NUCLEAR

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS ENERGÉTICAS E  
NUCLEARES

**EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NO POLÍMERO  
BIODEGRADÁVEL POLI(HIDROXIBUTIRATO) E  
NO COPOLÍMERO POLI(HIDROXIBUTIRATO-co-  
HIDROXIVALERATO)**

LETÍCIA MARIA DE OLIVEIRA

RECIFE - PERNAMBUCO - BRASIL  
FEVEREIRO - 2006

LETICIA MARIA DE OLIVEIRA

**EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NO POLÍMERO  
BIODEGRADÁVEL POLI(HIDROXIBUTIRATO) E  
NO COPOLÍMERO POLI(HIDROXIBUTIRATO-co-  
HIDROXIVALERATO)**

Tese submetida ao Doutorado do Programa de Pós-graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares (PROTEN). Departamento de Energia Nuclear, da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Doutor em Ciências, Área de Concentração: Aplicação de Radioisótopos.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Elmo Silvano de Araújo

RECIFE - PERNAMBUCO - BRASIL

FEVEREIRO - 2006

**Oliveira, Letícia Maria de**  
**Efeitos da radiação Gama no polímero biodegradável Poli(Hidroxibutirato) e no copolímero Poli(Hidroxibutirato-co-Hidroxivalerato) / Letícia Maria de Oliveira. – Recife : O Autor, 2006.**  
**xiii, 114 folhas : il., fig., tab.**

**Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Energia Nuclear, 2006.**

**Inclui bibliografia, anexos e apêndices.**

**1. Energia nuclear – Polímeros biodegradáveis. 2. Química das radiações – Radiação Gama – Análise de viscosidade – Espectroscopia. 3. Degradação radiolítica – Influência das impurezas – Cisões da cadeia polimérica. 4. Propriedades físicas – Análises térmicas – Difração de Raios-X. I. Título.**

**621.039**  
**621.4837**

**CDU (2.ed.)**  
**CDD (22.ed.)**

**UFPE**  
**BC2006-097**

**EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NO POLÍMERO  
BIODEGRADÁVEL POLI(HIDROXIBUTIRATO) E NO  
COPOLÍMERO POLI(HIDROXIBUTIRATO -CO-  
HIDROXIVALERATO)**

Letícia Maria de Oliveira

APROVADA EM: 17.02.2006

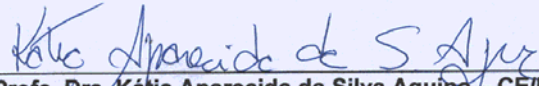
ORIENTADOR: Prof. Dr. Elmo Silvano de Araújo

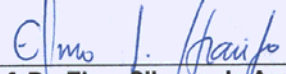
COMISSÃO EXAMINADORA:

  
Prof. Dra. Selma Matheus Loureiro Guedes – IPEN/CNEN-SP

  
Prof. Dr. Marcelo Silveira Rabello – DEMA/UFCG

  
Profa. Dra. Yêda Medeiros Bastos de Almeida – DEQ/UFPE

  
Profa. Dra. Kátia Aparecida da Silva Aquino – CE/UFPE

  
Prof. Dr. Elmo Silvano de Araújo – DEN/UFPE

Visto e permitida a impressão

  
Coordenador do PROTEN/DEN/UFPE

I

*Que pode uma criatura, senão,  
entre criaturas, amar?  
amar e esquecer,  
amar e malamar,  
amar, desamar, amar?  
sempre, e até de olhos vidrados, amar?*

*Que pode, pergunto, o ser amoroso,  
sozinho, em rotação universal, senão  
rodar também, e amar?  
amar o que o mar traz à praia,  
o que ele sepulta, e o que, na brisa marinha,  
é sal, ou precisão de amor, ou simples ânsia?*

*Amar solenemente as palmas do deserto,  
o que é entrega ou adoração expectante,  
e amar o inóspito, o áspero,  
um vaso sem flor, um chão de ferro,  
e o peito inerte, e a rua vista em sonho, e uma ave de rapina.*

*Este o nosso destino: amor sem conta,  
distribuído pelas coisas pérfidas ou nulas,  
doação ilimitada a uma completa ingratidão,  
e na concha vazia do amor a procura medrosa,  
paciente, de mais e mais amor.*

*Amar a nossa falta mesma de amor, e na secura nossa  
Amar a água implícita, e o beijo tácito, e a sede infinita.*

*(Carlos Drummond de Andrade)*

## II

*O mundo é para quem nasce para o conquistar  
E não para quem sonha que pode conquistá-lo, ainda que tenha razão.*

*...Escravos cardíacos das estrelas,  
Conquistamos todo o mundo antes de nos levantar da cama;  
Mas acordamos e ele é opaco,  
Levantamo-nos e ele é alheio,  
Saímos de casa e ele é a terra inteira,  
Mais o sistema solar e a Via Láctea e o Indefinido.*

*(Come chocolates, pequena;  
Come chocolates!  
Olha que não há mais metafísica no mundo senão chocolates.  
Olha que as religiões todas não ensinam mais que a confeitaria.  
Come, pequena suja, come!  
Pudesse eu comer chocolates com a mesma verdade com que comes!  
Mas eu penso e, ao tirar o papel de prata, que é de folha de estanho,  
Deito tudo para o chão, como tenho deitado a vida.)*

*...Mas o dono da Tabacaria chegou à porta e ficou à porta.  
Olho-o com o desconforto da cabeça mal voltada  
E com o desconforto da alma mal-entendendo.  
Ele morrerá e eu morrerei.  
Ele deixará a tabuleta, eu deixarei versos.  
A certa altura morrerá a tabuleta, e os versos também.  
Depois de certa altura morrerá a rua onde estive a tabuleta,  
E a língua em que foram escritos os versos.  
Morrerá depois o planeta girante em que tudo isso se deu.*

*(Álvaro de Campos)*

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer ao professor Elmo pela orientação e paciência.

Como em todo trabalho científica, nada pode ser realizado sem a participação gentil e dedicada de empresas, departamentos, laboratórios e principalmente de pessoas. Assim, agradeço a PHB-Industrial S.A que nos forneceu todas as amostras estudadas neste trabalho. Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/SP), em especial a Prof<sup>a</sup>. Selma Guedes, pela irradiação das amostras. Gostaria de agradecer, ainda, ao Departamento de Engenharia Química (DEQ/UFPE), particularmente à Prof<sup>a</sup>. Yeda e a bolsista Glória Vinhas pela realização dos ensaios mecânicos. Também ficam meus agradecimentos à Central Analítica (CA/UFPE) pela realização dos ensaios de espectroscopia.

Aos amigos do laboratório, Patrícia, Kátia, Ana, Renata, Alexandre, Aldo, Irami, Flávio e Geneci, pela convivência, colaboração e conhecimento compartilhado.

A todos os funcionários e professores do DEN.

À minha família, e a todos os bons amigos, próximos ou distantes.

Para todos estes deixo o meu sincero agradecimento.

# **EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NO POLÍMERO BIODERGRADÁVEL POLI(HIDROXIBUTIRATO) E NO COPOLÍMERO POLI(HIDROXIBUTIRATO-co-HIDROXIVALERATO)**

**Autora: Letícia Maria de Oliveira**

**Orientador: Prof. Elmo Silvano de Araújo**

## **RESUMO**

O Poli(hidroxibutirato), PHB, de fabricação nacional, é um polímero biodegradável produzido pela bactéria *Alcaligenes eutrophus* a partir da biosíntese da sacarose da cana de açúcar. A presença massiva dos plásticos de origem petrolífera no meio ambiente tem atraído a atenção dos pesquisadores para os plásticos biodegradáveis. O PHB é um termoplástico dotado de algumas boas propriedades, o que o torna um excelente candidato nas aplicações de uso comum. Este polímero, no entanto, também apresenta um grande potencial em aplicações médicas e farmacológicas. Diante disso, é importante conhecer os efeitos químicos e físicos induzidos pelos processos de esterilização, em particular, pela radiação gama. Neste trabalho, os efeitos químicos da radiação gama sobre o PHB nacional e seu copolímero, o poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato), P(HB-co-HV), com 6,3 mol% de HV foram analisados. Este estudo foi dividido em: amostras 1, isto é, PHB-1 e P(HB-co-HV)-1; e amostras 2, PHB-2 e P(HB-co-HV)-2, correspondentes a dois conjuntos distintos de amostras do mesmo fabricante. PHB-1 e P(HB-co-HV)-1 apresentaram valores G (cisões/100 eV) bastante elevados, enquanto PHB-2 e P(HB-co-HV)-2 apresentaram maior resistência radiolítica, com valores G dezenas de vezes menores que os valores encontrados para as amostras 1. Os valores G encontrados para os filmes de PHB-1 e PHB-2, no intervalo de 0 – 25 kGy, sem quaisquer tratamentos foram 26,8 e 7,0 (cisões/100 eV), respectivamente. Por meio da técnica de cromatografia gasosa associada à espectroscopia de massa (GC-MS) foi observada a presença de ácidos orgânicos residuais no PHB-1, os quais seriam os grandes responsáveis pela alta degradação desta amostra. Estes ácidos não foram encontrados no PHB-2. Devido a estas diferenças, os dois conjuntos de amostras foram analisados individualmente, e o PHB-2, por apresentar melhores resultados, foi estudado também quanto as suas propriedades físicas. As análises de espectroscopia, de amostras irradiadas e não irradiadas, incluindo FT-IR, UV-visível e principalmente RMN ( $^1\text{H}$ ) mostraram a formação de grupos terminais insaturados, induzida pela irradiação gama, e a ocorrência de cisões preferencialmente nos grupos ésteres do polímero. As análises térmicas mostraram que a temperatura de fusão cristalina,  $T_m$ , diminui com a dose e que o PHB-2 apresenta picos endotérmicos duplos. O aumento da porção cristalina do material foi observado em medidas térmicas (DSC) e confirmado com a análise de difração de raios-X. Esta análise também permitiu o cálculo dos parâmetros de rede do PHB nacional, bem como, as mudanças nestes parâmetros com a irradiação gama. As propriedades mecânicas do PHB-2, resistência à tração, alongamento na ruptura e resistência ao impacto Izod foram bastante afetadas com a radiação, enquanto a propriedade módulo de elasticidade sofreu alterações apenas em doses acima de 100 kGy.



# EFFECTS OF GAMMA IRRADIATION ON POLY(HYDROXYBUTYRATE) BIODEGRADABLE POLYMER AND ON POLY(HYDROXYBUTYRATE-co-HYDROXYVALERATE) BIODEGRADABLE POLYMERS

**Author:** Letícia Maria de Oliveira

**Advisor:** Prof. Elmo Silvano de Araújo

## SUMMARY

Poly(hydroxybutyrate), PHB, is a biodegradable commercial polyester manufactured in Brazil and biosynthesized by *Alcaligenes eutrophus* bacteria from sugar cane biosynthesis. The great number of petrochemical plastics has brought about attention to biodegradable polymers. PHB is a thermoplastic with good properties and an excellent option as commodity. On the other hand, this biopolymer has great potential in medical and pharmacological applications. For this reason, it is important to know the chemical and physical effects caused by the sterilization process, in particular, by gamma irradiation. In this work, the effects of gamma irradiation in the national PHB and in its copolymer, poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate), P(HB-co-HV), with 6.3 mol% of valerate were investigated. This study was divided in: samples 1, i.e, PHB-1 and P(HB-co-HV)-1; and samples 2, PHB-2 and P(HB-co-HV)-2, that correspond to two different batches from the same maker. PHB-1 and P(HB-co-HV)-1 presented G values (scissions/100 eV) very high, however PHB-2 and P(HB-co-HV)-2 presented greater radiolytic resistance, with G values ten or more times lower than the samples 1. The value found for PHB-1 film was 26.8 (scissions/100 eV) in sterilization dose range (0 – 25 kGy), and to PHB-2 this value was 7.0 (scissions/100 eV), both as received. Gas chromatography associated with mass spectroscopy (GC-MS) revealed residual organic acids in PHB-1, which are considered as being responsible for the high degradation parameters. These acids were not found in PHB-2. Spectroscopy analyses, Fourier Transform Infrared (FT-IR), UV-visible and mainly Nuclear Magnetic Resonance ( $^1\text{H}$ -NMR) spectra showed arise in saturated end-groups induced by gamma irradiation, due to the scissions of ester groups in the radiolysis of the macromolecules. Better results were presented in PHB-2 than in PHB-1, for this reason, the physical properties of the PHB-2 were studied. Thermal analyses showed that the crystalline fusion temperature,  $T_m$ , decrease with the dose, and that PHB presented double endothermic peaks. The increase in the crystalline fraction was observed by thermal analysis (differential scanning calorimetry - DSC) and by x-ray diffraction. The x-ray diffraction also showed changes in the lattice parameters of the irradiated samples. PHB-2 mechanical properties are dramatically affected by the irradiation dose, mainly, tensile strength, impact strength and elongation at break, on the other hand, Young's modulus is altered in doses above of 100 kGy.

## LISTA DE FIGURAS

| Figura                                                                                                                                                        | Página |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Figura 1. Fórmula química geral dos PHAs                                                                                                                      | 04     |
| Figura 2. Grânulos de PHB no interior da bactéria <i>Alcaligenes eutrophus</i><br>após a biotransformação da sacarose                                         | 04     |
| Figura 3. Estruturas méricas do PHB e P(HB-co-HV)                                                                                                             | 05     |
| Figura 4. Distribuição estatística da massa molar em um polímero                                                                                              | 09     |
| Figura 5. Esquema de múltiplas ionizações a partir de <i>spurs</i>                                                                                            | 14     |
| Figura 6. Esquema do equipamento para Teste de Sturm                                                                                                          | 21     |
| Figura 7. Evolução do CO <sub>2</sub> do polímero PHB e suas misturas com amido<br>quando expostas em lodo ativado                                            | 22     |
| Figura 8. Perda de massa por degradação enzimática das amostras irradiadas                                                                                    | 23     |
| Figura 9. Inverso da massa molar viscosimétrica ( $10^6/Mv$ ) como função da dose<br>para duas amostras de PHB                                                | 25     |
| Figura 10. Massa molar numérica média ( $M_n$ ) e o índice de degradação<br>em função da dose de irradiação                                                   | 26     |
| Figura 11. Possíveis radicais formados da radiólise do PHB                                                                                                    | 27     |
| Figura 12. Esquema das cisões nas cadeias: a) PHB, b) P(HB-co-HV) induzidas<br>pela radiação gama                                                             | 28     |
| Figura 13. Temperatura de fusão cristalina para o PHB e P(HB-co-HV)<br>com 20 mol.% de HV em diferentes doses                                                 | 30     |
| Figura 14. a) Temperatura de fusão cristalina ( $T_m$ ); b) Entalpia de fusão ( $\Delta H_m$ ) do PHB e<br>P(HB-co-HV) com 20 mol.% de HV como função da dose | 31     |
| Figura 15. Coordenadas atômicas do PHB                                                                                                                        | 32     |
| Figura 16. Comportamento da $T_g$ como função da dose de irradiação para as amostras<br>de PHB e P(HB-co-HV)                                                  | 33     |
| Figura 17. Lamelas no estágio final do processo de deformação                                                                                                 | 34     |
| Figura 18. Estrutura esferulítica do PHB cristalizado em 100°C                                                                                                | 35     |
| Figura 19. Curva Tensão x Deformação para o P(HB-co-HV). (a) não irradiado;                                                                                   |        |

|                                                                                                                                                           |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| (b) irradiado na dose de 100 kGy; (c) irradiado em 250 kGy                                                                                                | 36 |
| Figura 20. Exemplo da viscosidade reduzida como uma função da concentração (PHB-2)                                                                        | 40 |
| Figura 21. Recíproco da massa molar ( $M_v$ ) como função da dose de irradiação para a amostra de PHB-1 na forma de filme. a) 0 – 25 kGy; b) 50 – 200 kGy | 44 |
| Figura 22. Recíproco da massa molar ( $M_v$ ) como função da dose para a amostra de P(HB-co-HV)-1 na forma de filme. a) 0 – 25 kGy; b) 50 – 200 kGy       | 45 |
| Figura 23. Espectro UV-Visível do PHB-1                                                                                                                   | 47 |
| Figura 24. Espectro UV-visível do P(HB-co-HV)-1                                                                                                           | 48 |
| Figura 25. Espectros de RMN ( $^1\text{H}$ ) da amostras de PHB-1 não irradiadas e irradiada na dose de 300 kGy                                           | 50 |
| Figura 26. $10^6/M_v$ em função da dose para o PHB-2 na forma de pó                                                                                       | 52 |
| Figura 27. Massa molar residual (%) das amostras de PHB-2 e P(HB-co-HV)-2 na forma de pó                                                                  | 53 |
| Figura 28. Recíproco da massa molar viscosimétrica como uma função da dose para o PHB-2 na forma de filme não tratado e reprecipitado                     | 54 |
| Figura 29. $10^6/M_v$ em função da dose para o P(HB-co-HV)-2 na forma de filme não tratado e reprecipitado                                                | 55 |
| Figura 30. Inverso da massa molar ( $M_v$ ) como função da dose de irradiação para os corpos de prova de PHB. a) 0 – 25 kGy; b) 35 – 200 kGy.             | 56 |
| Figura 31. Massa molar residual dos corpos de prova de PHB                                                                                                | 56 |
| Figura 32. Espectros UV-visível do PHB-2                                                                                                                  | 61 |
| Figura 33. Espectro FTIR do PHB-2 não irradiado e irradiado na dose de 300 kGy.                                                                           | 62 |
| Figura 34. Espectros de RMN ( $^1\text{H}$ ) das amostras de PHB-2                                                                                        | 65 |
| Figura 35. Espectros de ( $^1\text{H}$ ) RMN das amostras de PHB-2 tratadas com HCl e $\text{NH}_4\text{OH}$                                              | 66 |
| Figura 36. Ampliação do espectro da amostra irradiada (sem tratamento).                                                                                   | 67 |
| Figura 37. Espectro de ( $^1\text{H}$ ) RMN da amostra de PHB-2 reprecipitada e não irradiada                                                             | 68 |
| Figura 38. Ampliação do espectro da amostra purificada e irradiada na dose de 300 kGy                                                                     | 69 |
| Figura 39. Espectros de RMN da amostra de P(HB-co-HV)-2                                                                                                   | 70 |
| Figura 40. Ampliação do espectro da amostra de P(HB-co-HV)-2 irradiada                                                                                    | 70 |
| Figura 41. Termograma DSC das amostras de PHB-2 (sem tratamento)                                                                                          | 72 |
| Figura 42. $T_m$ e $T_s$ como função da dose de irradiação                                                                                                | 73 |

|                                                                                                                                                            |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 43. Termograma DSC da amostra não irradiada de PHB-2 tratada e não tratada.                                                                         | 75  |
| Figura 44. Análise termogravimétrica (TGA) das amostras de PHB-2                                                                                           | 76  |
| Figura 45. Derivada do termograma TGA como uma função da temperatura para o PHB-2                                                                          | 77  |
| Figura 46. (a) Difratoograma de raios-X do PHB não irradiado e irradiado (25 e 100 kGy).<br>b) Difratoograma do PHB não irradiado e irradiado (300 kGy)    | 78  |
| Figura 47. Resistência à tração na ruptura do PHB-2 como função da dose de irradiação                                                                      | 84  |
| Figura 48. Alongamento na ruptura do PHB-2 como função da dose de irradiação                                                                               | 84  |
| Figura 49. Módulo de elasticidade do PHB-2 como uma função da dose de irradiação                                                                           | 85  |
| Figura 50. Resistência ao impacto Izod do PHB-2 como função da dose                                                                                        | 86  |
| Figura 51. Recíproco de $M_v$ como função da dose para a amostra de PHB-1 na forma de pó                                                                   | 98  |
| Figura 52. Inverso de $M_v$ como função da dose para a amostra de P(HB-co-HV) -1 na forma de filme                                                         | 98  |
| Figura 53. $10^6/M_v \times D(\text{kGy})$ para o filme de PHB-2 tratado com ácido clorídrico                                                              | 100 |
| Figura 54. Área sob o pico endotérmico a partir de uma linha de base                                                                                       | 102 |
| Figura 55. Aproximação gaussiana para a subtração do halo amorfo no difratograma da amostra não irradiada                                                  | 103 |
| Figura 56. Aproximação gaussiana para a subtração do halo amorfo no difratograma da amostra irradiada (100 kGy)                                            | 103 |
| Figura 57. Espectro FT-IR das amostras de PHB-1 em 0 e 300 kGy                                                                                             | 105 |
| Figura 58. Método da linha de base para a obtenção das áreas das bandas de carbonila ( $1725 \text{ cm}^{-1}$ ) e de referência ( $1454 \text{ cm}^{-1}$ ) | 105 |
| Figura 59. PHB-Industrial S.A.                                                                                                                             | 108 |
| Figura 60. Filtro na forma recuperada; B) Filtro de Simon na forma liberada                                                                                | 113 |
| Figura 61. Luvas compostas de fios à base de SM. A) Posição em baixa temperatura; B) Posição em altas temperaturas                                         | 113 |

## LISTA DE TABELAS

| Tabela                                                                                                                                       | Página |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Tabela 1. Valores dos graus de degradação e de reticulação consequentes da irradiação com feixe de elétrons em amostras de PHB e P(HB-co-HV) | 26     |
| Tabela 2. Principais estruturas formadas a partir da radiólise do PHB e P(HB-co-HV)                                                          | 29     |
| Tabela 3. Valores de $T_m$ e $\Delta H_m$ para amostras de P(HB-co-HV) irradiadas                                                            | 31     |
| Tabela 4. Efeito da radiação gama nas propriedades mecânicas do P(HB-co-HV)                                                                  | 36     |
| Tabela 5. Grau de degradação (G) obtido para as diferentes amostras 1                                                                        | 45     |
| Tabela 6. $M_{V0}$ dos filmes de PHB-2 e P(HB-co-HV)-2                                                                                       | 53     |
| Tabela 7. Resumo dos parâmetros de degradação para PHB-2 e P(HB-co-HV)-2 no entorno da dose de esterilização                                 | 57     |
| Tabela 8. Parâmetros de degradação dos filmes reprecipitados com relação à dose                                                              | 58     |
| Tabela 9. Valores G (cisões/100 eV) para o PHB e P(HB-co-HV) irradiados no ar                                                                | 59     |
| Tabela 10. Variação do índice de carbonila como função da dose de irradiação                                                                 | 63     |
| Tabela 11. Valores de $T_m$ , $T_s$ , grau de cristalinidade e entalpia do PHB irradiado                                                     | 74     |
| Tabela 12. Fração cristalina (C%) do PHB em diferentes doses                                                                                 | 79     |
| Tabela 13. Tamanho dos cristalitos (em Å) do PHB em diferentes doses calculado a partir do plano (110)                                       | 80     |
| Tabela 14. Parâmetros de rede da célula unitária do PHB em diferentes doses                                                                  | 82     |
| Tabela 15. Resultados das amostras de PHB-1 na forma de pó                                                                                   | 99     |
| Tabela 16. Resultados das análises de viscosidade das amostras de PHB-1 na forma de filme                                                    | 99     |
| Tabela 17. Resultados das amostras de P(HB-co-HV)-1 na forma de pó                                                                           | 99     |
| Tabela 18. Resultados das amostras de PHB-2 na forma de pó                                                                                   | 100    |
| Tabela 29. Resultados das amostras de PHB-2 na forma de filme                                                                                | 101    |
| Tabela 20. Resultados das amostras de P(HB-co-HV)-2 na forma de filme                                                                        | 101    |
| Tabela 21. Resultados das amostras de P(HB-co-HV)-2 na forma de pó                                                                           | 102    |
| Tabela 22. Resultados das análises térmicas (termograma DSC)                                                                                 | 102    |
| Tabela 23. Parâmetros do cálculo da cristalinidade                                                                                           | 104    |

|                                                                         |     |
|-------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabela 24. Parâmetros envolvidos na aproximação gaussiana do pico (110) | 104 |
| Tabela 25. Parâmetros envolvidos na aproximação gaussiana do pico (020) | 104 |
| Tabela 26. Resultados dos ensaios mecânicos                             | 104 |
| Tabela 27. Cálculo do índice de carbonila (PHB-1)                       | 106 |
| Tabela 28. Cálculo do índice de carbonila (PHB-2)                       | 106 |

## SUMÁRIO

|                                                                          | Página |
|--------------------------------------------------------------------------|--------|
| <b>RESUMO</b>                                                            | v      |
| <b>SUMMARY</b>                                                           | vi     |
| <b>LISTA DE FIGURAS</b>                                                  | vii    |
| <b>LISTA DE TABELAS</b>                                                  | x      |
| <b>1 INTRODUÇÃO</b>                                                      | 01     |
| <b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b>                                           | 03     |
| <b>2.1 Propriedades gerais do PHB</b>                                    | 03     |
| <b>2.2 Aplicações gerais do PHB</b>                                      | 06     |
| <i>2.2.1 Aplicações especiais do PHB</i>                                 | 07     |
| <b>2.3 A massa molar dos polímeros</b>                                   | 08     |
| <b>2.4 Degradação polimérica</b>                                         | 10     |
| <b>2.5 O efeito da radiação ionizante nos polímeros: Aspectos gerais</b> | 11     |
| <i>2.5.1 O efeito da radiação-<math>\gamma</math></i>                    | 12     |
| <i>2.5.2 A influência do oxigênio</i>                                    | 15     |
| <b>2.6 Técnicas aplicadas ao estudo da degradação polimérica</b>         | 16     |
| <b>2.7 Aspectos da degradação polimérica radiolítica e alterações</b>    |        |
| na massa molar                                                           | 18     |
| <b>2.8 Biodegradação de polímeros</b>                                    | 19     |
| <b>2.9 A degradação radiolítica do PHB e P(HB-co-HV)</b>                 | 23     |
| <b>3 MATERIAL E MÉTODO</b>                                               | 37     |
| <b>3.1 As amostras</b>                                                   | 37     |
| <b>3.2 Irradiação das amostras</b>                                       | 38     |
| <b>3.3 As análises viscosimétricas</b>                                   | 39     |
| <b>3.4 Ensaios Espectroscópicos</b>                                      | 41     |
| <b>3.5 Análises Térmicas</b>                                             | 42     |
| <b>3.6 Difração de Raios-X</b>                                           | 42     |
| <b>3.7 Ensaios Mecânicos</b>                                             | 43     |
| <b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>                                          | 44     |
| <b>4.1 PHB-1 e P(HB-co-HV)-1</b>                                         | 44     |
| <i>4.1.1 Análises de Viscosidade</i>                                     | 44     |
| <i>4.1.2 Espectroscopia de absorção na região UV-visível</i>             | 46     |

|                                                                                      |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>4.1.3 Cromatografia Gasosa associada à espectroscopia de massa (GC-MS)</b>        | 49  |
| <b>4.1.4 Ressonância Magnética Nuclear protônica (RMN (<math>^1\text{H}</math>))</b> | 50  |
| <b>4.2 PHB-2 e P(HB-co-HV)-2: Análises de Viscosidade</b>                            | 51  |
| <b>4.2.1 Amostras na forma de pó</b>                                                 | 51  |
| <b>4.2.2 Amostras na forma de filme</b>                                              | 53  |
| <b>4.2.3 Corpos de Prova</b>                                                         | 55  |
| <b>4.3 PHB-2: Ensaios Espectroscópicos</b>                                           | 60  |
| <b>4.3.1 Espectroscopia de absorção na região UV-visível</b>                         | 60  |
| <b>4.3.2 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR)</b>     | 61  |
| <b>4.3.3 Ressonância Magnética Nuclear protônica (RMN (<math>^1\text{H}</math>))</b> | 64  |
| <b>4.3.3 a) PHB-2 não purificado</b>                                                 | 64  |
| <b>4.3.3 b) PHB-2 purificado</b>                                                     | 67  |
| <b>4.3.3 c) P(HB-co-HV)-2 não purificado</b>                                         | 69  |
| <b>4.4 PHB-2: Análises Térmicas</b>                                                  | 71  |
| <b>4.5 PHB-2: Difração de Raios-X</b>                                                | 77  |
| <b>4.6 Ensaios Mecânicos</b>                                                         | 83  |
| <b>5 CONCLUSÕES</b>                                                                  | 87  |
| <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>                                                    | 89  |
| <b>APÊNDICES</b>                                                                     | 97  |
| <b>ANEXOS</b>                                                                        | 107 |



# 1. INTRODUÇÃO

O poli(3-hidroxibutirato), P(3HB) ou simplesmente PHB, é um poliéster linear biodegradável, sintetizado a partir de microrganismos. Este polímero é o membro mais conhecido e estudado da família dos poli(hidroxicarboxilatos), PHAs (STEINBÜCHEL; FÜCHTENBUSCH, 1998).

No Brasil, os estudos sobre o PHB tiveram início no final da década de 80. Foi em 1994, que um grupo de pesquisadores do Instituto de Pesquisas Tecnológicas de São Paulo (IPT/SP), em parceria com a Copersucar (Cooperativa dos Produtores de cana, álcool e açúcar do estado de São Paulo) e o Instituto de Pesquisas Biomédicas da Universidade de São Paulo desenvolveram o PHB de origem totalmente nacional produzido pela Biocycle<sup>®</sup> (ver Anexo 1).

Nos últimos vinte anos a pesquisa em polímeros biodegradáveis vem crescendo em todo o mundo. Esses estudos têm se dedicado à elaboração e ao aperfeiçoamento de polímeros capazes de se degradarem no ambiente em apenas algumas dezenas de anos, visto que, atualmente, os polímeros sintéticos de alto consumo (*commodities*) de origem petrolífera, levam até centenas de anos para se degradarem, o que acarreta graves problemas ambientais. Como muitos desses polímeros biodegradáveis são também biocompatíveis, esses estudos incluem aplicações médicas, farmacológicas e cirúrgicas, como os sistemas de liberação de drogas no corpo humano, suturas, implantes ósseos, e a todo tipo de aplicação na qual é interessante a reabsorção do material pelo organismo.

A radiação ionizante é de grande importância em procedimentos de esterilização de artefatos médico-hospitalares e embalagens de alimentos, técnica atualmente muito utilizada, tanto através do uso de radiação gama (em doses de aproximadamente 25 kGy) como de feixe de elétrons. Assim, os estudos dos efeitos químicos induzidos pela transferência de energia para o sistema polimérico, tornam-se especialmente necessários. Muitas vezes, a ocorrência desses efeitos torna inaceitável o uso desses materiais para determinadas aplicações.

Embora apresente algumas perdas em suas propriedades, um grande número de materiais poliméricos é compatível com o uso da radiação de alta energia como processo de esterilização, incluindo polietileno, poliésteres, poliestireno e policarbonato (HALLS,

1991). Daí, a necessidade de se conhecer os efeitos da radiação no PHB brasileiro, no intuito de, futuramente, torná-lo competitivo para o mercado de biomateriais de implantes.

O presente trabalho investiga os efeitos químicos e físicos da irradiação gama ( $^{60}\text{Co}$ ) no PHB, e os efeitos químicos no copolímero P(HB-co-HV), ambos de origens nacionais. Como até o presente momento nenhum trabalho havia sido realizado sobre o efeito da radiação gama no PHB nacional, este presente trabalho buscou analisar diferentes propriedades tais como: a massa molar viscosimétrica média, suas alterações sob o efeito da radiação gama e a obtenção dos parâmetros quantitativos de degradação radiolítica; a caracterização molecular em amostras irradiadas e não irradiadas, e assim observar os grupos funcionais presentes, bem como o surgimento de novos grupos, além da formação de estruturas pós-radiólise, e da melhor compreensão dos mecanismos de degradação radiolítica. Também foram avaliadas as propriedades térmicas e cristalográficas e as conseqüentes alterações nestas propriedades decorrentes da irradiação. Por fim, foram estudadas as propriedades mecânicas do PHB, bem como a degradação destas propriedades devido à irradiação.

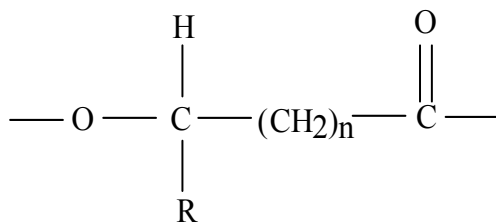
## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Propriedades gerais do PHB

A primeira identificação do poli(3-ácido hidroxibutírico) em bactérias *Bacillus megaterium* foi realizada por Lemoigne (1926). No final da década de 50, evidências suficientes foram obtidas sobre o gênero *Bacillus*, sugerindo que o PHB funcionava como uma reserva intracelular de carbono e energia nessas bactérias (SUDESH et al., 2000). Em 1973, o PHB recebeu sua primeira cobertura ampla como um material de armazenamento bacteriano. A unidade de PHB seria, neste caso, a única componente derivada do hidroxialcanoato (HA). Em 1974 foram identificados outros membros da família do alcanoato além do PHB, entre eles o 3-hidroxivalerato (3HV) e o 3-hidroxihexanoato (3-HHx) (WALLEN; ROHWEDDER, 1974). No final da década de 80 um grande número de componentes da família dos poli(hidroxialcanoatos), PHAs, foi identificado (SUDESH et al., 2000).

*Alcaligenes eutrophus*, *Ralstonia eutropha*, *Azotobacter vinelandii*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas putidai* e muitos outros microrganismos sintetizam PHB, além de outros polímeros mostrados na Figura 1, sendo que no processo de biossíntese, sempre mais de um desses polímeros são obtidos, alguns em maior, outros em menor quantidade. PHB, constituído por meros de 3-hidroxibutirato é o PHA mais bem caracterizado e acumulado com mais frequência e por um número maior de bactérias, seguido pelo poli(hidroxivalerato), PHV (SERAFIM et al., 2003).

A família dos PHAs, mostrada na Figura 1, origina-se no citoplasma da célula bacteriana sob a forma de grânulos de 0,2 a 0,5 µm de diâmetro rodeados por uma membrana, como se vê na Figura 2 ([BRASIL](#), 2005).



|                       | Polímero                   |
|-----------------------|----------------------------|
| n = 1; R = hidrogênio | Poli(3-hidroxipropionato)  |
| R = metil             | Poli(3-hidroxibutirato)    |
| R = etil              | Poli(3-hidroxicaproato)    |
| R = propil            | Poli(3-hidroxihexanoato)   |
| R = pentil            | Poli(3-hidroxiocapnoato)   |
| R = nonil             | Poli(3-hidroxiundecanoato) |
| n = 2; R = hidrogênio | Poli(4-hidroxibutirato)    |
| n = 3; R = hidrogênio | Poli(5-hidroxipentanoato)  |

Figura 1. Fórmula química geral dos PHAs (SERAFIM et al., 2003).

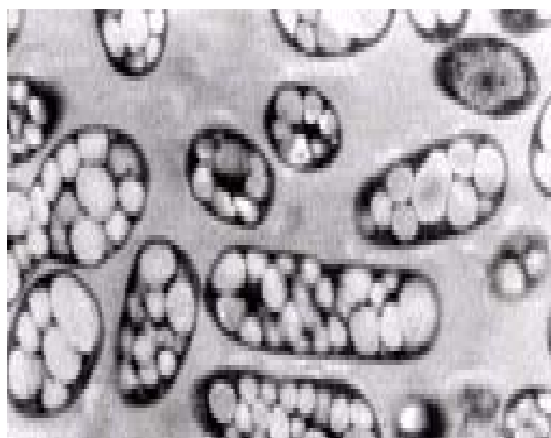


Figura 2. Grânulos de PHB no interior da bactéria *Alcaligenes eutrophus* após a biotransformação da sacarose ([BRASIL](#), 2005).

O PHB é um poliéster alifático linear e estereoregular (Figura 3), sintetizado e acumulado por algumas bactérias na forma de grânulos intracelulares para armazenamento de energia (SUDESH et al., 2000; SERAFIM et al., 2003). Isso ocorre principalmente se as bactérias são cultivadas na presença excessiva de fontes de carbono, como glicose, sacarose

e frutose, e na presença restrita de outros nutrientes, como o nitrogênio. Os processos biotecnológicos para a produção fermentativa do PHB e P(HB-co-HV) por meio de linhagens da bactéria *Alcaligenes eutrophus* foram estabelecidos na década de 70 e deram origem a materiais para a manufatura de diversos produtos (STEINBÜCHEL; FÜCHETENBUSCH, 1998). Detalhes da biossíntese do PHB estão no Anexo 2.

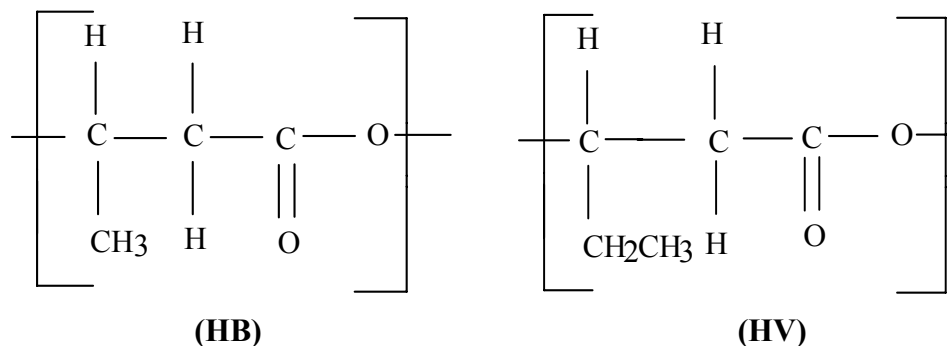


Figura 3. Estruturas méricas do PHB e P(HB-co-HV) (ROSAS et al., 2002).

Algumas de suas propriedades e características conferem a este polímero as mais diversas aplicações. Sua massa molar média ponderal ( $M_w$ ) varia de  $10^4$  até  $10^6$  g/mol, com um índice de polidispersividade em torno de 2. A temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) é  $4^\circ\text{C}$ , enquanto a temperatura de fusão cristalina ( $T_m$ ) é de cerca de  $175^\circ\text{C}$ . As densidades do PHB cristalino e do PHB amorfo são  $1,26$  e  $1,18$  g/cm<sup>3</sup>, respectivamente. Propriedades mecânicas, como módulo de Young ( $3,5$  GPa) e resistência à tração na ruptura ( $43$  MPa), apresentam valores próximos aos encontrados para o polipropileno isotático iPP (SUDESH et al., 2000).

O PHB apresenta um alto grau de cristalinidade (cerca de 55%) em razão da perfeita estereoregularidade produzida pela bactéria (SATO et al., 2004). Esse fato faz do PHB um material rígido e pouco maleável, ou seja, inviável para um grande número de aplicações. A técnica de copolimerização tem sido largamente investigada no sentido de torná-lo menos quebradiço e mais maleável. O P(HB-co-HV) é produzido usando como substrato ácido propiônico e glicose e tem sido o copolímero do PHB mais estudado (SERAFIM et al., 2003).

Uma outra opção para a redução da cristalinidade e dos custos de produção são as misturas físicas (blendas) do PHB com outros polímeros também biodegradáveis como amido, poli(caprolactona) (PCL), poli(ácido láctico) (PLA) e poli(adipato de etileno) (PEA), o que diminui o módulo de rigidez, aumenta o potencial de biodegradabilidade e reduz os custos de produção. Por outro lado, essas misturas podem prejudicar algumas das propriedades físicas do PHB, principalmente suas propriedades térmicas, já que no caso de algumas blendas, como por exemplo, PHB/PCL (50/50) a  $T_m$  cai de 175°C para cerca de 60°C, em virtude da baixa temperatura de fusão cristalina do PCL (VERHOOGT et al., 1994).

## **2.2 Aplicações gerais do PHB**

A capacidade mundial de produção de polímeros biodegradáveis aumentou 185% nos últimos cinco anos. O volume, entretanto, corresponde a apenas 0,5% das 200 milhões de toneladas dos petroquímicos produzidos anualmente. Por sua característica termoplástica, o PHB pode ser utilizado para diversos fins, como na fabricação de copos descartáveis, garrafas, canetas, potes para cosméticos, cartões telefônicos, dentre outros. Além disso, o PHB é um polímero natural obtido a partir de fontes renováveis e possui a grande vantagem de se biodegradar totalmente sob o ataque de microrganismo em um período de poucos anos ou até mesmo meses (OJUMU et al., 2004). Por essas características, o PHB tem se tornado alvo de pesquisas para o melhoramento de suas propriedades e redução de seu custo.

Atualmente, o custo de produção do PHB gira em torno de \$ 4,00 por quilo, enquanto o do polipropileno é de \$ 1,50. A razão principal desses elevados custos decorre do fato de que os membros da família do PHA são produzidos por culturas microbianas puras e substratos caros, como glicose e ácido propiônico, o que exige um maior controle da operação e equipamentos auxiliares para a esterilização. O uso de culturas mistas pode constituir uma alternativa interessante para a redução dos custos desses biopolímeros, já que nesse caso, por exemplo, não há a necessidade de esterilização do sistema (SERAFIM, et al., 2003).

### **2.2.1 Aplicações especiais do PHB**

De acordo com o Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos (United States National Institute of Health – NIH), um biomaterial é definido como: “qualquer substância ou uma combinação de substâncias, de origem sintética ou natural que possa ser utilizada por qualquer período de tempo, como um todo ou uma parte do sistema para tratamento ou substituição de tecidos, órgãos ou funções do corpo humano” (STUART et al., 2002).

Desde a década de 80 uma série de materiais vem sendo desenvolvida para uso em implantes temporários. Entretanto, muitas das matrizes poliméricas e de outras naturezas, tais como cerâmicas e metais, atualmente utilizadas, embora apresentem uma boa biocompatibilidade, não são reabsorvidas pelo corpo (LANGER, 1990).

A partir da década de 90, é dada uma nova ênfase ao desenvolvimento de biomateriais, no sentido de se produzir materiais que permitam que o novo tecido se desenvolva naturalmente, realizando suas funções, sem qualquer problema crônico associado com a presença do implante (STUART et al., 2002).

Os principais pontos considerados na direção futura dos estudos de biomateriais são: sistema de liberação de drogas, interação tecido-polímero e desenvolvimento de biomateriais ortopédicos. Esses três pontos exigem, em primeiro lugar, que se compreenda os mecanismos de degradação do polímero. Desta forma, há a necessidade de se estudar a interação entre as inúmeras enzimas presentes no sangue e no sistema gastrointestinal com o material polimérico, já que a presença dessas pode fazer com que o material se degrade sem que realize sua função (LANGER, 1990).

A blenda Poli(L.ácido láctico) (PLLA/PHB) foi testada em processos de degradação *in vitro* para o desenvolvimento de suturas gastrintestinais absorvíveis pelo organismo humano. O reparo de defeitos nessa região requer algumas características especiais do material, como, por exemplo, ser resistente ao ataque enzimático no intestino delgado e ser resistente a presença de ácido clorídrico (HCl) e outros ácidos presentes no estômago, além de não aderir ao intestino, ser flexível e promover suporte para a regeneração do tecido. Esta blenda mostrou resultados satisfatórios nos estudos *in vitro* para esse fim (FREIER et al., 2002).

No campo dos dispositivos cardiovasculares, o uso do poli(4-hidroxibutirato) resultou na primeira demonstração bem sucedida de um tecido cardíaco tri-valvulado testado em ovelhas. No Anexo 3 podem ser vistos exemplos de outros biomateriais.

É na área médica que o estudo do efeito da radiação sobre o PHB adquire maior destaque, já que antes de sua implantação no corpo, deverá passar por um processo de esterilização. O uso de radiação ionizante como processo de esterilização tem sido considerado pelos especialistas como a técnica mais funcional se comparada à esterilização com óxido de etileno (ETO), cuja eficiência depende do objeto a ser esterilizado. A irradiação é ainda considerada a técnica mais “limpa” de esterilização, já que nenhum tipo de resíduo permanece no material. Além disso, o uso do ETO apresenta a desvantagem da agregação de resíduos tóxicos, como o etileno glicol e etileno cloridina na superfície do material (HALLS, 1991).

O uso de radiação nas aplicações industriais e comerciais inclui, além da já citada esterilização, a polimerização de monômeros e enxertia (“grafting”), reticulação de fios e cabos, entre outras (CHAPIRO, 1962).

Os polímeros quando expostos à radiação gama, sofrem alterações relevantes na sua estrutura molecular, resultando em dois efeitos principais: cisão e reticulação (CLEGG, 1991). O PHB, quando exposto à radiação gama, sofre predominantemente cisões na sua cadeia principal com a redução da sua massa molar e liberação de gases como CO e CO<sub>2</sub> (CARSWELL-POMERANTZ et al., 1996).

## **2.3 A massa molar dos polímeros**

Polímeros são macromoléculas formadas por unidades repetidas, os meros, que são gerados a partir de moléculas simples, os chamados monômeros, em um processo conhecido como polimerização. Cadeias são consideradas poliméricas quando a massa molar é superior a 10.000 g/mol.

Os processos de polimerização são divididos em: polimerização por adição, condensação e abertura de anel. Por se tratar de um polímero natural a síntese do PHB ocorre a partir de processos biológicos (ver Anexo 2).



Durante a polimerização, dá-se o crescimento independente de cada cadeia polimérica. Isto produz cadeias poliméricas com comprimentos diferentes variando em torno de uma média. Tal fenômeno gera a distribuição da massa molar, (DMM) (CANEVAROLO, 2004).

A massa molar numérica média ( $M_n$ ) é definida como sendo a massa molar de todas as cadeias, dividido pelo número total de cadeias, isto é, uma média numérica. Esta massa molar leva em conta mais fortemente o número de cadeias (CALLISTER, 2002).

A massa molar ponderal média ( $M_w$ ) é definida como sendo a massa molar das cadeias poliméricas presentes em cada fração. De outra forma, pode-se dizer que a massa molar de cada fração contribui de maneira ponderada para o cálculo da média total. Quando o interesse é de se considerar mais fortemente a massa molar de cada fração, utiliza-se a massa molar Z –  $M_z$  (CANEVAROLO, 2004).

As medidas de viscosidades de soluções poliméricas diluídas permitem o cálculo da massa molar média viscosimétrica ( $M_v$ ), que depende do espaço ocupado pelas macromoléculas, causando resistência ao escoamento, e são fatores importantes, não apenas o número e o peso das moléculas, mas também a sua forma na solução (MANO, 1985).

Como a massa molar de um polímero é uma variável contínua, sua distribuição de massa molar (DMM) também será contínua, de tal forma que do ponto de vista estatístico, uma curva de DMM é constituída por um conjunto de momentos, sendo  $M_n$  o primeiro momento e  $M_w$  o segundo momento (ROSEN, 1993). A DMM é mostrada na Figura 4.

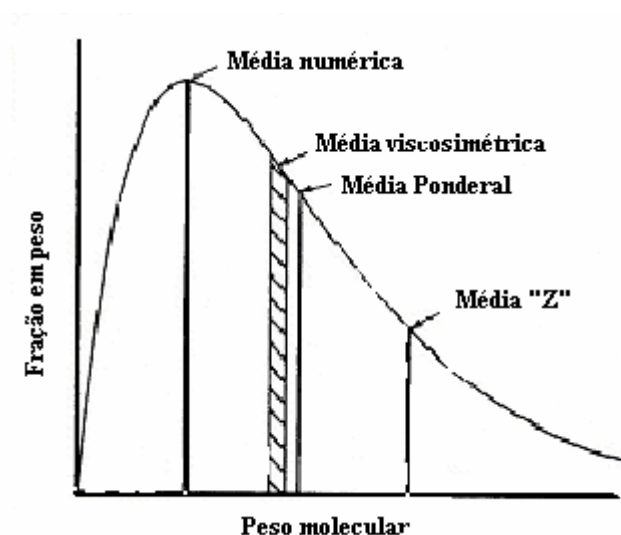


Figura 4. Distribuição estatística da massa molar em um polímero (ROSEN, 1993).

Uma maneira de se conhecer quão larga ou estreita é a curva de distribuição de massas molares é através do chamado índice de polidispersividade, definido pela relação  $M_w/M_n$ . Este índice é sempre maior ou igual a um. Polímeros lineares geralmente apresentam uma polidispersão estreita, e se esta estiver em torno de dois é chamado de distribuição “mais provável” (CANEVAROLO, 2004).

## **2.4 Degradação polimérica**

A degradação polimérica pode acontecer como consequência de vários agentes físicos e químicos e é classificada de acordo com os fatores que iniciam o processo degradativo. Assim a degradação polimérica é classificada como: térmica, mecânica, química, biológica, fotoquímica e radiolítica.

Degradação térmica ocorre quando o polímero é submetido a altas temperaturas. A alta sensibilidade térmica das substâncias orgânicas é devido às ligações covalentes que possuem resistência limitada. A energia de dissociação de ligações simples no estado fundamental é da ordem de 150-400 kJ/mol em 25°C, geralmente a quantidade de energia suficiente para exceder a energia de dissociação ocorre em temperaturas da ordem de 400 a 600°C (SCHNABEL, 1981).

Degradação mecânica geralmente se refere a efeitos macroscópicos causados sob a influência de forças de cisalhamento. Quando materiais poliméricos são submetidos à tensão ocorre cisão das ligações na cadeia principal. A probabilidade de que ocorra cisão por causas mecânicas é maior no centro da cadeia (SCHNABEL, 1981).

No caso da degradação química os processos são induzidos exclusivamente sob a ação de agentes químicos como ácidos, bases, solventes, gases reativos, e outros (GRIMA, 2002). Na degradação iniciada por agentes biológicos, uma grande variedade de enzimas é capaz de reagir com polímeros sintéticos e naturais. O ataque enzimático em polímeros é um processo químico induzido por microorganismos como fungos e bactérias onde o carbono é a fonte de alimento (GRIMA, 2002).

Degradação fotoquímica ocorre quando polímeros são irradiados com luz visível ou ultravioleta absorvendo essa energia e iniciando processos de excitação molecular. Portanto a presença de grupos cromóforos (grupos funcionais com baixa energia de dissociação) nas

macromoléculas é pré-requisito para a iniciação de reações fotoquímicas. Assim a degradação fotoquímica é um processo seletivo e específico dos grupos cromóforos (SCHNABEL, 1981).

A degradação radiolítica é provocada por radiações de alta energia como radiações eletromagnéticas (raios-X e raios- $\gamma$ ) ou por partículas ( $\alpha$ , elétrons rápidos, nêutrons). A absorção de altas energias não é um processo seletivo, todas as partes da molécula polimérica são capazes de interagir com a radiação e sofrer a sua ação (SCHNABEL, 1981).

## **2.5 O efeito da radiação ionizante nos polímeros: Aspectos gerais**

A principal característica da interação da radiação de alta energia com a matéria é a ionização. As radiações ionizantes incluem radiações emitidas por núcleos radioativos ( $\alpha$ ,  $\beta$  e raios- $\gamma$ ), partículas carregadas de alta energia (elétrons, prótons, deuterons e etc) e raios-X. Química das radiações é então definida como o estudo dos efeitos químicos produzidos em um sistema quando ocorre absorção de energia da radiação ionizante (CHAPIRO, 1962).

Radiação eletromagnética ( $\lambda > 250 \text{ \AA}$ ), visível e ultravioleta também pode iniciar reações químicas, embora nesse caso não ocorra ionização, mas a formação de espécies excitadas. Essas reações fazem parte do estudo da fotoquímica. Na química das radiações a energia das partículas e dos fótons é maior que a energia dos fótons que causam reações fotoquímicas (SCHNABEL, 1981).

Na fotoquímica, cada fóton excita uma única molécula, e com o uso de luz monocromática é possível produzir um único e bem definido estado de excitação. Na química das radiações, o fóton ou a partícula de alta energia não é seletivo, e ionizam ou excitam um grande número de moléculas distribuídas ao longo da trajetória da radiação.

As radiações ionizantes podem ser divididas em dois grupos. O primeiro grupo consiste de partículas carregadas, como elétrons, prótons, partículas alfa e íons pesados, os quais têm energia suficiente para causar ionizações durante a colisão devido à interação coulombiana entre as partículas incidentes e os elétrons do material absorvedor. O segundo

grupo consiste de fótons incidentes capazes de produzir elétrons secundários com energia suficiente para provocar um grande número de excitações e ionizações (BIGGIN, 1991).

Quando, por exemplo, elétrons de alta energia penetram o material absorvedor, eles perdem energia por dois mecanismos: perda por colisões, onde ocorre transferência de energia para os elétrons dos átomos do material; e perda por emissão envolvendo a conversão da energia cinética em fótons de raios-X nas proximidades do campo nuclear. A perda por colisão inelástica é o mais importante mecanismo de perda de energia em processos de irradiação envolvendo feixe de elétrons. Um elétron incidente viajando através do material com alta energia é capaz de exercer uma grande força coulombiana sobre os elétrons do átomo e assim transferir energia para eles. Essa energia transferida deve ser suficiente para permitir que o elétron a transmita para os seus átomos vizinhos. A principal diferença entre a radiação direta e indiretamente ionizante, é que na última ocorrem poucas colisões e cada uma envolve inúmeras reações por meio dos elétrons secundários. Na radiação diretamente ionizante ocorrem inúmeras colisões e o elétron perde sua energia de maneira contínua ao penetrar o material (BIGGIN, 1991).

### ***2.5.1 O efeito da radiação- $\gamma$***

As radiações gama possuem comprimento de onda da ordem de  $10^{-12}$  m e são emitidas por núcleos atômicos em transformações radioativas naturais ou em reações nucleares. A principal fonte de radiação utilizada em aplicações científicas ou na esterilização de objetos é a fonte de Cobalto-60 ( $^{60}\text{Co}$ ), cujo núcleo no processo de decaimento emite raios- $\gamma$  com energias de 1,17 e 1,33 MeV (energia média de 1,25 MeV) (CHARLESBY, 1960).

Diferentes dos elétrons, fótons não são eletricamente carregados e não perdem energia de maneira contínua quando penetram no material. Quando a radiação gama passa através da matéria, uma série complexa de eventos ocorre, envolvendo combinações de efeito foto-elétrico, espalhamento Compton e produção de pares. A importância relativa dos três efeitos vai depender da energia da radiação e do material (BIGGIN, 1991).

O efeito da produção de pares ocorre quando fótons de alta energia passam próximos de núcleos dotados de elevados números atômicos, neste caso, o fóton interage

com o campo elétrico do núcleo e desaparece dando origem a um par elétron-pósitron (BIGGIN, 1991). O efeito fotoelétrico se caracteriza pela transferência total de energia do fóton para um único elétron orbital. O fóton transfere toda sua energia ao elétron orbital, que é arrancado do átomo com energia cinética igual à diferença de energia entre o fóton incidente e a energia de ligação do elétron. Esse efeito é predominante no caso de fótons de baixa energia e em elementos que apresentam número atômico elevado (BIGGIN, 1991).

O espalhamento Compton se caracteriza pela transferência parcial de energia do fóton para um elétron orbital. Após a interação, o fóton perde parte de sua energia e é espalhado de sua direção original, enquanto o elétron primário é ejetado do átomo podendo interagir novamente por efeito Compton ou fotoelétrico, dando origem a elétrons secundários, até que toda a sua energia tenha sido totalmente absorvida. O espalhamento Compton, o qual envolve transferência parcial de energia gama para um elétron primário com formação simultânea de um íon, é predominante na interação de raios  $\gamma$  com as moléculas orgânicas (BIGGIN, 1991).

Os elétrons primários apresentam uma energia de cerca de 450 keV e são capazes de excitar e ionizar uma grande quantidade de átomos produzindo elétrons secundários de mais baixa energia. Desde que a energia média de mais de 95% dos elétrons secundários produzidos é menor que 500 eV (implicando em baixa transferência de energia por ionização secundárias), e que a perda média de energia dos elétrons primários é de apenas 200eV/ $\mu\text{m}$ , o caminho dos elétrons primários através da amostra pode ser descrito como um rastro (“track”) (KENNETH, 1991; ZAGÓRSKI, 2002). Os elétrons secundários perdem sua energia em distâncias muito curtas dando origem a *spurs* (centros de energia) dos átomos excitados e ionizados em pequenas regiões cilíndricas, adjacentes aos “rastros” (Figura 5) (KENNETH, 1991).

A energia do elétron secundário é suficiente para excitar e ionizar muitas moléculas, até atingir a energia térmica (elétron termalizado) e ser absorvido por uma molécula neutra ou por um cátion. Ao absorver o elétron termalizado a molécula polimérica pode se tornar um ânion ou uma molécula excitada, e se dissociar em íons ou radicais, sendo esta última espécie reativa, a principal responsável pela degradação em polímeros. Assim, os íons criados em um dado “spur”, rapidamente se recombina com os elétrons gerando uma nova população de espécies excitadas (GUILLET, 1985).

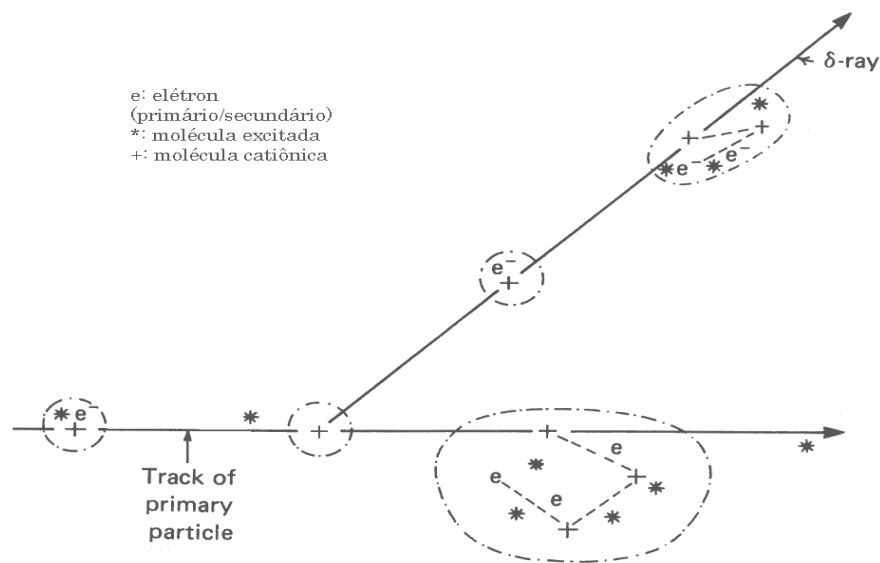
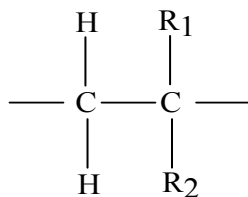


Figura 5. Esquema de múltiplas ionizações a partir de *spurs* (GUILLET, 1985).

Os radicais podem reagir com o oxigênio ou se recombinarem entre si, por processos que levam a: 1) abstração de hidrogênio; 2) formação de ligações duplas; 3) liberação de moléculas menores como CO, CO<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub>; cisão e reticulação das cadeias moleculares (KENNETH, 1991).

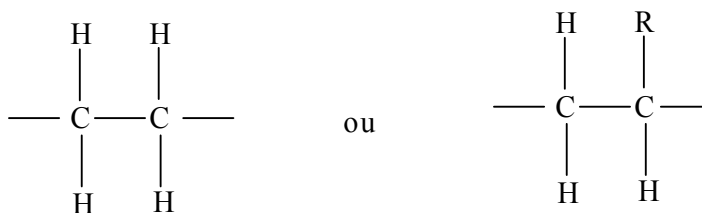
No processo de reticulação duas cadeias poliméricas (ou dois macro-radicaís) se ligam quimicamente formando uma única molécula de massa molar maior. O polímero torna-se insolúvel e sua massa molar, bem como sua T<sub>m</sub> aumentam. A fração gel é um dos parâmetros mais estudados em química das radiações e indica a porção insolúvel e, portanto reticulada do polímero (CHARLESBY, 1960). Quando um polímero sofre cisão da sua cadeia principal uma molécula é dividida em duas moléculas menores ocorrendo assim redução no valor da massa molar. Perdas nas propriedades mecânicas e térmicas e o surgimento de insaturações são outras consequências da cisão em polímeros. Os efeitos da radiação nos polímeros incluem ainda a formação de produtos gasosos com a predominância da liberação de CO, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub> (DOLE, 1973).

Ambos os processos, cisão e reticulação coexistem na grande maioria dos polímeros irradiados, e a predominância de um deles sobre o outro depende principalmente da estrutura química do polímero e das condições de irradiação como temperatura, presença de oxigênio, dose, entre outras. Uma regra geral para polímeros lineares é a de que polímeros contendo unidades do tipo:



sofrem cisões a partir de cisões homolíticas do tipo C-C na sua cadeia principal. Neste caso, R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub> são grupos volumosos que geralmente impedem a aproximação da cadeia. Poli(metacrilato de metila) (PMMA), poli(isobutileno) e policarbonato (PC) são exemplos de polímeros que sofrem cisões sob irradiação de alta energia (CHAPIRO, 1962).

Por outro lado, polímeros contendo as unidades:



reticulam, ou seja, ocorre cisão homolítica C-H da cadeia principal, originando ligações cruzadas entre as cadeias. O polietileno (PE) é um exemplo de polímero que sofre predominantemente reticulação (CHAPIRO, 1962).

As condições de irradiação e a taxa de dose utilizada também influenciam na predominância de um efeito sobre o outro. O PE, citado como um polímero que reticula, sofre grande difusão de O<sub>2</sub> quando irradiado na presença de oxigênio. Neste caso, recombinações entre o polímero e moléculas de O<sub>2</sub> podem acontecer gerando radicais peróxidos, que são altamente reativos e responsáveis pelas cisões na cadeia. A etapa de difusão do O<sub>2</sub> e conseqüentes efeitos, tornam-se ainda mais significativos quando alguns polímeros são irradiados em taxas de dose menores. Nessa circunstância mais reações de recombinação podem acontecer influenciando na ocorrência de cisões (KENNETH, 1991).

### 2.5.2 A influência do oxigênio

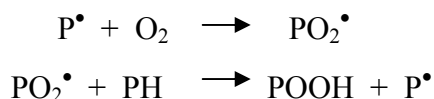
A presença de oxigênio durante a irradiação é um importante fator que em alguns casos deve ter uma influência fundamental no processo final da radiólise. Em um material polimérico irradiado na presença de oxigênio, vai haver a reação deste com os muitos

radicais livres originando radicais peróxidos e hidroperóxidos, altamente reativos. De acordo com o mecanismo convencional de auto-oxidação, três etapas distintas ocorrem:

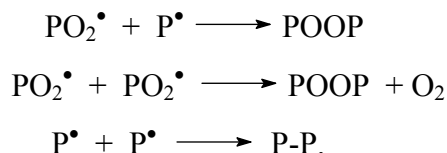
1. Iniciação:



2. Propagação:



3. Terminação:



Nesse esquema, P representa a cadeia polimérica e  $P^{\bullet}$  é o radical primário formado durante a irradiação. Na etapa da propagação o oxigênio é consumido pelo radical livre  $P^{\bullet}$ , e nas etapas da terminação  $P^{\bullet}$  será consumido por recombinação. Assim sendo, o termo auto-oxidativo é usado para indicar que cada radical  $P^{\bullet}$  consumirá um certo número de moléculas de oxigênio. A oxidação, ou a auto-oxidação, também provocam cisões na cadeia polimérica a partir dos radicais peróxidos  $PO_2^{\bullet}$ , que são altamente reativos, ou também a partir da decomposição dos hidroperóxidos POOH, por luz (foto-oxidação) ou calor (130 a 150°C) sendo que a quebra ocorre na ligação O-O do hidroperóxido (KENNETH, 1991).

## 2.6 Técnicas aplicadas ao estudo da degradação polimérica

A massa molar de um polímero fornece muitas informações e é extremamente sensível aos efeitos degradativos. Conhecer a massa molar do polímero é imprescindível no



estudo da degradação radiolítica. As duas técnicas mais comumente usadas para este estudo são: Cromatografia por Exclusão de Tamanho (SEC) e viscosimetria.

A Cromatografia por Exclusão de Tamanho (SEC), também conhecida como Cromatografia de permeação em Gel (GPC) é uma técnica de fracionamento das cadeias poliméricas com relação ao volume hidrodinâmico que cada uma delas ocupa na solução. A separação das cadeias ocorre quando a solução é bombeada através de uma coluna recheada com gel poroso. É através da escolha desta porosidade que cadeias menores serão excluídas, retidas por esses poros, e as cadeias maiores serão eluídas primeiro, permitindo uma separação contínua das cadeias do polímero com diferentes massas molares. Essa técnica fornece informações sobre as massas molares: numérica, ponderal e viscosimétrica, além de informar sobre o índice de polidispersividade do material (CANEVAROLO, 2004).

A viscosimetria é uma técnica bastante aplicada no estudo de polímeros por ser de baixo custo e resulta em informações sobre a massa molar viscosimétrica média ( $M_v$ ). Esta grandeza é determinada a partir da fluidez de uma solução contendo pequenas frações do soluto diluídas em um solvente apropriado. A similaridade química entre polímero e solvente, e a energia livre de Gibbs determinarão a solubilidade e homogeneidade da solução. A viscosidade apresenta uma relação intrínseca com a massa molar de um polímero linear, baseado no fato de que a viscosidade de um líquido aumenta proporcionalmente ao aumento do conteúdo de partículas adicionadas a esse líquido (CANEVAROLO, 2004).

As mudanças nas propriedades térmicas podem ser analisadas utilizando algumas técnicas como TGA (Análise Termogravimétrica), DTA (Análise Térmica Diferencial) e DSC (Calorimetria Exploratória Diferencial). Mudanças nas temperaturas de transição vítrea e de fusão cristalina devido à irradiação são observadas por esta técnica.

Na presença de cisão ou reticulação da cadeia principal as propriedades mecânicas do polímero podem se alterar. Os ensaios mecânicos, realizados em equipamentos denominados Máquinas de Ensaio Universal, informam sobre o módulo de elasticidade, tensão e alongamento nos pontos de escoamento e ruptura.

Além disso, as análises de espectroscopia, cuja principal finalidade é informar sobre a estrutura molecular do material, são de suma importância. Destaca-se entre elas, as

medidas de RMN (Ressonância Magnética Nuclear), FTIR (Espectroscopia na região do Infravermelho por Transformada de Fourier) e Espectroscopia UV-Visível.

As medidas de RMN, tanto de  $^1\text{H}$  como de  $^{13}\text{C}$ , são utilizadas na detecção de novas espécies formadas devido às cisões na cadeia principal e na verificação de mudanças estruturais. As análises de FTIR e UV-visível são muito úteis na observação da estrutura química do polímero e do surgimento ou desaparecimento de grupos cromóforos, respectivamente. FTIR é também às vezes utilizado no estudo das propriedades cristalinas de alguns polímeros (XU et al., 2002).

Medidas de RPE (Ressonância Paramagnética Eletrônica) são utilizadas principalmente quando se pretende obter informações sobre os radicais livres formados devido à degradação, contudo, algumas dessas informações podem ser obtidas também por meio da técnica de RMN.

## **2.7 Aspectos da degradação polimérica radiolítica e alterações na massa molar**

As teorias de degradação polimérica radiolítica assumem que a probabilidade de cisão é a mesma em qualquer mero. Assim uma teoria estatística é estabelecida considerando as seguintes condições: 1) todas as moléculas poliméricas são lineares (alterações na massa molar de polímeros ramificados são muito difíceis de se detectar); 2) todos os meros sofrem cisões com igual probabilidade; 3) a massa molar do polímero é suficientemente alta; 4) o número total de cisões é suficientemente menor que o número total de meros (CHARLESBY, 1991)

O número de cisões ou produtos formados na cadeia principal é conhecido por G, e é calculado da seguinte relação:

$$G = 100 N y/R \quad (1),$$

sendo N o número de Avogadro, R é a energia de irradiação em elétron volt (eV) absorvida em um mol de meros, e y é a integral no tempo da probabilidade de um mero sofrer uma cisão, ou a densidade de cisões na cadeia principal (DOLE, 1972).

A relação (1) foi estudada e modificada por Charlesby (1977) resultando na seguinte equação:

$$10^6/\text{Mn}(y) = 10^6/\text{Mn}(0) + 0,104GD, \quad (2),$$

onde  $M_n(0)$ ,  $M_n(y)$  são as massas molares numéricas antes e depois da irradiação e  $D$  a dose absorvida em kGy.

O gráfico de  $10^6/M_n(y)$  como função de  $D$  é linear e por meio da declividade da curva fornece o valor de  $G$ , ou seja, o número de cisões na cadeia principal por 100 eV de energia absorvida. Entretanto, devido às dificuldades em se determinar  $M_n$ , obtido por cromatografia de exclusão de tamanho (SEC) e pressão osmótica, Araújo (1993), modificou a equação (2) deduzindo  $M_v$ ,  $G$  e  $D$ . Desta forma,  $M_v$  é determinada de uma maneira mais simples por meio da viscosidade intrínseca,  $[\eta]$ , utilizando a expressão de Mark-Houwink:

$$[\eta] = K \cdot M_v^a, \quad (3)$$

onde  $K$  e  $a$  são as constantes que dependem do sistema polímero-solvente-temperatura.

Quando a substância polimérica tem a distribuição de massa molar como a “mais provável” (índice de polidispersividade  $\sim 2$ ), como é o caso do PHB, é válida a seguinte relação (DOLE, 1972):

$$M_v^a = \Gamma(a + 2) M_n^a. \quad (4)$$

Então, utilizando as Equações (2) e (4) pode-se deduzir uma relação entre  $M_v$ ,  $G$  e  $D$  (kGy):

$$10^6/M_v = 10^6/M_{v0} + 0,104/(\Gamma(a + 2))^{1/a} GD, \quad (5)$$

onde  $M_{v0}$  e  $M_v$  são as massas molares médias viscosimétricas antes e depois da irradiação, respectivamente. Deduzindo a Equação (5) para o caso do PHB em uma temperatura de 30°C, sendo  $a=0,78$ , tem-se:

$$10^6/M_v = 10^6/M_{v0} + 0,0548GD. \quad (6)$$

A Equação (6) é linear e a declividade da reta fornece o valor  $G$ , indicando o grau de degradação molecular no polímero (ARAÚJO et al., 1998).

## 2.8 Biodegradação de polímeros

Segundo estabelecido pela *American Standard for Testing and Methods* (ASTM-D-883), polímeros biodegradáveis são polímeros degradáveis nos quais a degradação resulta primeiramente da ação de microorganismos tais como bactérias, fungos e algas (ROSAS et al., 2001). A partir desse processo ocorre a formação de dióxido de carbono, água e novas biomassas.

Sob condições aeróbicas, o processo químico da biodegradação, envolve, sumariamente, a seguinte reação:



Na primeira etapa da biodegradação a área de contato entre o polímero e o microorganismo aumenta, e se inicia o processo de decomposição das macromoléculas em cadeias menores (monômeros e oligômeros) solúveis em água. Esse processo ocorre normalmente fora do organismo envolvido, de acordo com o tamanho da cadeia polimérica e da natureza insolúvel de muitos polímeros (GRIMA, 2002).

Vários microorganismos como bactérias e fungos produzem enzimas chamadas de despolimerizadores extracelulares, capazes de hidrolisar um determinado polímero em monômeros e oligômeros solúveis em água, utilizando os produtos restantes como nutrientes. O despolimerizador-PHB extracelular, por exemplo, consiste de uma cadeia de polipeptídio e sua massa molar se encontra em um intervalo de 3,0 a  $6,0 \times 10^4$  g/mol (SUDESH et al., 2000).

O segundo passo (mineralização) corresponde à fragmentação desses monômeros e oligômeros em tamanhos suficientemente pequenos, tais que possam ser transportados através das células, onde são bioassimilados e então mineralizados em produtos gasosos ( $CO_2$ ,  $CH_4$ ,  $N_2$ ,  $H_2$ ), água, sais e novas biomassas (GRIMA, 2002).

A biodegradação vai depender de três fatores: **1) Organismos.** Presença de microorganismos capazes de sintetizar enzimas específicas (GRIMA et al., 2002). **2) Ambiente.** Condições ambientais, como temperatura, radiação solar, umidade, presença de oxigênio, entre outros (KACZMAREK, 2004). **3) Substrato.** Fatores estruturais do polímero, como ligações químicas, presença e grau de ramificação e reticulação, hidrofobicidade, estereoquímica, massa molar e cristalinidade (SCHNABEL, 1981).

Dentre outras formas, a monitoração do processo de biodegradação pode ser feita através da quantidade  $CO_2$  liberada; o denominado Teste de Sturm. Esse teste é considerado o mais confiável para a avaliação da biodegradabilidade de um polímero em meio microbiano ativado. Entre os meios propostos como inoculantes para avaliação da

biodegradação de polímeros, encontramos: lodo ativado, solo compostado, composto orgânico, e outros (ROSAS et al., 2002).

A metodologia utilizada para a determinar a quantidade de dióxido de carbono liberada pelos polímeros, quando expostos à água de esgoto e lodo ativado, em condições laboratoriais é regida pela Norma ASTM 5209-92.

A Figura 6 ilustra um sistema utilizado para a realização do Teste de Sturm, ou seja, o sistema usado para captar e complexar o  $\text{CO}_2$  liberado no processo de biodegradação do polímero. Nesse sistema, o polímero é adicionado no recipiente B (reator), o qual contém o lodo ativado. Para se evitar a entrada de  $\text{CO}_2$  no reator, é adicionado  $\text{Ba(OH)}_2$  no recipiente A, garantindo assim que o  $\text{O}_2$  entre no recipiente B. O  $\text{CO}_2$  gerado no reator reage com o hidróxido de bário presente no recipiente C formando o  $\text{BaCO}_3$  e a quantidade de dióxido de carbono é determinada por retrotitulação com  $\text{HCl}$  (ROSAS et al., 2001).

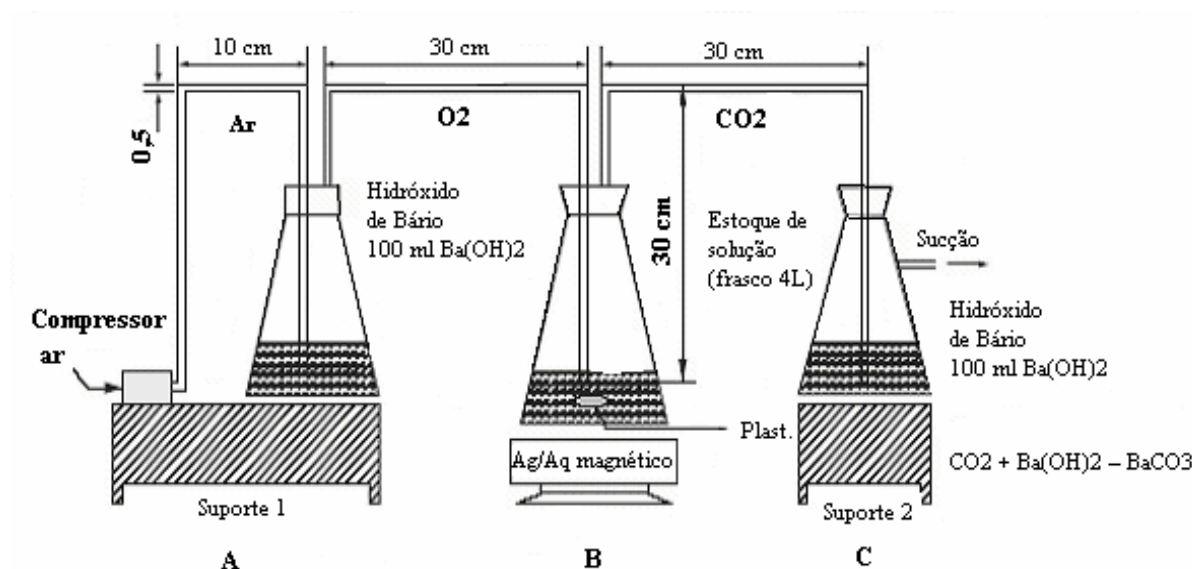


Figura 6. Esquema do equipamento para Teste de Sturm (ROSAS et al., 2001).

Os resultados encontrados por Rosas et al. (2001) determinam a quantidade de  $\text{CO}_2$  retrotitulada e obtida em miligramas. Neste trabalho os autores compararam a biodegradação do PHB e de misturas de PHB com duas diferentes concentrações de amido por meio do Teste de Sturm. Através da Figura 7 pode ser visto que a maior liberação de  $\text{CO}_2$  ocorrida foi para o PHB puro.

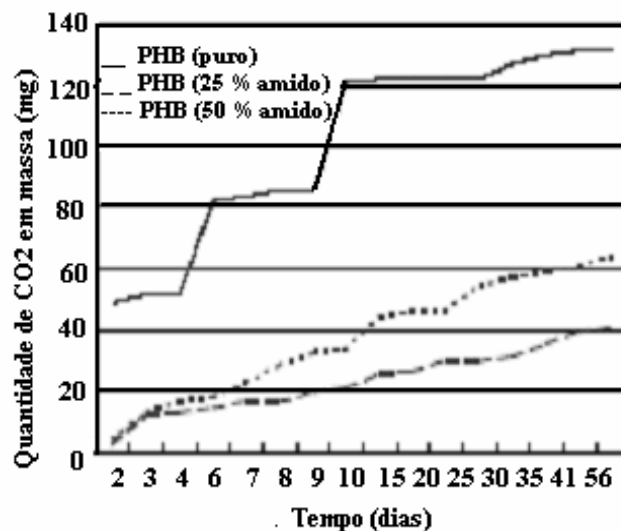


Figura 7. Evolução do CO<sub>2</sub> do polímero PHB e suas misturas com amido quando expostas em lodo ativado (ROSAS et al., 2001).

Mitomo et al. (1994) realizaram testes de biodegradação a partir da perda de massa do PHB irradiado, como pode ser visto na Figura 8. Nesse estudo as amostras irradiadas passaram por um processo de degradação enzimática através de um despolimerizador extracelular purificado da bactéria *Alcaligenes faecalis*, em uma temperatura de 37°C e pH igual a 7,4. As reações se iniciaram com a adição de 32 µL de solução aquosa do PHB despolimerizador. Os filmes de PHB apresentaram uma taxa maior de degradação que as amostras de P(HB-co-HV). Contudo, as duas amostras, nas doses maiores que 120 e 210 kGy, respectivamente, foram completamente degradadas depois de 16 h de tratamento. Por outro lado, as amostras irradiadas no vácuo tiveram 50% de sua massa molar reduzida neste mesmo período de tempo.

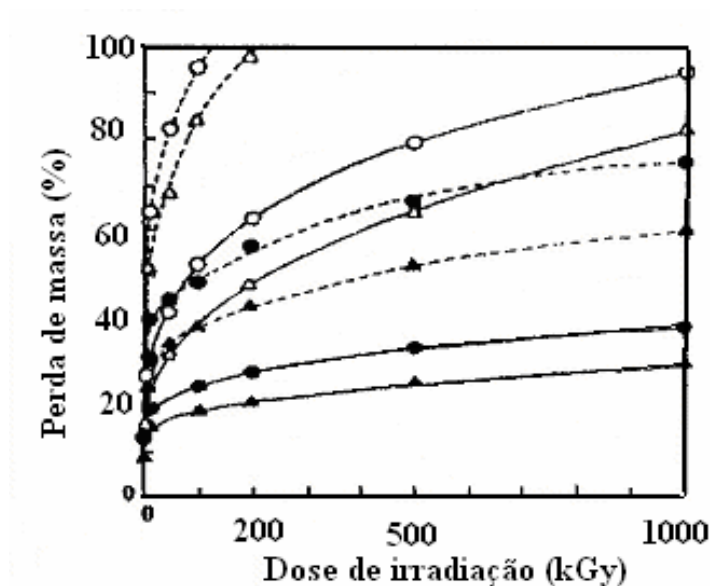


Figura 8. Perda de massa por degradação enzimática das amostras irradiadas. PHB irradiado no ar (○) e no vácuo (●). PHB-co-HV irradiado no ar (△) e no vácuo (▲) (MITOMO et al., 1994).

A biodegradabilidade de plásticos pode ser otimizada por meio da própria radiação solar, já que esses sofrerão cisões em suas cadeias devido ao processo de foto-oxidação, principalmente se houverem grupos carbonilas e hidroxilas presentes em sua estrutura (KACZMAREK et al., 2004). Poliestireno (PS) e Poli(cloreto de vinila) (PVC), por exemplo, são dois polímeros inertes a biodegradação. Kaczmarek et al. (2004), acrescentaram cetonas orgânicas (acetofenona e benzofenona) na quantidade de 1 a 5% em filmes finos de PS e PVC, e os irradiaram com uma Fonte UV à pressão atmosférica. Foram verificadas mudanças nas estruturas dos polímeros, como cisões na cadeia principal e ocorrência de oxidação, o que facilita o ataque de microorganismos.

## 2.9 A degradação radiolítica do PHB e P(HB-co-HV)

Dentre os trabalhos encontrados na literatura que tratam da degradação radiolítica do PHB e P(HB-co-HV), destacam-se os trabalhos de Bibers e Kalnis (1999), Mitomo et al. (1994), Luo e Netravali (1999) e Carswell-Pomerantz et al. (1996), entre outros.

Estes trabalhos tratam das cisões que ocorrem na cadeia no PHB devido ao efeito da radiação gama e conseqüente redução da massa molar, como é o caso de Bibers e Kalnis (1999), que compararam duas amostras de PHB com diferentes massas molares e oriundas de bactérias distintas. A amostra denominada PHB-Az, cuja  $M_v$  é de  $1,90 \times 10^6$  g/mol foi extraída da bactéria *Azotobacter chroococum*; a amostra PHB-Al, de  $M_v$  igual a  $1,45 \times 10^5$  g/mol foi extraída da bactéria *Alcaligenes eutrophus*.

Os filmes de ambas as amostras foram preparados de uma solução de 1% de PHB diluída em clorofórmio pela técnica de derrame com evaporação lenta do solvente em temperatura ambiente e apresentaram uma espessura de  $50 \pm 5$   $\mu\text{m}$ .

Os materiais, tanto na forma de filme como na forma de pó, foram irradiados no ar e no vácuo ( $10^{-3}$  atm) com um feixe de  $^{60}\text{Co}$  a uma taxa constante de 7,8 kGy/h. A massa molar foi determinado pelo método da viscosidade em solução de clorofórmio à temperatura de 30°C, utilizando um viscosímetro do tipo Ubbelohde, e por se tratar de um polímero linear, a massa molar foi calculada pela expressão de Mark-Howink.

A completa solubilidade das espécies irradiadas e a redução da viscosidade característica com relação ao aumento da dose, mostraram que o efeito da radiação é de natureza predominantemente destrutiva. Para uma dose correspondente a 25 kGy a massa molar do PHB-Az diminuiu de  $1,90 \times 10^6$  g/mol para  $1,16 \times 10^5$  g/mol (cerca de 16 vezes); e o PHB-Al de  $1,45 \times 10^5$  g/mol para  $0,61 \times 10^5$  g/mol (redução de 2 vezes). Segundo os autores, essas reduções ocorreram tanto no ar, como no vácuo sem apresentarem grandes diferenças.

A Figura 9 mostra o aumento do inverso da massa molar como função da dose de irradiação para as amostra de PHB-Az e PHB-Al na forma de pó. A partir do recíproco de  $M_v$ , Bibers e Kalnis (1999) encontraram os coeficientes que quantificam a degradação do material, por meio da seguinte equação:  $1/M_v = kD + 1/M_{v0}$ , onde  $k$  é o grau de degradação, considerado pelos autores. Assim, foram encontrados os seguintes valores: 3,23 para as amostras de PHB-Az e 3,26 para as amostras de PHB-Al. Convertendo estes valores obtém um grau degradação  $G$  de 5,86 e 5,94 (cisões/100 eV).



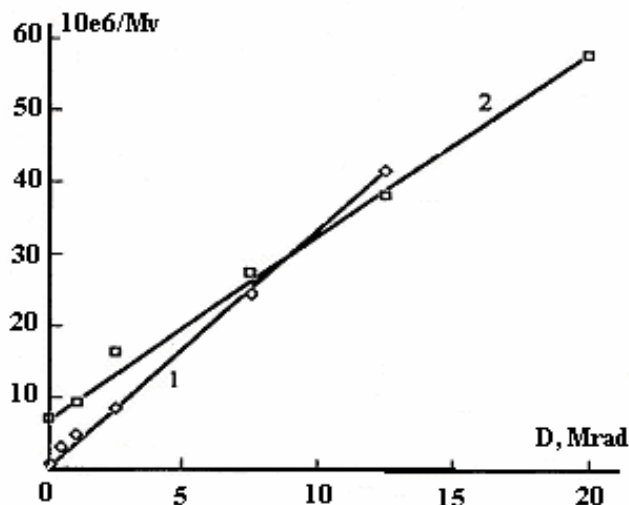


Figura 9. Inverso da massa molar viscosimétrica ( $10^6/M_v$ ) como função da dose para duas amostras de PHB (BIBERS; KALNIS, 1999).

Mitomo et al. (1994) estudaram amostras de PHB e P(HB-co-HV) contendo 20 mol% de HV, isoladas da bactéria *Alcaligenes eutrophus*. As amostras foram seladas em ampolas de vidro em atmosfera controlada e no vácuo ( $10^{-3}$  torr), e irradiadas a uma taxa de 10 kGy/h. As doses variaram de 0 a 3000 kGy. Na Figura 10, observa-se a dependência entre  $M_n$  e a dose de irradiação (eixo-y esquerdo) e o índice de degradação ( $\alpha$ ) com a dose de irradiação (eixo-y direito) das amostras irradiadas na presença e ausência de oxigênio. Os autores utilizaram a equação  $\alpha = (M_{n0}/M_n) - 1$  para a determinação do índice de degradação do material, que representa o número de cisões por moléculas originais.

A redução dos valores de  $M_n$  para o PHB irradiado no ar é cerca de duas vezes maior do que a observada no vácuo. Segundo os autores, no ar, as cisões ocorrem predominantemente na cadeia polimérica, enquanto no vácuo a ocorrência de reticulação é simultânea à cisão da cadeia. Entretanto, esses autores não obtiveram o grau de reticulação das amostras. Desta forma, as diferenças entre os resultados obtidos para as amostras irradiadas no ar e no vácuo poderiam ser justificativas pela ocorrência de processos de oxidação. Como se vê na Figura 10, a predominância de cisões nos dois casos (ar e vácuo) é evidente, visto que o recíproco de  $M_n$  cresce com a dose. Os índices de degradação encontrados por esses autores foram: 3 para o PHB e 2,6 para o P(HB-co-HV) no ar, e 0,8 para o PHB e 0,9 para o P(HB-co-HV) no vácuo.

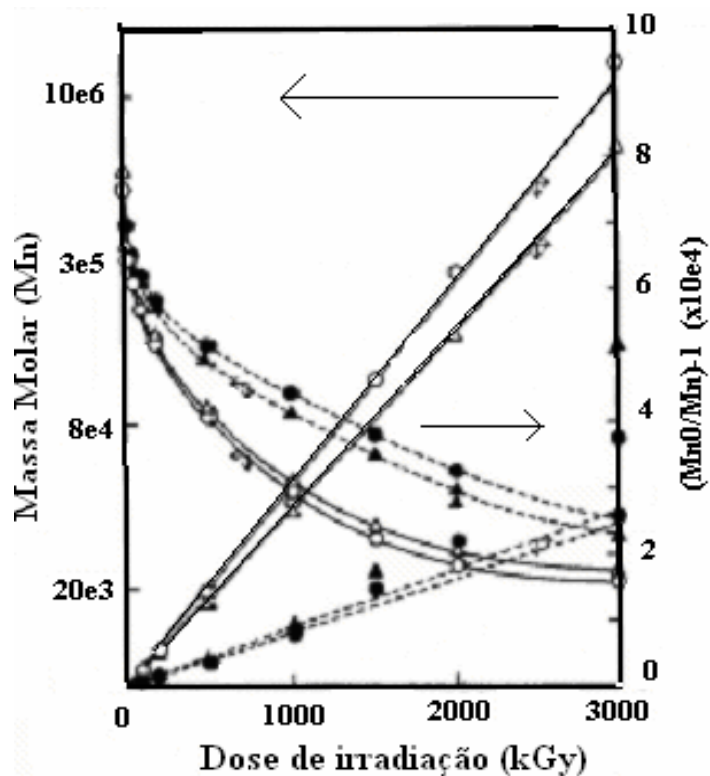


Figura 10. Massa molar numérica média ( $M_n$ ) e o índice de degradação em função da dose de irradiação. PHB irradiado no ar ( $\circ$ ) e no vácuo ( $\bullet$ ). PHB-co-HV irradiado no ar ( $\Delta$ ) e no vácuo ( $\blacktriangle$ ) (MITOMO et al., 1994).

Carswell-Pomerantz e colaboradores (1996) obtiveram os valores  $G(s)$  e  $G(x)$ , indicativos dos graus de cisões e reticulações, respectivamente. Estes autores mostraram a ocorrência de reticulações no P(HB-co-HV) irradiado com feixe de elétrons em atmosfera controlada. Por outro lado, PHB, não sofre reticulação como pode ser visto na Tabela 1.

Tabela 1 Valores dos graus de degradação e de reticulação consequentes da irradiação com feixe de elétrons em amostras de PHB e P(HB-co-HV) (CARSWELL-POMERANTZ et al., 1996).

| Fração Molar de Hidroxivalerato | $G(s)$ | $G(x)$ |
|---------------------------------|--------|--------|
| 0,0                             | 2,2    | 0,0    |
| 0,184                           | 2,7    | 0,3    |
| 0,263                           | 3,4    | 0,5    |

PHB e P(HB-co-HV) foram também estudados por Carswell-Pomerantz et al. (1995) segundo as reações radiolíticas. Este estudo foi realizado por meio da técnica de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) e mostrou que estes polímeros formam radicais muito similares. Os radicais formados indicam que o hidrogênio é perdido pelo átomo do carbono adjacente ao grupo carbonila, e que as cisões nas cadeias dos poliésteres PHB e P(HB-co-HV) ocorrem adjacentes ao grupo éster. Na Figura 11 podem ser vistos alguns possíveis radicais formados na radiólise do PHB.

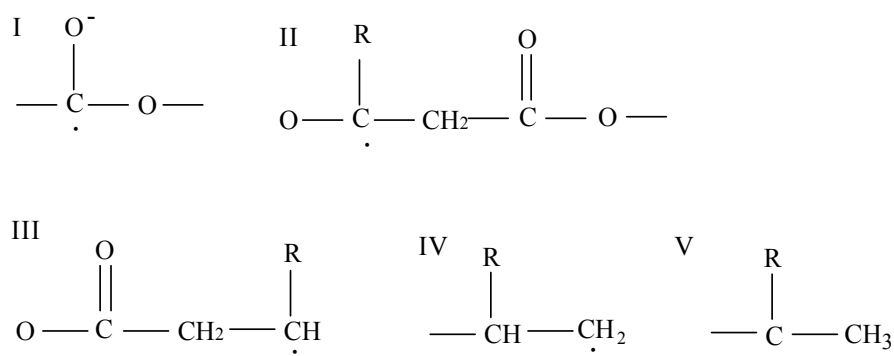
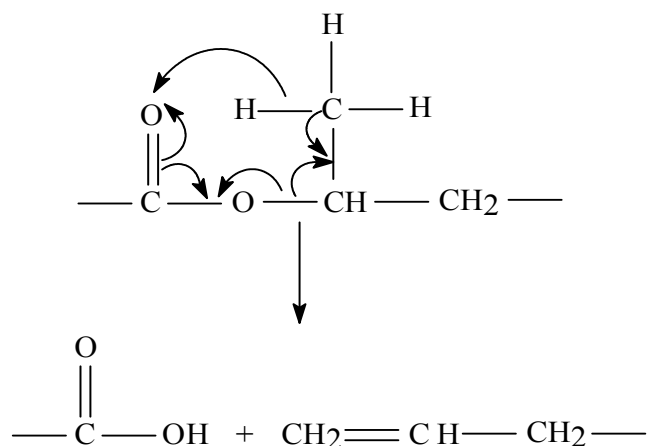


Figura 11. Possíveis radicais formados da radiólise do PHB (CARSWELL-POMERANTZ, et al., 1995).

Luo e Netravali (1999) propuseram ainda um mecanismo de degradação para o PHB e P(HB-co-HV) com base nos espectros de RMN ( $^1\text{H}$ ), como se vê na Figura 12. Em altas doses, em virtude das cisões adjacentes ao grupo carbonila e de cisões no próprio grupo carbonila, produtos voláteis como o CO, CO<sub>2</sub> e hidrogênio, são formados. Outros produtos voláteis como etano, propano e butano são também formados provavelmente como resultado das cisões das cadeias laterais nos polímeros. Contudo, o que se observa na Fig. 12 são cisões na cadeia principal e lateral do PHB e copolímero com a ocorrência de abstração de hidrogênio e a formação de uma estrutura terminal hidroxil e de uma estrutura insaturada.

a)



b)

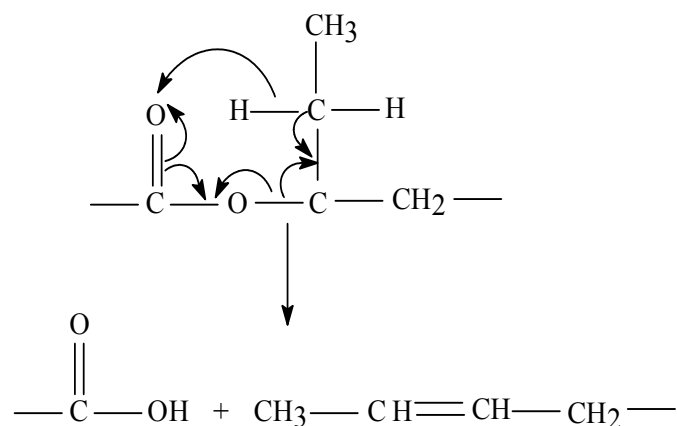


Figura 12. Esquema das cisões nas cadeias: a) PHB, b) P(HB-co-HV) induzidas pela radiação gama (LUO; NETRAVALI, 1998).

Carswell-Pomerantz et al. (1996) verificaram por medidas de Ressonância Magnética Nuclear (RMN  $^1\text{H}$ ) que além da liberação de gases como  $\text{CO}_2$  e  $\text{CO}$  há a formação das estruturas finais mostradas na Tabela 2. Segundo esses autores, as cisões na cadeia principal do polímero, produziram os grupos terminais designados pelas estruturas I, II, IV e V. Já as cisões dos grupos laterais produziram a estrutura III.

Para Mitomo et al (1994) novos resíduos químicos, como  $-\text{OH}$  ou  $-\text{COOH}$  originados do ácido hidroxibutírico, são encontrados na cadeia polimérica como resultado de uma degradação oxidativa que ocorre no ar, além da formação de produtos voláteis como propano e butano (MITOMO et al., 1994).

Tabela 2. Principais estruturas formadas a partir da radiólise do PHB e P(HB-co-HV) (CARSWELL-POMERANTZ, et al., 1996).

| Designação | Estrutura                                              |
|------------|--------------------------------------------------------|
| I          | CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CO- |
| II         | (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -CH-O-                 |
| III        | CH <sub>3</sub> -O-                                    |
| IV         | CH <sub>3</sub> -CH(OH)-                               |
| V          | OCH-CH <sub>2</sub> -                                  |

Os resultados encontrados na literatura sobre os efeitos da radiação no PHB e P(HB-co-HV) (CARSWELL-POMERANTZ et al., 1996, CARSWELL-POMERANTZ et al., 1995, LUO; NETRAVALI, 1999, MITOMO et al., 1994) concordam que os mecanismos de degradação radiolítica destes polímeros são semelhantes aos de outros poliésteres.

Dentre outras propriedades alteradas devido ao efeito da irradiação, destacam-se as alterações nas propriedades térmicas, mecânicas, estruturais e cristalográficas.

A menor cristalinidade do P(HB-co-HV) com relação a seu homopolímero foi confirmada através da técnica de difração por raios-X, na qual se obteve uma cristalinidade de  $62 \pm 0,5\%$  para o PHB e  $47 \pm 0,4 \%$  para o P(HB-co-HV) (CARSWELL-POMERANTZ et al., 1996). Medidas de DSC realizadas por Mitomo et al. (1994) também confirmaram a menor cristalinidade e menor taxa de cristalização do P(HB-co-HV) com relação ao seu homopolímero como se pode observar na Figura 13.

Com o aumento da dose de irradiação, a temperatura de fusão cristalina,  $T_m$ , destes dois materiais diminui significativamente. A temperatura de fusão cristalina está associada à transição de fase cristalina para uma fase amorfa. Esta temperatura diminui com o aumento da irradiação porque ocorrem cisões na cadeia, introduzindo desordem no sistema polimérico (MITOMO et al., 1994). Os autores observaram ainda um aumento na intensidade do pico endotérmica na dose de 50 kGy com relação à amostra não irradiada. Este fato mostra que, enquanto a  $T_m$  sofra redução, a cristalinidade do polímero aumenta. Também se vê que em 1000 e 3000 kGy, há ocorrência de picos duplos, o que indica que as cisões ocorrem heterogeneamente nas regiões cristalinas principalmente nas doses mais elevadas.

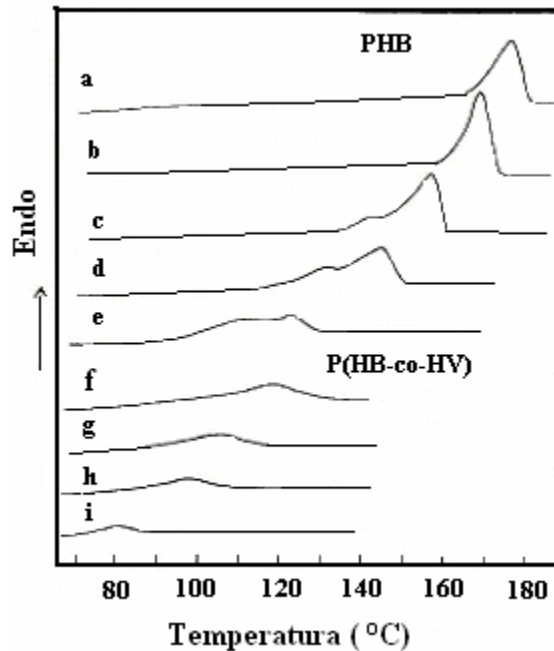


Figura 13. Temperatura de fusão cristalina para o PHB e P(HB-co-HV) com 20 mol.% de HV em diferentes doses: a) 0 kGy; b) 50 kGy; c) 500 kGy; d) 2000 kGy; e) 3000 kGy. f) 0 kGy; g) 500 kGy; h) 2000 kGy; i) 3000 kGy (MITOMO et al., 1994).

Na Figura 14 são mostrados os gráficos referentes à  $T_m$  e à entalpia de fusão ( $\Delta H_m$ ). A redução da  $T_m$  ocorre praticamente da mesma forma para amostras irradiadas no ar e no vácuo até cerca de 1000 kGy, mas a partir desta dose a redução da  $T_m$  passa a ser mais significativa em amostras irradiadas na presença de oxigênio. PHB e P(HB-co-HV) também apresentaram um aumento no valor de suas entalpias de fusão. A cristalinidade encontrada para o PHB foi de 59%, e aumentou para 62% na dose de 100 kGy (MITOMO et al., 1994).

O aumento do grau de cristalinidade em polímeros irradiados pode ser entendido por um fenômeno chamado de quemi-cristalização. O termo significa o aumento no grau de cristalinidade do polímero como resultado da cisão de segmentos moleculares da região amorfa que foram impossibilitados de se cristalizar. Por possuírem mobilidade (principalmente se a  $T_g$  do polímero for menor que a temperatura ambiente) estes segmentos podem se re-arranjar em estruturas cristalinas sobre os cristais já existentes. Este fenômeno é observado no polipropileno isotático (iPP) (RABELLO; WHITE, 1997).

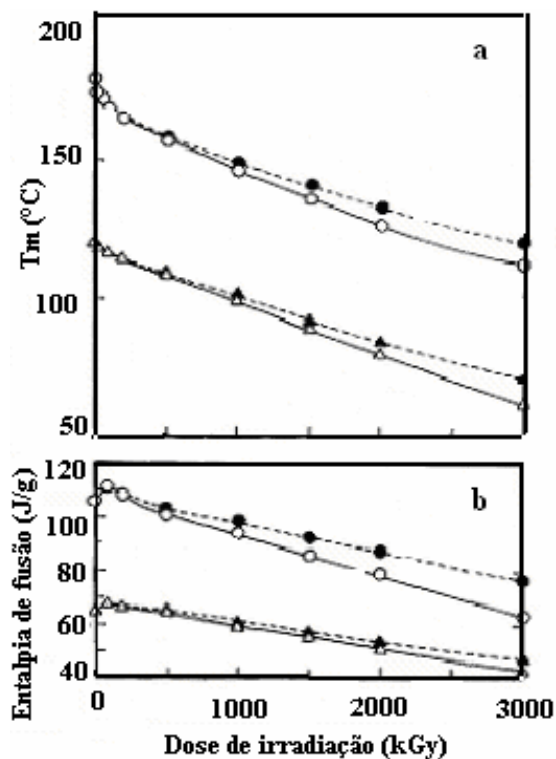


Figura 14. a) Temperatura de fusão cristalina ( $T_m$ ); b) Entalpia de fusão ( $\Delta H_m$ ) do PHB e P(HB-co-HV) com 20 mol.% de HV como função da dose. PHB irradiado no ar ( $\circ$ ) e no vácuo ( $\bullet$ ). P(HB-co-HV) irradiado no ar ( $\Delta$ ) e no vácuo ( $\blacktriangle$ ) (MITOMO et al., 1994).

Outro ponto é a ocorrência de um processo conhecido por nucleação, no qual há a formação de novos sítios cristalinos. Isso acontece porque a radiação provoca a destruição dos grandes cristalitos e a formação de pequenos e inúmeros cristalitos, o que causa aumento no grau de cristalinidade no polímero (MITOMO et al., 1994). Luo e Netravali (1999) observaram um aumento na entalpia de fusão e por consequência um aumento na cristalinidade das amostras de P(HB-co-HV) irradiadas, como se vê na Tabela 3.

Tabela 3. Valores de  $T_m$  e  $\Delta H_m$  para amostras de P(HB-co-HV) irradiadas (LUO e NETRAVALI, 1999).

| Dose<br>(kGy) | $T_m$<br>(°C) | $\Delta H_m$<br>(J/mol) |
|---------------|---------------|-------------------------|
| 0             | 155,9         | 46,09                   |
| 100           | 149,8         | 48,52                   |
| 250           | 146,1         | 50,32                   |

Kostoski e Stojanović (1994) através de medidas de difração de Raios-X e DSC verificaram que em doses de até 200 kGy, a  $T_m$  diminui e o grau de cristalinidade aumenta no polipropileno isotático (iPP). Esse aumento é atribuído, segundo os autores, às cisões das moléculas dos cristalitos, seguidas de uma reorganização dessa fase.

Alguns trabalhos encontrados na literatura tratam da alteração das taxas de cristalinidade do PHB como função da temperatura. Skrbic e Divjakovic (1996) obtiveram o difratograma do PHB em diferentes temperaturas, a variação no parâmetro de rede  $a$  da célula unitária e variação na cristalinidade devido ao aquecimento e resfriamento da amostra.

O PHB apresenta uma estrutura ortorrômbica simples com parâmetros de rede  $a = 5,76$ ,  $b = 13,2$  e  $c = 5,96$  Å (SATO et al., 2004). Skrbic e Divjakovic (1996) observaram um aumento linear do parâmetro  $a$  com relação à temperatura. O parâmetro de rede  $a$  corresponde ao eixo de interação entre a carbonila e o grupo metil, como se vê na Figura 15, portanto, menos estável e mais suscetível aos efeitos de expansão térmica. Por outro lado, os parâmetros  $b$  e  $c$  permanecem praticamente inalterados com o aumento ou redução da temperatura. Isto é esperado, desde que as ligações ao longo da cadeia nas direções de  $b$  e  $c$ , correspondentes ao eixo do carbono do esqueleto, são mais fortes, o que demandaria uma energia muito grande.

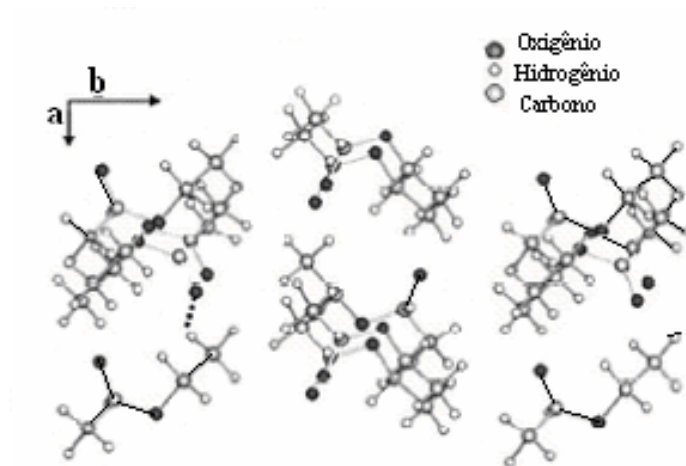


Figura 15. Coordenadas atômicas do PHB (SATO et al., 2004).

Sato et. al. (2004) investigaram estas mesmas propriedades em amostras de poli(hidroxibutirato-co-hidroxihexanoato), P(HB-co-HHx). Neste trabalho foi observado



um decréscimo do grau de cristalinidade do PHB com o aumento da temperatura no intervalo de 20 a 110°C e um aumento no parâmetro de rede  $a$  da célula unitária.

Os resultados referentes à  $T_g$  do PHB podem ser vistos na Figura 16. Nas amostras irradiadas no ar, a  $T_g$  apresenta uma redução linear com o aumento da dose, indicando que as cisões na cadeia principal provocam um aumento de mobilidade das cadeias poliméricas. No vácuo, o comportamento mostrado na Figura 16 é menos acentuado, mas em ambos os casos há decréscimo do valor de  $T_g$  com a dose de irradiação.

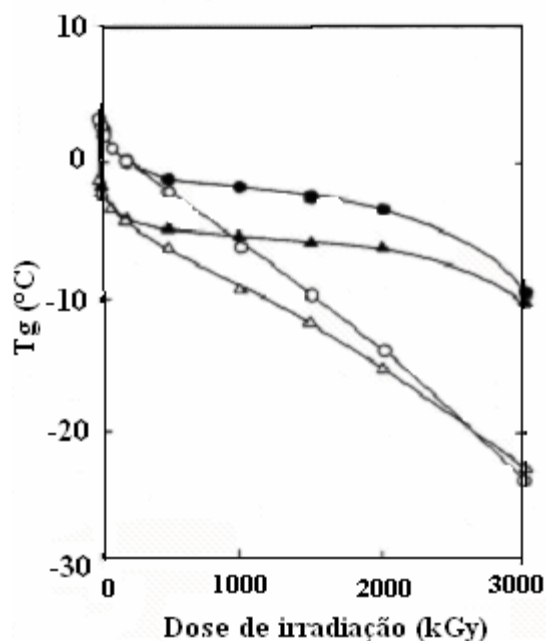


Figura 16. Comportamento da  $T_g$  como função da dose de irradiação para as amostras de PHB e P(HB-co-HV). PHB irradiado no ar ( $\circ$ ) e no vácuo ( $\bullet$ ). PHB-co-HV irradiado no ar ( $\Delta$ ) e no vácuo ( $\blacktriangle$ ) (MITOMO et al., 1994).

Nos polímeros semicristalinos os mecanismos de deformação plástica são mais bem descritos pelas interações que existem entre as regiões lamelares e as regiões amorfas intermediárias em resposta à aplicação de uma carga de tração. Durante o estágio inicial de deformação, as cadeias nas regiões amorfas deslizam umas contra as outras e se alinham na direção do carregamento. Isso faz com que as fitas lamelares deslizem umas contra as outras, à medida que as cadeias dentro das regiões amorfas se estendem. A continuação da

deformação no segundo estágio ocorre pela inclinação das lamelas de modo que as dobras da cadeia ficam alinhadas com o eixo de tração (CALLISTER, 2002).

No estágio final do processo de deformação, os blocos cristalinos e as cadeias de ligação ficam orientados no eixo de direção da força de tração. Os blocos cristalinos encontram-se mais afastados uns dos outros, enquanto as moléculas de ligação, também chamadas de moléculas atadoras, apresentam-se mais estiradas como se vê na Figura 17 (CALLISTER, 2002). Radiações de alta e baixa energia causam cisões nestas moléculas atadoras, por conseguinte a força de tração suportada pelo polímero será menor. Devido ao tamanho das moléculas poliméricas partes destas podem atravessar diferentes cristalitos e também passar entre as regiões cristalinas e amorfas. As cisões nestas moléculas atadoras causam graves prejuízos nas propriedades mecânicas (RABELLO; WHITE, 1997).

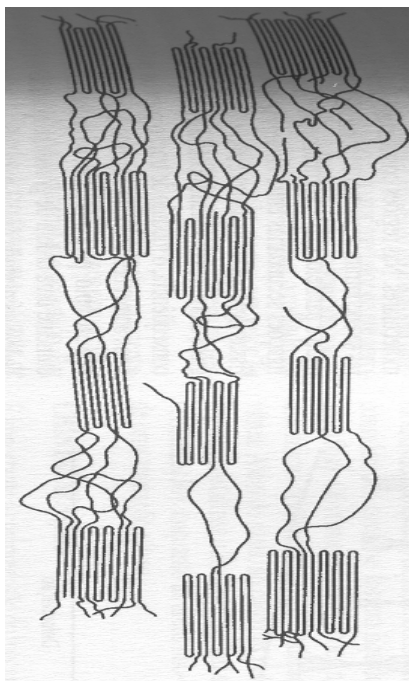


Figura 17. Lamelas no estágio final do processo de deformação (CALLISTER, 2002).

O PHB, como outros polímeros cristalinos (polipropileno, polietileno, náilon, e outros) apresentam uma estrutura esferulítica. Cada esferulito consiste de numerosas “fitas” de cadeias dobradas (lamelas) que se propagam para fora a partir do centro. Separando essas lamelas, existem áreas compostas por material amorfo; as lamelas adjacentes estão

conectadas através de cadeias de ligação que passam através dessas regiões amorfas (CALLISTER, 2002).

Diferentes formas de cristalização vão conferir ao PHB diferentes esferulitos. A Figura 18 mostra uma microscopia ótica de luz polarizada da estrutura esferulítica do PHB cristalizado isotermicamente na temperatura de 100°C. Neste caso, formaram-se grandes esferulitos nos quais podem ser vistos “cracks” desenvolvidos radialmente. Fracas propriedades mecânicas são em parte consequência da presença de grandes esferulitos (EL-HADI et al., 2002).

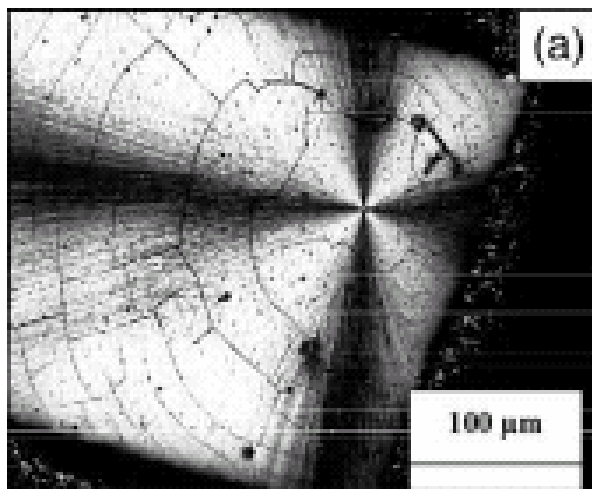


Figura 18. Estrutura esferulítica do PHB cristalizado em 100°C (EL-HADI et al., 2002).

Luo e Netravali (1999) obtiveram a curva tensão X deformação do P(HB-co-HV) em função da dose de irradiação, como se vê na Figura 19. Pode ser visto desta curva que o P(HB-co-HV), apresenta um pequeno limite de reversibilidade na sua deformação. O polímero é definido, neste caso, como duro e quebradiço, segundo o seu comportamento mecânico. PHB apresenta o mesmo comportamento mecânico que o seu copolímero.

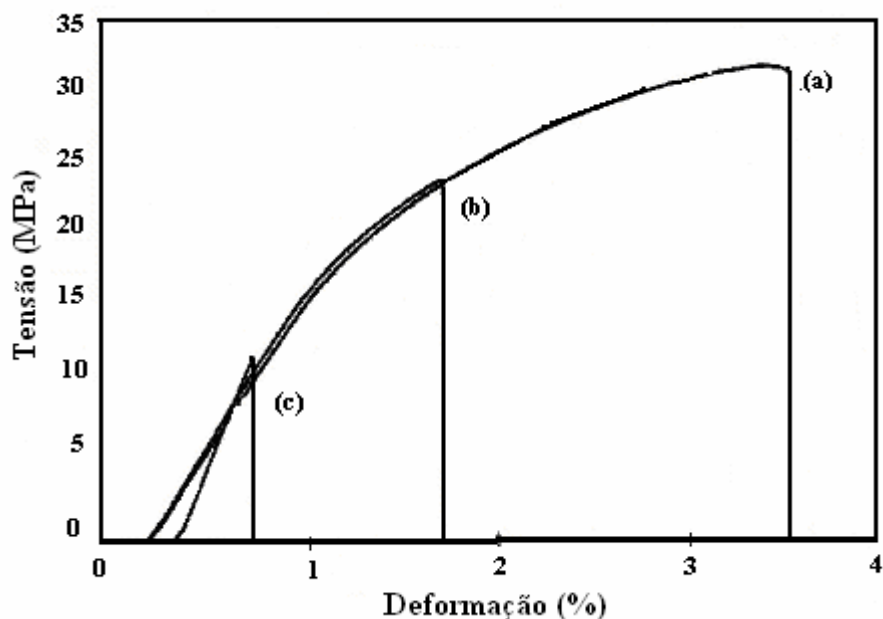


Figura 19. Curva Tensão x Deformação para o P(HB-co-HV): (a) não irradiado; (b) irradiado na dose de 100 kGy; (c) irradiado em 250 kGy (LUO; NETRAVALI, 1999).

Na Tabela 4 são mostrados os efeitos da radiação gama sobre as propriedades mecânicas do P(HB-co-HV). Nota-se uma redução bastante acentuada nas propriedades de resistência à tração e alongamento na ruptura, mostrando que o efeito da irradiação é o de tornar o material ainda mais quebradiço.

Tabela 4. Efeito da radiação gama nas propriedades mecânicas do P(HB-co-HV) (LUO; NETRAVALI, 1999).

| Dose (kGy) | Resistência à Tração na Ruptura (MPa) | Módulo de Elasticidade (GPa) | Alongamento na Ruptura (%) |
|------------|---------------------------------------|------------------------------|----------------------------|
| 0          | 31,69 $\pm$ 0,43                      | 1,90 $\pm$ 0,05              | 3,52 $\pm$ 0,43            |
| 100        | 24,24 $\pm$ 1,24                      | 1,91 $\pm$ 0,08              | 1,75 $\pm$ 0,20            |
| 250        | 12,57 $\pm$ 1,07                      | 1,87 $\pm$ 0,05              | 0,73 $\pm$ 0,08            |

A propriedade de módulo de elasticidade, por sua vez, não sofre alteração. Segundo esses autores, as cisões mais significantes acontecem na região amorfa. Como resultado, propriedades relacionadas à quebra e deformação são mais afetadas que a propriedade de módulo de elasticidade, porque o módulo de elasticidade depende muito mais da porção cristalina do que das regiões amorfas (LUO; NETRAVALI, 1999).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Amostras

Nesse trabalho os efeitos da radiação gama em amostras de PHB e P(HB-co-HV) contendo 6,3 mol % de HV, produzidas pela bactéria *Alcaligenes eutrophus*, foram analisados. Estas amostras foram gentilmente cedidas pela PHB Industrial S.A., proprietária da marca Biocycle<sup>®</sup>.

O polímero é obtido por fermentação aeróbia utilizando a sacarose da cana de açúcar como matéria prima, depois é extraído e purificado por meio de solventes naturais (também derivados da cana de açúcar). O efeito da radiação sobre o polímero foi estudado considerando diferentes formas de amostras, ou seja, na forma de pó (ou como enviado da fábrica), na forma de filme e na forma de corpo de prova.

Foram utilizados dois lotes distintos do mesmo fabricante: o PHB L-62 e P(HB-co-HV) L-64.02 de março de 2003; e o PHB L-67 e P(HB-co-HV) L-64.2 de agosto de 2003. Para efeito de simplificação o primeiro lote recebido (março de 2003) será chamado de PHB-1 e P(HB-co-HV)-1, ou amostras 1. Enquanto o segundo lote será chamado de PHB-2 e P(HB-co-HV)-2, ou amostras 2. É possível que estes dois conjuntos de amostras sejam oriundos de processos distintos de biossíntese.

As amostras 1 foram estudadas como recebidas da indústria, isto é, sem passar por qualquer tratamento. Já as amostras 2 foram analisadas como chegaram da indústria, e também após serem submetidas aos tratamentos por reprecipitação em hexano e tratamentos por ácido clorídrico (HCl) e hidróxido de amônio (NH<sub>4</sub>OH).

Os filmes foram preparados usando a técnica de derrame e evaporação lenta do solvente, em placas de Petri de 12 cm de diâmetro. As concentrações utilizadas foram 0,8 g de PHB para 20 ml de solução em clorofórmio e 1,8 g de P(HB-co-HV) para 20 ml de solução em clorofórmio. A solubilização foi realizada em agitador termo-magnético a uma temperatura de  $55 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , em períodos de tempo que variaram de 24 até 72 horas. Estas soluções foram derramadas nas placas e permaneceram em repouso por, aproximadamente, 48 h em condições ambientais. Por permanecerem em condições ambientes muitos filmes

sofreram as conseqüências da umidade e/ou calor intensos, tornando-se pouco homogêneos, sendo então descartados. Para irradiação foram considerados apenas os filmes visualmente homogêneos. As dimensões dos filmes formados foram: 12 cm de diâmetro e aproximadamente 0,09 mm de espessura.

A purificação do polímero foi realizada pela reprecipitação por hexano em clorofórmio, utilizando apenas as amostras 2. Por meio desta técnica, a amostra foi solubilizada em clorofórmio, recebendo posteriormente o hexano, adicionado na solução na proporção de 1:1. O conjunto (solução+hexano) permaneceu em repouso por cerca de 24 h, tempo suficiente para que o conteúdo purificado se precipitasse e as impurezas permanecessem na fase líquida. A parte precipitada foi posta para secagem à temperatura ambiente e, então, utilizada para a preparação dos filmes.

Além da precipitação as amostras 2 passaram por processos de “lavagens”. Nestes casos, os solutos, na forma de pó, foram misturados em 100 ml de água contendo ácido clorídrico (HCl) 0,1 M e hidróxido de amônio (NH<sub>4</sub>OH) 0,1 M. As quantidades utilizadas foram 10 g de amostra, 100 ml de água e 5 ml do ácido e da base. O grande problema desse tipo de tratamento é que o PHB, como outros polímeros biológicos, absorve muita água. Desta forma, antes de serem caracterizadas, as amostras “lavadas” tiveram de ficar por mais de uma semana em dessecadores à pressão controlada e sob um “banho” de luz infravermelha com potência de 150 W.

As amostras de corpo de prova, tipo gravata (dimensões de 150x20x3mm), foram produzidas a partir do Lote 81, segundo a norma ISO R 179 pelo processo de injeção utilizando uma máquina injetora da marca PIC, Modelo PIC 62.

### **3.2 Irradiação das amostras**

As amostras foram irradiadas no Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares – IPEN-CNEN/SP em doses que variaram de 5 a 300 kGy. Foi utilizada uma fonte de <sup>60</sup>Co do tipo Gammacell com taxas de dose de 4,7 kGy/h na ocasião da irradiação das amostras 1; 3,6 kGy/h para as amostras 2 e 4,3 kGy/h na ocasião da irradiação dos corpos de prova de PHB. Em todos os casos a irradiação ocorreu na presença de oxigênio e à temperatura ambiente de 25°C.

### 3.3 As análises viscosimétricas

A viscosidade das amostras foi calculada a partir da viscosidade relativa ( $\eta_{rel}$ ) utilizando um viscosímetro capilar do tipo Ostwald, № 50, imerso em um banho térmico na temperatura de  $30 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , e usando o clorofórmio como solvente. A viscosidade relativa é então obtida da seguinte relação:  $\eta_{rel} \approx t/t_0$ , onde  $t$  e  $t_0$  são, respectivamente, os tempos de escoamento da solução e do solvente, necessários para que o líquido atravessasse as duas marcas do viscosímetro.

A viscosidade relativa foi determinada como uma média de, no mínimo, oito medidas do tempo de escoamento de cada solução. Para o cálculo da média foram consideradas apenas as medidas com precisão de 1%. Após a obtenção da viscosidade relativa, a viscosidade específica ( $\eta_{esp} = \eta_{rel} - 1$ ) e a viscosidade reduzida ( $\eta_{red} = \eta_{esp}/C$ ), onde  $C$  é a concentração da solução, foram calculadas. A viscosidade intrínseca foi determinada pela extrapolação da viscosidade reduzida ( $[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \eta_{red}$ ) plotada como função da concentração.

A viscosidade intrínseca,  $[\eta]$ , é uma função da massa molar do polímero em solução, do sistema polímero-solvente e da temperatura. Huggins propôs uma relação entre a viscosidade reduzida,  $\eta_{red}$ , e a concentração,  $c$ , para soluções poliméricas diluídas, ou seja, soluções com densidades muito próximas à densidade do solvente (ROSEN, 1993):

$$\eta_{red} = [\eta] + K_H[\eta]^2c, \quad (7)$$

onde  $K_H$  é uma constante de proporcionalidade próxima de 0,4 para uma grande variedade de sistemas polímero-solvente.

Para a obtenção da viscosidade reduzida como função da concentração foi utilizado o planejamento D-otimizado (BARROS; PIMENTEL, 1995). Com base neste planejamento, foram considerados dois pontos na extremidade inferior, e dois pontos na extremidade superior do gráfico, com diferentes níveis de concentração, como mostra a Figura 20.

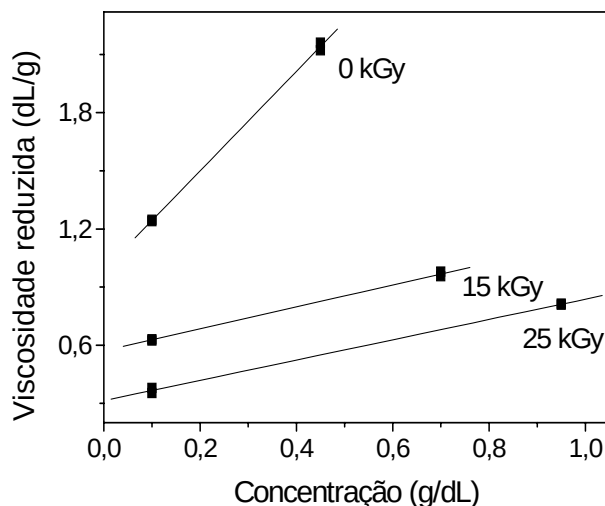


Figura 20. Exemplo da viscosidade reduzida como função da concentração (PHB-2).

Cada um dos extremos das retas contém dois pontos que devem ser o mais próximo possível uns dos outros (repetição autêntica). Estas repetições autênticas são resultantes da preparação de novas soluções, a partir das mesmas concentrações de soluto e solvente, e do mesmo tempo e temperatura de solubilidade. A escolha dos dois níveis de concentração é feita por meio da condição de Huggins, na qual o limite inferior da viscosidade relativa é maior e próximo de 1, e o limite superior é menor e próximo de 2.

Os ensaios de viscosidade foram realizados com os conjuntos de amostra 1 e 2, na forma de pó e filme. As doses, neste caso, variaram de 5 até 300 kGy. Estudos viscosimétricos também foram realizados com corpos de prova.

Com os valores das viscosidades intrínsecas, a massa molar viscosimétrica média ( $M_v$ ) é facilmente obtida por meio da relação de Mark-Houwink:

$$[\eta] = K(M_v)^a, \quad (8)$$

onde as constantes  $K$  e  $a$ , calculadas por Akita et al. (1976) para o sistema PHB-clorofórmio em banho de 30°C foram encontrados como sendo  $K = 1,18 \times 10^{-4}$  dL/g e  $a = 0,78$ . Os valores de  $M_{v0}$  encontrados foram  $3,78 \times 10^5$  e  $2,06 \times 10^5$  g/mol para o PHB-1 e P(HB-co-HV)-1, respectivamente.

O grau de degradação  $G$ , o qual representa o número de cisões na cadeia principal por cada 100 eV de energia absorvida, é obtido por meio da Equação (6) (seção 2.7):



$$10^6/M_V = 10^6/M_{V_0} + 0,0548GD$$

onde D é a dose de irradiação em kGy e G o grau de degradação (número de cisões/100 eV de energia absorvida).

Este parâmetro é obtido da declividade da curva  $10^6/M_V \times D$  (kGy), no intervalo em que o inverso da massa molar é linear com relação à dose. Essa condição representa o intervalo de dose em que as cisões ocorrem aleatoriamente na cadeia principal, e somente neste intervalo o modelo apresentado na seção 2.7 é válido.

### 3.4 Ensaios Espectroscópicos

As análises de FT-IR foram realizadas em um intervalo de frequência de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  por meio de um equipamento de FT-IR Brucker modelo 1FS66, utilizando a técnica de pastilhas de KBr. Foram utilizadas amostras de PHB-1 e PHB-2, não purificadas, nas condições de não irradiadas e irradiadas na dose de 300 kGy.

Os ensaios de RMN ( $^1\text{H}$ ) foram realizados em um espectrômetro Variant Unit Plus 300 em uma frequência de ressonância de 300,13 MHz e pulsos de 45°; o solvente utilizado foi o clorofórmio deuterado. Amostras de PHB-1 foram analisadas nas condições de não irradiadas e irradiadas na dose de 300 kGy. Já as análises de RMN ( $^1\text{H}$ ) do PHB-2 foram realizadas a partir de amostras não purificadas e purificadas, e nas condições: não irradiadas e irradiadas na dose de 300 kGy.

O processo de absorção da radiação ultravioleta-visível resulta na excitação dos elétrons de ligação. Como consequência, os comprimentos de onda dos picos de absorção podem ser correlacionados com os tipos de ligações nas espécies em estudo. As maiores absorções vão acontecer nos grupos cromóforos, já que estes apresentam menor energia de dissociação (SKOOG et al., 2002). No caso do PHB e do seu copolímero ocorrem absorções apenas no comprimento de onda do ultravioleta (200 – 400 nm). As análises de UV-Visível também foram realizadas com as amostras de PHB-1 e PHB-2, por meio de soluções diluídas em clorofórmio. Neste caso, foram estudadas amostras não irradiadas e irradiadas na dose de 300 kGy. O equipamento utilizado foi um espectrofotômetro Perkin-Elmer Lambda 6.

Ensaio de cromatografia gasosa associada à espectroscopia de massa (GC-MS) foram executados em um GC-MS QP-5050 A da marca Shimadzu. Estes ensaios foram realizados utilizando as impurezas recolhidas por extração Soxhlet, onde o metanol foi escolhido como solvente extrator. Estas análises foram realizadas a partir dos conjuntos de amostra 1 e 2 (não irradiadas).

### **3.5 Análises Térmicas**

As análises térmicas utilizadas neste trabalho foram: calorimetria exploratória diferencial, DSC, (do inglês *Differential Scanning Calorimetry*) e termogravimetria, TGA. Para a realização dos ensaios de DSC foram utilizadas amostras de PHB-2 não purificadas e irradiadas nas doses de 25, 100 e 300 kGy, e uma única amostra purificada, todas com uma massa de 3,6 mg. A taxa de aquecimento foi de 10°C/min e o intervalo de temperatura variou de 20 até 200°C para todos os ensaios. O equipamento utilizado foi um DSC-60 Shimadzu.

Para a realização dos ensaios de TGA, foi utilizado um equipamento TGA-60 Shimadzu num intervalo de dose de 20 a 400 °C e uma taxa de aquecimento de 10 °C/min e atmosfera controlada de nitrogênio. Amostras de PHB-2 não irradiadas e irradiadas na dose de 300 kGy foram analisadas.

### **3.6 Difração de Raios-X**

As análises de difração de raios-X foram realizadas com amostras de PHB-2 não purificado na forma de pó. O equipamento utilizado foi um difratômetro da marca Siemens Modelo D-5.000, tubo de Cobre (Cu), voltagem de 40 kV e corrente de 40 mA. O ângulo foi de 2θ° com varredura de 5 a 35° e aquisição contínua de 0,02° por segundo. As pastilhas foram preparadas a partir do pressionamento do pó contra a abertura da lâmina de alumínio, de forma que a amostra ficasse coplanar com a superfície da lâmina. Foram usadas amostras não irradiadas e irradiadas nas doses de 25, 100 e 300 kGy.

### **3.7 Ensaios Mecânicos**

Os ensaios de tração foram realizados de acordo com a Norma ASTM D-882 em uma Máquina Universal EMIC, linha DL, força máxima de 500 N, seguindo as seguintes condições: temperatura de 25°C, velocidade de garra de 50 mm/min e distância entre garras de 110 mm. Foram analisadas amostras não irradiadas e irradiadas nas doses de 5, 15, 25, 35, 50, 100 e 200 kGy.

Os ensaios de resistência ao impacto foram realizados seguindo a ASTM D-256 em uma máquina de ensaio de Impacto Izod (Martelo 2J), sendo que a velocidade do martelo no momento do impacto foi de 3,46 m/s e a profundidade do entalhe aproximadamente 2,54 mm. Foram utilizados corpos de prova específicos para este tipo de ensaio com dimensões de 60x10x3 mm. As amostras analisadas foram irradiadas nas doses de 5, 15, 25, 35, 50 e 100 kGy.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 PHB-1 e P(HB-co-HV)-1

#### 4.1.1 Análises de Viscosidade

Nessa seção são mostrados os resultados das análises de viscosidade das amostras de PHB-1 e P(HB-co-HV)-1. Para garantir a linearidade e estudar o efeito da radiação no entorno da dose de esterilização, os gráficos do inverso de  $M_v$  foram divididos em baixas doses (0 – 25 kGy) e altas doses (30 – 200 kGy).

A Figura 21 apresenta os resultados da variação do inverso da massa molar em função da dose absorvida  $10^6/M_v D$ , para o PHB-1 na forma de filme. Os valores do grau de degradação foram encontrados como sendo: 26,8 (cisões/100 eV) no intervalo de 0 – 25 kGy e 71,1 no intervalo de 50 – 200 kGy.

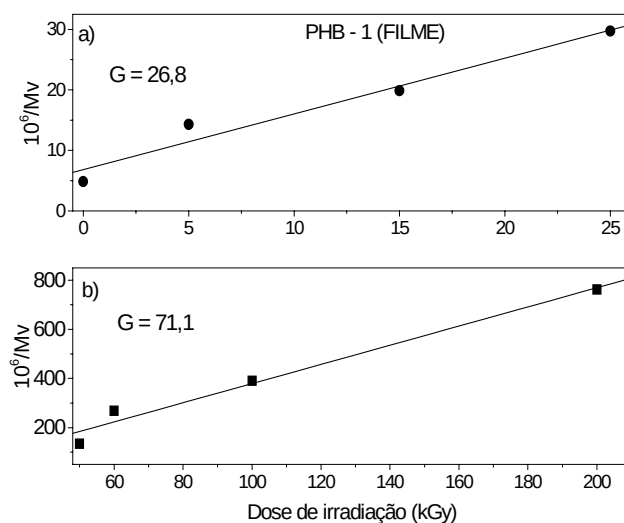


Figura 21. Recíproco da massa molar ( $M_v$ ) como função da dose de irradiação para a amostra de PHB-1 na forma de filme. a) 0 – 25 kGy; b) 50 – 200 kGy.

Por outro lado, a Figura 22 apresenta o inverso da massa molar,  $10^6/M_v D$  para as amostras de P(HB-co-HV)-1 na forma de filme. Neste caso, as valores de G(cisões/100 eV) foram: 40,3 no intervalo de 0 – 25 kGy e 57,0 no intervalo de 30 – 200 kGy.

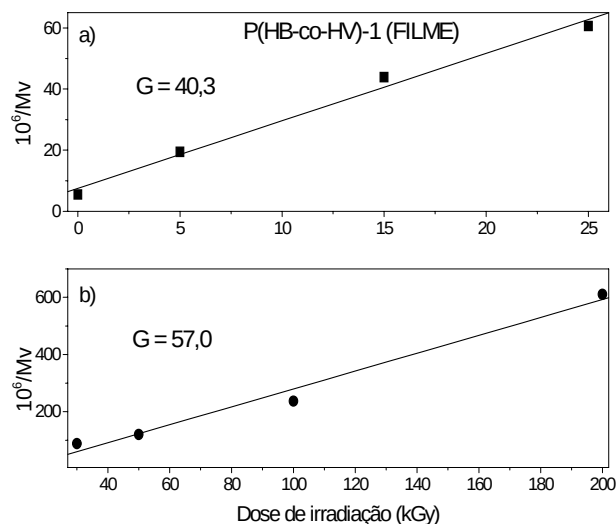


Figura 22. Recíproco da massa molar ( $M_v$ ) como função da dose para a amostra de P(HB-co-HV)-1 na forma de filme. a) 0 – 25 kGy; b) 50 – 200 kGy.

Na Tabela 5 podem ser observados os valores  $G$  (cisões/100 eV) para as amostras de PHB-1 e P(HB-co-HV)-1 nos intervalos de baixas e altas doses. Os valores do grau de degradação encontrados para estas amostras são extremamente altos. Os gráficos do recíproco da massa molar para todas as amostras podem ser vistos no Apêndice 1.

Tabela 5. Grau de degradação ( $G$ ) obtido para as diferentes amostras 1.

| Amostra             | Intervalo de dose (kGy) | $G$ (cisões/100 eV) |
|---------------------|-------------------------|---------------------|
| PHB-1 Pó            | 0 – 25                  | 40,54               |
| PHB-1 Pó            | 50 – 200                | 48,42               |
| PHB-1 Filme         | 0 – 25                  | 26,80               |
| PHB-1 Filme         | 50 – 200                | 71,10               |
| P(HB-co-HV)-1 Pó    | 0 – 25                  | 47,72               |
| P(HB-co-HV)-1 Pó    | 50 – 200                | 80,21               |
| P(HB-co-HV)-1 Filme | 0 – 25                  | 40,33               |
| P(HB-co-HV)-1 Filme | 50 – 200                | 57,08               |

Na literatura, alguns poucos trabalhos sobre a radiólise do PHB e P(HB-co-HV) encontraram valores de grau de degradação dezenas de vezes menores que os valores

mostrados na Tabela 5 (CARSWELL-POMERANTZ et al., 1996; LUO; NETRAVALI, 1999). Carswell-Pomerantz et al., por exemplo, encontraram o valor de G como sendo 1,3 (cisões/100 eV) para o PHB na forma de pó. Todos estes trabalhos citados tratam do efeito da radiação gama sobre o PHB internacional (BIOPOL<sup>®</sup> e ICI<sup>®</sup>) os quais são originários de outros substratos e diferentes processos de produção, e já passaram por diversos processos de melhoramento. Além disso, em todos os trabalhos da literatura, uma purificação adicional foi realizada antes dos ensaios.

Estes altos valores encontrados para as amostras 1 e as condições em que foram analisadas (sem qualquer tratamento) sugerem que as impurezas estejam contribuindo para a degradação do material. Estas amostras apresentam uma coloração bastante amarelada e uma grande quantidade de cinzas e ciscos que podem ser vistos a olho nu. Entretanto, as impurezas que causam esses altos valores de degradação não são apenas de caráter macroscópico como cinzas e ciscos, mas monômeros e oligômeros residuais. A radiólise destes oligômeros é de grande prejuízo para o polímero. A redução percentual de massa molar destas amostras supera 95% na dose de 25 kGy. Esta redução é obtida fazendo:  $1 - (M_{V0}/M_V)$ . Para identificação destas impurezas, técnicas como UV-visível e principalmente GC-MS foram utilizadas e serão discutidas nas seções 4.1.2 e 4.1.3.

#### ***4.1.2 Espectroscopia de absorção na região UV-visível***

Na Figura 23 são apresentados os espectro do PHB-1 não irradiado e irradiado em 300 kGy.

O pico em torno de 240 nm observado nos dois espectros é proveniente do grupo carbonila presente na cadeia principal do polímero. No espectro da amostra não irradiada também são vistas largas bandas, cujos intervalos de absorção estão nos comprimentos de onda entre 250 – 270 nm e 300 – 350 nm. A hipótese mais provável é de que estas bandas de absorção, principalmente a que se encontra no intervalo de 250 – 270 nm, sejam devido à presença de cromóforos aromáticos, atuando como aditivo, já que este intervalo de absorção é típico de estruturas aromáticas.

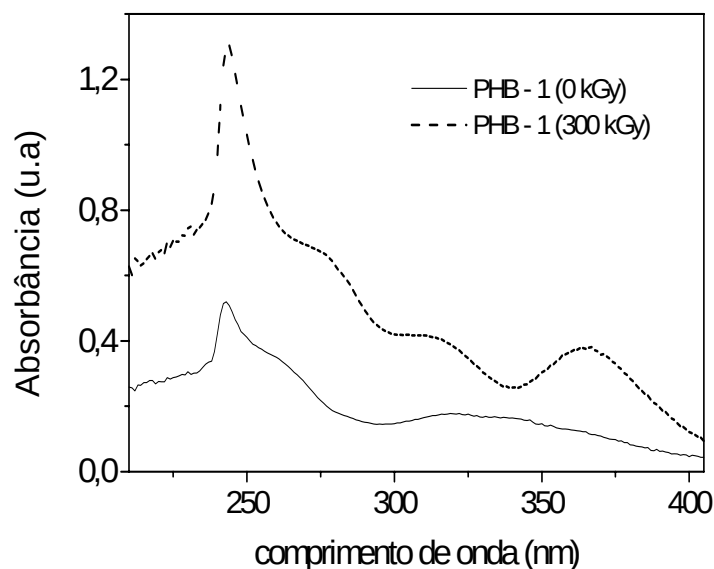


Figura 23. Espectro UV-visível do PHB-1.

As absorções que se encontram no intervalo de 300 – 350 nm podem ser provenientes de monômeros e oligômeros, pequenas cadeias insaturadas, presentes no sistema polimérico provavelmente resultantes das etapas de produção. A análise de GC-MS confirma a presença de ácidos orgânicos nas impurezas obtidas por extração Soxhlet.

No espectro da amostra irradiada alguns máximos de absorção são encontrados em comprimentos de onda em torno de 280 e 320 nm, aproximadamente. O máximo observado em 280 nm é atribuído ao cromóforo da estrutura aromática, já que esta estrutura apresenta alta resistência à radiação e não desaparece no espectro da amostra irradiada.

Como essas amostras apresentaram um elevado grau de degradação é esperado que os macrorradicais se recombinem e ocorra o surgimento de cromóforos conjugados. Como sabido, o efeito da formação de multicromóforos é o de deslocar os máximos de absorção, ou os intervalos de absorção para comprimentos de onda maiores (SKOOG et al., 2002). No entanto, o que também se nota do espectro da amostra irradiada é, não apenas o deslocamento, como a formação de uma nova banda em torno do máximo de 365 nm. Do surgimento de uma nova banda de absorção, pode-se inferir que novas estruturas terminais, contendo grupos cromóforos, foram formadas da radiólise.

A Figura 24 mostra os resultados de absorção molecular no UV-visível para o copolímero P(HB-co-HV)-1. Assim como no PHB, neste caso há a absorção da carbonila, presente na cadeia principal, em torno de 240 nm. No espectro da amostra não irradiada pode ser vista uma banda de absorção entre 250 e 290 nm. Absorções próximas deste intervalo de onda foram encontradas em todas as amostras, o que, de certa forma, reforça a hipótese de que esta banda está relacionada com a presença de estruturas aromáticas.

No espectro da amostra irradiada há também uma larga banda entre 260 e 315 nm. A ocorrência destas bandas largas e deslocadas pode ser uma consequência da formação de conjugações favorecidas pelas cisões na cadeia polimérica. Vale ressaltar que o P(HB-co-HB)-1 também apresentou um grau de degradação muito alto. No entanto, os espectros do PHB-1 e do seu copolímero são bastante diferentes.

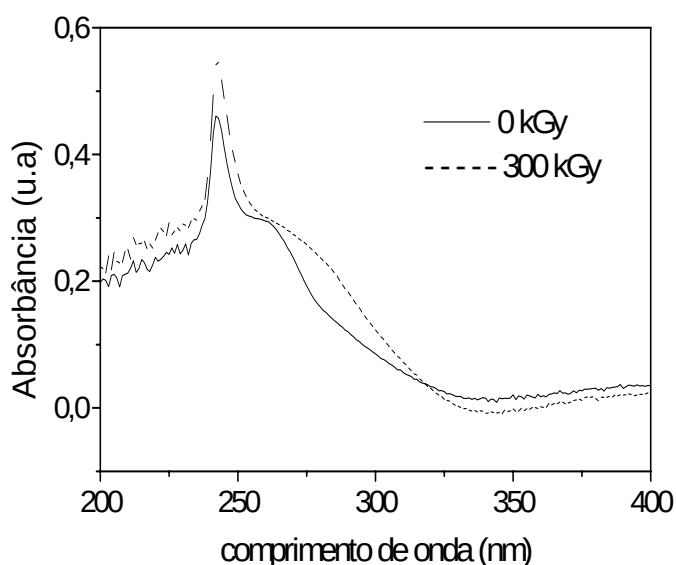


Figura 24. Espectro UV-visível do P(HB-co-HV)-1.

A amostra de PHB-1 irradiada apresentou uma quarta banda de absorção em torno de 365 nm oriunda das inúmeras recombinações que ocorrem devido a radiólise. O seu copolímero, no entanto, apresenta apenas duas bandas de absorção (sendo uma delas a carbonila). No espectro do copolímero irradiado, o intervalo de comprimento de onda da segunda banda é mais largo que no espectro da amostra não irradiada, o que também pode estar relacionado com a formação de novas estruturas terminais contendo o cromóforo.



Alguns resultados da literatura sugerem a formação de estruturas contendo o grupo funcional –OH após a irradiação do PHB (CARSWELL-POMERANTZ, 1996; LUO, NETRAVALI, 1999). Este grupo funcional, embora não absorva na região ultravioleta, tem o efeito de deslocar os máximos de absorção para comprimentos de onda maiores. Este efeito é ainda maior sobre cromóforos conjugados (SKOOG et al., 2002).

As largas bandas de absorção presentes tanto nas amostras de PHB-1 como de P(HB-co-HV)-1 dificultam a determinação precisa de um máximo de absorção e impossibilitam a identificação dos grupos funcionais. As posições dos máximos podem ser afetadas por detalhes estruturais da molécula contendo o cromóforo. Estudos de polímeros, e principalmente de polímeros irradiados, por meio desta técnica, devem ser cuidadosos devido à complexidade dos eventos. Outras análises, como a cromatografia gasosa, foram utilizadas na observação destas estruturas chamadas “impurezas”.

#### ***4.1.3 Cromatografia Gasosa associada à espectroscopia de massa (GC-MS)***

As análises de GC-MS, realizadas a partir das impurezas recolhidas por extração Soxlether, mostraram que a amostra de PHB-1 apresenta uma grande quantidade de monômeros e oligômeros insaturados, na sua maioria ácidos orgânicos provenientes dos processos de síntese do polímero.

Os ácidos butírico, decanóico, láurico, entre outros, podem ser formados devido a detalhes dos processos de biossíntese, como, por exemplo, a razão de aeração do sistema. Postula-se que a diminuição no fornecimento de oxigênio ao meio de cultura na fase de acúmulo, prejudicaria ou até mesmo inviabilizaria a formação do PHB. Nos ensaios em que a razão de aeração (L/min) foi limitada, observou-se que a bactéria excreta uma grande quantidade de metabólitos. A limitação de oxigênio fez com que grande parte do substrato fosse desviada para a formação de ácidos orgânicos e outros metabólitos (DU et al., 2004; TAVARES; PRADELLA, 2000). No caso específico do PHB-1 e P(HB-co-HV)-1, não é possível saber exatamente quais fatores determinaram a formação destes ácidos, já que detalhes experimentais não são fornecidos pela empresa.

De acordo com as análises de GC-MS, a constituição das impurezas recolhidas do PHB-1 é a seguinte: 39,6% correspondem a estruturas como a do ácido decanóico ou do

ácido láurico; 26,5% devem ser devido à presença de ácidos butíricos; 20,4% correspondem ao ácido graxo oléico e 5% correspondem a compostos aromáticos, do tipo ftalato.

As impurezas recolhidas a partir do P(HB-co-HV)-1 apresentam a seguinte constituição: 46% dos monômeros residuais encontrados nas impurezas extraídas correspondem ao ácido dodecanóico; 28,6% ao ácido butírico; 8,5% correspondem ao ácido oléico; e 9% são referentes ao composto aromático do tipo ftalato.

Estes ácidos podem ser os responsáveis pela formação de radicais altamente reativos que se recombinaem com os fragmentos da cadeia principal favorecendo a ocorrência de inúmeras cisões. Assim, estas estruturas acabam sofrendo radiólise em suas pequenas cadeias e dando origem a espécies excitadas que provocam a cisão da cadeia principal. Devido a esta cascata de eventos os graus e índices de degradação, além das perdas de massa molar, mostraram-se bastante elevados.

#### **4.1.4 Ressonância Magnética Nuclear protônica (RMN ( $^1\text{H}$ ))**

A Figura 25 mostra os espectro da amostra de PHB-1 não irradiada e irradiada na dose de 300 kGy.

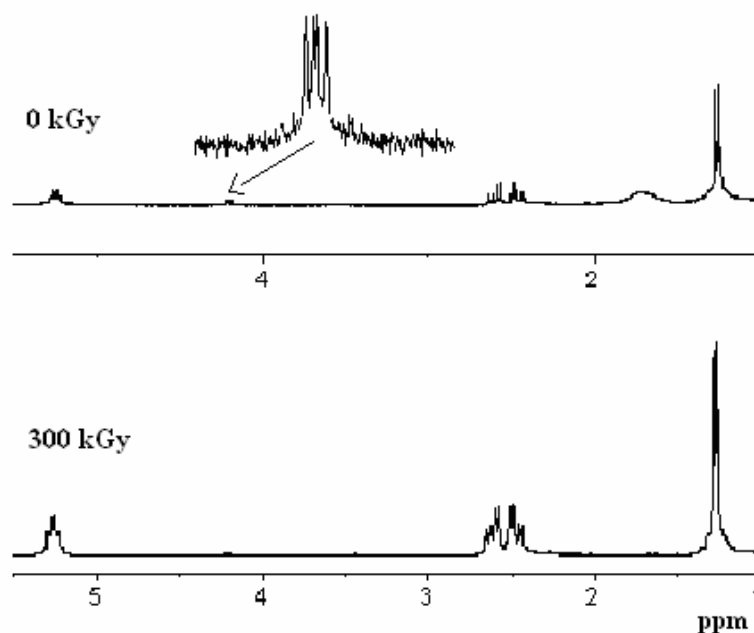


Figura 25. Espectros de RMN ( $^1\text{H}$ ) da amostras de PHB-1 não irradiadas e irradiadas na dose de 300 kGy.

No espectro da amostra não irradiada pode-se observar um duplete em torno de 1,25 ppm referente ao grupo metil; um duplete em 2,5 ppm referente à ressonância do grupo metileno e um multiplete em 5,3 ppm devido à ressonância do grupo metino. Há também uma grande banda em 1,6 ppm e que está associada ao excesso de água presente no polímero, além de um pequeno multiplete em 4,2 ppm (em destaque) associada com a presença de impurezas. No espectro da amostra irradiada, o deslocamento químico em 1,6 ppm desaparece. O desaparecimento da banda em 1,6 ppm é atribuído a radiólise das moléculas de água. O espectro de RMN do PHB-1 confirma que este polímero apresenta em sua constituição pequenas cadeias insaturadas oriundas dos processos de biossíntese e que acabam prejudicando sua resistência à radiação.

Em suma, o que se infere das análises realizadas com as amostras 1 é um alto conteúdo de impurezas o que afeta a resistência à radiação, tornando-o inaceitável nos procedimentos em que seja requerido o uso de esterilização por alta energia. Análises de GC-MS confirmaram a presença de ácidos orgânicos no PHB-1, que devem ser os grandes responsáveis pelos altos valores dos parâmetros de degradação. Os espectros de UV-visível também sugerem que além de absorções relacionadas com a presença de aditivos, há uma larga banda de absorção em torno de 320 nm, provavelmente referente aos ácidos orgânicos formados nas etapas de biossíntese.

As amostras de PHB-2 e P(HB-co-HV)-2 se mostraram muito menos suscetível aos efeitos da radiação, o que pode estar relacionado ao fato de que nenhum ácido orgânico foi encontrado em suas estruturas. Por terem apresentado um resultado negativo, ou seja, pela alta suscetibilidade aos efeitos destrutivos da radiação, não foram realizadas outras análises com as amostras 1, e todos os resultados mostrados nas seções seguintes se referem às amostras 2.

## **4.2 PHB-2 e P(HB-co-HV)-2: Análises de Viscosidade**

### ***4.2.1 Amostras na forma de pó***

Nas análises viscosimétricas realizadas com amostras de PHB-2 e P(HB-co-HB)-2, na forma de pó e sem qualquer tratamento, os valores de  $M_{V0}$  foram  $3,63 \times 10^5$  e  $1,06 \times 10^5$  g/mol, respectivamente.

Na Figura 26, o grau de degradação obtido da declividade da reta, no intervalo de 0 – 50 kGy mostra que o PHB-2 é significativamente mais resistente à radiação que o PHB-1. É possível visualizar algumas diferenças entre estas amostras. PHB-2 é formado por um pó fino e branco, onde não são vistos cinzas ou ciscos. Além disso, as amostras 2, apresentaram melhor solubilidade que as amostras 1. O gráfico do inverso da massa molar para o P(HB-co-HV)-2 pode ser visto no Apêndice 1.

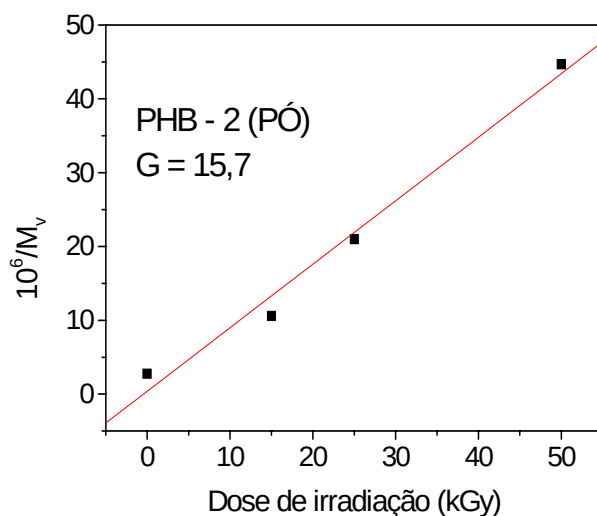


Figura 26.  $10^6/M_v$  em função da dose para o PHB-2 na forma de pó.

A massa molar residual, mostrada na Figura 27, é obtida da razão  $M_{V0}/M_v$ . Já a redução percentual da massa molar é obtida fazendo  $1 - (M_{V0}/M_v)$ . Na dose de esterilização (25 kGy) PHB-2 sofreu uma redução de cerca de 85% de sua massa molar inicial, enquanto P(HB-co-HV)-2 apresentou uma redução de aproximadamente 65% com relação a  $M_{V0}$ . A menor redução de massa molar encontrada para o copolímero está relacionada ao fato de que o P(HB-co-HV) apresenta uma massa molar inicial menor que do seu homopolímero, e não devido a uma maior resistência radiolítica.

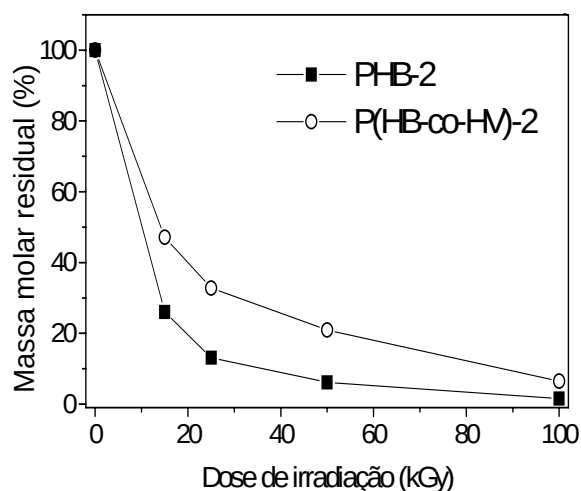


Figura 27. Massa molar residual (%) das amostras de PHB-2 e P(HB-co-HV)-2 na forma de pó.

#### 4.2.2 Amostras na forma de filme

Nessa seção podem ser vistos os resultados de viscosidade dos filmes que não receberam qualquer tipo de tratamento, filmes tratados por reprecipitação e um filme tratado com ácido clorídrico. Alguns gráficos referentes a estes resultados foram omitidos, mas podem ser encontrados no Apêndice A.

A Tabela 6 mostra os valores de  $M_{V0}$  para os filmes reprecipitados e os que não receberam tratamento. A pequena diferença entre a massa molar dos dois filmes pode estar relacionada à eliminação (por meio da reprecipitação) de pequenas estruturas que interferem no escoamento da solução. Outro fator que deve influenciar é a melhor solubilidade das amostras purificadas.

Tabela 6.  $M_{V0}$  dos filmes de PHB-2 e P(HB-co-HV)-2.

| Amostra       | $M_{V0}(10^5 \text{g/mol})$<br>(Filme<br>Reprecipitado) | $M_{V0}(10^5 \text{g/mol})$<br>(Filme Sem<br>Tratamento) |
|---------------|---------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| PHB-2         | 2,92                                                    | 2,79                                                     |
| P(HB-co-HV)-2 | 1,05                                                    | 0,98                                                     |

Os filmes preparados a partir das amostras 2 são menos suscetíveis aos efeitos radiolíticos que as amostras na forma de pó. O valor G do filme de PHB-2 sem qualquer tratamento, mostrado na Figura 28, indica que este parâmetro é duas vezes menor neste caso. Este dado é interessante, já que amostras na forma de filme são as que mais se aproximam da forma real de aplicação. O fato de apresentarem um grau mais baixo de degradação é um ponto otimista para a utilização do PHB nacional em procedimentos que exijam esterilização por radiação de alta energia. Outro resultado interessante da Figura 29 é o grau de degradação dos filmes reprecipitados por hexano, os quais tiveram uma pequena redução se comparado ao do filme sem qualquer tratamento prévio. Por esta razão, para que o PHB não sofra grandes prejuízos quando submetido à irradiação, é necessário que o material passe por etapas de purificação, eliminando assim pequenas estruturas que causam grande prejuízo nas propriedades do polímero irradiado.

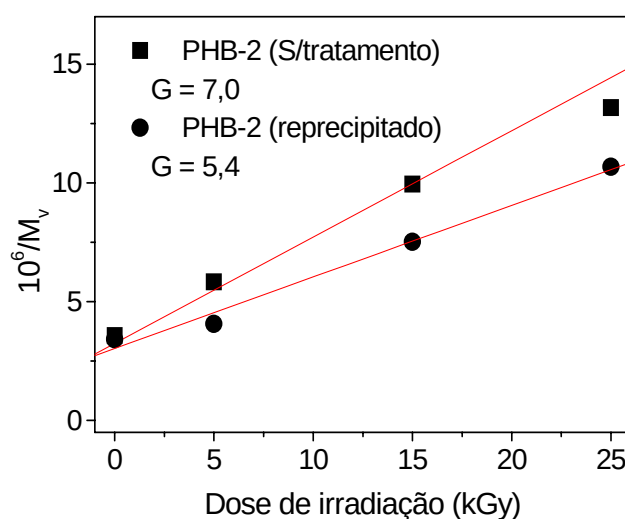


Figura 28. Recíproco da massa molar viscosimétrica como uma função da dose para o PHB-2 na forma de filme não tratado e reprecipitado.

Por outro lado, na Figura 29, é mostrado o inverso da massa molar para o filme de P(HB-co-HV)-2 sem qualquer tratamento e para o filme reprecipitado por hexano, no intervalo de 0 – 25 kGy. Como observado para o PHB, o grau de degradação do copolímero também sofre uma pequena redução para a amostra reprecipitada.

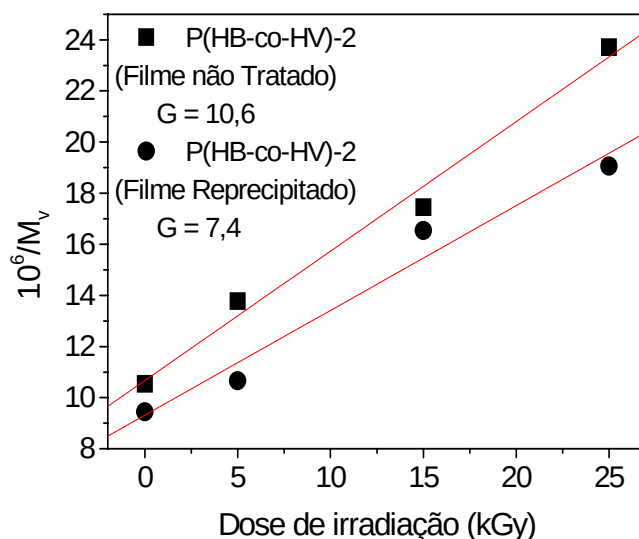


Figura 29.  $10^6/M_v$  em função da dose para o P(HB-co-HV)-2 na forma de filme não tratado e reprecipitado.

Os valores do grau de degradação (G) encontrados por Bibers e Kalnis (1999) para o PHB estrangeiro estão muito próximos dos encontrados para as amostras 2. Estes autores encontraram 6,0 (cisões/100 eV) para as amostras na forma de filme preparados pela técnica de derrame e evaporação do solvente, considerando um intervalo de dose de 0 – 200 kGy, o que fornece suporte aos resultados encontrados para as amostras 2 .

#### 4.2.3 *Corpos de Prova*

Nesse trabalho, também foram realizados estudos viscosimétricos com amostras de PHB na forma de corpo de prova. A massa molar média viscosimétrica foi encontrada como sendo igual a  $2,0 \times 10^5$ . A partir do recíproco de  $M_v$  foi obtido o valor G (cisões/100 eV). Os resultados em baixas (0 – 25 kGy) e altas doses (35 – 200 kGy) estão mostrados na Figura 30. A maior resistência dos corpos de prova à irradiação, se comparada com as amostras na forma de pó, pode ser atribuída ao fato de que estes foram produzidos a partir de um novo e melhorado lote. Por outro lado, a forma do material também influencia na sua suscetibilidade à irradiação. Estas comparações podem ser vistas na Tabela 7.

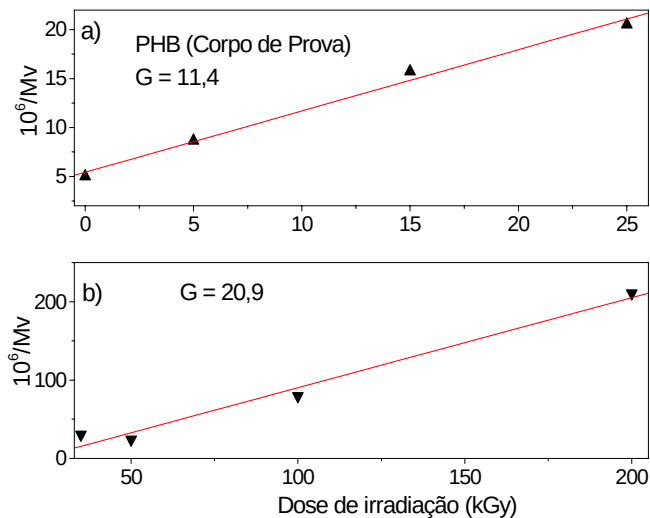


Figura 30. Inverso da massa molar ( $M_v$ ) como função da dose de irradiação para os corpos de prova de PHB. a) 0 – 25 kGy; b) 35 – 200 kGy.

A redução percentual de massa molar é menos pronunciada para os corpos de prova. Pode-se observar da Figura 31 que na dose de 5 kGy a redução da massa molar foi de cerca de 40%. Na dose de 25 kGy a massa molar sofreu uma redução de 80%. A partir de 100 kGy, a redução da massa molar supera os 95% em quaisquer das amostras analisadas.

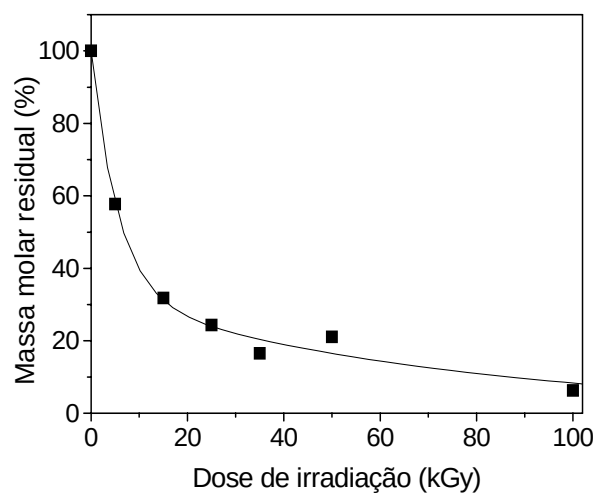


Figura 31. Massa molar residual dos corpos de prova de PHB.



A Tabela 7 resume os parâmetros de degradação do PHB-2 e P(HB-co-HV)-2 em torno da dose de esterilização. O grau de degradação G (cisões/100 e V), obtido a partir do intervalo de 0 – 25 kGy, é maior para as amostras 2 na forma de pó do que para as amostras na forma de filme. Este resultado pode ser importante nas aplicações do polímero. A pequena diferença entre G efetivo de amostras purificadas e não purificadas indica que, ou o processo de purificação foi insuficiente na retirada das impurezas, ou as amostras como recebidas já apresentam um bom teor de pureza. Entretanto, as pequenas diferenças entre os filmes purificados e não purificados mostram que a pureza do polímero reflete diretamente na sua radiólise. O valor G (cisões/100 eV) do filme de PHB-2 tratado com HCl, mostrou-se muito próximo ao do filme preparado a partir dos grânulos reprecipitados, indicando a eficácia do uso deste ácido na retirada de estruturas que prejudicam sua resistência radiolítica.

Tabela 7. Resumo dos parâmetros de degradação para PHB-2 e P(HB-co-HV)-2 no intervalo de 0 – 25 kGy.

| <b>Amostras 2</b> | <b>Forma</b>   | <b>Tratamento</b> | <b>G<br/>(0-25 kGy)</b> | <b><math>\alpha</math><br/>(25 kGy)</b> | <b>Redução da<br/>massa molar (%)<br/>(25 kGy)</b> |
|-------------------|----------------|-------------------|-------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------------------------|
| PHB               | Pó             | _____             | 12,9                    | 6,6                                     | 86,8                                               |
|                   | Filme          | _____             | 7,0                     | 2,64                                    | 72,8                                               |
|                   | Filme          | Reprecipitado     | <b>5,4</b>              | <b>2,12</b>                             | <b>67,9</b>                                        |
|                   | Filme          | HCl               | <b>5,9</b>              | <b>2,27</b>                             | <b>65,2</b>                                        |
|                   | Corpo de Prova | _____             | 11,4                    | 3,10                                    | 76,7                                               |
| P(HB-co-HV)       | Pó             | _____             | 13,8                    | 5,05                                    | 67,2                                               |
|                   | Filme          | _____             | 10,6                    | 1,25                                    | 55,5                                               |
|                   | Filme          | Reprecipitado     | <b>7,4</b>              | <b>1,01</b>                             | <b>50,4</b>                                        |

Além do grau de degradação (G), um outro parâmetro bastante utilizado em química das radiações é o índice de degradação ( $\alpha$ ). Este índice é obtido da razão entre a massa molar de um polímero não irradiado e irradiado em uma dose específica:

$$\alpha = (M_{V0}/M_V) - 1 \quad (9)$$

Na Tabela 8 são mostrados os resultados do índice de degradação para os filmes de PHB-2 reprecipitados por hexano. O índice de degradação  $\alpha$  é obtido da razão entre  $Mv_0$  e a massa molar em uma dose específica, e assim é muito mais representativo quando analisado dose à dose para uma única amostra.

Embora apresentem valores de G maiores, os índices de degradação ( $\alpha$ ) encontrados para o P(HB-co-HV)-2 são menores que os encontrados para o PHB-2. Isto ocorre porque este parâmetro está diretamente relacionado com a massa molar inicial ( $Mv_0$ ) e será proporcional a esta. A redução percentual da massa molar também apresenta este comportamento, já que este parâmetro também está relacionado com o tamanho original das moléculas.

Tabela 8. Parâmetros de degradação dos filmes reprecipitados com relação à dose.

| Amostras                             | Dose (kGy) | $Mv(.10^5)$ (g/mol) | $\alpha$ (cisões/moléc. original) | Redução da massa molar (%) |
|--------------------------------------|------------|---------------------|-----------------------------------|----------------------------|
| PHB<br>(Filme reprecipitado)         | 0          | 2,92                | 0                                 | 0                          |
|                                      | 5          | 2,46                | 0,18                              | 15,6                       |
|                                      | 15         | 1,34                | 1,19                              | 54,5                       |
|                                      | 25         | 0,93                | 2,12                              | 67,9                       |
| P(HB-co-HV)<br>(Filme reprecipitado) | 0          | 1,05                | 0                                 | 0                          |
|                                      | 5          | 0,93                | 0,12                              | 11,4                       |
|                                      | 15         | 0,60                | 0,75                              | 42,8                       |
|                                      | 25         | 0,52                | 1,01                              | 50,4                       |

A Tabela 9 resume alguns resultados da literatura sobre a degradação radiolítica do PHB e P(HB-co-HV), bem como alguns resultados obtidos neste trabalho. Vale ressaltar que a natureza das amostras é diferente, e assim suas características também serão.

Tabela 9. Valores G (cisões/100 eV) obtidos para o PHB e P(HB-co-HV) irradiados no ar.

| <b>Pesquisa</b>                 | <b>Forma PHB</b> | <b>Forma P(HB-co-HV)</b> | <b>Tipo de irradiação</b> | <b>Intervalo Dose (kGy)</b> | <b>G PHB</b> | <b>G P(HB-co-HV)</b> |
|---------------------------------|------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------------|--------------|----------------------|
| Luo; Netravali, 1999            | _____            | Filme                    | Gama                      | 0 – 250                     | _____        | 0,9                  |
| Bibers; Kalnis, 1999            | Pó               | _____                    | Gama                      | 0 – 200                     | 5,9          | _____                |
| Bibers; Kalnis, 1999            | Filme            | _____                    | Gama                      | 0 – 200                     | 6,0          | _____                |
| Carswell-Pomerantz et al., 1996 | Pó               | _____                    | Gama                      | 0 – 200                     | 1,3          | _____                |
| Carswell-Pomerantz et al., 1996 | Filme            | Filme                    | Elétrons (3 MeV)          | _____                       | 2,2          | 3,4                  |
| *Oliveira, 2005                 | Filme            | Filme                    | Gama                      | 0 – 25                      | 5,4          | 7,4                  |
| *Oliveira, 2005                 | Pó               | Pó                       | Gama                      | 0 – 50                      | 15,7         | 12,9                 |

\* Valores determinados neste trabalho.

A resistência de um polímero à radiação é uma qualidade bastante requisitada, principalmente às radiações de baixa energia. Por outro lado, aplicações que envolvam radiação de alta energia são mais específicas e, no entanto, tornam-se cada vez mais freqüentes. O PHB nacional é um material de excelentes propriedades, exportado principalmente para Alemanha e Japão e também se encontra numa fase de melhoramento em muitas de suas propriedades. O melhor valor G encontrado para o PHB foi 5,4 (cisões/100 eV) em filmes purificados, e este valor já se encontra bem próximo do encontrado por outros autores, como os obtidos por Bibers e Kalnis (1999). Novos estudos sobre a radiólise deste polímero e o uso de aditivos específicos podem fazer do PHB uma nova alternativa nas aplicações que requerem esterilização por alta energia.

É importante notar que a Tabela 9 não leva em conta o conteúdo de hidroxivalerato das amostras, no entanto, este conteúdo é um parâmetro que também afeta a degradação radiolítica do polímero. A tabela também não leva em conta a bactéria a partir da qual o polímero é produzido. Bactérias distintas vão conferir aos polímeros diferentes

características. O grau de degradação, por sua vez, também é diferente em polímeros produzidos por diferentes bactérias (BIBERS; KALNIS, 1999).

Loo et al. (2005) estudaram o efeito da irradiação por feixe de elétrons em filmes biodegradáveis de Poli(ácido láctico) – PLLA e poli(ácido láctico glicólico) – PLGA, e obtiveram os graus de degradação G como sendo 0,12 e 0,13 (cisões/100 eV). Estes polímeros são utilizados para a fabricação de cápsulas para a liberação de drogas. Estudos em polímeros convencionais mostram que o PMMA, bastante aplicado na área médica, apresenta um valor G de 0,61 (cisões/100 eV) (AQUINO, 2000). A maior resistência radiolítica dos polímeros citados se deve a alguns fatores como o controle perfeito da síntese, o conhecimento sobre os mecanismos de cisões e assim um melhor controle sobre sua estabilização.

#### **4.3 PHB-2: Ensaios Espectroscópicos**

##### ***4.3.1 Espectroscopia de absorção na região UV-visível***

Na Figura 32 são apresentados os espectros UV-visível do PHB-2. A amostra sem tratamento apresentou uma banda de absorção em torno de 280 nm atribuída à presença de cromóforos aromáticos que atuam como aditivo. Por outro lado, no espectro da amostra purificada, é vista a absorção do grupo carbonila (240 nm) e uma pequena absorção em torno de 260 nm, mostrando que no processo de reprecipitação, estes compostos são retirados da amostra, o que de certa forma aumenta sua resistência à degradação radiolítica. O espectro da amostra irradiada (não purificada) apresentou bandas de absorção em comprimentos de onda muito próximos das bandas da amostra não irradiada, o que indica que os mesmos grupos funcionais devem estar presentes nestas duas amostras. Como o grau de degradação destas amostras é menor, é esperado que um número menor de insaturações e conjugações sejam formadas após a irradiação.

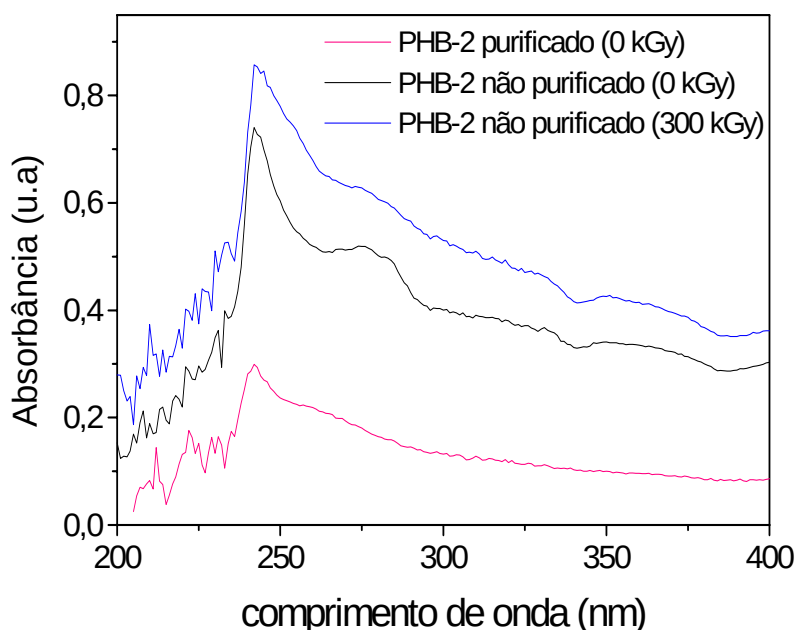


Figura 32. Espectros UV-visível do PHB-2.

Análises de GC-MS, realizadas a partir de impurezas recolhidas do processo de extração Soxhlet, mostraram que cerca de 96,5% destas impurezas correspondem ao composto aromático ftalato de metila (com predominância do isoftalato de metila). Este composto é frequentemente utilizado como aditivo e comumente encontrado em polímeros. Não foi observada a presença de ácidos orgânicos nas amostras de PHB-2 sem tratamento.

#### ***4.3.2 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR)***

A região espectral do infravermelho compreende radiação com números de onda no intervalo de aproximadamente  $12.800$  a  $10\text{ cm}^{-1}$  (SKOOG, 2002). No caso deste estudo, essa técnica foi utilizada para que se pudesse observar a presença de determinadas estruturas no polímero, bem como a formação ou desaparecimento de certos grupos.

Na Figura 33 pode ser visto os espectros de FT-IR da amostra de PHB-2 não irradiada e irradiada na dose de 300 kGy. O espectro do PHB-2 demonstra que o polímero nacional apresenta bandas características da região de “impressão digital” do PHB, tais como as bandas de estiramento da carbonila em  $1725\text{ cm}^{-1}$  e do C – O em cerca de  $1280$

$\text{cm}^{-1}$ ; a banda de deformação angular simétrica do grupo  $\text{CH}_3$  em cerca de  $1380 \text{ cm}^{-1}$ , além da banda típica de conformação helicoidal em  $1226 \text{ cm}^{-1}$ . Estas bandas características concordam com os resultados obtidos por Vogelsanger et al (2003) para o PHB nacional.

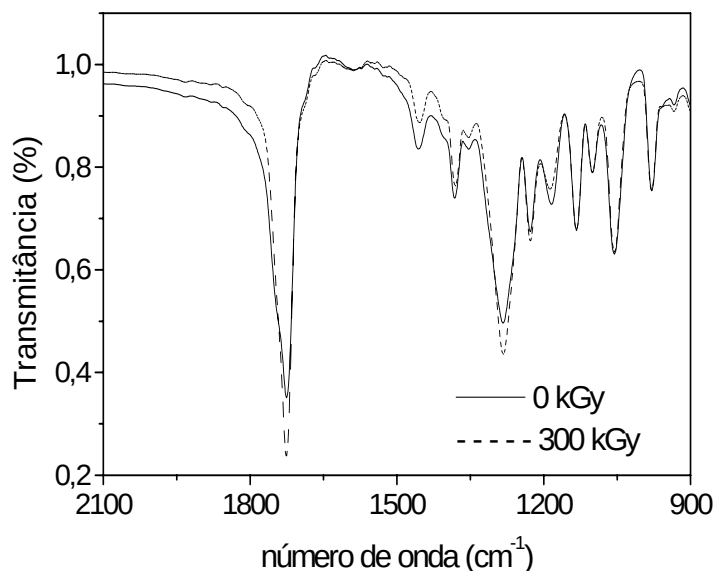


Figura 33. Espectro FTIR do PHB-2 não irradiado e irradiado na dose de 300 kGy.

Não foi observada a formação de novos grupos funcionais nos espectros irradiados, mas verifica-se, comparando as amostras não irradiadas e irradiadas, que há uma alteração na transmitância da banda da carbonila. Desta forma, o índice de carbonila (IC) foi obtido a partir da razão entre a área (A) do pico da carbonila ( $1725 \text{ cm}^{-1}$ ) e a área do pico de uma banda invariável com a dose ( $1226 \text{ cm}^{-1}$ ). Esta banda invariável ou o pico de referência deve representar vibrações moleculares não afetadas pela radiação. Estas áreas são obtidas a partir de uma linha de base mostrada no Apêndice E.

A degradação radiolítica do PHB ocorre pelas cisões no grupo éster com conseqüente liberação de gases  $\text{CO}$  e  $\text{CO}_2$  (CARSWELL-POMERANTZ et al., 1996). Assim sendo, já era esperada uma redução do índice de carbonila, induzida pela irradiação gama, como observado em outros poliésteres, como o policarbonato (ARAÚJO, 1993). Os resultados da Tabela 10 mostram uma redução muito pequena deste índice, sugerindo que a banda da carbonila do PHB-2 permanece praticamente inalterada com a irradiação. Como a variação do índice de carbonila é pequena, existe a suposição de que processos oxidativos

estejam acontecendo simultaneamente à liberação dos gases. Outro fator que pode influenciar no índice de carbonila é a presença de estruturas aromáticas, verificada pela técnica de GC-MS. Estes compostos podem estar funcionando como aditivos que evitam a liberação dos gases CO e CO<sub>2</sub>. A redução do índice de carbonila é um pouco mais significativa para o PHB-1e os resultados podem ser vistos no Apêndice E.

Tabela 10. Variação do índice de carbonila como função da dose de irradiação.

| Dose<br>(kGy) | Índice de<br>Carbonila |
|---------------|------------------------|
| 0             | 6,91                   |
| 300           | 6,48                   |

Neste presente trabalho, os ensaios de RPE, realizados na presença de ar e a temperatura ambiente, não mostraram a presença de radicais peróxidos, grupos OH ou picos característicos de hidrogênio. É importante lembrar que análises quantitativas por meio de FT-IR, embora freqüentemente utilizadas, podem induzir a certos erros, já que a área de uma banda pode sofrer alterações em consequência de fatores experimentais. Além disso, alterações no índice de carbonila podem ser consequências da rotação deste grupo devido à energia transferida ao polímero.

Os ensaios de FTIR foram realizados na temperatura ambiente, o que significa dizer que os ensaios foram realizados abaixo da temperatura de fusão cristalina. Xu et al (2002) realizaram ensaios de FTIR em amostras de PHB em diferentes temperaturas. Esses autores observaram que determinadas bandas surgem ou somente na fase cristalina ou apenas na fase amorfa. A absorbância do grupo carbonila, por exemplo, ocorre em 1725 cm<sup>-1</sup> nos ensaios realizados abaixo de 180°C e em 1741 cm<sup>-1</sup>, acima desta temperatura.

A técnica de FTIR também pode ser utilizada no cálculo do índice de cristalinidade (IC) do polímero. A banda em 1226 cm<sup>-1</sup> é sensível ao estado cristalino, enquanto a banda em 1380 cm<sup>-1</sup> não se altera com as mudanças na cristalinidade (GALEGO et al., 2000). O índice de cristalinidade foi definido como a razão entre as intensidades destas duas bandas. Desta relação foram obtidos os valores de 0,88 para a amostra não irradiada e 0,93 para a amostra irradiada na dose de 300 kGy, o que mostra que o efeito da radiação é o defazer com que a cristalinidade do polímero aumente. O índice de cristalinidade obtido por esta

técnica não é absoluto, mas pode ser usado como um critério de comparação. As técnicas utilizadas para estudos de cristalinidade são difração de raios-X, seguida de análises térmicas.

#### **4.3.3 Ressonância Magnética Nuclear protônica (RMN ( $^1\text{H}$ ))**

##### **4.3.3 a) PHB- 2 não purificado**

Na Figura 34 podem ser observados os espectros de RMN ( $^1\text{H}$ ) para as amostras na forma de pó, não purificadas, não irradiada e irradiadas na dose de 300 kGy. A ocorrência de um duplete em 1,25 ppm é atribuída à ressonância do próton do grupo metil da cadeia principal. O multiplete observado em torno de 2,5 ppm representa a ressonância do grupo metileno. Já os deslocamentos químicos em torno de 5,3 ppm estão relacionados à ressonância do hidrogênio referente ao grupo CH.

Os multipletos observados na amostra não irradiada, aparentemente, tornam-se dupletos e singletos no espectro da amostra irradiada. Os desdobramentos de picos com deslocamentos químicos ocorrem quando o momento magnético de um núcleo interage com os momentos magnéticos de núcleos vizinhos imediatamente adjacentes. A separação entre as linhas de desdobramento é dada pela constante de acoplamento J (em Hz).

Alterações na multiplicidade acontecem porque a energia transferida ao sistema polimérico é capaz de provocar torções na cadeia. Estas torções causam mudanças nos ângulos diedrais, ou seja, no ângulo formado pelo plano dos carbonos vizinhos. Quanto mais próximo este ângulo estiver de  $90^\circ$ , menor será a constante de acoplamento J, de acordo com a equação de Karplus (GIL; GERALDES, 1987). Neste caso, os desdobramentos, embora existentes, não podem ser visualizados.



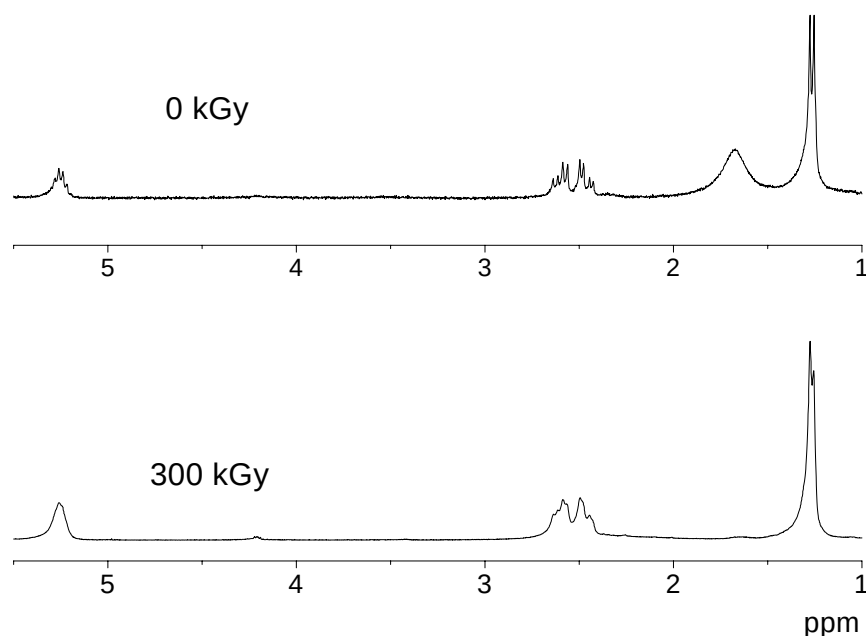


Figura 34. Espectros de RMN (<sup>1</sup>H) das amostras de PHB-2.

A ocorrência de um deslocamento químico em torno de 1,6 ppm é sugerida como decorrente da presença de uma grande quantidade de água presente no polímero. Além disso, por meio de algumas observações, foi verificado que o PHB é um polímero que absorve muita água. Entretanto, Deng e Hao (2001) também observaram esse mesmo pico em amostras de PHB purificadas.

Para confirmar a evidência de que o pico em 1,6 ppm estava associado com a presença de moléculas de água foram realizadas análises de RMN das amostras tratadas com ácido clorídrico (HCl) e hidróxido de amônio (NH<sub>4</sub>OH). Neste tratamento as amostras foram adicionadas em soluções contendo água e ácido (ou base) diluídos. Como as amostras se encontravam úmidas, deslocamentos químicos em torno de 1,6 ppm puderam ser observados como mostra a Figura 35.

O pico de ressonância observado em 1,6 ppm na amostra não irradiada desaparece no espectro da amostra irradiada em 300 kGy. Como esse pico é associado à presença de água, então a radiação gama estaria destruindo essas pequenas moléculas. Este resultado, contudo, diverge também do obtido por Carswell-Pomerantz et al. (1996), que observa a

formação de picos nessa região em amostras irradiadas à pressão atmosférica de  $10^{-4}$  Pa com doses de até 1400 kGy.

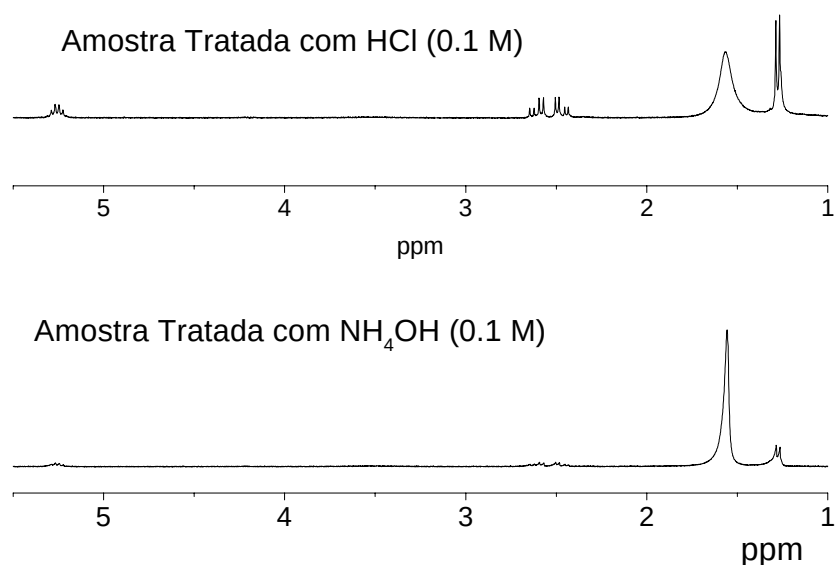


Figura 35- Espectros de ( $^1\text{H}$ ) RMN das amostras de PHB-2 tratadas com HCl e  $\text{NH}_4\text{OH}$ .

No espectro da amostra irradiada, mostrado na Figura 34, é notada a formação de um pequeno pico em 4,2 ppm, o que pode estar associado com as insaturações formadas em decorrência da radiólise do polímero. Além do deslocamento químico em 4,2 ppm, uma outra pequena ressonância em 3,4 ppm, é visualizada a partir da ampliação do espectro da amostra irradiada na dose de 300 kGy, como mostra a Figura 36.

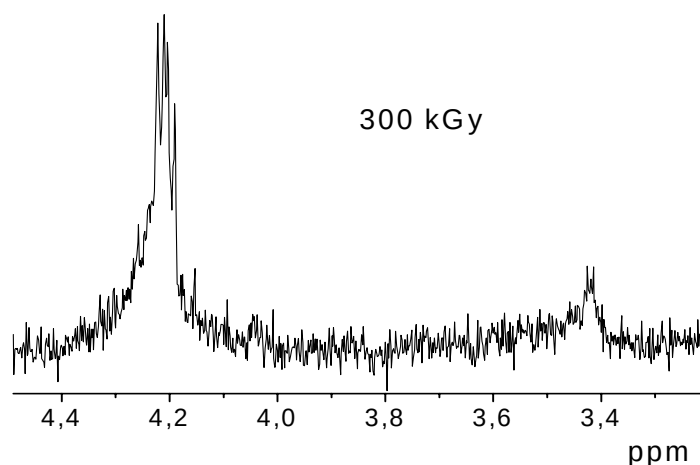


Figura 36. Ampliação do espectro da amostra irradiada (sem tratamento).

Outros autores (CARSWELL-POMERANTZ, 1996; LUO, NETRVALI, 1999) observaram a formação destes mesmos picos em amostras de PHB e P(HB-co-HV), os quais estão associados às novas estruturas finais de cadeia, formadas após a irradiação. Esses autores observaram ainda, que dentre os gases formados a partir da radiólise do PHB, há a predominância de  $\text{CO}_2$ , indicando que as cisões ocorrem no grupo éster da cadeia principal.

#### **4.3.3 b) PHB-2 purificado**

Depois de a amostra passar por um processo de purificação por reprecipitação em hexano, foi realizado um outro espectro de RMN apresentado na Figura 37. No espectro da amostra purificada pode-se observar que o pico em 1,6 associado ao excesso de água no polímero diminui drasticamente (um pequeno duplete ainda pode ser visto), já que após a recristalização, as amostras também passaram por uma etapa de secagem. Desta forma, o espectro apresentado na Figura 37 caracteriza com boa precisão a estrutura química do PHB, o que comprova a eficácia do processo de purificação.

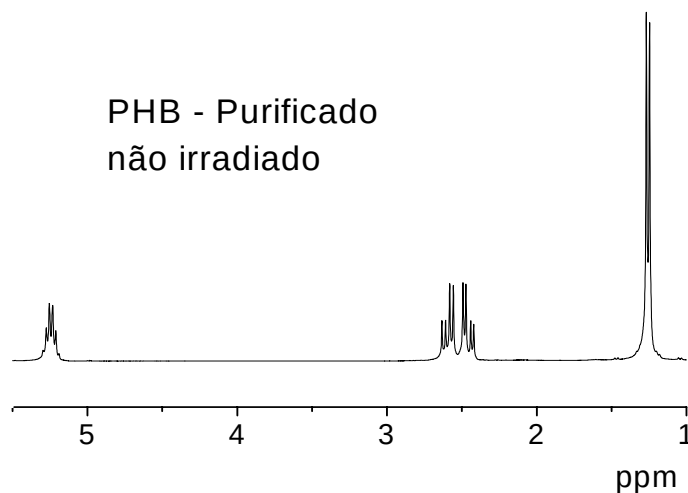


Figura 37. Espectro de (<sup>1</sup>H) RMN da amostra de PHB-2 reprecipitada e não irradiada.

A Figura 38 é uma ampliação do espectro de RMN (<sup>1</sup>H) dos filmes de PHB preparados a partir dos grânulos purificados e irradiados na dose de 300 kGy. Deslocamentos químicos entre 4,2 e 4,8 ppm foram observados por Luo e Netravali (1999) em filmes de P(HB-co-HV). Carswell-Pomerantz et al (1996) também observaram a ocorrência de novos picos em 4,2 e 3,4 ppm após a irradiação em amostras de PHB reprecipitadas por metanol. Segundo os autores, este deslocamento químico em 3,4 ppm estaria associado com a formação de novas estruturas terminais, tais como, ésteres ou éteres metílicos (CH<sub>3</sub>-O-), em decorrência de cisões na cadeia lateral do polímero. Por outro lado, cisões no grupo éster da cadeia principal, com perda de monóxido de carbono, contribuiriam para a formação de grupos terminais alcoólicos, cujo deslocamento químico ocorreria em 4,2 ppm. Carswell-Pomerantz et al. (1996) constataram, ainda, que as cisões na cadeia principal do PHB produziriam algumas outras estruturas terminais, tais como CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO- e (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-CH-O-. Entretanto, estes autores utilizaram uma dose de irradiação de 1400 kGy e observaram o surgimento de outros deslocamentos químicos, associados a outras estruturas terminais, que não foram observados no presente trabalho.

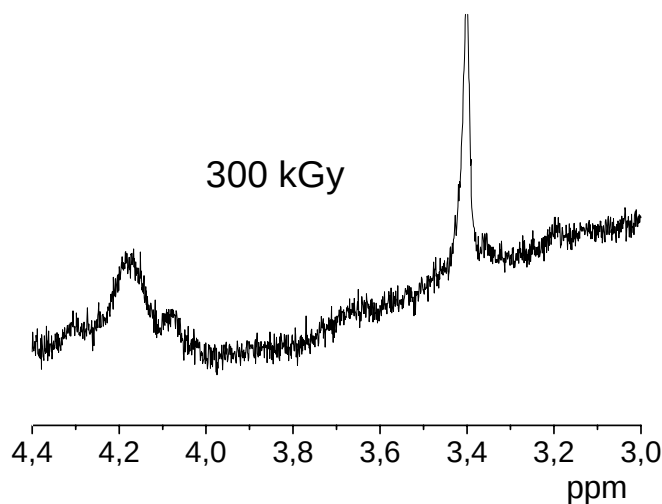


Figura 38. Ampliação do espectro da amostra purificada e irradiada na dose de 300 kGy.

#### 4.3.3 c) *P(HB-co-HV)-2 não purificado*

Na Figura 39 podem ser vistos os espectros da amostra de P(HB-co-HV) não irradiada e irradiada na dose de 300 kGy. Pode ser observado, comparando os espectros, que para o copolímero, também há a ocorrência de um pico em 1,6 ppm. Esse pico, embora sofra uma redução, não desaparece com o aumento da dose. Como já mencionado essa banda em 1,6 ppm é devido à grande quantidade de moléculas de água presentes no polímero. No caso do P(HB-co-HV) foi observado que ele absorve mais água que o seu homopolímero.

Assim como acontece com o PHB-2, o copolímero P(HB-co-HV)-2 também apresenta um novo deslocamento químico em torno de 4,2 ppm, após a irradiação. Na Figura 40 pode ser vista uma ampliação do espectro da amostra irradiada na dose de 300 kGy (Figura 39). Este fato indica que os produtos da radiólise do PHB e P(HB-co-HV) são bastante semelhantes.

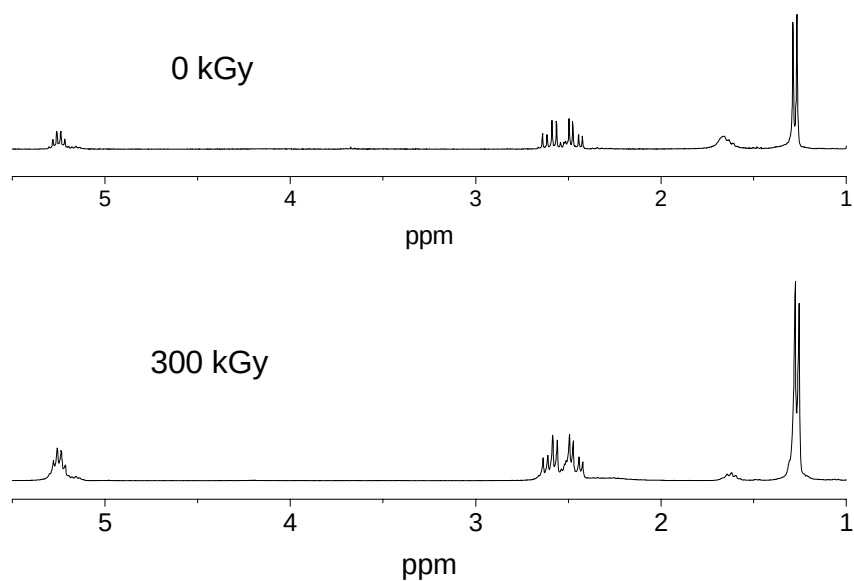


Figura 39. Espectros de RMN da amostra de P(HB-co-HV)-2.

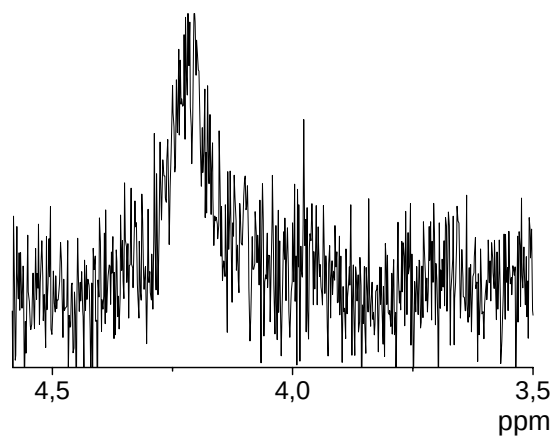


Figura 40. Ampliação do espectro da amostra de P(HB-co-HV)-2 irradiada.

De maneira resumida podem ser tiradas algumas conclusões das análises de espectroscopia realizadas nos polímeros em estudo. A absorção de energia por uma dada molécula se reflete em uma série de eventos, como excitações ou vibrações, característicos de determinados grupos funcionais. No estudo da química das radiações em polímeros, o

tamanho e a disposição das macromoléculas, além dos eventos causados pela transferência de energia, exigem um grande cuidado na identificação destes grupos funcionais.

Os ensaios de UV-visível revelaram a presença de grupos cromóforos absorvendo no comprimento de onda do ultravioleta. A carbonila, único grupo cromóforo presente na cadeia principal, absorve em torno de 240 nm e apresenta o pico mais bem definido de todos os espectros. As absorções encontradas no intervalo de 250 a 400 nm podem ser tanto da presença de cromóforos aromáticos que atuam como aditivos, como de cromóforos presentes em pequenas estruturas alifáticas. A purificação, por outro lado, é eficaz na eliminação destas cadeias contendo o cromóforo, e que acabam prejudicando a resistência radiolítica do material.

A partir das análises de espectroscopia molecular vibracional FT-IR foram obtidas as bandas características do PHB nacional. Os espectros das amostras irradiadas não mostraram nem o surgimento, nem o desaparecimento de novos grupos funcionais. Análises quantitativas aproximadas indicam uma pequena redução no índice de carbonila.

Dos resultados obtidos pela técnica de RMN ( $^1\text{H}$ ) é possível observar a presença de estruturas não correspondentes à fórmula química do polímero. O espectro da amostra de PHB, não irradiada (não purificada), apresenta um pico de ressonância relacionado com a presença de água e um pequeno tripleto em 3,6 ppm, os quais desaparecem nos espectros das amostras irradiadas, ou das amostras purificadas.

Nas amostras de PHB-2 irradiadas na dose de 300 kGy, tanto purificada como não purificada, surgem novos deslocamentos químicos em torno de 4,2 ppm e 3,4 ppm. No copolímero P(HB-co-HV)-2, também se observa um novo deslocamento químico em torno de 4,2 ppm. Na literatura, estes picos estão associados com a formação de estruturas terminais alcoólicos (4,2 ppm) e ésteres ou éteres metílicos (3,4 ppm), como consequência de cisões na cadeia do polímero (CARSWELL-POMERANTZ et al., 1996).

#### **4.4 PHB - 2: Análises Térmicas**

Os resultados da Figura 41 mostram os termogramas (DSC) do PHB-2 não purificado. Pela figura é possível observar os termogramas das amostras não irradiadas e irradiadas. Em todos estes, há a ocorrência de uma transição de fusão cristalina devido a

uma mudança de estado, como é esperado em polímeros cristalinos. O que não é esperado e, no entanto, não é raro neste polímero, é a ocorrência de uma pequena transição anterior a  $T_m$  e que será chamada de temperatura de transição endotérmica secundária ( $T_s$ ).

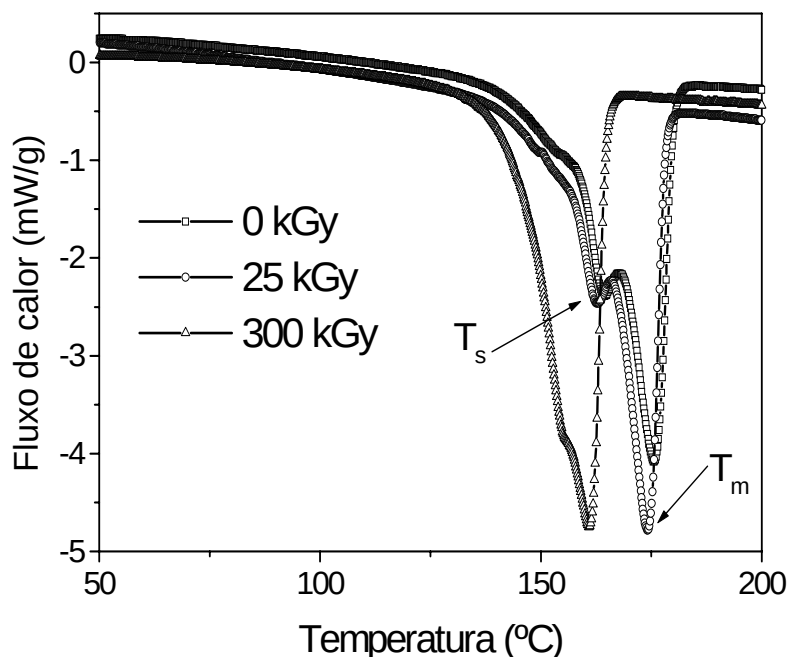


Figura 41. Termograma DSC das amostras de PHB-2 (sem tratamento).

Estes múltiplos picos podem ocorrer devido à: 1) presença de cristais com diferentes estruturas lamelares; 2) fusão, recristalização e uma nova fusão, durante o aquecimento. (GUNARATNE et al., 2004). Assim, a estrutura cristalina encontrada em menor quantidade, ou a estrutura menos estável, passa por um processo de fusão anterior ao processo de fusão principal.

Por meio da Figura 41 é possível observar a mudança destes picos duplos de fusão, os quais vão se tornando um único pico com o aumento da dose. Este mesmo fenômeno é também observado em amostras de iPP (STOJANOVIC et al., 2004). Segundo esses autores, as imperfeições e irregularidades cristalinas introduzidas pela radiação gama, inibem os processos de recristalização destas ordens cristalinas secundárias, fazendo com que a entalpia de fusão associada a esta ordem diminua. Desta forma, em doses mais altas, quando os efeitos da radiação são mais drásticos, estes picos duplos tendem a se tornar um



único pico, como se vê na Figura 41. Por outro lado, se a ocorrência destes múltiplos picos for associada a diferentes estruturas lamelares, então, pode ser que o efeito da radiação seja o de tornar estas ordens distintas cada vez mais indistinguíveis.

As temperaturas de fusão,  $T_m$  e  $T_s$ , sofrem reduções em seus valores, como se vê na Figura 42. Isto acontece porque a radiação introduz irregularidades e imperfeições nos ordenamentos cristalinos, além de maior mobilidade; ocorrem mudanças nas superfícies dos cristais, e estes se tornam mais instáveis, fazendo com que a ordem cristalina fique mais suscetível ao efeito da temperatura e as transições ocorram em temperaturas mais baixas.

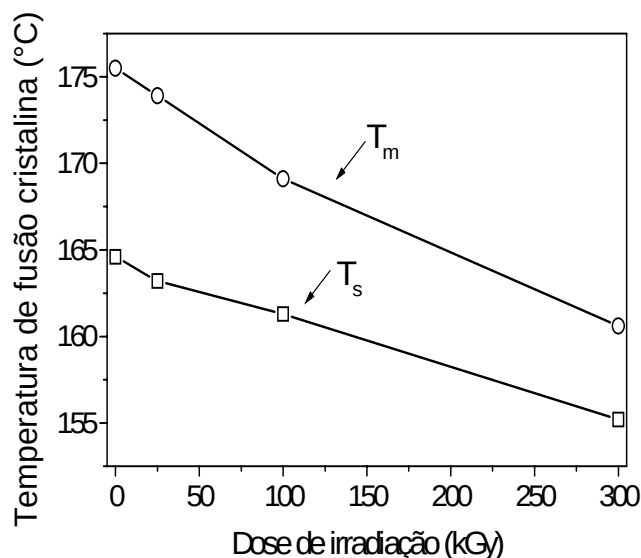


Figura 42.  $T_m$  e  $T_s$  como função da dose de irradiação.

A área sob a curva, que representa a energia envolvida na transição, foi aproximadamente estabelecida a partir de uma linha de base, considerando apenas as transições endotérmicas (KONG; HAI, 2003). Estas aproximações podem ser vistas no Apêndice B. Na Tabela 11 é mostrado o grau de cristalinidade dos polímeros irradiados, calculados, a partir da Equação (10):

$$\chi\% = (\Delta H_{pm} / \Delta H_{pr}) \times 100, \quad (10)$$

sendo  $\Delta H_{pm}$  a entalpia a ser conhecida e  $\Delta H_{pr}$  a entalpia do PHB de referência com 100% de cristalinidade ( $\Delta H_{pr}$  do PHB = 146 J/g) (MITOMO et al., 1994).

Tabela 11. Valores de  $T_m$ ,  $T_s$ , grau de cristalinidade e entalpia do PHB irradiado.

| Dose (kGy) | $T_m$ (°C) | $T_s$ (°C) | $\chi\%$ | $\Delta H_{pm}$ (J/g) | $\Delta S$ (J/g.°C) |
|------------|------------|------------|----------|-----------------------|---------------------|
| 0          | 175,5      | 164,6      | 50,1     | 73,2                  | 0,42                |
| 25         | 173,9      | 163,2      | 55,8     | 81,5                  | 0,47                |
| 300        | 160,6      | 155,2      | 54,5     | 79,6                  | 0,49                |

O aumento na entalpia de fusão devido à irradiação, também verificado em outros polímeros (iPP, PE) está relacionado, entre outras possibilidades ao fenômeno da quemi-cristalização. O termo significa o aumento no grau de cristalinidade do polímero durante a exposição como resultado da liberação de segmentos moleculares nas regiões amorfas que foram impossibilitados de cristalizar durante o processamento. Como a temperatura de transição vítrea de polímeros como o PHB e o iPP é menor que a temperatura ambiente, estes segmentos liberados apresentam mobilidade suficiente para se re-arranjarem em novas estruturas cristalinas, provavelmente sobre os cristais já existentes (RABELLO; WHITE, 1997). A cristalinidade do PHB será mais discutida na seção sobre a técnica de Difração de raios-X.

Poli (ácido lático glicólico)-PLGA é um curioso exemplo de polímero amorfo que, após a irradiação, adquire um certo grau de cristalinidade que vai aumentando até a dose de 300 kGy, a partir da qual permanece constante em torno de 10%. Durante a irradiação, com a ocorrência de cisões na cadeia principal, as moléculas tornam-se menores e menos emaranhadas, apresentando maior mobilidade, a partir do que pode ocorrer uma reorganização. É em virtude desta reorganização que ocorre a formação de uma fase cristalina no PLGA, induzida pela radiação de alta energia (LOO et al., 2004).

Na Figura 43 é apresentado o resultado da medida de DSC para as amostras de PHB-2, não irradiadas, purificada e não purificada. Vale lembrar que no processo de purificação a amostra é recristalizada a partir da reprecipitação de hexano em clorofórmio. Na amostra purificada os dois picos endotérmicos encontram-se definidamente separados por uma recristalização. Contudo, o estudo das propriedades térmicas, bem como a origem

destes picos duplos de transição cristalina no PHB, ainda tem sido alvo de diversos estudos (GUNARATNE et al., 2004; SATO et al., 2004). Estes trabalhos, no entanto, tratam das propriedades térmicas do PHB com relação à cinética de cristalização; não existe até o momento nenhum trabalho na literatura sobre a mudança dos picos de fusão cristalina do PHB devido à irradiação de alta energia.

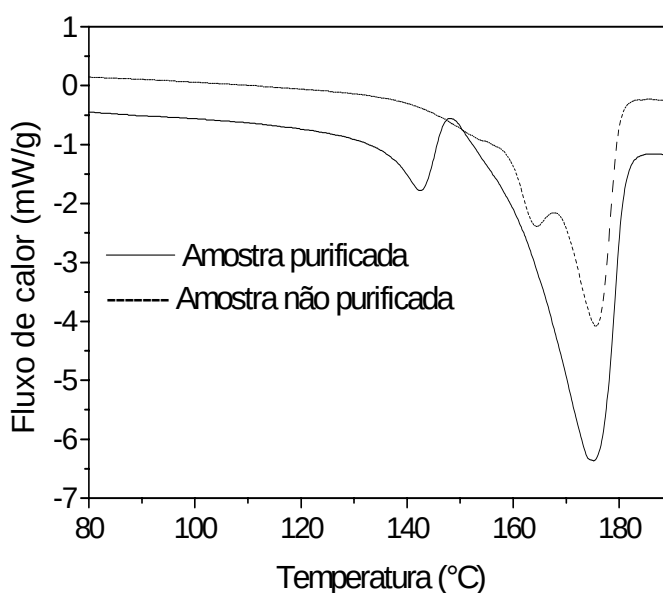


Figura 43. Termograma DSC da amostra não irradiada de PHB-2 tratada e não tratada.

Não foi possível a análise da transição vítrea do PHB, já que esta ocorre na temperatura de 4°C, exigindo que o equipamento de DSC esteja acoplado a um sistema de refrigeração.

Em uma análise termogravimétrica, TGA, a massa de uma amostra, em atmosfera controlada, é registrada continuamente como função da temperatura ou do tempo. A Figura 44 ilustra uma curva de decomposição térmica para amostras de PHB sem tratamento, não irradiada e irradiada na dose de 300 kGy.

As regiões horizontais correspondem a intervalos de temperatura nos quais não ocorre perda de massa, a partir de cerca de 260°C se inicia a decomposição do polímero, e em aproximadamente 295°C, é registrada a perda total de massa.

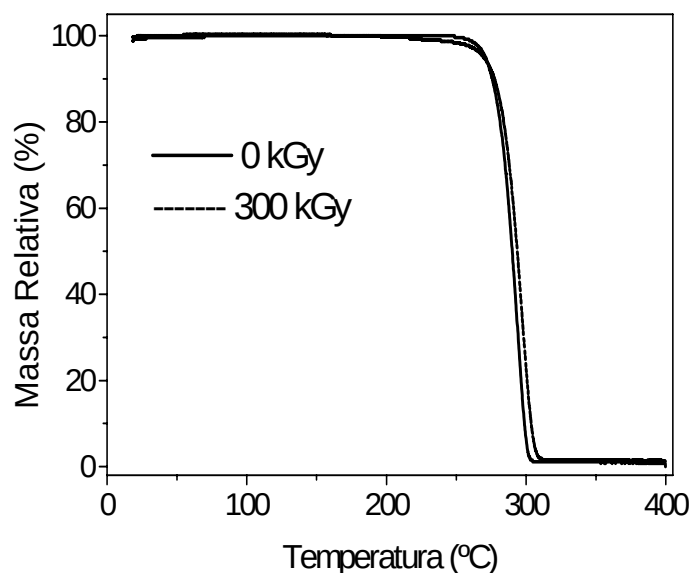


Figura 44. Análise termogravimétrica (TGA) das amostras de PHB-2.

A partir da derivada da curva de decomposição térmica (Figura 45) pode ser vista a diferença entre as temperaturas finais de decomposição. A temperatura em que se registrou a perda total de massa da amostra não irradiada foi de 292,7°C. Por outro lado, para a amostra irradiada, a perda total de massa foi registrada em 297,4°C. Nota-se que a amostra irradiada apresentou uma temperatura de decomposição um pouco maior (cerca de 5°C) se comparada com a da amostra não irradiada. Portanto, infere-se que as cisões que ocorrem na cadeia polimérica, não influenciam significativamente na temperatura de decomposição térmica do PHB. Na derivada do termograma da amostra irradiada podem ser vistos, ainda, pequenos picos de decomposição entre 150 e 250°C; estas decomposições se referem à instabilidade térmica de pequenas cadeias que se formam da radiólise.

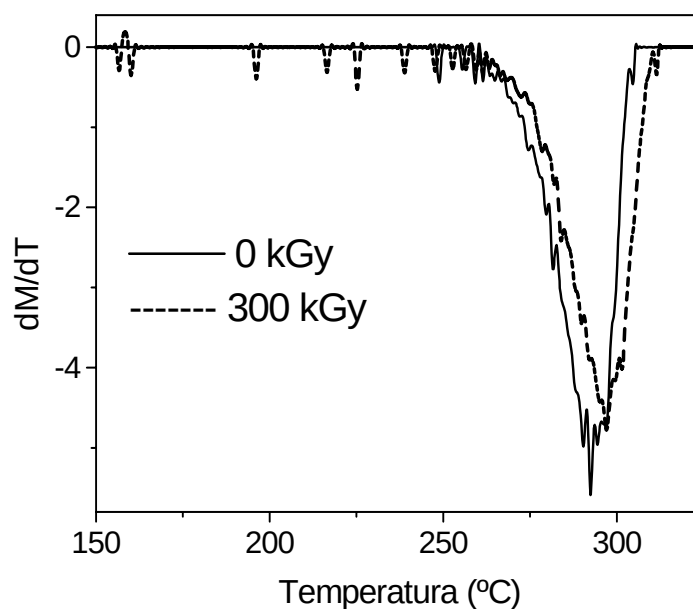


Figura 45. Derivada do termograma TGA como uma função da temperatura para o PHB-2.

Ensaio térmico são muito importantes na investigação de sistemas poliméricos e fornecem resultados muito interessantes principalmente sobre polímeros cristalinos. Algumas informações sobre a morfologia do material são obtidas pela técnica de DSC. Neste caso, dois picos de fusão cristalina foram observados, o que pode indicar a presença de diferentes morfologias, como lamelas de tamanho diferente ou lamelas menos estáveis; além do aumento do grau de cristalinidade das amostras irradiadas. Já as temperaturas de decomposição não se alteram com a irradiação.

#### 4.5 PHB-2: Difração de Raios-X

Na Figura, 46 (a) e 46 (b) estão os difratogramas do PHB-2 (sem tratamento), não irradiado e irradiado nas doses de 25, 100 e 300 kGy. Comparando estes difratogramas, verifica-se que não existe a formação de novos picos de difração, o que indica que a irradiação não causa o surgimento de novas simetrias cristalinas. Este fato reforça a hipótese de que fragmentos de moléculas da região amorfa e de moléculas atadoras se

rearranjam sobre os cristalitos, causando um aumento no grau de cristalinidade do polímero.

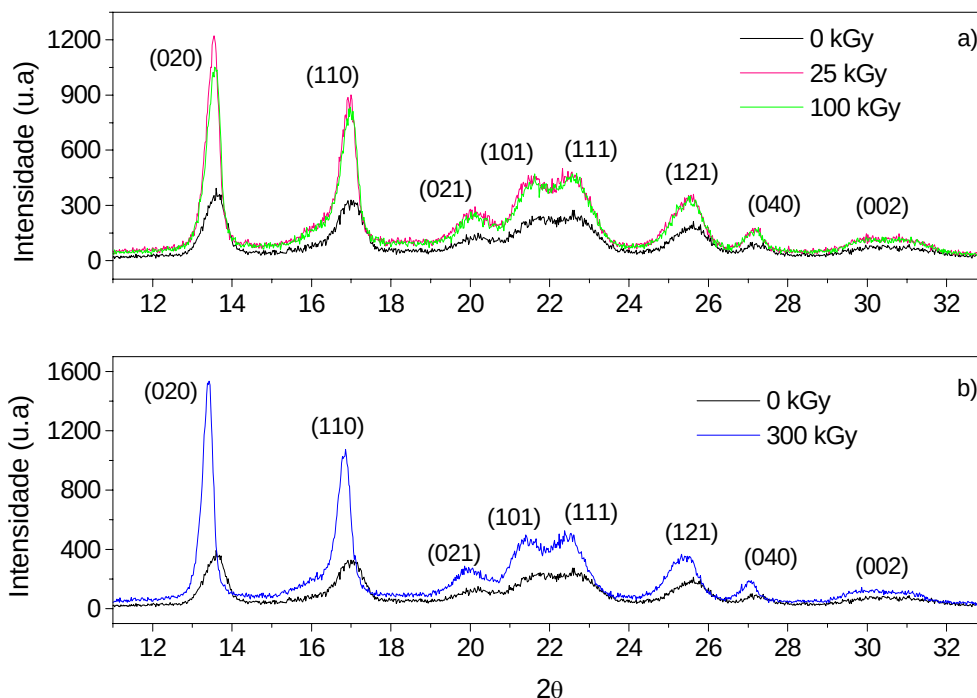


Figura 46 (a) Difratograma de raios-X do PHB-2 não irradiado e irradiado (25 e 100 kGy). (b) Difratograma do PHB-2 não irradiado e irradiado (300 kGy).

O grau de cristalinidade foi calculado considerando a área sob os picos difratados, descontando-se o halo amorfo (*background* amorfo). Este método, estabelecido por Ruland (1963), foi inicialmente desenvolvido para determinação da cristalinidade de elastômeros sob estiramento, mas foi posteriormente aplicado para outros polímeros com bons resultados.

Usando este método é possível calcular a cristalinidade de um polímero a partir da Equação 11:

$$C\% = [I_c / (I_c + kI_a)] \times 100, \quad (11)$$

onde C% é a fração cristalina,  $I_c$  é o resultado da integração dos picos de difração,  $I_a$ , a área sob o halo amorfo (obtida da aproximação gaussiana de todo o difratograma) e k uma

constante de proporcionalidade característica para cada polímero (CANEVAROLO, 2004). Para o PHB esta constante foi obtida determinando uma função  $I_c = f(I_a)$ , e o valor encontrado foi  $0,98 \pm 0,03$  (SKRBIC; DIVJAKOVIC, 1996). Os dados referentes à subtração do halo amorfo a partir da aproximação gaussiana, estão no Apêndice C. Na Tabela 12 estão os valores do grau de cristalinidade em diferentes doses.

Tabela 12. Fração cristalina (C%) do PHB-2 em diferentes doses.

| Dose (kGy) | C%   |
|------------|------|
| 0          | 51,2 |
| 25         | 54,6 |
| 100        | 53,8 |
| 300        | 54,4 |

Estes valores apresentaram uma excelente concordância com os encontrados pela técnica de DSC, e reafirmam um aumento do conteúdo cristalino, a partir da dose de 25 kGy. A fração cristalina, portanto, não aumenta com a dose de irradiação, mas permanece praticamente constante, em torno de 54%, nas três doses avaliadas.

A largura do pico difratado está inversamente relacionada com a espessura dos cristalitos. Nos difratogramas das amostras irradiadas (Figura 48), pode-se perceber um estreitamento destes picos. Por meio de um modelo gaussiano proposto por Sato et al. (2004), verificou-se que a área sob eles aumenta. A diminuição da largura do pico de difração e o aumento da sua área indicam que uma maior quantidade de material cristalino está sendo difratado.

O aumento na cristalinidade do PHB, induzido pela radiação de alta energia foi também verificado por Luo e Netravali (1999) e Mitomo et al. (1994). Luo e Netravali (1999) justificam esse aumento por meio do fenômeno da nucleação, em que os grandes cristalitos ou as grandes ordens cristalinas são destruídos aleatoriamente pela radiação, havendo o surgimento de pequenos e inúmeros cristalitos.

No entanto, se a ocorrência de nucleação fosse um fenômeno predominante, novas simetrias cristalinas seriam observadas nos difratogramas de raios-X, o que não ocorre.

Desta forma, é possível que o fenômeno de quemi-cristalização seja predominante neste caso, já que este fenômeno não induz a formação de novas simetrias cristalinas.

Além disso, os valores de tamanhos dos cristalitos foram obtidos a partir da fórmula de Sherrer (CULLITY, 1967):

$$t = 0,9\lambda / (B \cos \theta_B), \quad (12)$$

sendo  $\lambda$  o comprimento de onda dos raios X, B a largura do pico (em radianos) onde o valor da intensidade corresponde à metade da intensidade máxima e  $\theta_B$  é o ângulo, em radianos, no qual a intensidade é máxima. A fórmula de Sherrer é usada para estimar o tamanho de pequenas estruturas cristalinas ou cristalitos (da ordem de centenas de Å) (CULLITY, 1967). Para este cálculo foi utilizada uma aproximação tipo gaussiana do pico de difração correspondente ao plano (110).

A Tabela 13 mostra o aumento na espessura dos cristalitos devido à irradiação. Se estes valores aumentam é porque fragmentos moleculares se rearranjaram sobre a superfície dos cristalitos já existentes. As cisões nas moléculas atadoras, e os conseqüentes rearranjos da estrutura cristalina, também são responsáveis por este aumento.

É interessante observarmos das Tabela 12 e 13 que no caso da amostra irradiada na dose de 100 kGy, ocorre uma pequena redução no grau de cristalinidade e no tamanho dos cristalitos, quando comparada com amostras irradiadas em outras doses.

Tabela 13. Tamanho dos cristalitos (em Å) do PHB em diferentes doses, calculado a partir do plano (110).

| Dose<br>(kGy) | Tamanho dos<br>cristalitos |
|---------------|----------------------------|
| 0             | 137,8 Å                    |
| 25            | 165,1 Å                    |
| 100           | 157,6 Å                    |
| 300           | 178,2 Å                    |



O difratograma da amostra não irradiada está em concordância com o obtido por Skrabic (1996) e Sato et al. (2004). Estes autores encontraram os seguintes parâmetros de rede:  $a$  (5,76 Å),  $b$  (13,2 Å) e  $c$  (5,96 Å) para o PHB das empresas ICI *Biological* e *Procter and Gamble Co.*

A partir do difratograma (Figura 46) é possível obter o ângulo de difração para cada um dos planos cristalográficos ( $hkl$ ), onde  $hkl$  são os chamados índices de Miller. Um plano cristalográfico, ou intercepta ou é paralelo a cada um dos três eixos; o comprimento da interseção planar para cada eixo é determinado em termos dos parâmetros de rede  $a$ ,  $b$  e  $c$  (CALLISTER, 2002). Assim, o plano (020), por exemplo, representa uma intersecção no eixo  $y$ , cujo comprimento é  $2b$ . Já o plano (110) representa as intersecções nos eixos  $x$  e  $y$ , e seus comprimentos são justamente as dimensões dos parâmetros  $a$  e  $b$ .

Pela Lei de Bragg (Equação 13) é possível estabelecer uma relação entre o ângulo do feixe difratado (obtido do difratograma) e a distância interplanar ( $d$ ):

$$n\lambda = 2d\sin\theta, \quad (13)$$

sendo que  $n$  representa a ordem da reflexão (qualquer número inteiro) e  $\lambda$  é comprimento de onda dos raios X, neste caso 1,541 Å (comprimento de onda do Cu).

A magnitude da distância entre dois planos adjacentes e paralelos (isto é, o espaçamento interplanar  $d_{hkl}$ ) é uma função dos índices de Miller e dos parâmetros de rede. Desta forma, para uma estrutura ortorrômbica que é o caso do PHB, a relação entre  $d$  e os parâmetros de rede é dada por:

$$d = (h^2/a^2 + k^2/b^2 + l^2/c^2)^{-1/2}. \quad (14)$$

A partir das Equações 13 e 14 foram estabelecidos os parâmetros de rede do PHB-2 não irradiado. Os parâmetros  $a$ ,  $b$  e  $c$  da célula unitária foram calculados dos planos (110), (020) e (021), respectivamente, de onde se obteve os seguintes valores:  $a = 5,69$  Å,  $b = 13,04$  Å e  $c = 5,90$  Å.

Os difratogramas da Figura 46, no entanto, mostram um deslocamento dos ângulos de difração das amostras irradiadas com relação à amostra não irradiada. Mudanças no

ângulo de difração implicam em mudanças nas distâncias interplanares, o que, por sua vez, indica mudanças nos parâmetros de rede da amostra irradiada. É esperado que o parâmetro  $a$ , o qual se encontra sobre o eixo do grupo carbonila, onde as cisões do grupo éster acontecem, sofra alterações no seu valor com o aumento da dose de irradiação.

Skrabic (1996) e Sato et al. (2004) observaram mudanças no valor do parâmetro de rede  $a$  como consequência do aumento da temperatura, mas não detectaram quaisquer mudanças nos parâmetros  $b$  e  $c$ , já que as ligações ao longo destes parâmetros são mais fortes.

No entanto, a radiação gama, nas doses de 25, 100 e 300 kGy, transfere energia suficiente para provocar alterações nos parâmetros  $b$  e  $c$ . A Tabela 14 mostra os valores dos parâmetros de rede das amostras irradiadas. Estes valores aumentam com a dose de irradiação, o que reflete uma expansão da rede cristalina. A maior mobilidade das cadeias e os novos (e menos estáveis) arranjos cristalinos produzidos pela radiação, além do aumento na espessura dos cristalitos, podem ser as causas desta expansão.

Tabela 14. Parâmetros de rede da célula unitária do PHB-2 em diferentes doses.

| Dose (kGy) | Parâmetro de rede $a$ (110) | Parâmetro de rede $b$ (020) | Parâmetro de rede $c$ (021) |
|------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 0          | 5,69 Å                      | 13,04 Å                     | 5,91 Å                      |
| 25         | 5,72 Å                      | 13,10 Å                     | 5,94 Å                      |
| 100        | 5,71 Å                      | 13,08 Å                     | 5,93 Å                      |
| 300        | 5,76 Å                      | 13,15 Å                     | 5,98 Å                      |

El Hadi et al. (2002) têm associado mudanças na cristalinidade e no tamanho dos esferulitos com as propriedades mecânicas do polímero. Esse aumento na cristalinidade em amostras irradiadas pode causar alguns prejuízos nas propriedades mecânicas do PHB.

O aumento no grau de cristalinidade com a dose não é um fenômeno exclusivo do PHB, sendo verificado também em iPP e PE. A confirmação de que este aumento está relacionado com o fenômeno de quemi-cristalização, está no fato de que, não existe a formação de novos picos de difração nos difratogramas das amostras irradiadas, e no aumento do tamanho dos cristalitos. Pela técnica de difração de raios-X foram ainda

determinados os parâmetros de rede do PHB nacional, bem como as mudanças em seus valores devido à irradiação gama.

#### **4.6 Ensaaios Mecânicos**

O PHB sofre cisões na sua cadeia principal com conseqüente diminuição das suas propriedades mecânicas, quando irradiado com radiação gama. Neste estudo as propriedades analisadas foram: resistência à tração na ruptura, que avalia quanto de carga é aplicada no polímero no momento da ruptura; alongamento na ruptura, que avalia a capacidade de estiramento do polímero; módulo de elasticidade, que está relacionado com a rigidez do material e resistência ao impacto.

Neste estudo foi comparado o comportamento mecânico do PHB não irradiado e irradiado em diferentes doses. Os resultados das análises mecânicas mostram que com o aumento da dose de irradiação o material torna-se mais frágil e quebradiço.

A degradação sofrida devido às cisões da cadeia sob o efeito da radiação, reflete-se principalmente no decréscimo das propriedades mecânicas: resistência à tração na ruptura e resistência ao impacto, sendo que a propriedade de módulo de elasticidade é a menos afetada pelos efeitos da radiação gama, não sofrendo qualquer redução expressiva até a dose de 100 kGy.

A Figura 47 mostra o comportamento da propriedade de resistência à tração na ruptura como função da dose de irradiação. Na dose de 25 kGy a perda sofrida pela amostra na propriedade de resistência à tração foi de 20%. Por outro lado, em doses mais elevadas como 100 e 200 kGy a perda nesta propriedade foi de 40 e 75 %, respectivamente. O valor de resistência à tração, encontrado para o PHB brasileiro, não irradiado, está um pouco abaixo do valor encontrado na literatura. No presente trabalho, o valor encontrado está em torno de 20 MPa, enquanto na literatura o valor está em torno de 35 MPa (SUDESH et al., 2000).

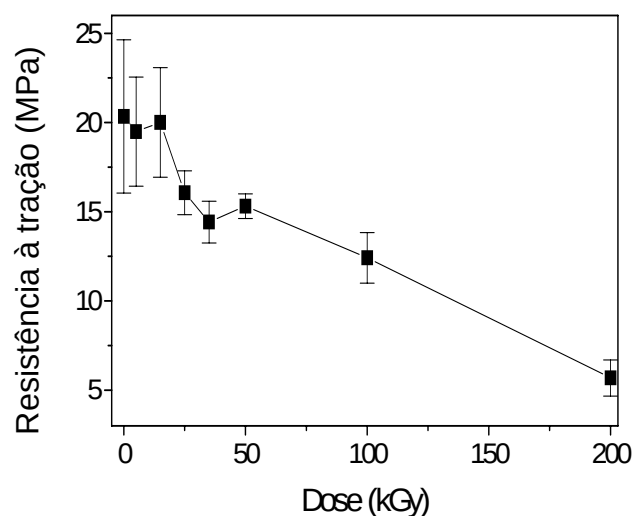


Figura 47. Resistência à tração na ruptura do PHB-2 como função da dose de irradiação.

O comportamento da propriedade de alongamento na ruptura como função da dose de irradiação é mostrado na Figura 48. O decréscimo nesta propriedade é menos acentuado que na propriedade de tensão na ruptura. Na dose de 25 kGy a perda em alongamento na ruptura devido à radiação foi de 10% (o que pode ser considerada dentro do erro experimental). Já nas doses mais altas como 100 e 200 kGy as perdas observadas foram de 25 e 40%, respectivamente.

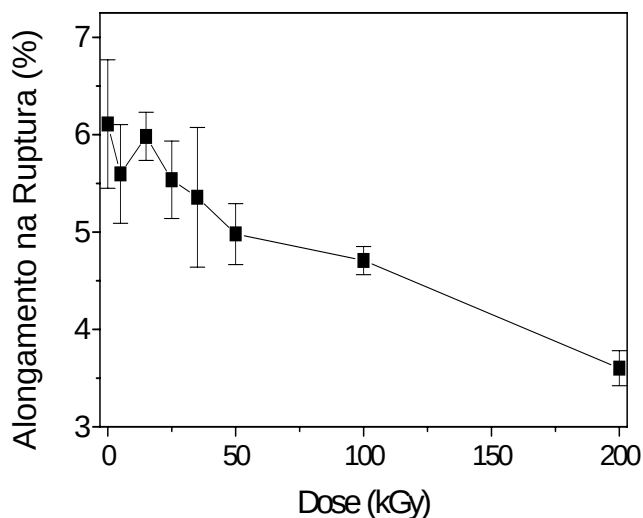


Figura 48. Alongamento na ruptura do PHB-2 como função da dose de irradiação.

Na Figura 49 pode ser observado o comportamento da propriedade de módulo de elasticidade para o PHB em função da dose. Esta propriedade não apresentou qualquer mudança significativa até a dose de 100 kGy. Assim, observa-se que a propriedade de módulo de elasticidade foi a que menos degradou, já que apenas na dose de 200 kGy é possível detectar uma perda de 50%. Esta propriedade está relacionada com a rigidez do material, o que significa dizer, que ela reflete a resistência do material à deformação elástica. Quanto menor for este módulo, maior será a deformação elástica que resulta da aplicação de uma dada tensão. Nos polímeros cristalinos, é comum que a radiação gama não afete profundamente esta propriedade. Isto acontece porque a radiação não é capaz de destruir as porções cristalinas do material, e estas vão conferir rigidez ao material.

Luo e Netravali (1999) afirmam que a propriedade de módulo de elasticidade está mais fortemente relacionada com o conteúdo cristalino do polímero, o qual é menos afetado pela radiação que o conteúdo amorfo, daí esta propriedade sofrer alterações somente em doses acima de 100 kGy.

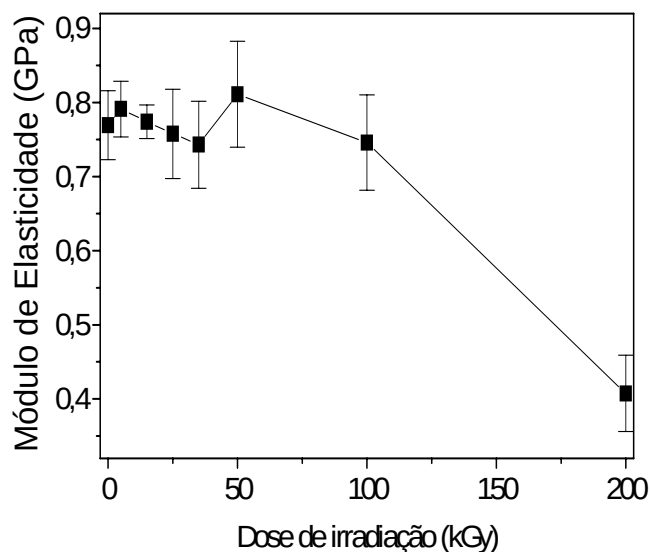


Figura 49. Módulo de elasticidade do PHB-2 como uma função da dose de irradiação.

A propriedade de resistência ao impacto Izod, foi significativamente afetada pela radiação gama. Na Figura 50 pode-se observar que na dose de 25 kGy a perda nesta propriedade foi de 25%, já na dose de 100 kGy esta perda foi de cerca de 87%. Não foi

possível a realização destes ensaios com as amostras irradiadas na dose de 200 kGy, pois estas se quebraram durante o entalhe.

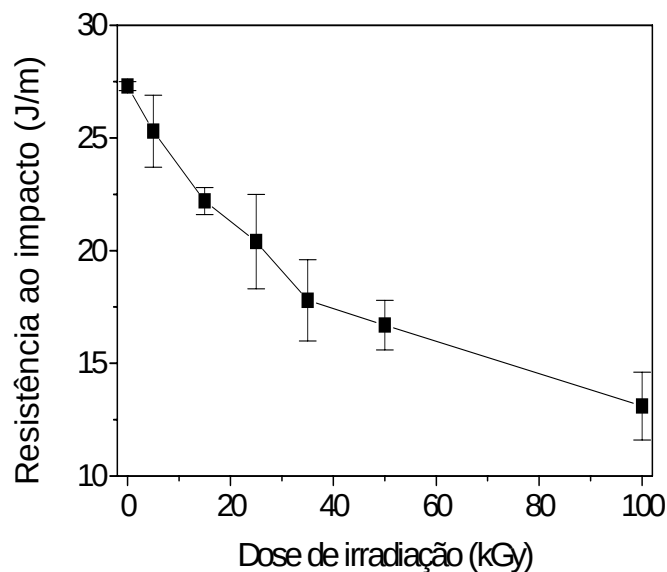


Figura 50. Resistência ao impacto Izod do PHB-2 como função da dose.

A radiação gama causa cisões inicialmente e predominantemente nas moléculas da região amorfa. A propriedade de tensão na ruptura está mais relacionada aos danos causados pela radiação na região amorfa do material (LUO; NETRAVALI, 1999). No entanto, são as cisões nas moléculas atadoras que causam as maiores perdas de propriedades mecânicas em um polímero cristalino (RABELLO; WHITE, 1997).

De forma geral, as propriedades de tensão na ruptura e resistência ao impacto Izod foram as mais afetadas pela radiação, com perdas em torno de 20% na dose de esterilização. Já as propriedades de alongamento na ruptura e módulo de elasticidade sofreram uma degradação pouco expressiva na dose de 25 kGy. Entretanto, todas as propriedades mecânicas sofreram perdas nas doses de irradiação acima de 100 kGy. Os dados referentes às propriedades mecânicas estão no Apêndice D.

## 5. CONCLUSÕES

Neste trabalho foram estudados os efeitos da radiação gama nas propriedades químicas e físicas do polímero nacional biodegradável poli(hidroxibutirato), PHB e do seu copolímero, o poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato), P(HB-co-HV). Foram analisadas, em um primeiro momento, amostras designadas por PHB-1 e P(HB-co-HV)-1 as quais se apresentaram extremamente suscetíveis aos efeitos da radiação. Posteriormente, amostras designadas por PHB-2 e P(HB-co-HV)-2 se revelaram muito mais resistente à irradiação.

PHB-1 e P(HB-co-HV)-1 apresentaram valores  $G$  (cisões/eV) e  $\alpha$  (cisões/molécula original) muito acima dos comumente observados em química das radiações, tanto para polímeros convencionais, como para outros polímeros biodegradáveis. Para compreender o alto grau de degradação deste conjunto de amostras foram realizadas análises de UV-visível, GC-MS e RMN de prótons. O que se observou foi a presença de ácidos orgânicos na estrutura do polímero, provavelmente residuais dos processos de biossíntese. Estes monômeros e oligômeros insaturados atuam como impurezas, sofrem cisões e causam grandes prejuízos ao material.

As análises de viscosidade das amostras do PHB-2 e P(HB-co-HV)-2 revelaram graus e índices de degradação próximos dos encontrados na literatura. Além disso, amostras purificadas mostraram uma pequena redução no grau de degradação, o que mostra que a quantidade e teor de impurezas afetam diretamente a radiólise do polímero.

A análise de GC-MS deste segundo conjunto de amostras mostrou apenas a presença de compostos aromáticos. Nenhum ácido orgânico foi encontrado. O espectro de UV-visível da amostra reprecipitada mostrou a eficácia deste processo na eliminação destes grupos cromóforos, o que de certa forma melhora os índices de degradação. Por meio desta mesma técnica não foram observadas diferenças significativas entre os espectros da amostra irradiada e não irradiada.

Das análises de FT-IR, não foram observadas a formação de novos grupos funcionais após a irradiação. Entre os espectros das amostras não irradiadas e irradiadas, apenas uma pequena redução da banda da carbonila foi verificada. Esta pequena redução é atribuída à competição entre dois eventos: liberação de CO e CO<sub>2</sub>, que ocorrem devido às cisões no grupo éster do PHB-2, e processos oxidativos. Por meio das análises de RPE na

presença de oxigênio e em temperatura ambiente não foram encontrados radicais peróxidos, grupos OH ou picos característicos de hidrogênio.

Por meio das análises de RMN ( $^1\text{H}$ ), estruturas pós-radiólise puderam ser identificadas e comparadas com as obtidas por outros autores. Neste caso, observou-se o surgimento de novas estruturas terminais, tais como ésteres metílicos e álcoois.

As análises térmicas de DSC mostraram a ocorrência de picos endotérmicos duplos, os quais vão se tornando um pico único com o aumento da dose. Estes dois picos associados à transição de fusão cristalina podem estar relacionados com a presença de mais de uma ordem cristalina no polímero. As amostras irradiadas apresentaram um aumento no grau de cristalinidade quando comparadas com as não irradiadas. Este fato é observado pelas técnicas de DSC e difração de raios-X. Análises de TGA mostraram que a radiação gama não causa mudanças significativas na temperatura de decomposição do PHB-2.

Os difratogramas também mostraram que novos picos não são formados a partir da irradiação, então não existe a formação de novos ordenamentos simétricos porque os fragmentos das moléculas na região amorfa, formados na radiólise, se agrupam sobre arranjos cristalinos já existentes. Os cálculos referentes ao tamanho dos cristalitos mostraram que estes aumentam com a dose de irradiação, um forte indício de que o fenômeno da quemi-cristalização é predominante. Por meio destas análises foram ainda estabelecidos os valores do parâmetro de rede para o PHB nacional e a alteração nos seus valores com a dose absorvida.

Os ensaios mecânicos mostraram que as propriedades mecânicas do PHB-2 sofrem uma grande redução, principalmente nas doses acima de 50 kGy. As propriedades de resistência à tração na ruptura e resistência ao impacto foram as mais afetadas pela radiação, enquanto a propriedade de módulo de elasticidade praticamente não se alterou até a dose de 100 kGy.

Novos projetos vêm sendo realizados e incluem a estabilização do PHB com a finalidade de torná-lo mais resistente à radiação gama e assim fazer do PHB nacional um material competitivo nas aplicações médicas e farmacológicas. Blendas de PHB, tanto com polímeros convencionais como com outros polímeros biodegradáveis também se destacam como projetos futuros.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKITA, S.; EINAGA, Y.; MIYAKI, Y.; FUJITA H. Solution Properties of Poly(D- $\beta$ -hydroxybutyrate). 1. Biosynthesis and Characterizaion. **Macromolecules**, v. 9, p. 774-778, 1976.

AQUINO, K. A. **Estabilização Radiolítica Polimetacrilato de metila usando aditivos comerciais**. Dissertação de Mestrado. Recife: UFPE, 2000.

ARAÚJO E. S. **Degradação e Estabilidade Radiolítica do Policarbonato**. Tese de Doutorado. São Paulo: USP, 1993.

ARAÚJO E. S.; KHOURY H. J.; SILVEIRA S.V. Effects of gamma-irradiation on some properties of durolon polycarbonate. **Radiation Physics and Chemistry**, v.53, p. 79-84, 1998.

BARROS, N.B; PIMENTEL, M. F. Calibração: Uma revisão para químicos analíticos; **Química Nova**, v. 19, p. 268-277, 1995.

BIBERS, K.; KALNIS, M. Control of biopolymer poly- $\beta$ - hydroxibutirate characteristics by  $\gamma$ -irradiation. **Mechanics of Composite Materials**, v. 35, p. 169-178, 1999.

BIGGIN, H.C. An Introduction to Radiation Units and Measurement. *In: Irradiation Effects on Polymers*, Clegg, D.; Collyer, A. A., Eds New York: Elsevier Science Publisher, 1991, cap. 1, p. 2-39.

BRASIL. O plástico que vem do açúcar. Disponível em: <http://www.inventabrasil.com.br/plásticos>. Acesso em 12 nov. 2004.

CALLISTER, D.W. **Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução**. Rio de Janeiro: LTC Editora, 2002.

CANEVAROLO, V. S. **Técnicas de Caracterização de Polímero**. São Paulo: Artliber editora, 2004.

CARSWELL-POMERANTZ, T.; HILL, D.J.T.; O'DONNELL, J.H.; POMERY P.J. An Eletron Spin Ressonance Study of the Radiation Chemistry of Poly(hydroxybutyrate). **Radiation Physics and Chemistry**. v. 45, p. 737-744, 1995.

CARSWELL-POMERANTZ, T., C. P.; DONG, L.; HILL, D.J.T.; O'DONNELL, J.H.; POMERY P.J. Mechanistic Studies on the Radiation Chemistry of Poly(hidroxybutyrate). *In: Irradiation of Polymers: Fundamentals and Technological Applications*, Clough, R.L.; Schalaby, S.W., Eds. American Chemistry Society, 1996, cap. 2, p. 11-21.

CHAPIRO, A. **Radiation Chemistry of Polymeric Systems**. New York: John Wiley & Sons, 1962.

CHARLESBY, A. **Atomic Radiation and polymers**. New York: Pergamon Press, 1960.

CHARLESBY, A. The Effects of Ionising Radiation on Polymers. *In: Irradiation Effects on Polymers*, Clegg, D.; Collyer, A. A., Eds New York: Elsevier Science Publisher, 1991, cap. 2, p. 39-78.

CHEN, J.L.; WANG, M. Production and evaluation of biodegradable composites based on PHB-PHV copolymer. **Biomaterials**, v. 23, p. 2631-2639, 2001.

CULLITY, B. D. **Elements of X-Ray Diffraction**. New York: Adisson-Wesley Publishing Company, 1967.

DENG, X. M.; HAO, J.Y. Synthesis and characterization of poly(3-hydroxybutyrate) macromere of bacterial origin. **European Polymer Journal**, v. 37, p. 211-214, 2001.

DOLE, M. **The Radiation Chemistry of Macromolecules**, Vol. 1. New York: Academic Press, 1972.

DOLE, M. **The Radiation Chemistry of Macromolecules**, Vol. 2. New York: Academic Press, 1973.

DU, G.; CHEN, X.L.; YU, J. High-Efficiency Production of Bioplastics from Biodegradable Organic Solids. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 12, p. 89-94, 2004.

EL-HADI; SCHNABEL, R.; STRAUBE, E.; MÜLLER, G.; HENNING, S. Correlation between degree of crystallinity properties and biodegradation of poly( 3-hydroxybutyrate) PHAs and their blends. **Polymer Testing**, v. 21, p. 665-674, 2002.

FATHI, M.H.; SALEHI, M.; MORTAZAVI, V.; MOOSAVI S.B. In vitro corrosion behavior of bioceramic, metallic, and bioceramic-metallic coated stainless steel dental implants. **Dental Materials**, v. 19, p. 188-198, 2003.

FREIER, T.; KUNZEN, C.; NISCHAN, C.; KRAMER, S.; STERNBERG, K.; SAB, M.; HOPT, T. U.; Schimitz Peter K. In vitro and in vivo degradation studies for development of a biodegradable patch based on poly(3-hydroxybutyrate). **Biomaterials**, v. 23, p. 2649-2657, 2002.

GALEGO, N.; ROZSA, C.; SÁNCHEZ, R.; FUNG, J.; VÁZQUEZ, A.; TOMÁS, J. Characterization and application of poly( $\beta$ -hydroxyalkanoates) family as composite biomaterials, **Polymer Testing**, v. 19, p. 485-492, 2000.

GARRETT, H. R.; GRISHAM, M. C. **Biochemistry**. New York: Saunders College Publishing, 1995.

GIL, M. S. V.; GERALDES, F. G. C. **Ressonância Magnética Nuclear**, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1987.

GRIMA, S.; BELLON-MAUREL, V.; FEUILLOLEY, P.; SILVESTRE, F. Aerobic Biodegradation of Polymers in Solid-State Conditions: A Review. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 8, p. 183-195, 2002.

GRISE, P. The Future of Biomaterials in Urology. **European Urology Supplements**, v. 1, p. 17-20, 2002.

GROOT, K. Clinical applications of calcium phosphate biomaterials: a review. **Ceramics International**, v.19, p. 363-366, 1993.

GUILLET, J. **Polymer photo physics and photochemistry**. New York: Cambridge University Press, 1985.

GUNARATNE, L.M.W.K.; SHANKS, R.A; AMARASINGHE G. Thermal history effects on crystallization and melting of poly(3-hydroxybutyrate). **Thermochimica acta**, v. 423, p. 127-135, 2004.

HALLS, N.A. Gamma-irradiation Processing. *In: Irradiation Effects on Polymers*, Clegg, D.; Collyer, A. A., Eds New York: Elsevier Science Publisher, 1991, cap. 6, p. 253-296.

HOLLAND, S.J; JOLLY A.M.; YASIN M.; TIGHE B.J. Polymers for biodegradable medical devices. **Biomaterials**, v. 8, p. 289-295, 1986.

KACZMAREK, H.; MALGORZATA, S.; KAMINSKA A. Modification of polystyrene and poly(vinyl chloride) for the purpose of obtaining packaging materials degradable in the natural environment. **Polymer Degradation and Stability**, v. 83, p. 35-45, 2003.

KATTI, D.S; LAKSHIMI, S.; LANGER, R. Toxicity, biodegradation and elimination of polyanhydrides. **Advanced Drug Deliver Review**, v. 54, p. 933-961, 2002.

KONG, Y.; HAY J.N. The enthalpy of fusion and degree of crystallinity of polymers as measured by DSC. **European Polymer Journal**, v. 39, p. 1721-1727, 2003.

KOSTOKI, D.; STOJANOVIĆ, Z. Radiation-induced crystallinity changes and melting behavior of draw isotatic polypropylene. **Polymer Degradation and Stability**, v. 47, p. 353-356, 1995.

KENNETH, T., GILLEN, A.; CLOUGH, R.L. Accelerated Aging Methods for Predicting Long-term Mechanical Performance of Polymers. *In: Irradiation Effects on Polymers*, Clegg, D.; Collyer, A. A., Eds New York: Elsevier Science Publisher, 1991, cap. 4, p. 157-222.

LANGER, R.; CIMA, L. G.; Tamada, J. A.; Wintermantel, E. Future directions in biomaterials. **Biomaterials**, v. 11, p. 738 – 745, 1990.

LEMOIGNE M.; Produit de déshydratation et de polymérisation de l'acide  $\beta$  - oxybutyrique; **Bull. Soc. Chim. Biol.**, v. 8, p. 770-82, 1926.

LOO, S. C. J.; OOI, P. C.; CHIANG, Y. F. Radiation effects on poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) and poly(L-lactide) (PLLA). **Polymer Degradation and Stability**, v. 83, p. 259-265, 2004.

LOO, S. C. J.; OOI, P. C.; CHIANG, Y. F. Degradation of poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) and poly(L-lactide) (PLLA) by electron beam radiation. **Biomaterials**, v. 26, p. 1359-1367, 2005.

LUO, S.; NETRAVALI N. Effect of  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ -Radiation on the Properties of Poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate). **Journal of Applied Polymer Science**, v. 73, p. 1059-1067, 1999.

MACHADO, L. G.; SAVI, M. A. Medical Applications of shape memory alloys. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, p. 683-691, 2003.

MANO, B. E. **Introdução polímeros**. São Paulo: Editora Edgard Blücher, 1985.

MARTIN, P. D.; WILLIAMS F. S. Medical applications of poly-4-hydroxybutyrate: a strong flexible absorbable biomaterial. **Biochemical Engineering Journal**, v. 16, p. 97-105, 2003.

MITOMO, H.; WATANBE, Y.; ISHIGAKI, I.; SAITO T. Radiation – induced degradation of poly (3-hydroxybutyrate) and the copolymer poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate). **Polymer Degradation and Stability**, v. 45, p. 11-17, 1994.

OJUMU, T. V.; YU, J.; SOLOMON, B.O. Production polyhydroxyalkanoates, a bacterial biodegradable polymer. **African Journal of Biotechnology**, v. 3, p. 18-24, 2004.

RABELLO, S. M.; WHITE J. Fotodegradação do polipropileno. Um processo essencialmente heterogêneo, **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, p. 47-56, 1997.

ROSAS, S. D.; BRUNO, L. M. F. e CALIL, M. R. Biodegradabilidade e Propriedades Mecânicas de Novas Misturas Poliméricas. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 11, p. 82-88, 2001.

ROSAS, S. D.; QUEENIE S. H. C.; RUBENS, P. F. Avaliação da Biodegradação de Poli- $\beta$ -(Hidroxibutirato), Poli- $\beta$ -(Hidroxibutirato-co-valerato) e Poli- $\epsilon$ -(caprolactona) em Solo Compostado. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 12, p. 311-317, 2002.

ROSEN, S. **Fundamental Principles of Polymeric Materials**. New York: John Willey and Sons, 1993.

RULAND, W. Intern. Tables X-Ray Crystallography, Kinoch Press, Birmingham, 1963.

SATO, H.; NAKAMURA, M.; PADERMSHOKE, A.; YAMAGUCHI, H.; TERAUCHI, H.; EKGASIT, S.; NODA, I.; OZAKI, Y. Thermal Behavior and Molecular Interaction of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) Studied by Wide-Angle X-Ray Diffraction. **Macromolecules**, v. 37, p. 3763-3769, 2004.

SCHNABEL, W. **Polymer Degradation: Principles and Practical Applications**. New York: Macmillan Publishing Co., 1981.

SERAFIM, S. L.; LEMOS P.C.; REIS M.A.M. Produção de Bioplásticos por Culturas Microbianas Mistas. **Boletim de Biotecnologia**, v. 76, p. 15-20, 2003.

SILVERSTEIN, R.M; WEBSTER X.F. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**, Rio de Janeiro: LTC Editora, 2000.

SKOOG, A.D.; HOLLER, F. J.; NIEMAN A. T. **Princípios de análise instrumental**. Porto Alegre: Bookman, 2002.

SKRBIC, Z.; DIVJAKOVIC, V. Temperature influence on changes of parameters of the unit cell of biopolymer PHB. **Polymer**, v. 37, p. 505-507, 1996.

STEINBÜCHEL, A.; FÜCHTENBUSCH, B. Bacterial and other biological systems for polyester production. **Tibtech October**, v. 16, p. 419-427, 1998.

STOJANOVIC, Z.; POPOVIE, K.; GALOVIC, S.; MILICEVIC, D.; SULJOVRUJIC P. Crystallinity changes and melting behavior of the uniaxially oriented iPP exposed to high doses of gamma radiation. **Polymer Degradation and Stability**, v. 87, p. 279-286, 2004.

STUART, N.; WILLIAN C. The current use of biomaterials in urology. **European Urology Supplements**, v.1, p. 2-6, 2002.

SUDESH, K.; ABE, H.; DOI, Y. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: biological polyesters. **Progress in Polymer Science**, v. 25, p. 1503-1555, 2000.

TAVARES, Z. L.; PRADELLA G. J. Produção de Polihidroxialcanoato em biorreator tipo air lift. Anais XIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2000.

VERHOOGT, H.; RAMSAY, B.A; FAVIS B.D. Polymer Blends containing poly(3-hydroxyalkanoate)s. **Polymer**, v. 35, p. 5155-5169, 1994.

VOGELSANGER, N.; FORMOLO, C.M.; PEZZIN, A. P.; SCHNEIDER, A.L.; FURLAN, S. A. Blendas Biodegradáveis de Poli(hidroxibutirato)/Poli(caprolactona): Obtenção e estudo da miscibilidade. **Materials Research**, v. 6, p. 359-365, 2003.

WALLEN, L.L.; ROHWEDDER, W.K. Poly- $\beta$ -hydroxyalkanoate from activated sludge. **Environment, Science and Technology**, v. 8, p. 576-579, 1974.

WANG, P.; FRAZIER, J.; BREM H. Local drug delivery to the brain. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, p. 987-1013, 2002.

XU, J.; GUO, B. H.; YANG, R.; WU, Q.; CHEN, G.Q. In situ FTIR study on melting and crystallization of poly(hydroxyalkanoates). **Polymer**, 43, 6893-6899, 2002.

ZAGÓRSKI, Z.P. Modification, degradation and stability of polymers in view of the classification of radiation spurs. **Radiation Physics and Chemistry**, 63, 9-19, 2002.



# APÊNDICE

## APÊNDICE A

### Ensaio de Viscosidade

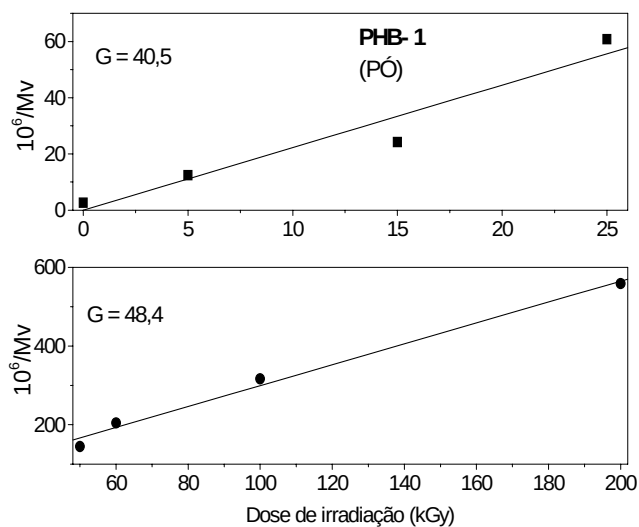


Figura 51. Recíproco de Mv como função da dose para a amostra de PHB-1 na forma de pó.

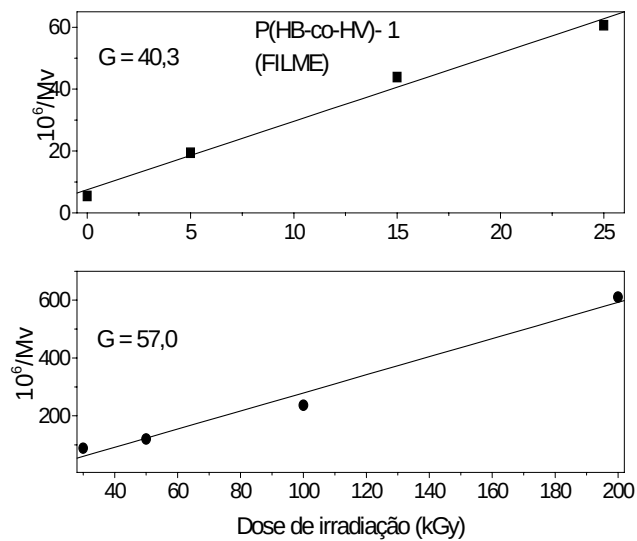


Figura 52. Inverso de Mv como função da dose para a amostra de P(HB-co-HV) -1 na forma de filme.

Tabela 15. Resultados das amostras de PHB-1 na forma de pó

| <b>Dose (kGy)</b> | <b>[<math>\eta</math>] (dL/g)</b> | <b><math>10^6/M_v</math> (mol/g)</b> |
|-------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|
| 0                 | $2,647 \pm 0,047$                 | 2,641                                |
| 5                 | $0,830 \pm 0,054$                 | 11,673                               |
| 15                | $0,628 \pm 0,034$                 | 38,414                               |
| 25                | $0,307 \pm 0,015$                 | 69,152                               |
| 50                | $0,085 \pm 0,012$                 | 214,328                              |
| 60                | $0,077 \pm 0,002$                 | 244,461                              |
| 100               | $0,064 \pm 0,004$                 | 307,794                              |
| 200               | $0,044 \pm 0,001$                 | 504,206                              |

Tabela 16. Resultados das análises de viscosidade das amostras de PHB-1 na forma de filme.

| <b>Dose (kGy)</b> | <b>[<math>\eta</math>] (dL/g)</b> | <b><math>10^6/M_v</math> (mol/g)</b> |
|-------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|
| 0                 | $1,647 \pm 0,035$                 | 4,851                                |
| 5                 | $1,252 \pm 0,062$                 | 14,308                               |
| 15                | $0,674 \pm 0,018$                 | 19,876                               |
| 25                | $0,374 \pm 0,013$                 | 29,750                               |
| 50                | $0,092 \pm 0,005$                 | 134,007                              |
| 60                | $0,041 \pm 0,007$                 | 268,861                              |
| 100               | $0,033 \pm 0,004$                 | 390,358                              |
| 200               | $0,031 \pm 0,004$                 | 762,374                              |

Tabela 17. Resultados das amostras de P(HB-co-HV)-1 na forma de pó.

| <b>Dose (kGy)</b> | <b>[<math>\eta</math>] (dL/g)</b> | <b><math>10^6/M_v</math> (mol/g)</b> |
|-------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|
| 0                 | $1,916 \pm 0,062$                 | 3,996                                |
| 5                 | $1,669 \pm 0,051$                 | 15,384                               |
| 15                | $0,302 \pm 0,159$                 | 42,616                               |
| 25                | $0,208 \pm 0,004$                 | 68,778                               |
| 30                | $0,115 \pm 0,005$                 | 146,655                              |
| 50                | $0,077 \pm 0,003$                 | 244,664                              |
| 100               | $0,062 \pm 0,003$                 | 323,272                              |
| 200               | $0,027 \pm 0,0007$                | 904,829                              |

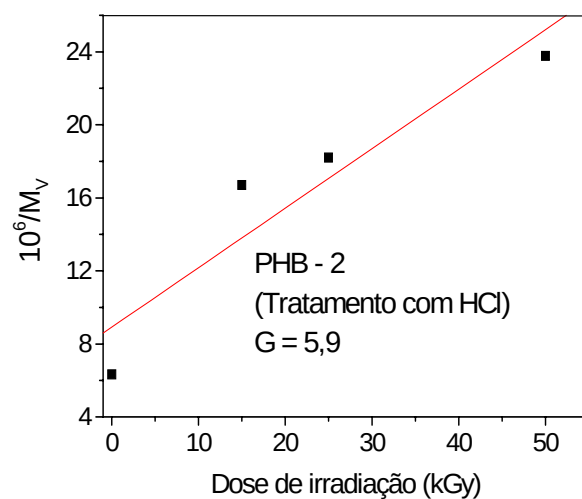


Figura 53.  $10^6/M_v$  X D(kGy) para o filme de PHB-2 tratado com ácido clorídrico.

Tabela 18. Resultados das amostras de PHB-2 na forma de pó.

| Dose (kGy) | $[\eta]$ (dL/g)   | $10^6/M_v$ (mol/g) |
|------------|-------------------|--------------------|
| 0          | $2,565 \pm 0,055$ | 2,749              |
| 15         | $0,895 \pm 0,022$ | 10,577             |
| 25         | $0,523 \pm 0,015$ | 20,979             |
| 50         | $0,291 \pm 0,022$ | 44,700             |
| 100        | $0,089 \pm 0,023$ | 177,884            |
| 200        | $0,072 \pm 0,006$ | 282,641            |

Tabela 19. Resultados das amostras de PHB-2 na forma de filme.

| Dose (kGy) | $[\eta]$ (dL/g)   | $10^6/M_v$ (mol/g) |
|------------|-------------------|--------------------|
| 0          | $2,091 \pm 0,106$ | 3,574              |
| 5          | $1,428 \pm 0,076$ | 5,828              |
| 15         | $0,941 \pm 0,043$ | 9,948              |
| 25         | $0,756 \pm 0,040$ | 13,166             |
| 50         | $0,411 \pm 0,003$ | 26,227             |
| 100        | $0,225 \pm 0,004$ | 62,006             |
| 200        | $0,058 \pm 0,004$ | 347,090            |

Tabela 20. Resultados das amostras de P(HB-co-HV)-2 na forma de filme.

| <b>Dose (kGy)</b> | <b>[<math>\eta</math>] (dL/g)</b> | <b><math>10^6/M_v</math> (mol/g)</b> |
|-------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|
| 0                 | $0,986 \pm 0,031$                 | 9,362                                |
| 15                | $0,548 \pm 0,025$                 | 19,862                               |
| 25                | $0,413 \pm 0,009$                 | 28,548                               |
| 50                | $0,291 \pm 0,003$                 | 44,764                               |
| 100               | $0,116 \pm 0,001$                 | 144,946                              |
| 200               | $0,058 \pm 0,001$                 | 351,520                              |

Tabela 21. Resultados das amostras de P(HB-co-HV)-2 na forma de pó.

| <b>Dose (kGy)</b> | <b>[<math>\eta</math>](dL/g)</b> | <b><math>10^6/M_v</math> (mol/g)</b> |
|-------------------|----------------------------------|--------------------------------------|
| 0                 | $1,060 \pm 0,028$                | 4,999                                |
| 5                 | $1,048 \pm 0,044$                | 8,657                                |
| 15                | $0,658 \pm 0,035$                | 15,726                               |
| 25                | $0,534 \pm 0,007$                | 20,528                               |
| 35                | $0,395 \pm 0,017$                | 30,263                               |
| 50                | $0,478 \pm 0,002$                | 23,700                               |
| 200               | $0,096 \pm 0,009$                | 210,392                              |

## APÊNDICE B

### Análises Térmicas

Cálculo da porcentagem de cristalinidade

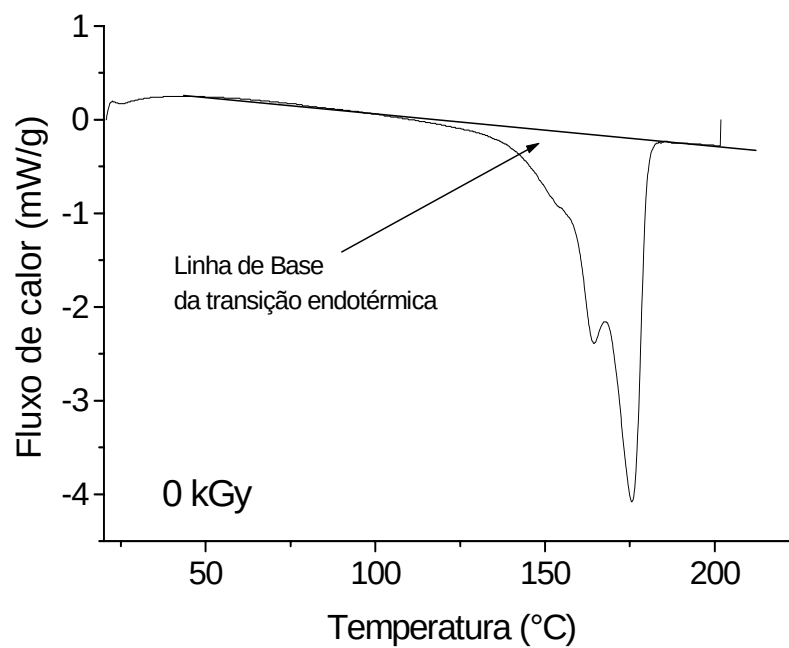


Figura 54. Área sob o pico endotérmico a partir de uma linha de base.

Tabela 22. Resultados das análises térmicas (termograma DSC).

| Dose<br>(kGy) | Área  | Pico em: |
|---------------|-------|----------|
| 0             | 73,23 | 175,4°C  |
| 25            | 81,50 | 174,0°C  |
| 300           | 79,62 | 160,6°C  |

## APÊNDICE C

### Difração de raios-X

#### Cálculo da cristalinidade

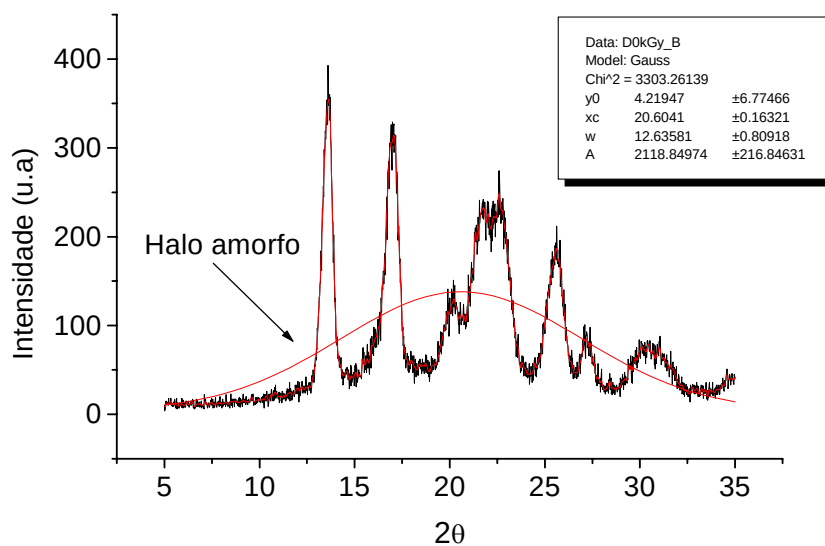


Figura 55. Aproximação gaussiana para a subtração do halo amorfo no difratograma da amostra não irradiada.

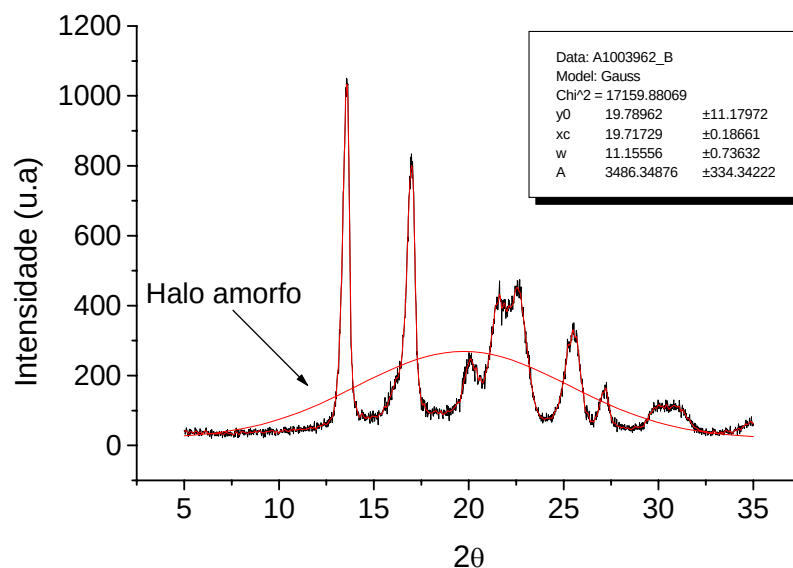


Figura 56. Aproximação gaussiana para a subtração do halo amorfo no difratograma da amostra irradiada (100 kGy).

Tabela 23. Parâmetros do cálculo da cristalinidade.

| Dose (kGy) | Integral do difratograma | Área (Aproximação Gaussiana) |
|------------|--------------------------|------------------------------|
| 0          | 2207,6                   | 2118,84 ± 216,84             |
| 25         | 4309,6                   | 3649,58 ± 374,26             |
| 100        | 4065,5                   | 3486,34 ± 334,33             |
| 300        | 4381,4                   | 3765,93 ± 366,52             |

Tabela 24. Parâmetros envolvidos na aproximação gaussiana do pico (110).

| Dose (kGy) | Área (110)  | Largura (110) | Ângulo Maximo (110) |
|------------|-------------|---------------|---------------------|
| 0          | 209,5 ± 4,3 | 56,22 ± 7,91  | 16,97 ± 0,005       |
| 25         | 368,7 ± 8,2 | 134,63 ± 4,53 | 16,91 ± 0,004       |
| 100        | 359,8 ± 8,2 | 123,42 ± 4,36 | 16,94 ± 0,004       |
| 300        | 382,8 ± 8,1 | 145,09 ± 5,15 | 16,81 ± 0,003       |

Tabela 25. Parâmetros envolvidos na aproximação gaussiana do pico (020).

| Dose (kGy) | Área (020)  | Largura (020) | Ângulo Maximo (020) |
|------------|-------------|---------------|---------------------|
| 0          | 207,8 ± 3,1 | 37,34 ± 1,62  | 13,57 ± 0,003       |
| 25         | 441,7 ± 7,7 | 96,11 ± 5,67  | 13,50 ± 0,002       |
| 100        | 422,7 ± 7,5 | 85,96 ± 5,00  | 13,53 ± 0,002       |
| 300        | 483,5 ± 6,7 | 97,22 ± 4,85  | 13,38 ± 0,001       |

## APÊNDICE D

### Ensaio Mecânicos

Tabela 26. Resultados dos ensaios mecânicos.

| Dose (kGy) | Tensão na Ruptura (MPa) | Alongamento na Ruptura (%) | Modulo de Elasticidade (GPa) | Resistência ao Impacto Izod (J/m) |
|------------|-------------------------|----------------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| 0          | 20,35 ± 4,29            | 6,11 ± 0,65                | 0,76 ± 4,65                  | 27,3 ± 0,2                        |
| 5          | 19,49 ± 3,05            | 5,59 ± 0,5                 | 0,79 ± 3,75                  | 25,3 ± 1,6                        |
| 15         | 20,00 ± 3,07            | 5,982 ± 0,24               | 0,77 ± 2,27                  | 22,2 ± 0,6                        |
| 25         | 16,06 ± 1,22            | 5,537 ± 0,39               | 0,75 ± 6,02                  | 20,4 ± 2,1                        |
| 35         | 14,42 ± 1,17            | 5,357 ± 0,71               | 0,74 ± 5,87                  | 17,8 ± 1,8                        |
| 50         | 15,31 ± 0,68            | 4,98 ± 0,31                | 0,81 ± 7,14                  | 16,7 ± 1,1                        |
| 100        | 12,42 ± 1,41            | 4,707 ± 0,14               | 0,74 ± 6,43                  | 13,1 ± 1,5                        |
| 200        | 5,68 ± 1,0              | 3,603 ± 0,18               | 0,40 ± 5,14                  | -----                             |



## APÊNDICE E

### Espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR)

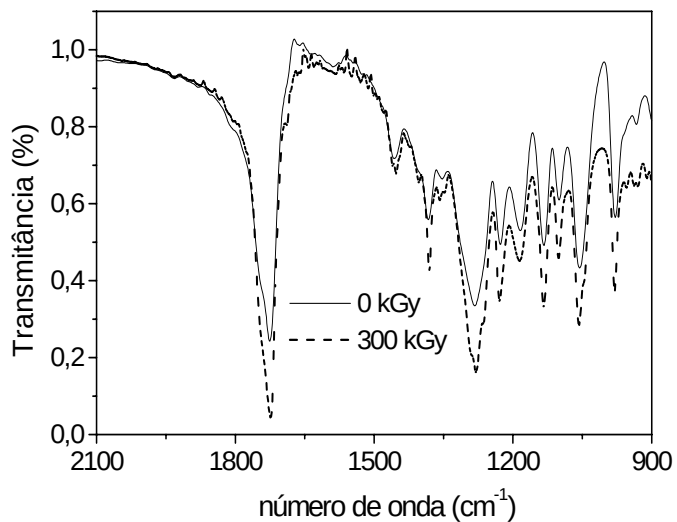


Figura 57. Espectro FT-IR das amostras de PHB-1 em 0 e 300 kGy.

Método da linha de base para a obtenção do índice de carbonila (IC):

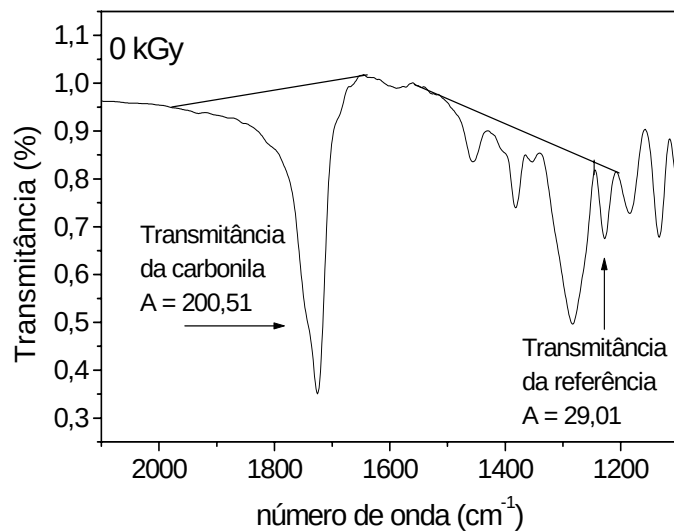


Figura 58. Método da linha de base para a obtenção das áreas das bandas de carbonila ( $1725 \text{ cm}^{-1}$ ) e de referência ( $1226 \text{ cm}^{-1}$ ).

Tabela 27. Cálculo do índice de carbonila (PHB-1).

| Dose (kGy) | A <sub>1725</sub> | A <sub>1454</sub> | IC   |
|------------|-------------------|-------------------|------|
| 0          | 274,55            | 33,27             | 8,25 |
| 300        | 249,29            | 33,27             | 7,49 |

Tabela 28. Cálculo do índice de carbonila (PHB-2).

| Dose (kGy) | A <sub>1725</sub> | A <sub>1226</sub> | IC   |
|------------|-------------------|-------------------|------|
| 0          | 200,51            | 29,01             | 6,91 |
| 300        | 188,20            | 29,01             | 6,48 |

# ANEXO

## ANEXO 1: A PHB Industrial

A descoberta desse novo polímero motivou a criação da PHB-Industrial S.A. (Figura 59) dirigida pela Copersucar (Cooperativa do Produtos de Cana, Açúcar e Álcool do estado de São Paulo) e localizada na cidade de Serrana a 340 km de São Paulo.



Figura 59. PHB-Industrial S.A.

Por enquanto, a empresa opera numa planta piloto nas instalações da Usina da Pedra com uma capacidade de produção de 50 toneladas por ano do polímero orgânico PHB registrado como Biocycle<sup>®</sup>. A nova unidade, no entanto, terá capacidade para produzir 5 mil toneladas por ano de blendas e compósitos - resinas formadas pela mistura de PHB com fibras e outros polímeros de origem orgânica. Com a fábrica, que deverá entrar em operação no início de 2007, a PHB Industrial terá presença importante no crescente mercado de polímeros biológicos e de bioplásticos ([BRASIL](#), 2005).

## ANEXO 2: A biossíntese do PHB nacional

Desde a descoberta do poli(ácido 3-hidroxibutírico) cerca de 125 outros constituintes do PHA têm sido encontrados. Inúmeras bactérias são capazes de

biossintetizar componentes do PHA. Estudos detalhados sobre a bactéria *Alcaligenes eutrophus* têm revelado que a biossíntese do PHB ocorre a partir da acetil-CoA (acetil-coenzima A) e que a regulação da síntese do PHB nessa bactéria ocorre ao nível enzimático (SUDESH et al., 2000). Coenzimas são íons metálicos ou moléculas orgânicas requeridas pelas enzimas para a realização do processo metabólico. Geralmente as coenzimas estão envolvidas nas reações catalíticas das enzimas como portadores de grupos funcionais para a conversão de substratos em macromoléculas (GARRET et al., 1995). Acetil-CoA é um intermediário fundamental no metabolismo de qualquer organismo e é formado não apenas a partir de carboidratos e ácidos graxos, mas de qualquer fonte de carbono (SUDESH et al., 2000).

No Brasil, no início da década de 90, teve origem o desenvolvimento da tecnologia para a produção de plásticos biodegradáveis empregando matéria-prima renovável, em especial derivados da cana-de-açúcar. Após um levantamento de oportunidades, selecionou-se um grupo de polímeros da família do PHA que podem ser produzidos por bactérias em biorreatores a partir de carboidratos. Tais polímeros, em condições apropriadas de cultivo bacteriano, são acumulados na forma de grânulos intracelulares, os quais podem ser separados e removidos após a lise celular gerando uma resina com propriedades semelhantes às dos plásticos de origem petroquímica. (BRASIL, 2005).

Cerca de 75 clones de PHA foram analisados, selecionando-se duas linhagens com melhor capacidade de produzir PHB, denominadas: IPT 045 e IPT 101. Estas duas linhagens foram avaliadas em ensaios em um biorreator. Foram comparadas velocidades de crescimento, capacidades de acúmulo de polímero e eficiência em converter sacarose em polímero. Por seu melhor desempenho a linhagem IPT 101 foi selecionada. Uma vez isolada a cepa, esta é mantida em condições próximas ao seu meio de cultura e desenvolvida à base de carbono (em forma de sacarose) e nitrogênio (em forma de sais como o fosfato de magnésio e o sulfato de amônio). Passa, depois, por estágios que implicam no emprego de recipientes aerados e agitados (reatores) e fermentadores até ter em suas células o reprocessamento da sacarose em forma de uma pasta. Este material é extraído com o uso de solventes e submetido à secagem, resultando em um pó granulado (BRASIL, 2005).

## **ANEXO 3: Biomateriais**

### **a) Biopolímeros**

Os cinco tipos de biomateriais em uso atualmente são: polímeros (usados, por exemplo, em catéteres), compósitos, metais e ligas, cerâmicas (frequentemente combinadas com metais) e materiais biológicos. Diferentes biomateriais apresentam diferentes composições, arquitetura e podem ou não ser reabsorvidos pelo corpo (HOLLAND et al., 1986).

Poli(ácido-lático)-PAL e poli(ácido-glicólico)-PAG têm sido estudados para uso em sistemas de liberação de drogas. Das principais aplicações destes dois polímeros, destacam-se os sistemas para a liberação de anti-contraceptivos, esteróides e drogas de inibição ao consumo de tabaco. O poli(*para*-diaxanone), por apresentar maior resistência à tensão, é comumente utilizado em materiais de suturas reabsorvidos pelo corpo (HOLLAND et al., 1986).

Os anidridos, originalmente desenvolvidos para aplicação na indústria têxtil tem encontrado uma vasta aplicabilidade em medicina devido a sua biodegradabilidade e excelente biocompatibilidade. Polianidridas alifáticas se degradam em poucos dias, enquanto as aromáticas levam dezenas de anos para se degradarem. Vários copolímeros alifáticos-aromáticos têm sido desenvolvidos com razões intermediárias de degradação visando diferentes aplicações. As polianidridas estão entre os polímeros mais reativos e hidroliticamente instáveis desenvolvidos para controle de liberação de drogas, sua aplicação para esse fim, data do início da década de 80 e vem se expandindo cada vez mais (KATTI et al., 2002).

Wang et al. (2002) descrevem as vantagens e a importância do uso de matrizes biodegradáveis em sistemas de liberação e controle de distribuição de drogas quimioterápicas no caso de tumores cerebrais malignos. Por sua rápida degradação e não – toxicidade as polianidridas têm uma vasta aplicação na distribuição de substâncias bioativas. Gliadel<sup>®</sup> é um desses dispositivos utilizado para a liberação de bioativos no tratamento de câncer cerebral.

Nas aplicações urológicas e ginecológicas as práticas cirúrgicas que incluem o uso de biomateriais são: próteses e implantes de pênis e testículos, reconstrução vaginal e reparo de parede vaginal. Com essa finalidade esses materiais devem apresentar flexibilidade, potencial para se incorporarem no tecido, resistência e potencial de permanência. Com muita frequência se utiliza o poliglactina (Vicryl<sup>®</sup>), um material que pode ser absorvido pelo corpo, e o polipropileno (Prolene<sup>®</sup>), como substituintes do tecido natural (STUART et al., 2002; GRISE, 2002).

## **b) Biocerâmicas**

Há mais de três décadas, cerâmicas constituídas de sais de fosfato de cálcio têm sido usadas com sucesso para substituição e implantes de tecidos ósseos. Esse fato é facilmente compreendido a partir da própria estrutura do osso. Ele é constituído de uma fase contínua (colágeno, biopolímeros e fluidos fisiológicos), na qual pequenos cristais de fosfato de cálcio encontram-se dispersos. Desta forma, biocerâmicas compostas de fosfato de cálcio não se comportam como corpos estranhos e são biocompatíveis com relação aos ossos. (GROOT, 1993). Outra vasta aplicabilidade destes materiais encontra-se na área de implantes e tratamentos ortodônticos.

Por suas características estruturais e morfológicas, as cerâmicas apresentam baixa resistência à fadiga mecânica. Assim sua utilização fica limitada a aplicações em que apenas sua resistência à compressão seja exigida. Utilizando um substrato de titânio revestido de biocerâmicas de fosfato de cálcio suas aplicações puderam ser ampliadas. (GROOT, 1993).

Com o avanço dos estudos em materiais que degradam no corpo animal Chen et al., 2001, incorporaram ao P(HB-co-HV) partículas de hidroxiapatita (HA) e fosfato de cálcio observando uma boa distribuição das biocerâmicas no polímero, reduções na temperatura de degradação do P(HB-co-HV) e em sua cristalinidade. Diferentes concentrações de HA e fosfato de cálcio apresentaram diferentes graus na capacidade de permitirem a formação de camadas de apatita semelhantes aos ossos na superfície dos compostos. Em experimentos realizados *in vitro* uma camada mineral foi observada se formando e crescendo nos

compostos de HA/P(HB-co-HV), simultaneamente à redução de partículas de HA, depois de sua imersão em uma solução de fluido simulado.

### **c) Biometais**

A grande maioria dos implantes cirúrgicos e dentais é usualmente feita de materiais metálicos como aço inoxidável, ligas de cobalto-cromo e titânio. Entre todos os materiais metálicos os aços inoxidáveis são os mais populares porque apresentam baixo custo, facilidade no processo de produção e resistência à corrosão. Entretanto, após um determinado período de implantação, os materiais produzidos a base de aço inoxidável sofrem corrosão devido aos ataques biológicos. Os produtos da corrosão incluem ferro, cromo, molibidênio e níquel, cujos íons podem se acumular em tecidos vizinhos ao tecido implantado ou serem transportados para outras partes do corpo, inibindo o sistema imunológico (FATHI et al., 2003).

Ligas metálicas com capacidade de retornar à sua forma original quando sujeitas a procedimentos termo-mecânicos apropriados, os chamados SMA (*shape memory alloys*) têm apresentado algum destaque dentre os novos materiais com aplicações médicas e cirúrgicas, principalmente para o uso em regiões cardiovasculares, implantes ortopédicos e em instrumentos cirúrgicos destinados à laparoscopia, já que estas ligas apresentam excelente flexibilidade, permitindo o acesso a regiões mais delicadas (MACHADO; SAVI, 2003).

SMA a base de Ni-Ti são atualmente as mais utilizadas em aplicações comerciais, pois apresentam boas propriedades mecânicas combinadas à sua pseudo-elasticidade. O primeiro dispositivo cardiovascular utilizando SMA foi o filtro de Simon (Figura 60) aplicado principalmente para conter hemorragias internas, prevenindo a ocorrência de embolia pulmonar (MACHADO; SAVI, 2003).



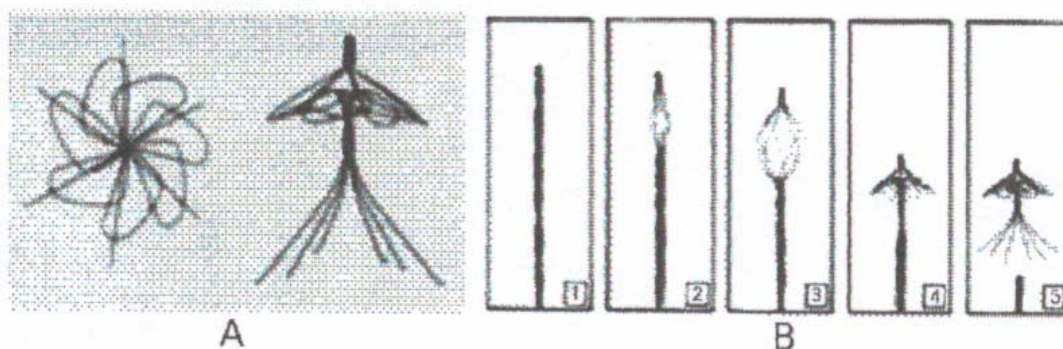


Figura 60. Filtro na forma recuperada; B) Filtro de Simon na forma liberada (MACHADO; SAVI, 2003).

Também é comum o uso de SMA no tratamento de escolioses e no tratamento de quebras e fraturas ósseas. Ainda, na área ortopédica, esse sistema é utilizado nos tratamentos fisioterápicos em casos de semi-paralisia. A Figura 61 mostra uma luva composta de fios à base de SM (“shape memory”) nas regiões dos dedos.

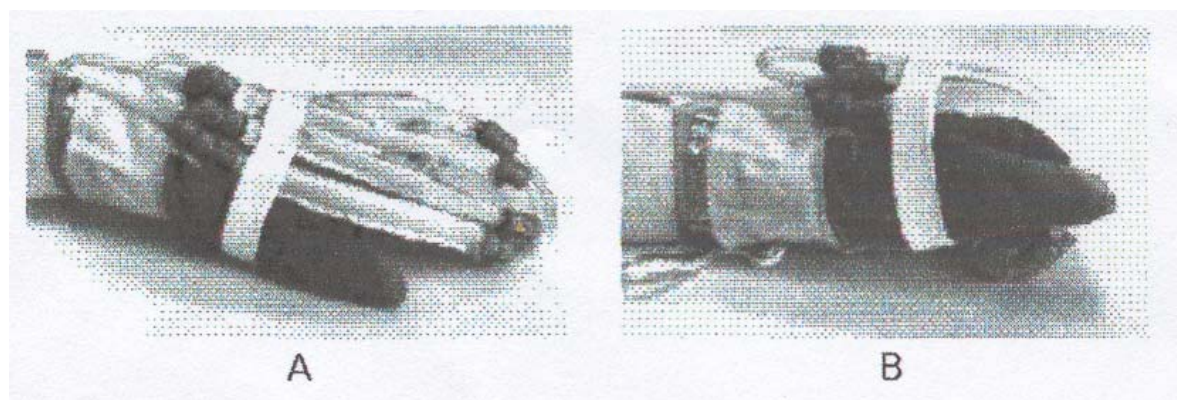


Figura 61. Luvas compostas de fios à base de SM. A) Posição em baixa temperatura; B) Posição em altas temperaturas (MACHADO; SAVI, 2003).

Esses fios reproduzem a atividade dos músculos da mão, promovendo uma mais rápida recuperação dos movimentos da mão. Quando a luva é aquecida, o comprimento dos fios aumenta, quando a luva é resfriada os fios retornam à sua forma, fazendo com que a mão se abra e os músculos semi-paralisados se exercitem (MACHADO; SAVI, 2003).

## Anexo 4: Produção Científica

### Trabalhos em Congressos

Polymer Processing Society. Local: Florianópolis-SC, 11/2004.

Títulos dos Trabalhos:

- 1) *Characterization of gamma irradiated poly(hydroxybutyrate), PHB, and its copolymer poly(hydroxybutyrate-co-valerate), P(HB-co-HV), by viscosity method.*
- 2) *Characterization of gamma irradiated poly(hydroxybutyrate), and poly(hydroxybutyrate-co-valerate) by NMR and FTIR spectroscopy.*

International Atlantic Conference. Local: Santos-SP, 08/2005.

Títulos dos Trabalhos:

- 1) *Effect of gamma irradiation on the molecular structure and mechanical properties of biodegradable polymer Poly(hydroxybutyrate).*
- 2) *Characterization of gamma-irradiated poly(hydroxybutyrate), PHB, and its copolymer poly(hydroxybutyrate-co-valerate), P(HB-co-HV), by NMR and FTIR spectroscopy and viscosity.*

### Trabalhos em Periódicos

- 1) *Effect of gamma irradiation on the molecular structure and mechanical properties of biodegradable polymer Poly(hydroxybutyrate);* 2) *Characterization of gamma-irradiated poly(hydroxybutyrate), PHB, and its copolymer poly(hydroxybutyrate-co-valerate), P(HB-co-HV), by NMR and FTIR spectroscopy and viscosity, submetidos à International Journal of Low Irradiation.*
- 3) *Gamma irradiation Effects on Poly(hydroxybutyrate); ACEITO pela Polymer Degradation and Stability.*
- 4) *Gamma irradiation effects on molecular structure of Poly(hydroxybutyrate) and Poly(hydroxybutyrate-co-valerate); submetido à Materials Characterization..*