

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

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS  
ENERGÉTICAS E NUCLEARES**

**ESTABILIZAÇÃO RADIOLÍTICA DO  
POLÍMERO BIODEGRADÁVEL  
POLI(HIDROXIBUTIRATO) (PHB)**

**RENATA FRANCISCA DA SILVA SANTOS**

**RECIFE-PERNAMBUCO-BRASIL**

**SETEMBRO - 2007**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**ESTABILIZAÇÃO RADIOLÍTICA DO POLÍMERO  
BIODEGRADÁVEL POLI(HIDROXIBUTIRATO) (PHB)**

**RENATA FRANCISCA DA SILVA SANTOS**

**ESTABILIZAÇÃO RADIOLÍTICA DO POLÍMERO  
BIODEGRADÁVEL POLI(HIDROXIBUTIRATO) (PHB)**

Dissertação submetida ao Mestrado 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 Mestre em Ciências, Área de Concentração: Aplicação de Radioisótopos.

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

**RECIFE-PERNAMBUCO-BRASIL**

**SETEMBRO - 2007**

**S237e**

**Santos, Renata Francisca da Silva**

Estabilização radiolítica do Polímero biodegradável poli (hidroxibutirato) (PHB) / Renata Francisca da Silva Santos. - Recife: O Autor, 2007.

xv, 89 folhas, il : figs., tabs.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Energia Nuclear, 2007.

Inclui bibliografia e Anexos.

1. Energia Nuclear. 2. Radiação Gama. 3. Biodegradação. 4. Polímero Biodegradável. Título.

**UFPE**

**612.01448**

**CDD (22. ed.)**

**BCTG/2007-144**

**ESTABILIZAÇÃO RADIOLÍTICA DO POLÍMERO BIODEGRADÁVEL  
POLI(HIDROXIBUTIRATO) (PHB)**

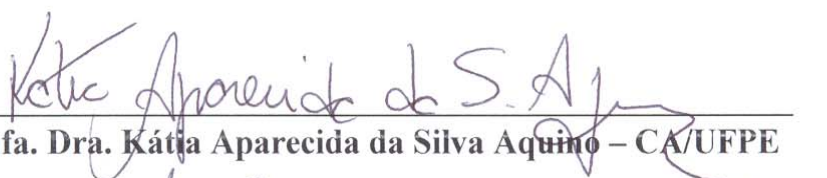
**Renata Francisca da Silva Santos**

**APROVADA EM: 18.09.2007**

**ORIENTADOR: Prof. Dr. Elmo Silvano de Araújo**

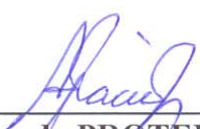
**COMISSÃO EXAMINADORA:**

  
\_\_\_\_\_  
**Profa. Dra. Glória Maria Vinhas – DEQ/UFPE**

  
\_\_\_\_\_  
**Profa. Dra. Kátia Aparecida da Silva Aquino – CA/UFPE**

  
\_\_\_\_\_  
**Profa. Dra. Letícia Maria de Oliveira – DECIV/UFPE**

**Visto e permitida a impressão**

  
\_\_\_\_\_  
**Coordenador do PROTEN/DEN/UFPE**

## AGRADECIMENTOS

A Deus que é minha fortaleza e com Ele tudo é possível.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de mestrado.

A Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e ao Departamento de Energia Nuclear (DEN), pela oportunidade e condições oferecidas para realização deste trabalho.

Ao Professor Elmo Silvano de Araújo por sua orientação e confiança.

À PHB Industrial S.A. pela doação das amostras.

Ao Laboratório Gamalab (Gamalab-DEN-UFPE) e ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/SP), pela irradiação das amostras.

Aos professores Ana Paula Pacheco, Glória Maria Vinhas, Kátia Aparecida Aquino e Waldeciro Colaço, que nas etapas dos seminários muito contribuíram para a forma final desta dissertação.

A Alexandre Rangel de Sousa por compartilhar comigo todas as circunstâncias e etapas deste trabalho. Suas sugestões e idéias foram indispensáveis. Sou grata pela sua solicitude e paciência.

À Patrícia Lopes B. de Araújo pelo incentivo, sugestões valiosas e parceria em trabalhos.

À Dra. Letícia Maria de Oliveira pelo conhecimento partilhado e por toda a ajuda no início da pesquisa.

A todos os colegas do grupo de polímeros pela convivência e colaboração.

À minha família que sempre esteve ao meu lado, em especial a minha mãe, por todo seu apoio e compreensão, e a minha filha que é o meu maior incentivo.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	vii
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	xi
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....</b>	xii
<b>RESUMO.....</b>	xiv
<b>SUMMARY.....</b>	xv
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	01
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	03
<b>2.1 Polímeros biodegradáveis.....</b>	03
2.1.1 Aspectos gerais.....	03
2.1.2 Aplicações.....	07
<b>2.2 Degradação de polímeros.....</b>	11
2.2.1 Aspectos gerais.....	11
2.2.2 Biodegradação de polímeros.....	16
2.2.2.1 Degradação enzimática do PHB.....	17
<b>2.3 Efeitos da radiação gama no PHB.....</b>	18
<b>2.4 Estabilização de polímeros.....</b>	31
2.4.1 Aspectos gerais.....	31
2.4.2 Tipos de estabilizantes poliméricos.....	32
2.4.3 Estabilização radiolítica.....	36



<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>39</b>
3.1	Amostras.....	39
3.2	Irradiação das amostras.....	39
3.3	Análises viscosimétricas.....	40
3.4	Ensaio espectroscópico.....	43
3.5	Difração de raios-X.....	43
3.6	Teste de biodegradação aeróbia.....	43
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>46</b>
4.1	Análises viscosimétricas.....	46
4.2	Espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) .....	52
4.3	Ressonância magnética nuclear protônica (RMN ( <sup>1</sup> H)) .....	54
4.4	Difração de raios-X (DRX) .....	60
4.5	Teste de biodegradação aeróbia.....	62
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>66</b>
<b>6</b>	<b>TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>68</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>69</b>
	<b>APÊNDICES.....</b>	<b>76</b>
	<b>ANEXO.....</b>	<b>88</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
<b>Figura 1</b> Grânulos de PHB acumulados por <i>Azobacter vinelanii</i> UWD (SERAFIM et al., 2003).....	05
<b>Figura 2</b> Fórmula estrutural geral dos PHAs (OJUMU et al., 2004).....	06
<b>Figura 3</b> a) Temperatura de fusão cristalina ( $T_m$ ) em função da dose; b) entalpia de fusão ( $\Delta H_m$ ) do PHB e P(HB-co-HV) com 20 mol% de HV em função da dose. PHB irradiado no ar ( $\odot$ ) e no vácuo ( $\bullet$ ). P(HB-co-HV) irradiado no ar ( $\triangle$ ) e no vácuo ( $\blacktriangle$ ) (MITOMO et al., 1994).....	20
<b>Figura 4</b> Massa molar numérica média ( $M_n$ ) e o índice de degradação em função da dose de irradiação. PHB irradiado no ar ( $\odot$ ) e no vácuo ( $\bullet$ ). PHB-co-HV irradiado no ar ( $\triangle$ ) e no vácuo ( $\blacktriangle$ ) (MITOMO et al., 1994).....	21
<b>Figura 5</b> Possíveis radicais formados na radiólise do PHB (CARSWELL-POMERANTZ et al., 1995).....	22
<b>Figura 6</b> Esquema de cisão na cadeia do poli(hidroxibutirato) induzida por radiação gama (LUO; NETRAVALI, 1999).....	24
<b>Figura 7</b> Recíproco da massa molecular $1/M_v$ como função da dose de radiação D para as amostras em pó PHB-1 (1) e PHB-2 (2) irradiadas a pressão atmosférica (BIBERS; KALNINS, 1999).....	26
<b>Figura 8</b> Recíproco de $M_v$ como função da dose de radiação para o PHB e P(HB-co-HV) em pó (OLIVEIRA et al., 2006).....	27

<b>Figura 9</b>	Recíproco da massa molecular viscosimétrica como uma função da dose para o PHB não tratado e purificado na forma de filme (OLIVEIRA, 2006).....	28
<b>Figura 10</b>	Termograma DTG do PHB em 0 e 300 kGy (OLIVEIRA, 2006).....	29
<b>Figura 11</b>	Medidas de DSC em amostras de PHB não irradiadas e irradiadas (OLIVEIRA et al., 2006).....	30
<b>Figura 12</b>	(a) Difratoograma de raios-X de amostras de PHB não irradiadas e irradiadas (25 e 100 kGy). (b) difratoograma de raios-X de amostras de PHB não irradiadas e irradiadas (300 kGy) (OLIVEIRA et al., 2006)...	31
<b>Figura 13</b>	Representação esquemática da atuação de um antioxidante primário em processo oxidativo de cadeia polimérica (RABELLO, 2000).....	33
<b>Figura 14</b>	Representação esquemática da atuação de um antioxidante secundário em processo oxidativo de cadeia polimérica (RABELLO, 2000).....	34
<b>Figura 15</b>	Representação esquemática da atuação de um <i>quencher</i> (RABELLO, 2000).....	35
<b>Figura 16</b>	Mecanismo geral de degradação e estabilização de polímeros (ALARIQI, 2006).....	35
<b>Figura 17</b>	Estruturas gerais de agentes nucleantes (CARLSSON; CHMELA, 1990).....	37
<b>Figura 18</b>	Esquema do teste de Sturm.....	45

<b>Figura 19</b>	Estabilização radiolítica promovida pelo aditivo E no PHB na concentração de 0,3% (m/m).....	48
<b>Figura 20</b>	Estabilização radiolítica promovida pelo aditivo E no PHB na concentração de 0,5% (m/m).....	49
<b>Figura 21</b>	Estabilização radiolítica promovida pelo aditivo E no PHB na concentração de 0,7% (m/m).....	49
<b>Figura 22</b>	Estabilização radiolítica promovida pelo aditivo E no PHB na concentração de 1,0% (m/m).....	50
<b>Figura 23</b>	Índice de degradação $\alpha$ do aditivo E 0,5% (m/m) em diferentes doses de irradiação.....	51
<b>Figura 24</b>	Espectros de FT-IR do PHB sem aditivo antes e após a irradiação na dose de 35 kGy.....	52
<b>Figura 25</b>	Espectros de FT-IR do PHB aditivado antes e após a irradiação na dose de 35 kGy.....	53
<b>Figura 26</b>	Espectro de RMN ( $^1\text{H}$ ) do PHB sem aditivo: a) não irradiado, b) irradiado na dose de 35 kGy.....	55
<b>Figura 27</b>	Espectro de RMN ( $^1\text{H}$ ) do PHB aditivado: a) não irradiado, b) irradiado na dose de 35 kGy.....	56
<b>Figura 28</b>	Estrutura do aditivo E (Irgafós 168 <sup>®</sup> ).....	57
<b>Figura 29</b>	Espectro de RMN ( $^1\text{H}$ ) do aditivo E.....	58
<b>Figura 30</b>	Estrutura do PHB.....	58

<b>Figura 31</b>	Difratogramas de raios-X de filmes de PHB sem aditivo não irradiado e irradiados nas doses de 25, 50 e 100 kGy.....	60
<b>Figura 32</b>	Difratogramas de raios-X de filmes de PHB aditivados não irradiado e irradiados nas doses de 25, 50 e 100 kGy.....	61
<b>Figura 33</b>	Variação na massa de CO <sub>2</sub> coletado na biodegradação dos filmes de PHB sem aditivo não irradiado e irradiados a 25 e 50 kGy.....	64
<b>Figura 34</b>	Variação na massa de CO <sub>2</sub> coletado na biodegradação dos filmes de PHB aditivados não irradiado e irradiados a 25 e 50 kGy.....	65

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela</b>	<b>Página</b>
<b>Tabela 1</b> Possíveis grupos funcionais formados a partir da radiólise do PHB a 303K (CARSWELL-POMERANTZ, et al., 1996).....	23
<b>Tabela 2</b> Resultados da seleção do aditivo.....	46
<b>Tabela 3</b> Valores de $10^6/Mv$ do controle e dos filmes de PHB com o aditivo E em diferentes concentrações no intervalo de dose de 0 - 50 kGy.....	47
<b>Tabela 4</b> Valor G e grau de proteção (%) promovido ao PHB pelo aditivo E.....	51
<b>Tabela 5</b> Razões entre as áreas dos sinais de RMN dos grupos CH, CH <sub>2</sub> e CH <sub>3</sub> ..	59
<b>Tabela 6</b> Graus de cristalinidade de filmes de PHB sem aditivo e aditivados em diferentes doses de irradiação.....	62
<b>Tabela 7</b> Tempos de efluxo das soluções do PHB sem aditivo (controle) e com os aditivos A, B, C, D e E na concentração de 0,5% (m/m) em 0 e 25 kGy, para os cálculos de Mv por meio do planejamento D-otimizado...	77
<b>Tabela 8</b> Tempos de efluxo das soluções (0,1 g/dL) do controle e do PHB com o aditivo E em diferentes doses de irradiação , para os cálculos de Mv por meio da equação proposta por Qian.....	80
<b>Tabela 9</b> Parâmetros de regressão linear da curva $10^6/Mv$ x dose de irradiação dos filmes de PHB aditivados e do controle.....	80
<b>Tabela 10</b> Parâmetros do cálculo do grau de cristalinidade dos filmes de PHB sem aditivo em diferentes doses de irradiação.....	83
<b>Tabela 11</b> Parâmetros do cálculo do grau de cristalinidade dos filmes de PHB aditivados em diferentes doses de irradiação.....	83

**LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS**

**ASTM** – *American Society for Testing and Materials*

**$\alpha$**  – índice de degradação (número de cisões por moléculas iniciais)

**BHT** – 2,6-di-terc-butil-4-metilfenol

**$\gamma$**  – radiação gama

**D** – dose absorvida

**DMM** – distribuição de massa molecular

**DSC** (*Differential Scanning Calorimetry*) – calorimetria diferencial de varredura

**DTG** (*Derivative Thermogravimetry*) – termogravimetria derivada

**EP** – copolímero etileno – propileno

**FDA** – *Food and Drug Administration*

**FTIR** (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) – espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier

**G** – grau de degradação (número de eventos na cadeia principal por cada 100 eV de energia absorvida)

**G<sub>c</sub>** – grau de degradação das amostras sem aditivo (controle)

**G<sub>a</sub>** – grau de degradação das amostras aditivadas

**G(S)** – grau de degradação para cisões na cadeia

**G(X)** – grau de degradação para reticulação na cadeia

**HA ou (R)-3-HA** – hidroxialcanoato ou ácido hidroxialcanóico

**HAS** – *Hindered Amine Stabilizers* (estabilizante tipo aminas com impedimento estérico)

**HALS** – *Hindered Amine Light Stabilizers* (estabilizante contra luz tipo aminas com impedimento estérico)

**HB ou (R)-3-HB** – hidroxibutirato

**HV ou (R)-3-HV** – hidroxivalerato

**ICI** – *Imperial Chemical Industries*

**IPT/SP** – Instituto de Pesquisas Tecnológicas de São Paulo

**M<sub>n</sub>** – massa molecular numérica média após a irradiação

**M<sub>n0</sub>** – massa molecular numérica média antes da irradiação

**M<sub>v</sub>** – massa molecular viscosimétrica média após a irradiação

- M<sub>v0</sub>** – massa molecular viscosimétrica média antes da irradiação
- M<sub>w</sub>** – massa molecular ponderal média
- η<sub>esp</sub>** – viscosidade específica
- η<sub>red</sub>** – viscosidade reduzida
- η<sub>rel</sub>** – viscosidade relativa
- [η]** – viscosidade intrínseca
- P** – grau de proteção promovido pelo aditivo ao sistema polimérico
- PCL** – poli(ε-caprolactona)
- PGA** – poli(ácido glicólico)
- PLA** – poli(ácido láctico)
- PLGA** – poli(ácido láctico-co-ácido glicólico)
- PLLA** – poli(ácido L-láctico)
- PHA** – poli(hidroxialcanoato)
- PHB ou P(3HB)** – Poli(hidroxibutirato)
- P(HB- co- HHx)** – poli(hidroxibutirato-co- hidroxihexanoato)
- PHBV ou P(HB-co-HV)** – poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato)
- PHV** – poli(hidroxivalerato)
- PVA** – poli(álcool vinílico)
- RMN (<sup>1</sup>H)** – Ressonância Magnética Nuclear Protônica
- RPE** – Ressonância Paramagnética Eletrônica
- SEC** (*Size Exclusion Chromatography*) – cromatografia de exclusão por tamanho
- T<sub>g</sub>** – temperatura de transição vítrea;
- TG** (*Thermogravimetry*) – termogravimetria
- T<sub>m</sub>** – temperatura de fusão cristalina;
- U V** – ultravioleta



## ESTABILIZAÇÃO RADIOLÍTICA DO POLÍMERO BIODEGRADÁVEL POLI(HIDROXIBUTIRATO) (PHB)

**Autora: Renata Francisca da Silva Santos**

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

### RESUMO

O poli(hidroxitirato), PHB, é um poliéster termoplástico sintetizado por vários tipos de bactérias. O PHB é de especial interesse na fabricação de utensílios médicos esterilizáveis por radiação gama, devido às características extraordinárias como sua grande biocompatibilidade e biodegradabilidade. Entretanto, radiação ionizante causa cisões na cadeia principal do PHB, reduzindo sua massa molecular. Destarte, o escopo deste estudo foi investigar a estabilização radiolítica na estrutura e propriedades do PHB nacional, por meio de aditivos comerciais utilizados na estabilização foto e termo-oxidativa de polímeros convencionais. Inicialmente, foram preparados filmes contendo cinco aditivos diferentes, na concentração de 0,5% da massa total do sistema polimérico. Os filmes foram irradiados com dose de 25 kGy e as mudanças na massa molecular viscosimétrica média (Mv) foram analisadas para a seleção do melhor aditivo. Dentre os aditivos testados, um designado aditivo E, do tipo antioxidante, proporcionou uma ótima radio-estabilização. O estabilizante escolhido foi estudado com mais detalhes. Novas amostras de filmes poliméricos foram preparadas com o aditivo E, cujas concentrações (%m/m) foram 0,3; 0,5; 0,7 e 1,0. Neste caso, os filmes foram submetidos a doses de irradiação que variaram de 15 a 50 kGy. Análises viscosimétricas foram realizadas com o propósito de avaliar cisões na cadeia principal induzidas pela radiação. O valor G (cisões/100 eV de energia transferida ao sistema) também foi obtido por técnica de viscosidade. O aditivo E, na concentração de 0,5% (m/m), promoveu uma redução no valor G de 8,6 para 1,5 no intervalo de dose de 0-35 kGy. As demais análises foram todas realizadas com filmes de PHB contendo o aditivo E na concentração de 0,5% (m/m). Análises espectroscópicas (FT-IR, RMN (<sup>1</sup>H)) mostraram que o aditivo E não modifica a estrutura do PHB. A análise de difração de raios-X mostrou que o aditivo E não influencia na cristalinidade do PHB. Também foi verificado que o grau de cristalinidade dos filmes permaneceu praticamente constante com a irradiação gama. Foi constatado por meio do teste de biodegradação aeróbia que o aditivo E reduz a biodegradabilidade dos filmes de PHB. Provavelmente, a presença do aditivo no sistema polimérico inibiu o metabolismo microbiano.

Palavras-chave: PHB, radiação gama, estabilização, aditivos, biodegradação.

## **RADIOLYTIC STABILIZATION OF THE BIODEGRADABLE POLYMER POLY(HYDROXYBUTYRATE) (PHB)**

**Author: Renata Francisca da Silva Santos**

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

### **SUMMARY**

Poly(hydroxybutyrate), PHB, is a thermoplastic polyester synthesized by many types of bacteria. PHB is of special interest in the manufacture of medical devices sterilizable by gamma radiation, because of remarkable characteristics like its great biocompatibility and biodegradability. However, ionizing radiation causes main chain scissions of PHB followed reduction in its molecular mass. Then, the purpose of this study was to investigate the radiolytic stabilization in the structure and properties of Brazilian PHB, through commercial additives used in photo and thermo-oxidative stabilization of polymers. Initially, casting solvent films were prepared containing five different additives, added to the polymer system at 0.5% w/w. These films were irradiated at 25 kGy and investigated viscosity-average molecular mass ( $M_v$ ) changes in order to select the best stabilizer. Among the tested additives, a designated additive E, type antioxidant, provided a good radiostabilization. The chosen stabilizer was studied more in detail. New samples of polymeric films were prepared with the additive E, which concentrations (%w/w) were 0.3, 0.5, 0.7 and 1.0. In this case, the films were submitted to doses that varied from 15 to 50 kGy. Viscometric analysis was performed in order to assess the radiation-induced main chain scissions. The value G (scissions/100 eV of energy transferred to the system) was also obtained by the viscosity technique. The additive E, added to the polymer system at 0,5% w/w, promotes a decrease of 8.6 to 1.5 in value G at a dose range of 0 – 35 kGy. The rest analyses were all performed with PHB films containing the additive E at 0.5% (w/w). Spectroscopy analyses (FT-IR, ( $^1\text{H}$ ) NMR) showed that the additive E does not change the structure of PHB. The X-ray diffraction analysis showed that the additive E does not influence the crystallinity of PHB. It was also verified that the degree of crystallinity of the films remained constant with gamma irradiation. It was established by aerobic biodegradation test that the additive E reduces the biodegradability of PHB films. Probably the presence of the additive in the polymeric matrix inhibits the microbial metabolism.

Keywords: PHB, gamma radiation, stabilization, additives, biodegradation.

## 1 INTRODUÇÃO

O consumo excessivo de plásticos de origem petroquímica (convencionais) tem manifestado a necessidade de produzir substitutos ambientalmente degradáveis, para controlar os problemas do “lixo plástico”. Os polímeros biodegradáveis, como solução alternativa, têm despertado bastante interesse dos pesquisadores, pois possuem propriedades similares aos plásticos convencionais. Uma classe de polímeros bacterianos biodegradáveis que vêm se destacando é a dos poli(hidroxicanoatos), PHAs. O poli(hidroxibutirato), PHB, é o PHA mais bem caracterizado e abundante na natureza (SERAFIM, 2003).

O Instituto de Pesquisas Tecnológicas – IPT/SP desenvolveu no período de 1992 à 1998 este plástico biodegradável em conjunto com o Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo e a Copersucar (Cooperativa dos produtores de cana, álcool e açúcar do Estado de São Paulo), a qual licenciou a PHB Industrial S.A. para sua produção. Atualmente, o PHB brasileiro é produzido pela PHB Industrial.

As propriedades mais relevantes desse plástico são a produção à base de recursos renováveis e sua completa degradabilidade, associadas com a capacidade de ser produzido por processos que usam tecnologia limpa. O PHB nacional é sintetizado pela bactéria *Alcaligenes eutrophus*, a qual se alimenta diretamente de açúcar da cana, transformando o excedente do seu metabolismo em PHB sob a forma de grânulos. O Brasil possui condições bastante convenientes de produção de biodegradáveis, uma vez que conta com matéria-prima de baixo custo como o açúcar da cana, os óleos vegetais e os resíduos agrícolas e industriais.

O PHB é um poliéster termoplástico completamente biodegradável, sintetizado por algumas espécies de microrganismos e acumulado como reserva de carbono e energia (HA; CHO, 2001). Suas propriedades o recomendam para aplicações que incluem a fabricação de artigos de higiene e saúde, de copos descartáveis, canetas, cartões telefônicos, e embalagens, atraindo bastante atenção da indústria (FORMOLO, 2003). Devido a sua combinação única de biodegradabilidade, hidrofiliabilidade e biocompatibilidade, o PHB também tem sido de grande interesse para uma variedade de aplicações médicas, tais como sistema para liberação controlada de drogas, suturas cirúrgicas, revestimento para feridas,

pó lubrificante, materiais de fixação e implantes de ortopedia e substituto pericardial (WILLIAMS, 1999).

Nas aplicações envolvendo radiações ionizantes, como a esterilização de artefatos médico-hospitalares por radiação gama ou feixe de elétrons em doses de 25 kGy (HALLS, 1991), faz-se necessário o estudo dos efeitos químicos induzidos pela transferência de energia para o sistema polimérico. Os principais efeitos observados são: reticulação intermolecular da cadeia principal, formando uma rede tridimensional com conseqüente aumento da massa molecular do polímero, e cisões da cadeia principal, com conseqüente diminuição da massa molecular. Na maioria dos polímeros, esses efeitos ocorrem simultaneamente, e a predominância de um deles sobre o outro depende basicamente da estrutura molecular e das condições de irradiação do polímero (CHARLESLEY, 1991; SCHNABEL, 1981). Tais efeitos podem alterar drasticamente as propriedades físicas do material polimérico, tornando inaceitável o seu uso em determinadas aplicações. O PHB, quando exposto à radiação gama, sofre predominantemente cisões na sua cadeia principal com a redução da sua massa molecular e liberação de gases como CO e CO<sub>2</sub> (CARSWELL-POMERANTZ et al., 1996).

Dessa forma, surge a importância de estabilizar o sistema polimérico, ou seja, desenvolver um método que reduza a velocidade de sua degradação, aumentando a vida útil do polímero e preservando suas propriedades. A adição de estabilizantes é sem dúvida o método mais comum e versátil de estabilização (RABELLO, 2000). Uma grande vantagem é que eles são eficazes em quantidades mínimas, afetando pouco as outras propriedades do material. Porém, devido aos inúmeros estabilizantes comercialmente disponíveis e às interações antagônicas e sinérgicas, entre eles ou com outros tipos de aditivos, pode ser complicada a determinação da quantidade adequada do aditivo. Deve-se levar em consideração, também, aspectos como eficiência, custo e compatibilidade. Isso gera muitos experimentos a fim de se obter a escolha certa dos tipos e quantidades dos estabilizantes a serem utilizados.

Neste trabalho, diante das razões apresentadas, foi investigada a estabilização radiolítica na estrutura e propriedades do PHB nacional, por meio de aditivos originalmente empregados na estabilização foto e termo-oxidativa de polímeros comuns (*commodities*).

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Polímeros biodegradáveis

#### 2.1.1 Aspectos gerais

Os polímeros convencionais foram desenvolvidos com o propósito de oferecer durabilidade e resistência a diversas formas de degradação, incluindo o ataque por fungos e agentes microbianos. Atualmente, milhares de toneladas de plásticos são produzidas por ano, em todo o mundo, as quais são utilizadas em diversos campos, incluindo transporte, construção, dispositivos eletrônicos, utensílios médicos, embalagens, dentre outros (OKADA, 2002). Devido à longevidade desses materiais, sérios problemas ambientais têm surgido em virtude da enorme quantidade de lixo plástico produzido nas comunidades urbanas. Uma das estratégias para solucionar os problemas decorrentes da poluição ambiental é a reciclagem de materiais poliméricos. A reciclagem de plásticos é conhecida mundialmente e tem sido muito utilizada. Porém, há certas desvantagens, como a difícil recuperação dos plásticos utilizados e a quantidade de energia térmica consumida no processo. Nesse caso a biodegradação surge como uma excelente alternativa para o problema. Por isso, o interesse em polímeros biodegradáveis tem aumentado cada vez mais nos últimos anos, ao nível mundial.

Segundo a *American Standard for Testing and Methods* (ASTM D 6400-99), os polímeros biodegradáveis são polímeros nos quais a degradação resulta da ação de ocorrência natural de microrganismos tais como bactérias, fungos e algas (EPIC, 2000). Os materiais biodegradáveis devem oferecer no final do processo de biodegradação, apenas biomassa, água e dióxido de carbono, ou metano em caso de degradação anaeróbia e possivelmente resíduos minerais, sem efeitos sobre a natureza. Não devem gerar nenhuma molécula ou resíduo nocivo para o meio ambiente durante a biodegradação (CÉSAR, 2001 apud VILPOUXL; AVEROUS, 2003)<sup>1</sup>.

---

<sup>1</sup> CESAR, G. Introduction aux journées biomatériaux em agriculture. In: **Colloque Biomateriaux**, Auray, 2001. Proceedings... Auray, 2001. 1 CD-ROM.

Os polímeros biodegradáveis são classificados em três principais categorias: (1) polissacarídeos e outros biopolímeros, (2) polímeros sintéticos, particularmente poliésteres alifáticos e (3) poliésteres produzidos por microrganismos (OKADA, 2002).

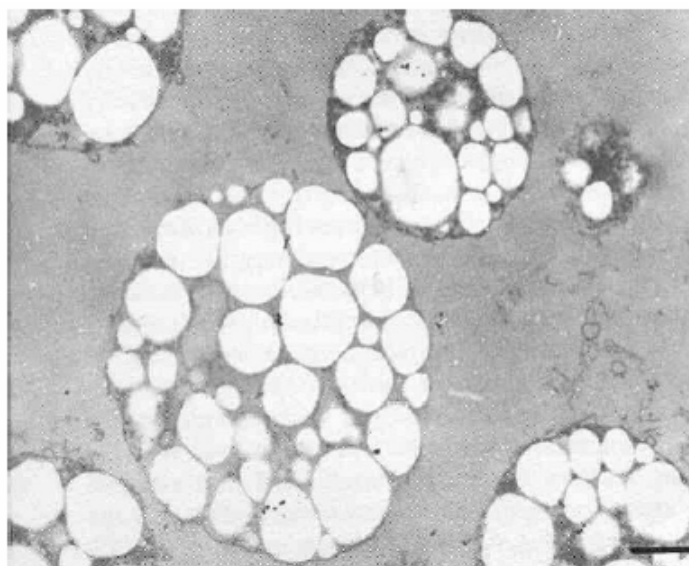
Os biopolímeros de cadeia complexa também são conhecidos como gomas devido a sua capacidade de formar soluções viscosas e géis em meio aquoso. Eles são aplicados nos setores de alimentos, farmacêutico, químico e petroquímico. Os biopolímeros se destacam por formarem uma classe de polímeros ou gomas utilizadas amplamente como espessantes, gelificantes, agentes de suspensão, colóides protetores, entre outras aplicações. Os mais conhecidos são: xantana, dextrana, gelana e curdulana. (ROTTAVA, 2005).

Os poliésteres alifáticos como a poli( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL), poli(butilenosuccinato), poli(L-ácido láctico) (PLLA) são representantes dos polímeros sintéticos biodegradáveis, cuja produção industrial tem aumentado a cada dia. Contudo, vários outros tipos de polímeros sintéticos biodegradáveis têm sido desenvolvidos e testados para aplicações práticas. São, por exemplo, poliésteres contendo anéis aromáticos ou grupos éteres cíclicos, poli(éster amidas), poli(éster carbonatos), poli(éster uretanos), dentre outros. (OKADA, 2002).

Os poliésteres originários de microrganismos são derivados de recursos biorgânicos renováveis, formados a partir da fermentação de produtos agrícolas que são usados como substrato. Nesta categoria, estão incluídos os PHAs, que têm despertado bastante atenção devido a suas propriedades similares aos plásticos convencionais e completa biodegradabilidade (HOCKING; MARCHESSAULT, 1994). Os PHAs possuem propriedades semelhantes às do polipropileno e outras que se assemelham às dos materiais elastoméricos. Essas propriedades surgem do comprimento das ramificações da cadeia principal ou da distância entre ligações ésteres na cadeia polimérica. Tipicamente, PHAs com ramificações curtas são materiais muito cristalinos. Porém, PHAs com ramificações longas são elastoméricos (WILLIAMS et al., 1999).

As bactérias produtoras de PHAs, geralmente, podem ser divididas em dois grupos, de acordo com as características do acúmulo de PHA (LEE; CHANG, 1995). O primeiro grupo das células começa a acumular PHA quando o crescimento celular é interrompido pela limitação de algum nutriente essencial, como N, P, Mg, K, O ou S, e na presença de excesso de carbono. O segundo grupo produz PHA de forma associada ao crescimento

(FORMOLO et al., 2003). Os PHAs são acumulados nas células como grânulos discretos (Figura 1), cujo tamanho e número, por célula, varia de uma espécie para outra. Segundo Byrom (1994)<sup>2</sup>, citado por Ojumu et al. (2004), aproximadamente de 8 a 13 grânulos por célula, possuindo diâmetro na faixa de 0,2 a 0,5 $\mu$ m foram observados em *Alcaligenes eutrophus*. Um grande número de bactérias Gram positivas e Gram negativas, pertencentes pelo menos a setenta e cinco gêneros diferentes, sintetizam PHAs. Exemplos de culturas puras utilizadas industrialmente são *Ralstonia eutropha*, *Alcaligenes latus*, *Azotobacter vinelandii* e diversas espécies de *Pseudomas* (SERAFIM et al., 2003).



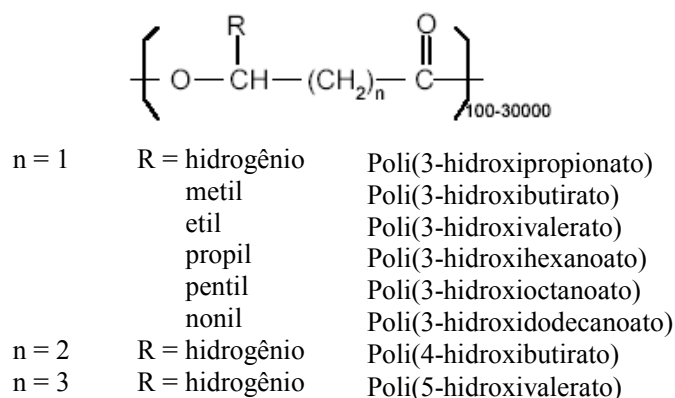
**Figura 1 - Grânulos de PHB acumulados por *Azobacter vinelandii* UWD (SERAFIM et al., 2003).**

A principal vantagem dos PHAs sobre os outros polímeros biodegradáveis é que eles não requerem condições ambientais especiais para serem degradados. Podem sofrer rápida biodegradação sob condições aeróbias e anaeróbias (TOKIWA; CALABIA, 2004). Área de superfície, atividade microbiana do meio, pH, temperatura, umidade e pressão de outros materiais nutrientes, são fatores que interferem na velocidade de biodegradação do polímero.

---

<sup>2</sup> BYROM, D. Polyhydroxyalkanoates. In: Mobley DP (ed) **Plastic from microbes: microbial synthesis of polymers and polymer precursors**. Hanser Munich, p. 5-33, 1994.

PHAs são uma família de poliésteres biológicos opticamente ativos que contêm meros de (R)-3-ácido hidroxialcanoico, (R)-3-HA. A Figura 2 apresenta a fórmula estrutural geral dos poli(hidroxialcanoatos). A composição da cadeia lateral (R) e o valor de n determinam juntos a identidade do mero. Foram identificados mais de 100 meros diferentes como constituintes dos PHAs em várias bactérias. A estrutura da cadeia lateral pode ser modificada pela escolha do microrganismo e do substrato de carbono utilizado. Os microorganismos podem produzir PHA de diversas fontes de carbono: efluentes de lixo complexo como melaços de cana ou beterraba, óleos de plantas e seus ácidos graxos, alcanos, e carboidratos simples (SUDESH et al., 2000).



**Figura 2 - Fórmula estrutural geral dos PHAs (OJUMU et al., 2004).**

O PHB é um dos mais abundantes PHAs na natureza, contendo meros de (R)-3-hidroxibutirato, (R)-3-HB; seguido do poli(hidroxivalerato), PHV, contendo meros de (R)-3-hidroxivalerato, (R)-3-HV. Durante a identificação dos heteropolímeros, em meados da década de 80, a análise de sedimentos marinhos por cromatografia gasosa capilar revelou a presença de 3-HB e 3-HV como os componentes predominantes entre outros onze meros de hidroxialcanoato, HA (FINDLAY; WHITE, 1983).

O PHB é um termoplástico cristalino com uma temperatura de fusão cristalina ( $T_m$ ) em torno de 180°C, podendo ser submetido a diferentes tipos de processamento, como por exemplo, a extrusão. Sua massa molecular ponderal média ( $M_w$ ) 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 °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 (SUDESH et al., 2000).

O poli(hidroxiбутирато) foi sintetizado no Brasil em 1994, quando um grupo de cientistas do IPT/SP, em conjunto com a Copersucar e o Instituto de Pesquisas Biomédicas da Universidade de São Paulo descobriram uma nova espécie bacteriana, denominada *Burkholderia sacchari*. A bactéria se alimenta diretamente de açúcar, transformando o excedente do seu metabolismo em um plástico biodegradável, o PHB (PHB-PLÁSTICO BIODEGRADÁVEL, 2006). A Copersucar licenciou a PHB Industrial S.A. para produzir PHB, com tecnologia totalmente nacional, registrado como Biocycle<sup>®</sup>.

### 2.1.2 Aplicações

Uma companhia inglesa, a *Imperial Chemical Industries* (ICI), a partir da década de 70, iniciou pesquisas e patentes para a produção de PHAs por intermédio de diversos processos (MARANGONI, 2000 apud FORMOLO et al., 2003)<sup>3</sup>. No Brasil, a Copersucar estabeleceu parceria com diversos processadores de plásticos e instituições de pesquisa e desenvolvimento com o objetivo de desenvolver aplicações comerciais do PHB e viabilizar sua aplicação comercial em larga escala.

Todos os PHAs compartilham algumas propriedades que os tornam úteis para determinadas aplicações e ou interessantes para a indústria. Eles são termoplásticos e ou elastoméricos, insolúveis em água, não tóxicos, biocompatíveis, exibem propriedades piezelétricas, como revelado para o PHB e para seu copolímero o poli(hidroxiбутирато-co-hidroxi valerato), o P(HB-co-HV). Os PHAs têm considerável potencial na produção de artigos de primeira necessidade, incluindo desde artigos de higiene e saúde até embalagens (FORMOLO et al., 2003).

---

<sup>3</sup> MARANGONI, C. **Estudo de estratégias de produção de poli(3-hidroxiбутирато) por *Ralstonia eutropha* utilizando substrato de baixo custo e ácido propiônico.** Florianópolis, 2000. (Mestrado – UFSC).

As técnicas de processamento de polímeros convencionais como, preparação de filmes por derrame de solução com evaporação do solvente (*casting*), fiação de fibras, fabricação de espumas, extrusão, moldagem por injeção, e em certos casos moldagem por sopro podem ser aplicadas também aos polímeros biodegradáveis (EPIC, 2000).

O uso de culturas microbianas puras e substratos caros são fatores que elevam o custo de produção desses biopolímeros. Por outro lado, o uso de culturas mistas e substratos baratos como resíduos da agricultura, reduzindo a necessidade de esterilização do sistema, podem reduzir o custo de produção dos PHAs em mais de 50% (FORMOLO et al., 2003; SERAFIM et al., 2003).

Várias pesquisas para aplicações médicas e farmacêuticas têm sido realizadas. Os polímeros têm apresentado considerável potencial de uso dentre os materiais utilizados como implantes, pois, em geral, são fáceis de produzir, manusear e oferecem características mecânicas semelhantes aos dos materiais biológicos (GRIFIITH; NAUGHTON, 2002). Desde a década de 1960, o uso de polímeros bioreabsorvíveis como implantes temporários ganharam uma importância crescente na área médica, abrangendo um vasto número de aplicações no corpo humano, tais como: suturas cirúrgicas, sistemas para liberação controlada de drogas e dispositivos ortopédicos. Dessa maneira, os polímeros bioreabsorvíveis vêm se destacando, cada vez mais, na engenharia de tecidos (BARBANTI et al., 2005).

A técnica, conhecida como engenharia de tecidos, consiste na regeneração de órgãos e tecidos vivos, por meio do recrutamento de tecido do próprio paciente, que é dissociado em células, as quais são cultivadas sobre suportes biológicos ou sintéticos, chamados *scaffolds*, para então serem reinseridas no paciente (BARBANTI et al., 2005). A seleção do suporte biológico para as células é a etapa fundamental para a reconstrução de um órgão ou tecido. Deve-se considerar o tipo, local e extensão da lesão.

Os PHAs podem ser utilizados como *scaffolds*. Porém, devem possuir algumas propriedades essenciais para este fim, como: ser biocompatíveis, suportar o crescimento celular, orientar e organizar as células e, principalmente, degradar em produtos não tóxicos. Essas propriedades associadas às vantagens de uso dos PHAs, geram benefícios extraordinários à engenharia de tecidos. O PHB e o P(HB-co-HV) são exemplos de polímeros naturais que têm evoluído para uma variedade de aplicações médicas

(WILLIAMS et al., 1999). Um grande progresso foi a otimização do processamento termoplástico do PHB para a obtenção de fibras (SCHMACK et al., 2003) com propriedades físicas adequadas para a produção de *scaffolds*, por meio de uma tecnologia têxtil particular (PATENT EP 0567 845 B1, 1998 apud SCHMACK et al., 2003). Polímeros sintéticos biodegradáveis e bioreabsorvíveis como os poli( $\alpha$ -hidróxi ácidos), os quais fazem parte o PCL, poli(ácido glicólico) (PGA), poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA), seus copolímeros e outros, são utilizados como fios de sutura (Dexon<sup>®</sup>, Vicryl<sup>®</sup>, Maxon<sup>®</sup>, PDS<sup>®</sup>, etc.). Esses polímeros sintéticos também podem ser encontrados em vários produtos comerciais de fixação óssea, aprovados pelo *Food and Drug Administration* (FDA), (Biofix<sup>®</sup>, FixSorb<sup>®</sup>, Neofix<sup>®</sup>, ResorPin<sup>®</sup>) (BARBANTI et al., 2005).

Rivard et al. (1996) demonstraram que o PHBV 9 (9% de 3-hidroxivalerato na estrutura) manteve uma taxa de proliferação de células de fibroblastos semelhante a observada em esponjas de colágeno no período de 35 dias. Entretanto, um número de problemas tem sido encontrado com respeito ao uso de PHBV em aplicações de engenharia de tecidos. O maior deles é a falta de bioatividade do PHBV, não podendo o novo tecido se ligar suficientemente com a superfície do polímero. Li e Chang (2004) prepararam *scaffolds* de um compósito de PHBV e silicato de cálcio, porosos e tridimensionais, por moldagem de compressão, processamento térmico e método de lixiviação particular. A introdução do silicato de cálcio bioativo na matriz do PHBV resultou em uma estrutura com maior resistência à compressão e melhor hidrofiliabilidade. O trabalho apresentou *scaffolds* de compósito de PHBV e silicato de cálcio com propriedades melhoradas.

O controle da liberação de fármacos em sítios de ação específica, mediante utilização de nanopartículas constituídas por polímeros biodegradáveis, tem atraído muita atenção dos pesquisadores, devido a suas potencialidades terapêuticas, maior estabilidade nos fluidos biológicos e durante o armazenamento. Esses sistemas são desenvolvidos visando inúmeras aplicações terapêuticas, sendo planejados, especialmente, para administração parental, oral ou oftálmica. Uma das áreas mais promissoras na utilização das nanopartículas é a vetorização de fármacos anticancerígenos e de antibióticos, principalmente por meio de administração parental (SCHAFFAZICK et al., 2003).

Outras aplicações promissoras dos biopolímeros PHA abrangem o sistema cardiovascular, córnea, pâncreas, sistema gastrointestinal, sistema nervoso, sistema renal e genitor, sistema musculoesquelético, dentes e cavidade bucal, pele e assim por diante.

Devido a sua completa biocompatibilidade e a habilidade de ser completamente biodegradável, o PHB é de interesse especial na medicina. A termoplasticidade e a possibilidade de síntese biológica do PHB por meio de fontes renováveis são de importância peculiar (BIBERS; KALNINS, 1999). A utilização do PHB nessas áreas requer que ele passe por um processo de esterilização. A irradiação gama é um dos métodos mais eficientes de esterilização, pois dispensa a necessidade de contato entre o polímero e materiais estranhos, que podem contaminar o produto obtido. Além disso, as aplicações úteis do polímero podem ser estendidas pelo uso de radiação de alta energia; por exemplo, pela modificação de superfície e enxertia (CARSWELL-POMERANTZ et al., 1995). Entretanto, o efeito da radiação gama no PHB é de natureza puramente destrutiva. Sendo assim, deve-se obter informação do efeito de pequenas doses de radiação nas características básicas do polímero (BIBERS; KALNINS, 1999). 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).

A fragilidade inerente e o alto custo de produção do PHB têm limitado suas aplicações práticas mais versáteis. Uma das alternativas mais estudadas para melhorar suas propriedades físicas é a síntese microbiana de copolímeros contendo outros meros além do (R)-3-hidroxi-butarato. As propriedades térmicas e físicas de copoliésteres podem ser reguladas, variando suas estruturas moleculares e composições copoliméricas (HA; CHO, 2002). Uma outra alternativa é a mistura física do PHB com outros polímeros (blendas). Diversos trabalhos tem sido publicado apresentando blendas de PHB com polímeros não biodegradáveis tais como poli(vinil acetato) e poli(metacrilato), e com polímeros biodegradáveis como poli(óxido de etileno), poli(álcool vinílico) (PVA), PCL e polissacarídeos (HA; CHO, 2002).

A companhia Procter and Gamble apresentou um novo tipo de copolímero de PHA com pequenas quantidades de grupos laterais de comprimento médio, que tem sido comercializado com o nome de Nodax (SATO et al., 2004). Um dos membros

representativos da família do copolímero Nodax é o poli(3-hidroxi-butirato-co-3-hidroxi-hexanoato) ou P(HB-co-HHx). Essa classe de polímeros demonstra algumas propriedades interessantes como, degradabilidade aeróbia e anaeróbia, digestibilidade alcalina, estabilidade hidrolítica, boa barreira a oxigênio e odor e propriedades de superfície ideais para impressão. Também apresenta menor cristalinidade e maior flexibilidade em comparação ao homopolímero PHB (BIOCYCLE, 2006). Outra vantagem desse copolímero é sua excelente compatibilidade com outros polímeros biodegradáveis e polímeros sintéticos (SATO et al., 2004). Assim, o Nodax pode ser utilizado em uma variedade de aplicações poliméricas, incluindo a área médica devido sua biocompatibilidade (SATO et al., 2004).

## **2.2 Degradação de polímeros**

### **2.2.1 Aspectos gerais**

O termo degradação polimérica, com respeito a materiais compostos de macromoléculas sintéticas, é utilizado para indicar mudanças nas propriedades físicas causadas por reações químicas envolvendo, na maioria das vezes, cisão na cadeia da macromolécula, seja na cadeia principal ou em cadeia lateral. Considerando biopolímeros, a definição de degradação polimérica diz respeito às alterações das propriedades físicas causadas não apenas por reações químicas, mas também por alterações físicas, envolvendo a destruição de estruturas altamente ordenadas. Neste caso, não há cisões, apenas mudanças na organização dos átomos. A degradação de polímeros, nos dois casos, implica a deterioração na funcionalidade dos materiais poliméricos (SCHNABEL, 1981). A definição mais abrangente e atual para o termo degradação é qualquer mudança indesejável nas propriedades de um sistema polimérico (RABELLO, 2000).

Alterações nas propriedades físicas não são causadas apenas por cisões na cadeia principal, mas também, simultaneamente, por reações químicas em cadeias laterais, tendo como exemplo especial a reticulação intermolecular. Esse processo implica na formação de novas ligações químicas entre macromoléculas individuais. Cisões na cadeia principal, de modo geral, ocasionam decréscimo na massa molecular e, conseqüentemente, nas

propriedades do polímero. A reticulação pode ser considerada como o oposto da degradação, quando conduz a um aumento na massa molecular, melhorando as propriedades físicas do polímero. Entretanto, o excesso de reticulação pode gerar degradação, tornando o material frágil e quebradiço (SCHNABEL, 1981). A degradação sem cisão de cadeias ocorre quando reações intramoleculares, de grupos laterais da cadeia, alteram as propriedades do material (DE PAOLI, 1995).

Dependendo da natureza do agente causador, a degradação pode ser classificada como física ou química. A degradação física compreende a térmica, mecânica, fotoquímica e degradação por radiação de alta energia. A degradação química ocorre devido à ação de vários agentes químicos. Os processos principais são: degradação oxidativa, hidrólise, ozonólise, alcoólise, acidólise e aminólise. Durante o processamento e uso prático do produto moldado, o polímero freqüentemente está sujeito à degradação por mais de um processo simultaneamente, como degradação fotooxidativa, termooxidativa, termohidrolítica. (TAGER, 1972).

A degradação térmica ocorre quando o polímero é exposto a temperaturas elevadas e sofre várias mudanças químicas e físicas, acompanhadas por descoloração, formação de gases e produtos líquidos. O processo resulta da energia térmica adicionada ao sistema ser superior à energia das ligações intramoleculares. A habilidade de um polímero resistir à decomposição química em altas temperaturas é o que se denomina estabilidade térmica, a qual é uma característica do polímero e depende da natureza dos grupos químicos presentes que, por sua vez, definem as energias de ligação (SCHNABEL, 1981; TAGER, 1972).

Degradação mecânica se refere a efeitos macroscópicos (fraturas ou fissuras) ocasionados por forças de cisalhamento. A ação mecânica pode causar mudanças químicas nos polímeros, pois a energia mecânica é transformada em energia química. Assim, processos induzidos por tensão em materiais poliméricos são freqüentemente acompanhados por cisões na cadeia principal do polímero. As mudanças químicas induzidas por esforços mecânicos são chamadas de Mecanoquímica. (DE PAOLI, 1995; SCHNABEL, 1981; TAGER, 1972).

A degradação fotoquímica ocorre sob a ação de luz visível ou ultravioleta. A absorção da radiação por grupos específicos (grupos cromóforos) do polímero inicia

processos de excitação molecular, podendo resultar em cisão e reticulação na macromolécula. Em vista disso, é um processo seletivo, cuja existência de grupos cromóforos nas macromoléculas é um pré-requisito para a iniciação das reações fotoquímicas. O grau de degradação fotoquímica depende da intensidade e do comprimento de onda da radiação, das condições ambientais e da estrutura do polímero (SCHNABEL, 1981; TAGER, 1972).

Degradação induzida por radiação de alta energia não é um processo seletivo como a fotodegradação. Não há cromóforos para radiação ionizante, desde que todas as partes da molécula são capazes de interagir com a radiação. A absorção da energia pelo polímero ocorre de forma aleatória, tendo igual probabilidade em toda a extensão da cadeia. O termo radiação de alta energia (ou ionizante) abrange todos os tipos de radiação eletromagnética ou radiação de partícula que possuem energia cinética suficientemente maior que as energias de dissociação das ligações (SCHNABEL, 1981). Os polímeros são utilizados em muitas áreas em que sofrem exposição à radiação ionizante, como usinas de energia nuclear, equipamentos de radiação, geradores de elétrons e sistemas de esterilização. Normalmente, os tipos de radiação cujos polímeros podem ser expostos incluem raios-X, raios- $\gamma$  e elétrons rápidos; partículas pesadas e nêutrons são menos comuns (CARLSSON; CHMELA, 1990). As radiações ionizantes podem modificar propriedades físicas, químicas e biológicas dos materiais. As mudanças mais evidentes em propriedades poliméricas são reações de cisão e reticulação (BOVEY, 1958). Muitos outros efeitos induzidos pela radiação podem ocorrer, incluindo a formação de duplas ligações, eliminação de produtos gasosos e a formação de grupos carbonílicos quando a irradiação é realizada na presença de oxigênio (CLOUGH et al., 1991).

A interação da radiação gama com os polímeros ocorre predominantemente por efeito Compton, uma vez que as macromoléculas são formadas por átomos leves (C, H, O). Neste processo, os fótons perdem energia ao interagir com elétrons periféricos do átomo resultando em elétrons livres e fótons espalhados em direções diferentes da original (CHARLESBY, 1991).

A degradação iniciada por agentes biológicos, a denominada biodegradação, está fortemente relacionada à degradação química. Os microrganismos produzem uma grande variedade de enzimas capazes de reagir com polímeros naturais e sintéticos. O ataque

enzimático em polímeros é um processo químico induzido por microrganismos, como fungos e bactérias, a fim de obter nutrientes essenciais para seu metabolismo (em que o polímero serve como fonte de carbono) (SCHNABEL, 1981).

Apesar da grande variedade de fenômenos envolvidos na degradação de polímeros, o processo em cadeia de oxidação, ou autooxidação, é sem dúvida o mais importante, e pode ser iniciado por diversos meios, principalmente por altas temperaturas e por radiação ultravioleta. O processo de oxidação ocorre por mecanismos de radical livre. É um processo auto-catalítico. Sabe-se que as ligações duplas na cadeia principal são mais ativas durante a oxidação do que as ligações duplas em cadeia lateral de grupos vinílicos. Por esta razão, os polímeros lineares estão mais sujeitos a degradação oxidativa (TAGER, 1972).

As principais reações do processo oxidativo estão representadas no esquema subsequente, incluindo as etapas de iniciação, propagação, ramificação e terminação.

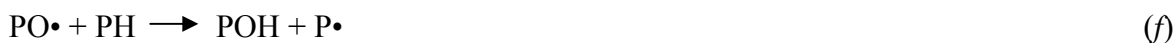
Iniciação:



Propagação:



Ramificação:



Terminação:





A etapa de iniciação ocorre pela quebra homolítica, na cadeia principal ou não, de ligações covalentes do polímero (PH) ou de impureza presente. O radical alquil obtido na iniciação (P•) reage rapidamente com o oxigênio formando um radical peróxil (POO•), que reage novamente com o polímero produzindo hidroperóxido (POOH) e outro radical alquil. Os hidroperóxidos se decompõem com facilidade (reações *d* e *e*) dando continuidade as reações oxidativas. As reações terminam com o acoplamento de dois radicais livres (reações *h-j*), porém ainda não gerando produtos realmente estáveis. Os únicos produtos estáveis das reações apresentadas são o POH (reação *f*) e o P-P (reação *h*) (GILLEN; CLOUGH, 1991; RABELLO, 2000; SCHNABEL, 1981).

As reações químicas podem resultar de vários modos de iniciação. Mecanicamente, reações iniciadas por radicais livres podem ser diferenciadas das reações iônicas e das reações envolvendo estados excitados eletronicamente como intermediários. Porém, fenomenologicamente, diferentes cinéticas são mais importantes e as reações de degradação são classificadas como: reação de passo único ou reação em cadeia. Nas reações de passo único a velocidade de reação é proporcional a velocidade de iniciação do processo; como por exemplo, reações fotoquímicas e ataque enzimático. A característica das reações em cadeia é a auto propagação do processo logo após a iniciação, como é o caso da degradação oxidativa e da despolimerização. Após uma simples reação de iniciação, a velocidade do processo é acelerada e a transformação ocorre progressivamente com o tempo de reação. Isso implica na multiplicação de processos deletérios (SCHNABEL, 1981).

Quanto às reações de degradação, surge a questão se os polímeros possuem locais preferenciais ou específicos para o ataque químico ou físico. Normalmente, isso é esperado em polímeros que possuem grupos funcionais capazes de reagir preferencialmente com o agente de degradação. Esse tipo de ataque é relevante em polímeros que contêm pequenas porções de impurezas incorporadas quimicamente nas suas ramificações ou na cadeia principal. Porém, essa explicação não corresponde aos homopolímeros lineares, cuja degradação, na maioria das vezes, ocorre de forma aleatória; pois a probabilidade de um mero se envolver numa reação química é igual para todos os outros meros da cadeia. Contudo, processos com cisões não aleatórias na cadeia têm sido observados em homopolímeros lineares submetidos à forças mecânicas. Geralmente, processos com cisões

aleatórias na cadeia são observados em degradação induzida por absorção de luz, por radiação de alta energia ou via ataque químico. Provavelmente, o maior problema referente aos processos degradativos não aleatórios, está associado às denominadas “ligações fracas”, que são ligações covalentes de estruturas susceptíveis à quebra (SCHNABEL, 1981).

Muitos fatores podem influenciar na degradação do polímero. Estes podem ser: presença de comonômeros, presença de outros polímeros (blendas), estereoregularidade, morfologia, grau de cristalinidade, difusividade de gases e aditivos, tensões mecânicas, presença de contaminantes, etc. (DE PAOLI, 1995).

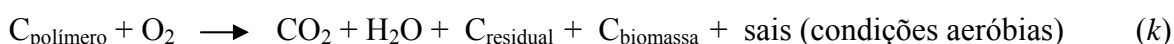
### 2.2.2 Biodegradação de polímeros

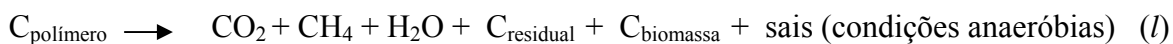
Organismos vivos tanto podem sintetizar biopolímeros como degradá-los. A natureza dos produtos de decomposição permite sua utilização pelos organismos para produção de energia e síntese de novos compostos (incluindo biopolímeros).

Geralmente, polímeros naturais e sintéticos podem ser atacados por organismos vivos tanto quimicamente quanto mecanicamente. O modo químico diz respeito à decomposição dos polímeros no trato digestivo de espécies vivas altamente organizadas, humanos, por exemplo, ou pelo ataque de microorganismos. Normalmente, enzimas estão envolvidas no modo químico de degradação biológica. O modo mecânico diz respeito ao ataque de certos mamíferos e insetos, que pode ser por necessidade nutricional ou não (SCHNABEL, 1981).

Biodegradação é a degradação catalisada por microrganismos, conduzindo a formação de dióxido de carbono, água e nova biomassa. Pode ocorrer em dois diferentes ambientes: aeróbio (na presença de oxigênio) e anaeróbio (na ausência de oxigênio). Esses, por sua vez, ainda são subdivididos em ambientes aquático e sólido (GRIMA et al., 2002).

O processo químico da biodegradação pode ser resumido da seguinte maneira:





Existem três elementos indispensáveis para a biodegradação: 1) organismos - existência de microrganismos capazes de sintetizar enzimas específicas para iniciar o processo de fragmentação; 2) ambiente - as condições ambientais são indispensáveis para o processo de biodegradação, fator mais significativo é a umidade; 3) substrato - a estrutura do polímero influencia o processo, pois estes fatores estruturais incluem ligações químicas, grau e tipo de ramificação, grau de polimerização, hidrofobicidade, estereoquímica, distribuição da massa molecular, cristalinidade e outros aspectos de morfologia (GRIMA et al., 2002).

A biodegradação ocorre em dois estágios: fragmentação e mineralização. O primeiro estágio consiste na decomposição da macromolécula em cadeias menores pelas enzimas extracelulares. O segundo estágio, a mineralização, consiste no transporte dos fragmentos oligoméricos formados para dentro das células, em que eles são bioassimilados pelos microrganismos e então mineralizados. É neste processo de mineralização que são produzidos gases, água, sais, minerais e nova biomassa (GRIMA et al., 2002). O ataque enzimático é específico em relação ao conjunto de enzima e biopolímero e o sítio de ataque no polímero. Por isso, a formação dos produtos de decomposição é específica (SCHNABEL, 1981).

As enzimas possuem diferentes mecanismos de catálise. Em biodegradação polimérica, os mecanismos são tipicamente hidrólise biológica e oxidação biológica.

#### 2.2.2.1 Degradação enzimática do PHB

Uma das propriedades excepcionais do PHB é sua biodegradabilidade em vários ambientes. Estudos sobre a biodegradação do PHB têm sido realizados por monitoração de suas propriedades e foi determinado que a velocidade de biodegradação realmente depende de muitos fatores ambientais e do próprio polímero (SUDESH et al., 2000), já mencionados na seção 2.2.2.

O PHB, como um polímero sólido com alta massa molecular, é incapaz de ser transportado através de uma parede celular. Por isso, vários microrganismos excretam

enzimas chamadas de despolimerizadores extracelulares, que hidrolisam o PHB em monômeros, dímeros e oligômeros solúveis em água, os quais são utilizados como nutrientes, sendo metabolizados em água e dióxido de carbono (YOSHIE et al., 2000).

Análises das estruturas primárias dos despolimerizadores PHB extracelulares revelaram que todas as enzimas são compostas de um domínio de ligação-substrato, um domínio catalítico e uma região conectando os dois domínios. (SUDESH, 2000; TOKIWA; CALABIA, 2004). A presença de sítios de ligação e catalítico sugere que a degradação enzimática na superfície de filmes de PHB ocorra em duas etapas. A primeira etapa é a adsorção da enzima na superfície do filme pelo domínio de ligação, e a segunda etapa é a hidrólise da cadeia polimérica em produtos solúveis em água pelo domínio catalítico. O domínio de ligação do despolimerizador adere seletivamente à fase cristalina na superfície do filme de PHB. O domínio catalítico hidrolisa predominantemente as cadeias na fase amorfa e posteriormente degrada as cadeias na fase cristalina (ABE et al., 1995). Desse modo, a velocidade de degradação enzimática de filmes de PHB diminui com o aumento da cristalinidade.

### **2.3 Efeitos da radiação gama no PHB**

A degradação por radiação de alta energia do poli(hidroxi-butilato) e seus copolímeros tem sido investigada; mas, a maioria dos estudos não são direcionados para detalhar a química da radiação fundamental desses polímeros. Contudo, uma das conclusões significativas, sempre presente nesses estudos, é que cisão na cadeia predomina sobre reticulação (CARSWELL-POMERANTZ et al., 1995).

Mitomo et al. (1994) investigaram a degradação induzida por radiação em amostras de PHB e P(HB-co-HV) contendo 20 mol% de HV (amostra denominada 20M pelos autores), isoladas da bactéria *Alcaligenes eutrophus*. As amostras foram irradiadas com raios gama de  $^{60}\text{Co}$  a 25°C no ar e no vácuo, a uma taxa de 10 kGy/h. As doses variaram de 0 a 3000 kGy. A  $T_m$  e a  $T_g$  de cada amostra irradiada foram medidas por calorimetria diferencial de varredura (DSC). A massa molecular numérica média ( $M_n$ ) foi obtida por meio de cromatografia de exclusão por tamanho (SEC).

Medidas de DSC das amostras de PHB e do copolímero 20M irradiadas no ar com várias doses de radiação mostraram a diminuição significativa da temperatura de fusão cristalina com o aumento da dose de radiação. As amostras irradiadas acima de 50 kGy apresentaram picos duplos, indicando que a degradação ocorreu de forma heterogênea nas regiões cristalinas. É considerado que a redução na  $T_m$  é causada principalmente pela destruição parcial das regiões cristalinas devido às cisões que ocorrem na cadeia com o aumento da dose de radiação.

Mitomo et al. (1994) apresentaram os valores da  $T_m$  e das entalpias de fusão das amostras irradiadas no ar e no vácuo em função da dose de radiação (Figura 3). A redução da  $T_m$  das amostras de PHB e 20M irradiadas no vácuo é bastante semelhante das irradiadas no ar até 1000 kGy. Acima dessa dose os valores da  $T_m$  para as amostras irradiadas no vácuo diminuem mais lentamente que no ar. As amostras inicialmente apresentaram um aumento nos valores das entalpias de fusão, o que indica também um aumento no grau de cristalinidade. Os autores explicam que o aumento inicial na cristalinidade é causado pela cisão aleatória na cadeia em regiões amorfas e remoção dos segmentos por volatilização parcial. O aumento da cristalinidade no polímero devido a irradiação pode ser explicado também pelos fenômenos de quimicristalização e nucleação. Quimicristalização significa o aumento no grau de cristalinidade do polímero durante a exposição a radiação como resultado da liberação (cisão) de segmentos moleculares nas regiões amorfas que foram impossibilitados de cristalizarem durante o processamento. Por apresentarem mobilidade suficiente, esses segmentos liberados podem se rearranjar em novas estruturas cristalinas, provavelmente sobre os cristais pré-existentes (RABELLO; WHITE, 1997). O termo nucleação traduz a formação de novos sítios cristalinos, causados pela destruição dos grandes cristalitos durante a irradiação.

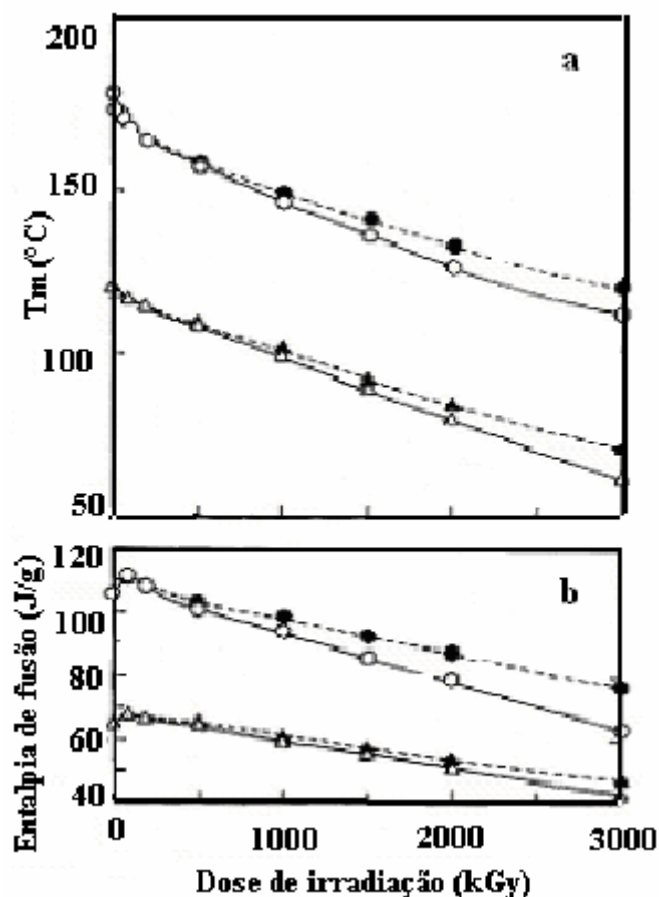


Figura 3 - a) Temperatura de fusão cristalina ( $T_m$ ) em função da dose; b) Entalpia de fusão ( $\Delta H_m$ ) do PHB e P(HB-co-HV) com 20 mol% de HV em função da dose. PHB irradiado no ar ( $\circ$ ) e no vácuo ( $\bullet$ ). P(HB-co-HV) irradiado no ar ( $\triangle$ ) e no vácuo ( $\blacktriangle$ ) (MITOMO et al., 1994).

A Figura 4 apresenta os valores de Mn (eixo-y esquerdo) e o índice de degradação  $\alpha$  (eixo-y direito) das amostras PHB e 20M irradiadas no ar e no vácuo em função da dose de radiação. O índice de degradação,  $\alpha$ , que representa o número de cisões por moléculas originais, foi calculado por meio da equação (MITOMO et al., 1994):

$$\alpha = \left( \frac{Mn_0}{Mn} \right) - 1 \quad (1)$$

em que  $Mn_0$  e  $Mn$  representam a massa molecular numérica média das amostras não irradiada e após a irradiação, respectivamente. É possível observar que os valores de  $Mn$

das duas amostras irradiadas no vácuo diminuíram mais lentamente do que as amostras irradiadas no ar quando a dose de irradiação aumenta. Os autores concluíram que a degradação no ar ocorre com cisões aleatórias de cadeias poliméricas, enquanto que no vácuo ocorrem cisão e reticulação simultaneamente. Todavia, as amostras quando irradiadas na ausência de oxigênio, não são influenciadas por processos de oxidação, os quais podem favorecer o número de cisões na cadeia. Sendo assim, cisões podem não ocorrer com predominância no vácuo, o que conduz a pensar que reticulação está ocorrendo simultaneamente, já que o grau de cisões diminuiu. Essa incerteza poderia ser solucionada se o grau de reticulação das amostras fosse obtido, mas os autores não o calcularam.

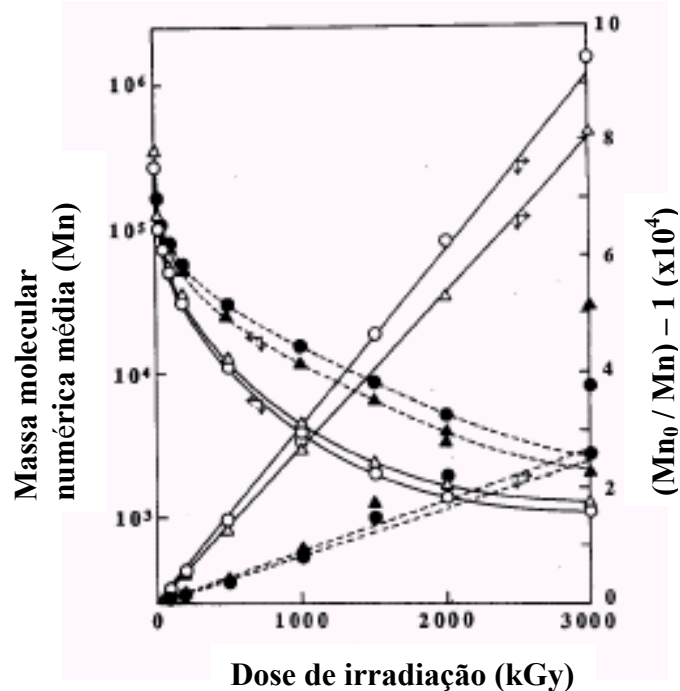
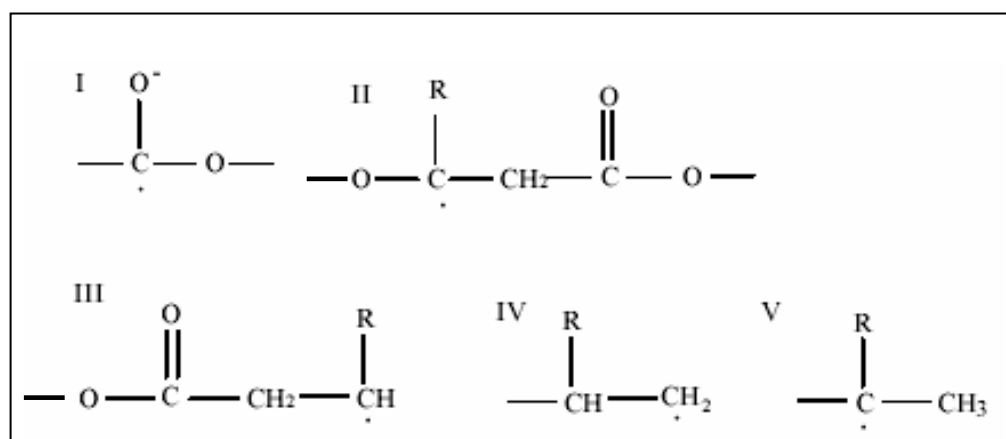


Figura 4 - Massa molar numérica média (Mn) e o índice de degradação em função da dose de irradiação. PHB irradiado no ar (○) e no vácuo (●). P(HB-co-HV) irradiado no ar (△) e no vácuo (▲) (MITOMO et al., 1994).

Carswell-Pomerantz et al. (1995) estudaram a química da radiação do PHB por meio de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE), identificando os radicais intermediários formados na radiólise gama. Foram utilizadas amostras de PHB e dois de seus copolímeros com hidroxivalerato, apresentando composições de 0,19 e 0,27 mol%. As amostras foram irradiadas em doses de até 1,5 kGy com raios gama de  $^{60}\text{Co}$  e uma taxa de dose de aproximadamente 0,8 kGy/h. As irradiações foram realizadas em temperaturas de 77, 263, 273 e 303 K. Os autores descobriram a formação de ânions e radicais neutros em 77 K e 303 K. Os radicais neutros observados indicam que as cisões na cadeia dos poliésteres ocorrem adjacentes ao grupo éster, e que hidrogênio é perdido pelo átomo de carbono adjacente ao grupo funcional carbonila. O valor G (número de eventos na cadeia principal por cada 100 eV de energia) da formação total de radicais para o PHB foi de aproximadamente 1,9 a 77 K e 1,6 a 303 K. Poli(hidroxi-butirato) e seus copolímeros com hidroxivalerato formam radicais similares quando expostos à radiação gama. A Figura 5 mostra possíveis radicais formados na radiólise do PHB.



**Figura 5 - Possíveis radicais formados na radiólise do PHB (CARSWELL-POMERANTZ, et al., 1995).**

Carswell-Pomerantz et al. (1996) observaram o rendimento de formação de produtos voláteis e novas estruturas provenientes da radiólise do PHB e dois de seus copolímeros, contendo frações molares de hidroxivalerato de 0,184 e 0,263. Os produtos voláteis foram analisados por meio de cromatografia gasosa, e mudanças na estrutura



química dos polímeros foram estudadas pela técnica de ressonância magnética nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . A maioria dos produtos voláteis observados na irradiação a temperatura ambiente foram dióxido de carbono, monóxido de carbono, metano e hidrogênio. Pequenas quantidades de etano, propano e butano também foram observadas.

A formação de dióxido de carbono e monóxido de carbono pode surgir da degradação do grupo éster da cadeia principal. A tendência de um grupo éster se degradar por radiação de alta energia, quando esta degradação é medida pelo rendimento de monóxido de carbono e dióxido de carbono, parece ser relativamente independente da natureza do éster. Isso significa que todos os ésteres degradam de forma semelhante, apresentando mecanismos similares. Quanto à formação de gás hidrogênio, pode ser um indicador da tendência do polímero sofrer reticulação. A formação de alcanos de baixa massa molecular foi o maior indício de cisão nas cadeias laterais do polímero. Carswell-Pomerantz et al. (1996) obtiveram o valor G para cisão, G(S), e reticulação, G(X), por meio de estudos das alterações nas massas moleculares numérica média (Mn) e ponderal média (Mw). Os valores G(S) e G(X) para radiólise gama do PHB a 303K foram  $1,3 \pm 0,1$  e  $0,0 \pm 0,1$  respectivamente. Os estudos de massa molecular confirmaram que cisão na cadeia é a reação predominante no PHB.

Os resultados da ressonância magnética nuclear protônica (RMN ( $^1\text{H}$ )) obtidos por Carswell-Pomerantz et al. (1996), indicaram a evidência da formação de novos grupos finais saturados, provenientes da cisão dos grupos ésteres da cadeia principal. A Tabela 1 contém possíveis grupos finais formados a partir da radiólise do PHB a 303 K.

**Tabela 1 - Possíveis grupos finais formados a partir da radiólise do PHB a 303K (CARSWELL-POMERANTZ, et al., 1996).**

Designação	Estrutura
I	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-}$
II	$(\text{CH}_3)_2\text{-CH-O-}$
III	$\text{CH}_3\text{-O-}$
IV	$\text{CH}_3\text{-CH(OH)-}$
V	$\text{OCH-CH}_2\text{-}$

Desde que as maiores ressonâncias surgiram das estruturas I e II, o rendimento de novos grupos finais representados pela estrutura I pode ser usado para obter estimativa aproximada do G(S). Carswell-Pomerantz et al. (1996), a partir do rendimento deste novo grupo final baseado no RMN ( $^1\text{H}$ ) proposto, calcularam o valor de  $G(S) = 1,4$ . Esse valor é comparável com o valor de  $G(S) = 1,3$  calculado dos estudos de massa molecular. Os autores então constataram que as principais reações que ocorrem na irradiação do PHB e seu copolímero são ionização molecular, formação de radical e excitação.

Luo e Netravali (1999), de acordo com os resultados obtidos por Carswell-Pomerantz et al. (1996), propuseram o mecanismo de cisão na cadeia, induzida por radiação gama, para o PHB, como pode ser visto na Figura 6.

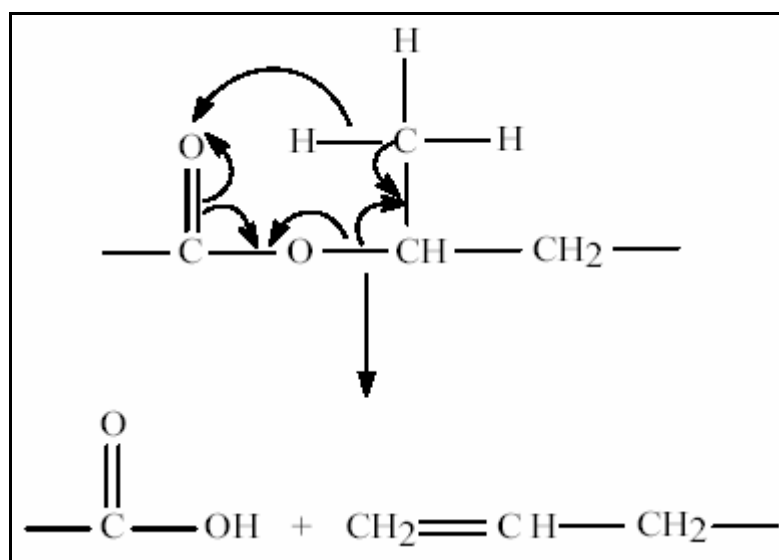


Figura 6 - Esquema de cisão na cadeia do poli(hidroxi-butilato) induzida por radiação gama (LUO; NETRAVALI, 1999).

Bibers e Kalnins (1999) examinaram a influência da radiação gama nas propriedades de duas amostras de PHB com massas moleculares distintas e sintetizadas por bactérias diferentes. A amostra denominada PHB-1 foi extraída da bactéria *Azotobacter chroococum*, apresentando uma massa molecular viscosimétrica média ( $M_v$ ) de  $1,9 \times 10^6$  g/mol. A amostra denominada PHB-2 foi extraída da bactéria *Alcaligenes eutrophus*, com  $M_v$  de  $1,45 \times 10^5$  g/mol.

As amostras na forma de pó foram irradiadas a uma taxa constante de 7,8 kGy/h no ar e no vácuo ( $10^{-3}$  atm), usando uma fonte de radiação gama de  $^{60}\text{Co}$ . A massa molecular das amostras de PHB foi determinada pelo método viscosimétrico.

A completa solubilidade das espécies irradiadas e a redução da viscosidade característica com o aumento da dose de radiação indicaram que o efeito da radiação é exclusivamente cisão na cadeia. Na dose correspondente a 25 kGy, a massa molecular do PHB-1 reduziu de  $1,90 \times 10^6$  g/mol para  $1,16 \times 10^5$  g/mol (cerca de 16 vezes); e o PHB-2 de  $1,45 \times 10^5$  g/mol para  $0,61 \times 10^5$  g/mol (redução de 2 vezes). A Figura 7 apresenta a dependência linear entre o inverso de  $M_v$  e a dose de irradiação para as amostras de PHB-1 e PHB-2 na forma de pó. Bibers e Kalnins (1999), a partir do recíproco de  $M_v$ , encontraram os coeficientes que quantificam a degradação do material, utilizando a equação:  $1/M_v = kD + 1/M_{v0}$ , em que  $k$  foi considerado o grau de degradação e  $D$  a dose de radiação. Dessa forma, foram encontrados valores correspondentes a um grau de degradação  $G$  de 5,86 cisões/100 eV, para a amostra PHB-1 e 5,94 cisões/100 eV para a amostra PHB-2. Assim, é possível prever mudança na massa molecular durante irradiação, e a irradiação gama pode ser utilizada também como um método seguro de produção de PHB com cadeias menores.

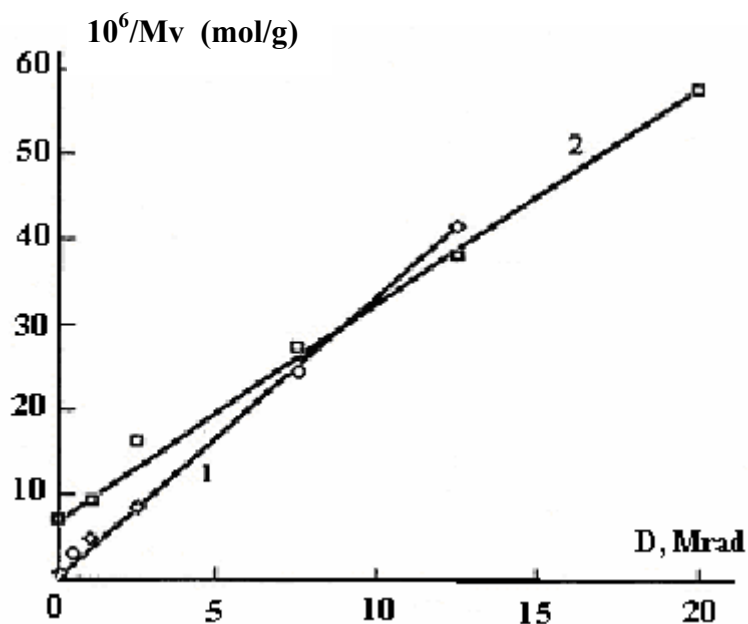
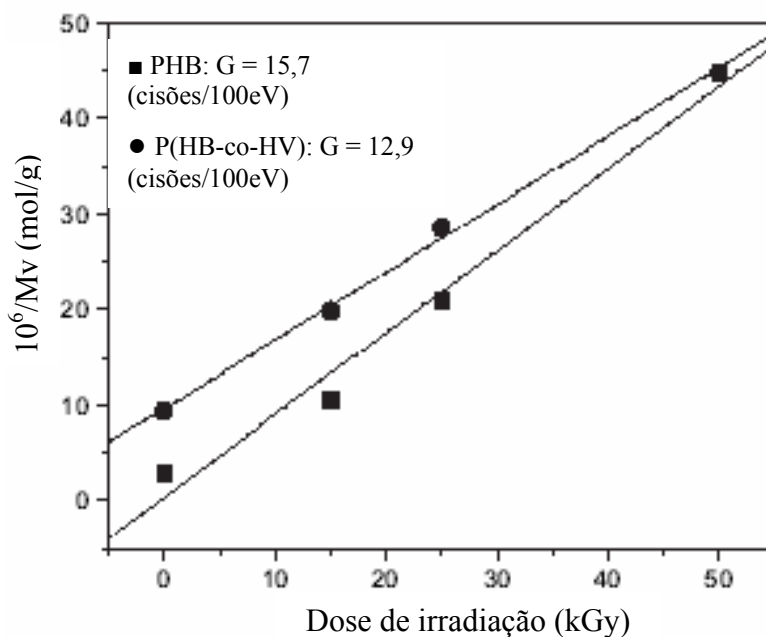


Figura 7 - Recíproco da massa molecular  $1/Mv$  como função da dose de radiação  $D$  para as amostras em pó PHB-1 (1) e PHB-2 (2) irradiadas a pressão atmosférica (BIBERS; KALNINS, 1999).

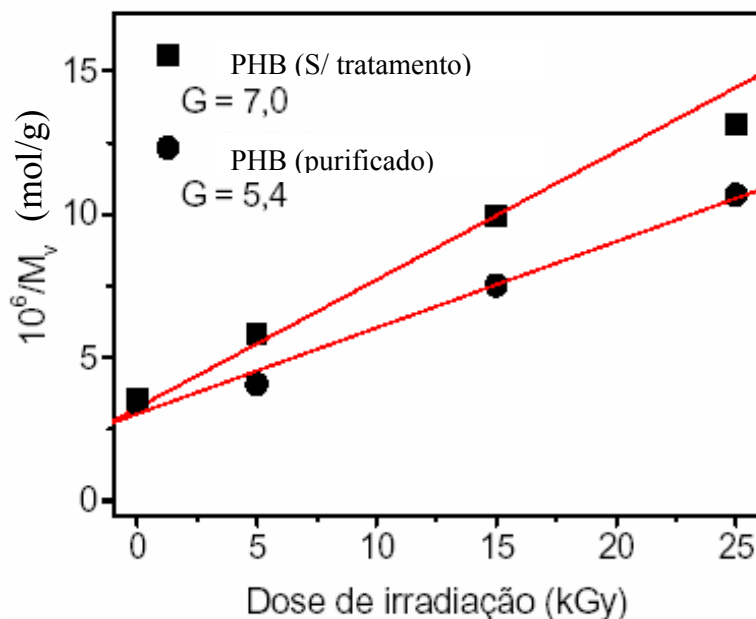
Oliveira et al. (2006) analisaram os efeitos da radiação gama nas propriedades físicas e moleculares do PHB nacional e seu copolímero, o P(HB-co-HV) contendo 6,3 mol% de HV. As amostras foram produzidas pela bactéria *Alcaligenes eutrophus* e analisadas na forma de pó. As doses de irradiação variaram de 5 a 50 kGy para estudos de viscosidade e de 100 a 300 kGy para análises térmicas e de difração de raios-X. Todas as irradiações ocorreram na presença de oxigênio e à temperatura ambiente. A massa molecular foi determinada pelo método viscosimétrico e o grau de degradação para cisões, o valor  $G(S)$ , foi obtido.

Os valores  $G$  encontrados para o PHB e o P(HB-co-HV) foram 15,7 e 12,9 cisões/100eV, respectivamente, em um intervalo de dose de 0-50 kGy, como mostra a Figura 8. Dessa forma, a radiação gama causa um grande número de cisões na cadeia principal do PHB e seu copolímero, apresentando efeito deletério. Oliveira et al. (2006), por meio das análises de viscosidade, obtiveram o parâmetro  $\alpha = 7,0$  para o PHB e  $\alpha = 2,5$  para o P(HB-co-HV) na dose de esterilização de 25 kGy.



**Figura 8 - Recíproco da massa molecular (Mv) como função da dose de radiação para o PHB e P(HB-co-HV) em pó (OLIVEIRA et al., 2006).**

Oliveira (2006) obteve valores G menores em amostras de PHB nacional, na forma de filmes purificados com hexano e filmes sem qualquer tratamento prévio, num intervalo de dose de 0–25 kGy (Figura 9). Os valores encontrados podem ser comparados com os obtidos por Bibers e Kalnins (1999) (aproximadamente 6,0 cisões/100eV). O grau de degradação dos filmes purificados com hexano foi 5,4 cisões/100eV, apresentando uma pequena redução se comparado ao grau de degradação dos filmes não purificados com valor G de 7,0 cisões/100eV. Essa diferença se deve a eliminação de pequenas impurezas que prejudicam as propriedades do polímero irradiado. Também foram obtidos os índices de degradação,  $\alpha = 2,1$  para o filme de PHB purificado e  $\alpha = 2,6$  para o filme não purificado na dose de esterilização de 25 kGy.



**Figura 9 - Recíproco da massa molecular viscosimétrica como uma função da dose para o PHB não tratado e purificado na forma de filme (OLIVEIRA, 2006).**

A discrepância entre os índices de degradação das amostras de PHB nas formas de pó e filme é explicada pelo fato de que, tipos diferentes de amostras, normalmente, apresentam resistências diferentes à degradação. Embora não seja o caso, vale ressaltar que há também uma dependência do índice de degradação com o tipo de bactéria utilizada na síntese, juntamente com todo o processo fermentativo (BIBERS; KALNINS, 1999).

As curvas de decomposição térmica para as amostras não irradiadas e irradiadas podem ser vistas na Figura 10. Segundo a derivada da curva de termogravimetria (DTG), a temperatura que registrou a perda de massa total da amostra de PHB não irradiada foi de 293 °C. Porém, a perda de massa total para a amostra irradiada foi registrada a 297 °C. É observado que a amostra irradiada apresentou uma temperatura de decomposição ligeiramente maior que a amostra não irradiada. Isso significa que as cisões provocadas pela radiação gama não afetam a temperatura de decomposição térmica do PHB.

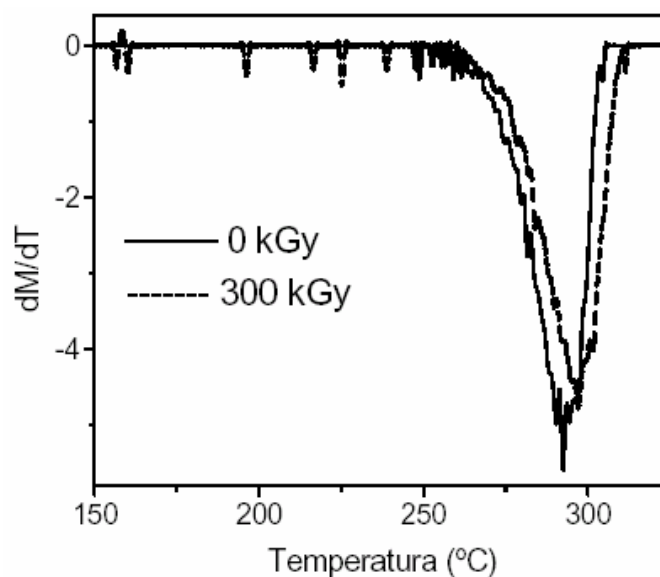
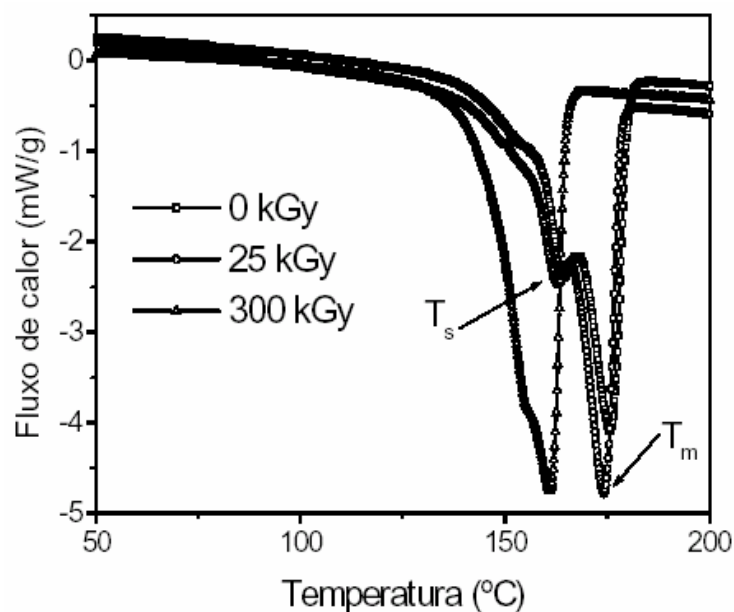


Figura 10 – Termograma DTG do PHB em 0 e 300 kGy (OLIVEIRA, 2006).

Medidas de DSC em amostras não irradiadas e irradiadas de PHB são apresentadas na Figura 11. As análises térmicas por DSC mostraram a ocorrência de picos endotérmicos duplos, tornado-se um pico simples com o aumento da dose. Existe a ocorrência de uma pequena transição antes da  $T_m$ , a qual é denominada de temperatura de transição endotérmica secundária ( $T_s$ ). O surgimento de picos múltiplos está associado à fusão parcial, recristalização e fusão novamente, ou fusão de cristais com diferentes espessuras lamelares e/ou diferentes estruturas cristalinas (GUNARATNE et al., 2004). Dessa forma, inicialmente, há uma fusão da estrutura menos estável ou em menor quantidade e, posteriormente, ocorre a fusão principal. O número de cisões na cadeia aumenta com a dose de irradiação, tornando as estruturas cristalinas diferentes cada vez mais indistinguíveis, transformando os picos duplos em picos simples.

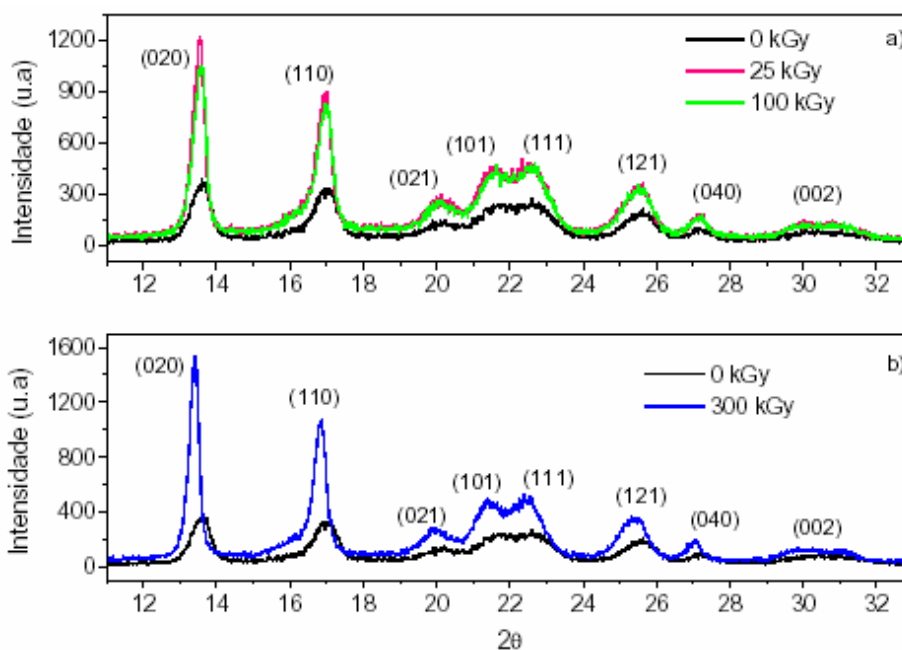


**Figura 11 - Medidas de DSC em amostras de PHB não irradiadas e irradiadas (OLIVEIRA et al., 2006).**

As amostras irradiadas apresentaram um aumento no grau de cristalinidade quando comparadas com as amostras não irradiadas. Isso foi visto nos resultados de DSC e difração de raios-X. O aumento da cristalinidade polimérica em função da dose de radiação está relacionado ao fenômeno de quimicristalização. O aumento no grau de cristalinidade do polímero poderia ser justificado também pela ocorrência do fenômeno de nucleação. Oliveira et al. (2006), comparando os difratogramas das amostras de PHB não irradiada e irradiadas em doses de 25, 100 e 300 kGy, apresentados na Figura 12, verificaram que não houve a formação de novos picos de difração com a dose de radiação, mas apenas um aumento na intensidade dos picos. Isso prova que a radiação gama aumenta o grau de cristalinidade do PHB. Foi confirmada também a predominância do fenômeno de quimicristalização; pois se o fenômeno de nucleação fosse predominante, novas simetrias cristalinas seriam observadas nos difratogramas de raios-X. Além disso, os cálculos realizados referentes ao tamanho dos cristalitos mostraram que eles aumentaram com a dose de radiação, confirmando mais uma vez a predominância da quimicristalização. Também é observado um desarranjo nos ângulos de difração das amostras irradiadas em relação às amostras não irradiadas, implicando em mudanças nas distâncias interplanares, o



que indica mudanças nos parâmetros estruturais. Oliveira et al. (2006) conseguiram determinar os valores dos parâmetros de cadeia para o PHB nacional e as alterações ocorridas com a dose de radiação absorvida. Esses valores aumentam com a dose de irradiação, podendo ser uma consequência das cisões na cadeia principal.



**Figura 12 - (a) Difratoograma de raios-X de amostras de PHB não irradiadas e irradiadas (25 e 100 kGy). (b) Difratoograma de raios-X de amostras de PHB não irradiadas e irradiadas (300 kGy) (OLIVEIRA et al., 2006).**

## 2.4 Estabilização de polímeros

### 2.4.1 Aspectos gerais

Durante o processamento ou uso final, os polímeros estão sempre sujeitos a processos de degradação (ataques físicos e/ou químicos), os quais causam alterações na estrutura molecular prejudicando suas propriedades. Desde que é inevitável não ocorrer processos degradativos, é normal que se faça uma estabilização do sistema polimérico, proporcionando uma maior vida útil ao artigo final. Estabilização, no sentido abrangente da palavra, consiste em preservar as propriedades iniciais dos polímeros sob várias influências

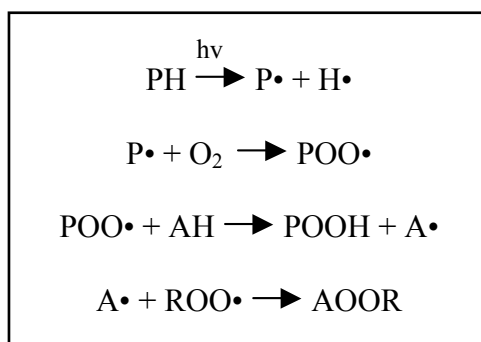
(TAGER, 1972). Geralmente, a estabilização polimérica pode ser realizada por intermédio de dois processos: modificação da estrutura polimérica, por copolimerização, ou introdução de aditivos estabilizadores, que é, sem dúvida, o método mais comum e versátil de estabilização (RABELLO, 2000). A estabilização pode ser feita em diferentes estágios pela adição de quantidade muito pequena de estabilizantes, os quais são classificados de acordo com sua forma de atuação. Eles são: antioxidantes primários (seqüestradores de radicais), antioxidantes secundários (decompositores de hidroperóxidos), desativadores de metais, absorvedores de radiação ultravioleta (UV), bloqueadores de radiação ultravioleta (filtros UV), desativadores (ou supressores) de estados excitados (*quenchers*) (ALARIQI et al., 2006). Os estabilizantes podem atuar das seguintes formas: eliminando a etapa de iniciação por determinado período, retardando o início da degradação; ou consumindo os produtos da reação de iniciação, impedindo a propagação da degradação (DE PAOLI, 1995).

A estabilização polimérica é acompanhada pela perda efetiva de estabilizantes. Essa perda pode ser tanto por consumo químico como por perda física. Por isso, é necessário que os estabilizantes possuam certos requisitos como: ter estabilidade térmica e hidrolítica, resistir à extração, possuir baixa volatilidade e apresentar pouca tendência à migração (ALARIQI et al., 2006; RABELLO, 2000).

Cada tipo de estabilizante possui um mecanismo de ação. Por isso, para se estabilizar um sistema polimérico é indispensável o conhecimento do processo de degradação e o comportamento químico dos estabilizantes a serem utilizados.

#### 2.4.2 Tipos de estabilizantes poliméricos

Os antioxidantes são substâncias que inibem ou retardam o processo oxidativo. Podem ser divididos em primários e secundários. Antioxidantes primários (seqüestradores de radicais ou *Scavengers*) são compostos que interrompem o ciclo de propagação mediante a produção de radicais livres. Os principais são os fenóis estericamente bloqueados e as aminas secundárias (CAMILLI, 1991). A Figura 13 representa a atuação genérica de um antioxidante primário (AH), considerando que PH é uma cadeia polimérica intacta e P• é um dos radicais formados.



**Figura 13 – Representação esquemática da atuação de um antioxidante primário em processo oxidativo de cadeia polimérica (RABELLO, 2000).**

O radical livre  $\text{A}\cdot$  representa uma espécie pouco reativa, com pouca tendência de reagir com o oxigênio ou retirar hidrogênio do polímero evitando reações de ramificação e introduzindo novas reações de terminação.

O antioxidante primário comercializado mais antigo é um fenol estericamente bloqueado, 2,6-di-terc-butil-4-metilfenol, o BHT. Apresenta como desvantagens uma elevada volatilidade, alta velocidade de migração em alguns polímeros e em certos casos também pode promover a descoloração.

A classe mais importante de sequestradores de radicais são as aminas estericamente bloqueadas denominadas, HALS, do inglês *Hindered Amine Light Stabilizers* (estabilizante contra luz tipo aminas com impedimento estérico). É um antioxidante primário que pode ser utilizado na estabilização de polímeros quanto à degradação à luz ultravioleta (UV), sendo eficientes na fotoxidação.

Os antioxidantes secundários (decompositores de hidroperóxidos) reagem com hidroperóxidos (compostos altamente instáveis) por um mecanismo iônico para produzir não radicais, interrompendo as reações de ramificação, as quais são responsáveis pela reticulação ou ramificação da cadeia. Tioéteres e fosfitos são os grupos mais representativos (CAMILLI, 1991). A Figura 14 mostra, a partir de reações genéricas, a decomposição de hidroperóxidos por fosfitos e sulfitos, em que  $\text{P}(\text{OR})_3$  representa um fosfito,  $\text{R}_1\text{-S-R}_2$  um sulfito e  $\text{POOH}$  representa um hidroperóxido.



Os *quencher*s são estabilizantes à luz que agem desativando o estado excitado dos grupos cromóforos e fazendo com que a molécula volte ao seu estado fundamental. Eles absorvem a energia por intermédio de reação fotoquímica, com formação de um estado excitado e decaimento por um processo não radiativo; como pode ser visto na Figura 15, em que Q é um *quencher* e PH é uma molécula polimérica.

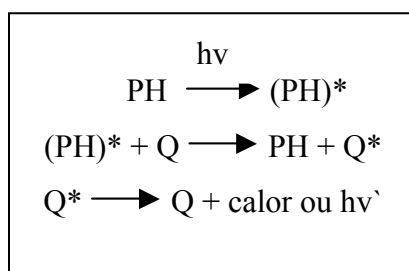


Figura 15 - Representação esquemática da atuação de um *quencher* (RABELLO, 2000).

A Figura 16 mostra como os principais estabilizantes podem interferir no processo de degradação de polímeros por diferentes caminhos. RH representa o polímero.

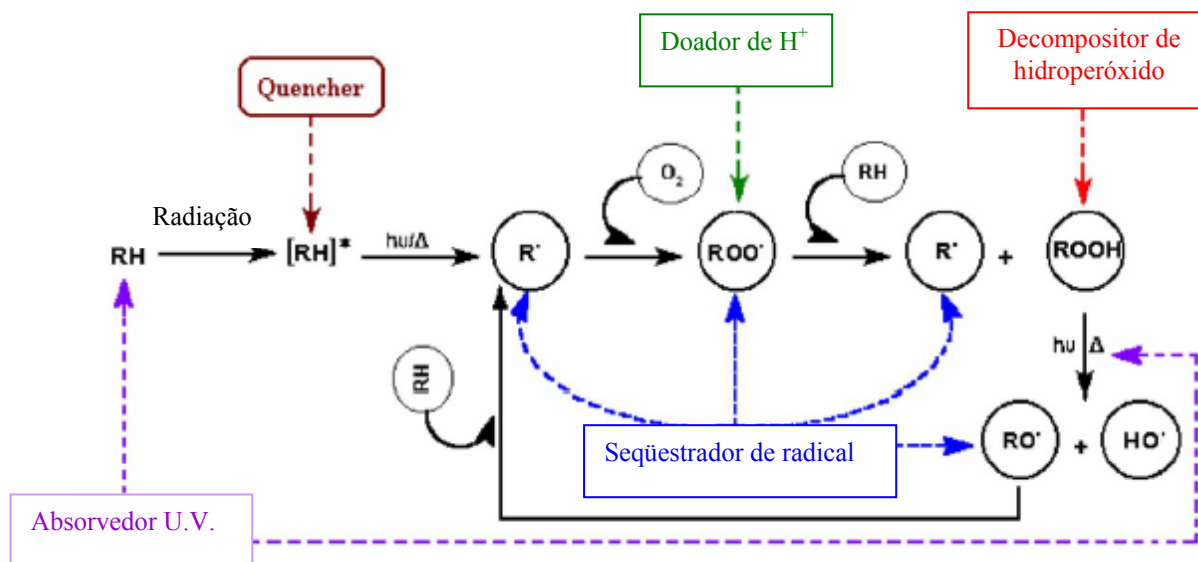


Figura 16 - Mecanismo geral de degradação e estabilização de polímeros (ALARIQI, 2006).

### 2.4.3 Estabilização radiolítica

Há um grande número de aplicações envolvendo radiação de alta energia nos polímeros. Surge, então, a necessidade de materiais poliméricos resistentes à radiação ionizante e muitos estudos têm sido realizados sobre estabilização radiolítica.

Somente com recobrimento externo é possível obter proteção contra radiação de alta energia. Porém, a introdução de alguns aditivos na massa polimérica é uma alternativa para promover certo grau de proteção radiolítica ao polímero. Os dois principais mecanismos são: (1) a captura ou desativação de íons e radicais, formados diretamente pela radiação ou pelas espécies reativas na degradação em cadeia, e (2) supressão de energia de estados excitados (CLOUGH et al., 1991). O primeiro mecanismo está relacionado aos antioxidantes e o segundo, aos *quenchers*, comentados na seção 2.4.2.

Outra alternativa é a mistura física (blenda) do polímero sensível a radiação com polímeros que sejam intrinsecamente estáveis (estes possuem geralmente grupos aromáticos), resultando em um sistema de maior resistência a radiólise. Dentre os polímeros com maior estabilidade à radiação estão as poli(imidas) aromáticas, que resistem até 100 MGy (dose absorvida) sem alteração das propriedades mecânicas ou elétricas (SCHNABEL, 1981). Uma outra forma de estabilização radiolítica é a incorporação de grupos aromáticos nas cadeias poliméricas, por meio de copolimerização, tornando o polímero mais resistente à radiação ionizante (CLOUGH et al., 1991). Esta última não apresenta praticidade do ponto de vista industrial, por envolver custos elevados.

Mudanças na composição ou processamento, reduzindo a cristalinidade ou rigidez da matriz polimérica, podem ter também uma influência importante na resistência do material à degradação induzida por radiação. Isso tem sido realizado pelo uso de certos copolímeros e plastificantes, e alterações nas condições de processamento (CLOUGH et al., 1991).

Na presença de oxigênio, em taxas de dose moderadas ( $\leq 10 \text{ kGy h}^{-1}$ ), a maioria dos macroradicais se convertem quantitativamente em radicais peróxidos. Um caminho alternativo para a estabilização radiolítica consiste em introduzir um aditivo, não para impedir a formação de radical ou capturá-lo, mas para acelerar o decaimento desses radicais. Esses aditivos atuam como plastificantes (ou mobilizadores), aumentando o

volume livre na região amorfa do polímero. Assim, uma rápida auto-reação de radicais peróxidos minimizará a formação de hidroperóxidos por intermédio de suas reações de propagação; reduzindo os níveis de hidroperóxidos instáveis que são grandes responsáveis pela degradação polimérica (CARLSSON; CHMELA, 1990).

A proteção radiolítica também pode ser conferida pela adição de agentes nucleantes desenvolvidos originalmente para controlar a morfologia de poliolefinas, devido sua estrutura aromática que oferece ótima proteção a sistemas poliméricos. A Figura 17 apresenta estruturas de forma geral de agentes nucleantes, em que  $R_1$  e  $R_2$  são grupos alquil ou hidrogênio e  $R_3$  grupos alquil (CARLSSON; CHMELA, 1990).

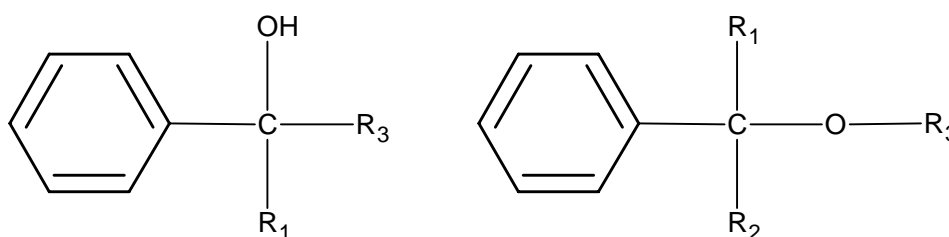


Figura 17 - Estruturas gerais de agentes nucleantes (CARLSSON; CHMELA, 1990).

São diversos os trabalhos na literatura utilizando aditivos estabilizantes nas formulações de inúmeros polímeros. Aquino e Araújo (2004) estudaram a estabilização radiolítica do poli(metacrilato de metila), PMMA, usando aditivos comerciais que são empregados na estabilização termo oxidativa de polímeros. Os resultados mostraram que um dos aditivos utilizados, do tipo HALS, usado na concentração de 0,3% da massa total do polímero, conferiu uma excelente proteção radiolítica ao PMMA de aproximadamente 92%. Isso significou uma redução do valor G de 0,61 para 0,05, no intervalo de dose de 20 a 50 kGy.

Alariqi et al. (2006) promoveram a estabilização de poliolefinas biomédicas, usando misturas sinérgicas de estabilizantes oligoméricos. Foram utilizadas misturas de antioxidantes primários e secundários aprovados para aplicações em contato com alimentos. O copolímero etileno – propileno (EP) foi misturado com dois estabilizantes tipo amina com impedimento estérico, HAS (do inglês *Hindered Amine Stabilizers*), sendo um HAS terciário e o outro secundário oligomérico, um fenol estericamente impedido e

um organofosfito. Foram preparados filmes do copolímero contendo várias combinações dos estabilizantes, mantendo a proporção entre copolímero e estabilizante de 99,6:0,4 e a proporção entre os estabilizantes de 1:1. A eficiência de estabilização foi estudada em termos de propriedades de tração, descoloração e morfologia de superfície. Alariqi et al. (2006) descobriram que combinações de HASs terciário e secundário como antioxidantes primários (seqüestradores de radicais) com organofosfito como antioxidante secundário (decompositor de hidroperóxidos) exibiram efeito de estabilização sinérgico. Desse modo, a estabilização radiolítica de poliolefinas pode ser melhorada por misturas de diferentes estabilizantes que protegem por meio de diferentes mecanismos em vários estágios simultaneamente.



### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Amostras

As amostras de PHB foram fornecidas pela PHB Industrial S.A. (série 99/2005) na forma de pó. Foram preparados filmes, contendo 0,8 g de PHB, de aproximadamente  $0,080 \pm 0,004$  mm de espessura, utilizando a técnica de derrame de solução polimérica com evaporação lenta do solvente clorofórmio, em placas de Petri de 12 cm de diâmetro.

A purificação das amostras foi realizada pela técnica de reprecipitação, em que o polímero dissolvido em clorofórmio foi reprecipitado pela adição de hexano na proporção de 1:1. A solução com o hexano ficou em repouso aproximadamente 24 horas, para a separação do conteúdo purificado (precipitado) e as impurezas (fase líquida). A parte precipitada foi seca à temperatura ambiente e depois utilizada para preparação dos filmes.

Na primeira etapa, os filmes contiveram inicialmente 0,5% (da concentração de massa total do polímero) de cinco estabilizantes: um desativador de estados excitados (*quencher*), designado aditivo A; três seqüestradores de radicais do tipo HAS (*Hindered Amine Stabilizers*), designados B, C e D, e um antioxidante, o aditivo E. Esses filmes foram irradiados com uma única dose de 25 kGy para a seleção do melhor estabilizante a ser utilizado. Na segunda etapa, novos filmes poliméricos foram preparados contendo o estabilizante selecionado, cujas concentrações (%m/m) foram 0,3; 0,5; 0,7 e 1,0. Nesse caso, os filmes foram irradiados em doses que variaram de 15 a 50 kGy.

#### 3.2 Irradiação das amostras

Os filmes de PHB, utilizados na primeira etapa dos experimentos, foram irradiados usando uma fonte de  $^{60}\text{Co}$  do tipo Gammacell, com taxa de dose de 3,5 kGy/h, no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN-CNEN/SP). Na segunda etapa, os filmes foram irradiados no laboratório Gamalab (Gamalab-DEN-UFPE) em uma fonte de  $^{60}\text{Co}$  do tipo Gammacell, com taxa de dose de 10,26 kGy/h. As irradiações foram realizadas a temperatura ambiente e no ar atmosférico. As doses de irradiação foram de 15, 25 35 e 50 kGy para as análises de viscosidade; 35 kGy para as de espectroscopia; 25 e 50 kGy para

os testes de biodegradação e 25, 50 e 100 kGy para o ensaio de difração de raios-X. Todos os ensaios utilizando amostras irradiadas foram comparados com amostras não irradiadas.

### 3.3 Análises viscosimétricas

As análises viscosimétricas de soluções das amostras irradiadas e não irradiadas, da primeira etapa dos experimentos (etapa de seleção do aditivo), foram realizadas em um viscosímetro capilar tipo Ostwald, nº 50, imerso em banho termostático, na temperatura de  $30 \pm 0,1$  °C. Esse experimento permitiu determinar a viscosidade relativa, a qual foi obtida pela relação:

$$\eta_{rel} = \frac{t}{t_0} \quad (2)$$

sendo t e  $t_0$ , respectivamente, os tempos de escoamento da solução e do solvente. Essa, por sua vez, forneceu a viscosidade específica:

$$\eta_{sp} = \eta_{rel} - 1 \quad (3)$$

e a viscosidade reduzida:

$$\eta_{red} = \frac{\eta_{sp}}{C} \quad (4)$$

em que C representa a concentração da solução. Assim, foi obtida a viscosidade intrínseca,  $[\eta]$ , pela extrapolação da viscosidade reduzida a concentração zero, conforme a relação de Huggins (ROSEN, 1993):

$$\eta_{red} = [\eta] + K_H [\eta]^2 C \quad (5)$$

sendo  $K_H$  uma constante de proporcionalidade (constante de Huggins) próxima de 0,4 para diversos sistemas polímero-solvente. Para se obter a viscosidade intrínseca foi utilizado o método D-otimizado, o qual considera dois níveis de concentração, que são os extremos do gráfico (PIMENTEL; NETO, 1996). Assim, foram consideradas duas concentrações (idênticas) na extremidade inferior e duas na extremidade superior do gráfico.

A viscosidade intrínseca de soluções poliméricas bem diluídas fornece o valor da massa molecular viscosimétrica média,  $M_v$ , por meio da relação de Mark-Houwink (AKITA et al., 1976):

$$[\eta] = K(M_v)^a \quad (6)$$

com as constantes  $K = 1,18 \cdot 10^{-4}(\text{g/dL})$  e  $a = 0,78$  para o sistema PHB-clorofórmio-30°C (AKITA et al., 1976).

Devido ao grande número de amostras a serem analisadas e considerando o tempo gasto para dissolução do polímero (sete dias em agitação constante a 60 °C), na segunda etapa a viscosidade intrínseca foi determinada a partir de um simples ponto (solução de concentração 0,1 g/dL), conforme a equação (QIAN et al., 1997):

$$[\eta] = \frac{\eta_{sp}}{C \eta_{rel}^{0,5}} \quad (7)$$

que é apropriada para sistemas polímero-solvente com a constante de Huggins maior que 0,5 (QIAN et al., 1997). As análises foram realizadas em duplicatas.

Para polímeros cujo efeito predominante é a cisão da cadeia principal, como no caso do PHB, as alterações na massa molecular viscosimétrica média refletem o grau de degradação molecular (valor G), o qual representa, neste caso, o número de cisões na cadeia principal por cada 100 eV de energia absorvida. O valor G pode ser determinado pela relação matemática (ARAÚJO et al., 1998):

$$\frac{10^6}{Mv} = \frac{10^6}{Mv_0} + \frac{0,104GD}{\Gamma(a+2)^{1/a}} \quad (8)$$

sendo  $Mv_0$  e  $Mv$  as massas moleculares viscosimétricas médias antes e depois da irradiação, e  $D$  a dose em kGy. Esta equação é válida para sistemas poliméricos com distribuição de massa molecular (DMM) tipo Flory ( $Mw/Mn \approx 2$ ), também conhecida como “aleatória ou mais provável” (SCHNABEL, 1981).

Deduzindo a eq. 8 para o sistema em estudo, PHB, com  $a = 0,78$ , tem-se:

$$\frac{10^6}{Mv} = \frac{10^6}{Mv_0} + 0,0548GD \quad (9)$$

O valor  $G$  foi facilmente obtido pela declividade da reta do gráfico do recíproco da massa molecular em função da dose de irradiação.

A partir dos valores  $G$  (cisões) obtidos das amostras aditivadas ( $G_a$ ) e das amostras sem aditivo, controle, ( $G_c$ ) foi calculado o grau de proteção,  $P$ , que representa a redução no número de cisões promovida pelo aditivo radioprotetor, mediante a equação (ARAÚJO, 1993):

$$P(\%) = \frac{G_c - G_a}{G_c} \quad (10)$$

O índice de degradação,  $\alpha$ , que representa o número de cisões por moléculas iniciais, foi determinado a partir das massas moleculares viscosimétricas médias das amostras irradiadas ( $Mv$ ) e das amostras não irradiadas ( $Mv_0$ ), de acordo com a equação 11 (GUILLET, 1985):

$$\alpha = \left( \frac{Mv_0}{Mv} \right) - 1 \quad (11)$$

### 3.4 Ensaios espectroscópicos

As análises de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) foram realizadas por meio de um espectrômetro Bruker IFS-66, na resolução de 1,29  $\text{cm}^{-1}$ , em um intervalo de frequência de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , utilizando a técnica de pastilhas de KBr. As análises de ressonância magnética nuclear protônica (RMN ( $^1\text{H}$ )) foram realizadas em um espectrômetro Varian Unit Plus 300, operando em 300,13 MHz e pulsos de 45°. O solvente utilizado foi clorofórmio deuterado.

### 3.5 Difração de raios-X

Os ensaios de difração de raios-X foram realizados por meio de um difratômetro Rigaku, modelo D/max-2200, com radiação  $K\alpha$  Cu ( $\lambda = 1,54$ ), taxa de varredura de 1°/s, voltagem de 40 kV e corrente de 20 mA. O ângulo foi de  $2\theta$  com varredura de 5 a 50°. O grau de cristalinidade foi calculado de acordo com o método desenvolvido por Ruland. O método consiste da separação do halo amorfo (*background* amorfo) da área dos picos difratados, utilizando a seguinte equação (CANEVAROLO, 2004):

$$C\% = \left[ \frac{I_c}{(I_c + KI_a)} \right] \times 100 \quad (12)$$

em que  $C\%$  é a fração cristalina,  $I_c$  é o resultado da integração dos picos de difração,  $I_a$  é a área do halo amorfo (calculada a partir da aproximação gaussiana de todo o difratograma) e  $K$  a constante de proporcionalidade característica de cada polímero (CANEVAROLO, 2004). O valor da constante  $K$ , determinada pela função  $I_c = f(I_a)$ , para o PHB é  $1,06 \pm 0,08$  (SKRBIC; DIVJAKOVIC, 1996).

### 3.6 Teste de biodegradação aeróbia

O estudo da biodegradação dos filmes de PHB irradiados a 25 e 50 kGy e do filme não irradiado foi realizado por meio do teste de Sturm, o qual quantifica a degradação do

biopolímero a partir da produção de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), conforme a norma ASTM 5209-92.

O sistema do teste de Sturm consiste em três erlenmeyers interligados por pequenos tubos, como ilustra a Figura 18. Foram montados quatro sistemas: um para cada filme analisado (0, 25 e 50 kGy) e um apenas com o húmus (branco-controle). O primeiro erlenmeyer continha 200 mL de solução de hidróxido de bário  $[\text{Ba}(\text{OH})_2]$  0,05N para evitar a entrada de  $\text{CO}_2$  no sistema. O filme em estudo foi adicionado, em cada sistema (exceto o do branco-controle), no segundo erlenmeyer, contendo 20g de húmus e 250 mL de água destilada. O terceiro erlenmeyer continha também solução de  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ , porém para captar o  $\text{CO}_2$  oriundo do processo de biodegradação, com concentração que variou entre 0,13N e 0,25N, dependendo da velocidade de biodegradação do polímero. A aeração do sistema foi promovida por um compressor de ar atmosférico, com vazão de 4 L/min, conectado ao primeiro erlenmeyer, em que o  $\text{CO}_2$  contido no ar era retido pelo  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ . O processo de biodegradação ocorre no 2º erlenmeyer onde está contido o filme. A superfície polimérica é atacada e colonizada pelos microrganismos, formando uma mistura complexa de microrganismos, água e substâncias poliméricas extracelulares (FLEMMING, 1998). O  $\text{CO}_2$  produzido pela respiração celular foi coletado no 3º erlenmeyer contendo solução de  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ , formando carbonato de bário ( $\text{BaCO}_3$ ). A massa de  $\text{CO}_2$  foi determinada por meio de titulação com  $\text{HCl}$  0,03N. O reator (2º erlenmeyer) foi mantido a temperatura ambiente.

O monitoramento da produção de  $\text{CO}_2$  foi realizado a cada 24 horas, a duração do ensaio para a amostra não irradiada foi de 107 dias e para as irradiadas 69 dias.

O meio inoculante utilizado foi húmus proveniente de excremento de anelídeos, com 50% de umidade.

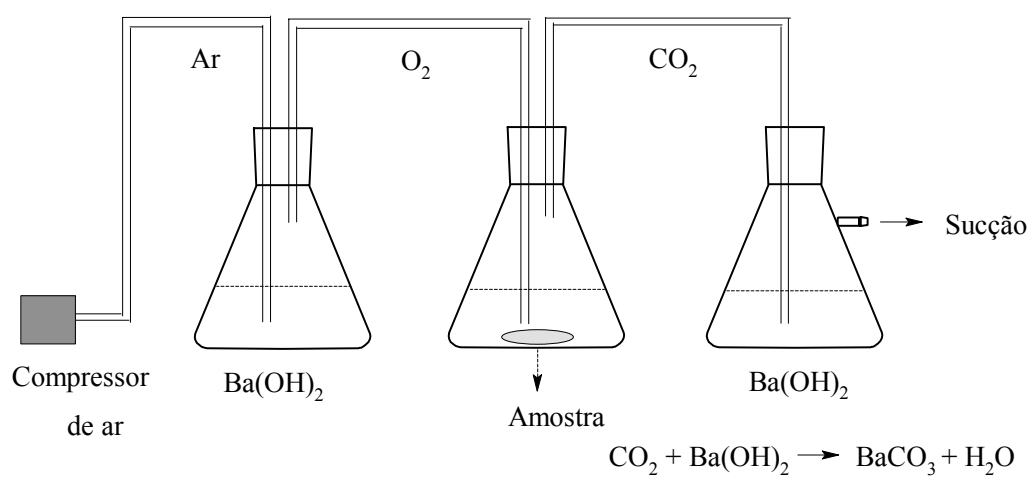


Figura 18 – Esquema do teste de Sturm.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Análises viscosimétricas

A Tabela 2 apresenta os resultados de massa molecular viscosimétrica média, antes e após a irradiação gama na dose de 25 kGy, dos filmes de PHB aditivados e do PHB sem aditivo (controle). Como mencionado na seção 3.3, a viscosidade intrínseca nessa etapa foi determinada a partir da relação de Huggins, utilizando o método D-otimizado (PIMENTEL; NETO, 1996). Os tempos de efluxo das soluções e os gráficos da viscosidade reduzida em função da concentração estão nos Apêndices 1 e 2 respectivamente. O critério analisado para seleção do aditivo foram as mudanças na massa molecular. O estabilizante selecionado foi o aditivo E, o Irgafós 168<sup>®</sup> (estrutura representada na Figura 29), o qual proporcionou a menor redução de  $M_v$  (%) após a irradiação.

**Tabela 2 - Resultados da seleção do aditivo.**

Aditivo (0,5% m/m)	Tipo	$M_v$ (g/mol) em 0 kGy	$M_v$ (g/mol) em 25 kGy	Redução de $M_v$ (%)
A	<i>Quencher</i>	101300	75937	25,04
B	HAS	95183	75564	20,61
C	HAS	62039	53114	14,39
D	HAS	49044	40968	16,47
E	Antioxidante secundário	66095	59002	10,73
Controle		61769	29772	51,80

A redução percentual da massa molecular foi obtida pela relação:  $1 - (M_v/M_{v_0})$ . O PHB sem aditivo irradiado na dose de 25 kGy (dose de esterilização) apresentou uma



redução de 51,80% da sua massa molecular. Bibers e Kalnins (1999) irradiaram filmes de PHB na dose de 25 kGy e obtiveram uma redução percentual da massa molecular de 57,93%. Oliveira (2006) também irradiou filmes de PHB, obtendo 67,90% de redução da massa molecular. As diferenças nos percentuais de redução de massa molecular podem ser associadas aos diferentes tipos de processos fermentativos e do processo de purificação do PHB.

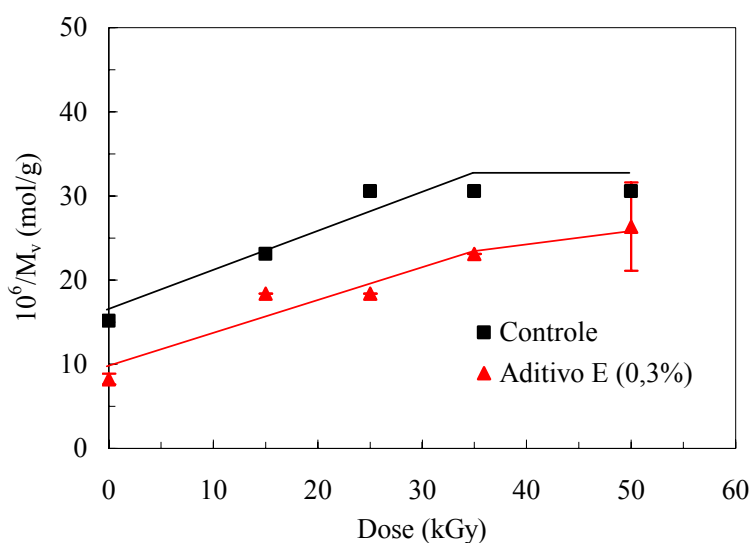
A Tabela 3 mostra os inversos da massa molecular viscosimétrica média em várias doses de irradiação para o controle e os filmes de PHB com o aditivo E em concentrações diferentes. Nesse caso, a viscosidade intrínseca foi obtida por meio da equação proposta por Qian (eq.7) e os tempos de efluxo estão no Apêndice 3. A partir desses dados foi determinada a concentração na qual o aditivo ofereceu maior proteção radiolítica ao sistema polimérico.

**Tabela 3 – Valores de  $10^6/M_v$  do controle e dos filmes de PHB com o aditivo E em diferentes concentrações, no intervalo de dose de 0 - 50 kGy.**

Dose (kGy)	Controle $10^6/M_v$ (mol/g)	Aditivo E (% m/m)			
		0,3% $10^6/M_v$ (mol/g)	0,5% $10^6/M_v$ (mol/g)	0,7% $10^6/M_v$ (mol/g)	1,0% $10^6/M_v$ (mol/g)
0	15,18	8,25	15,18	11,95	12,87
15	23,09	18,39	16,65	18,39	18,41
25	30,55	18,39	16,65	20,50	23,09
35	30,55	23,09	18,39	23,09	23,09
50	30,55	26,36	30,55	26,36	30,55

As Figuras 19-22 apresentam a variação do inverso da massa molecular viscosimétrica média em função da dose de irradiação, do controle e do PHB com o aditivo E nas concentrações (%m/m): 0,3; 0,5; 0,7 e 1,0. Observa-se que o inverso da massa molecular aumenta com a dose de irradiação, indicando diminuição da massa molecular, devido as cisões na cadeia principal induzidas pela radiação gama. Esse resultado é menos significativo quando o PHB é aditivado, especialmente com o aditivo na concentração de

0,5%. Entretanto, os resultados são semelhantes na dose de 50 kGy. Isso significa que o aditivo E não apresenta eficiência na estabilização radiolítica do PHB quando irradiado a 50 kGy, indicando um consumo acentuado do aditivo nesta quantidade de energia absorvida. O decréscimo da massa molecular com a dose de irradiação é linear entre 0 e 35 kGy, característica típica do fenômeno de cisão aleatória da cadeia principal, que resulta em uma distribuição de massa molecular do tipo Flory. O valor G foi obtido da declividade da reta correspondente a esse intervalo de dose. Os parâmetros da regressão linear estão no Apêndice 4.



**Figura 19 – Estabilização radiolítica promovida pelo aditivo E no PHB na concentração de 0,3% (m/m).**

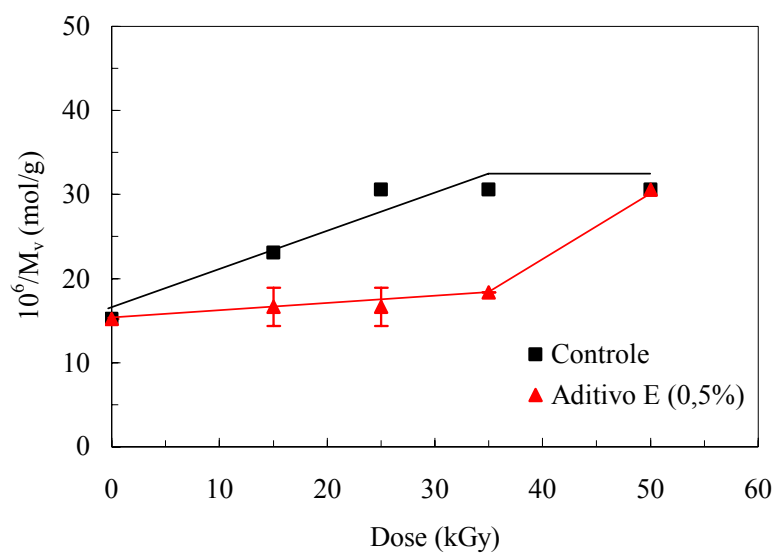


Figura 20 – Estabilização radiolítica promovida pelo aditivo E no PHB na concentração de 0,5% (m/m).

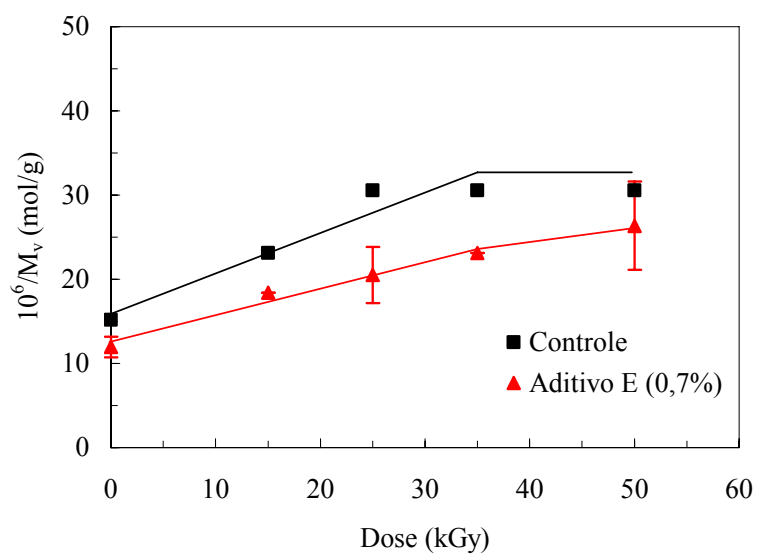
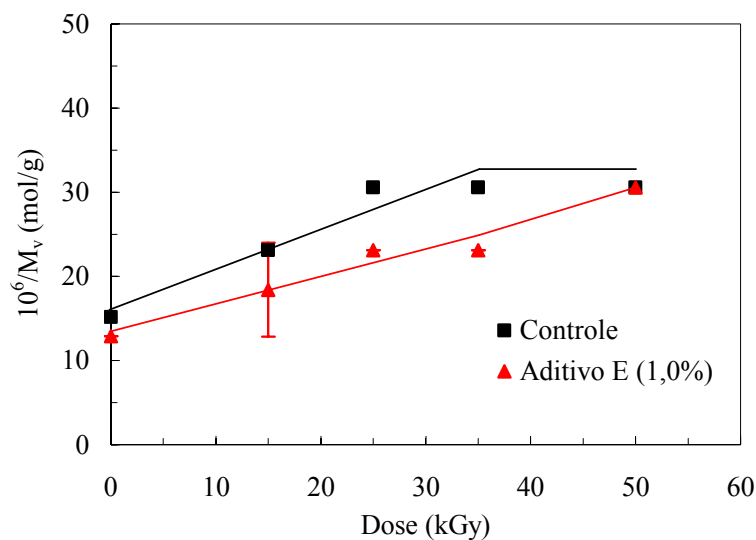


Figura 21 – Estabilização radiolítica promovida pelo aditivo E no PHB na concentração de 0,7% (m/m).



**Figura 22 - Estabilização radiolítica promovida pelo aditivo E no PHB na concentração de 1,0% (m/m).**

A Tabela 4 mostra os valores G e os graus de proteção promovidos pelo aditivo E (nas diferentes concentrações) ao PHB no intervalo de 0 a 35 kGy. Nota-se que o aditivo na concentração de 0,5% promoveu uma diminuição considerável no valor G do PHB de 8,6 para 1,5 cisões/100 eV. O principal mecanismo de ação do aditivo E está na decomposição de espécies reativas como hidroperóxidos para não formarem radicais, impedindo o processo de degradação, como pode ser visto na Figura 14. De acordo com os dados da tabela 4, o aditivo E na concentração de 0,5% conferiu ao PHB um grau de proteção de 82,6%, a maior radio-proteção molecular. A concentração do aditivo acima de 0,5% no sistema diminui a proteção radiolítica. Acima dessa concentração, o aditivo age de forma similar a impureza no sistema polimérico.

Tabela 4 – Valor G e grau de proteção (%) promovido ao PHB pelo aditivo E.

Aditivo E		
Concentração do aditivo (%)	Valor G (0 – 35 kGy)	Proteção (%)
0,3	7,3	15,1
0,5	1,5	82,6
0,7	5,7	33,7
1,0	5,7	33,7
Valor G do controle: 8,6		

A Figura 23 mostra os índices de degradação,  $\alpha$ , do PHB sem aditivo e com o aditivo E 0,5% (m/m) em diferentes doses de irradiação. Observa-se que o PHB aditivado apresenta menos cisões por moléculas iniciais que o PHB sem aditivo (controle), exceto na dose de 50 kGy, na qual o aditivo não oferece mais ação radio-protetora.

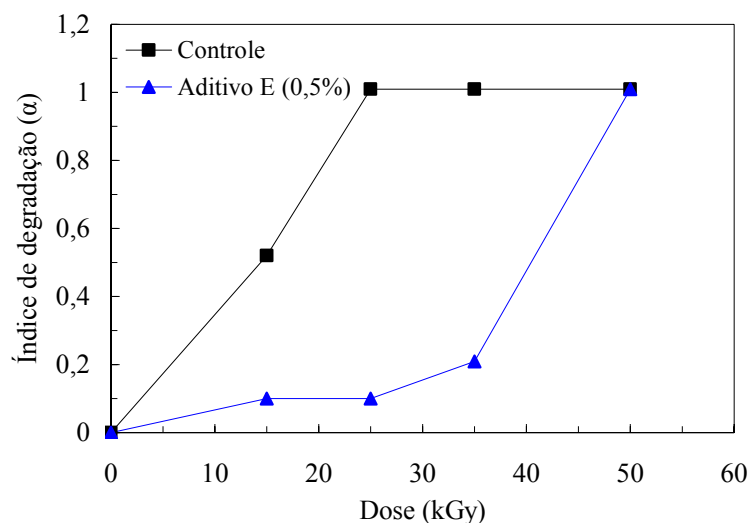


Figura 23 – Índice de degradação  $\alpha$  do controle e do PHB com o aditivo E 0,5% (m/m), em diferentes doses de irradiação.

As análises a seguir (espectroscópicas, difração de raios-X e biodegradação) foram todas realizadas com filmes de PHB sem aditivo e com o aditivo E na concentração de

0,5% (m/m), por ter sido o aditivo que proporcionou uma maior estabilização radiolítica ao PHB, frente aos demais.

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

Os espectros de FT-IR do PHB sem aditivo não irradiado e irradiado a 35 kGy são apresentados na Figura 24. O espectro do PHB apresenta bandas típicas como a de estiramento da carbonila (C=O) em  $1712\text{ cm}^{-1}$ , a banda de deformação angular simétrica no plano do grupo  $\text{CH}_3$  em  $1380\text{ cm}^{-1}$  e a de estiramento da ligação C-C em  $978\text{ cm}^{-1}$ . Há também, a banda da conformação helicoidal das cadeias em  $1230\text{ cm}^{-1}$  e as bandas em  $1134$  e  $1187\text{ cm}^{-1}$ , atribuídas aos estiramentos simétrico e assimétrico do grupo C-O-C, respectivamente. Nota-se uma banda em  $3433\text{ cm}^{-1}$  atribuída ao estiramento harmônico do grupo C=O. As bandas vibracionais foram as mesmas encontradas por Vogelsanger et al. (2003).

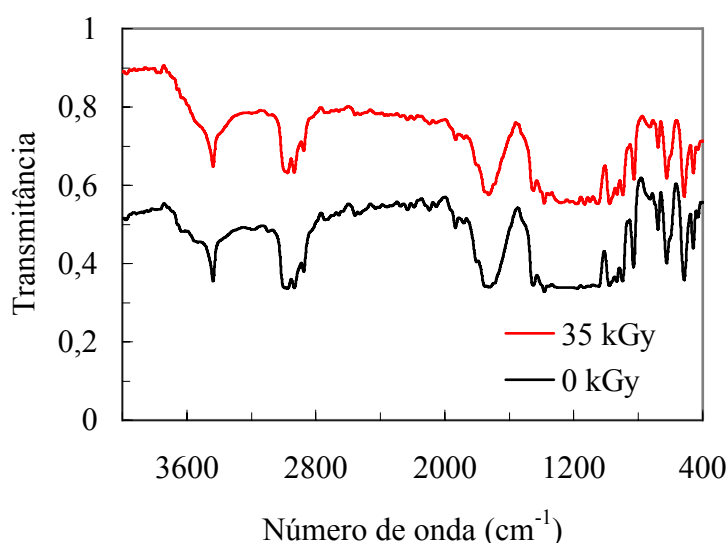
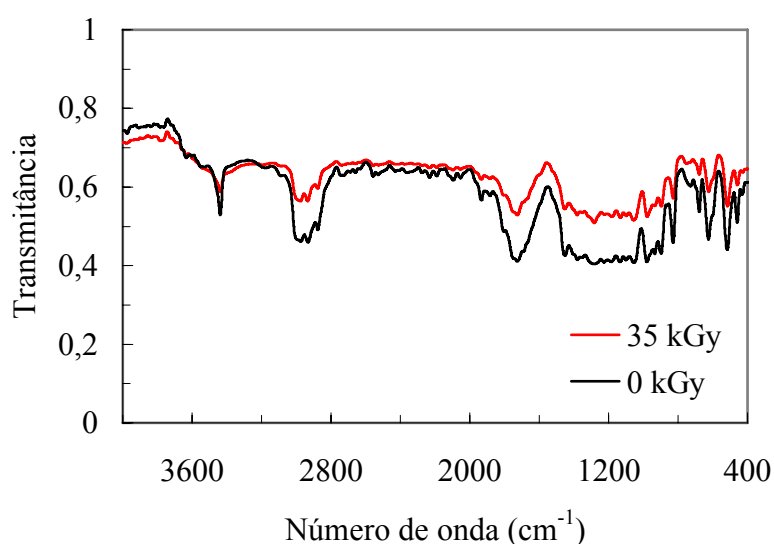


Figura 24 – Espectros de FT-IR do PHB sem aditivo antes e após a irradiação na dose de 35 kGy.

A Figura 25 mostra os espectros de FT-IR do PHB aditivado não irradiado e irradiado na dose de 35 kGy. Observa-se que as bandas de absorção características do polímero permanecem e que não há o surgimento de novas bandas, em relação ao espectro

do PHB sem aditivo (Figura 24). Isso comprova que o aditivo E, na concentração de 0,5% (m/m), não modifica a estrutura molecular do PHB. Aquino e Araújo (2004) realizaram análises de FT-IR em amostras de PMMA puro e aditivado (aditivo do tipo HALS na concentração de 0,3% da massa total do sistema). Eles não observaram alterações nas bandas de absorção típicas do polímero, nem o surgimento de bandas referentes a outros grupos funcionais que não fazem parte da estrutura do PMMA, com a introdução do aditivo. Foi concluído que o aditivo tipo HALS, na concentração de 0,3% (m/m), não promove ligações químicas com o PMMA e, conseqüentemente, não modifica a estrutura molecular do polímero.



**Figura 25 – Espectros de FT-IR do PHB aditivado antes e após a irradiação na dose de 35 kGy.**

Carswell-Pomerantz et al. (1996) constataram que a degradação radiolítica do PHB ocorre por meio de cisões no grupo éster com liberação de CO e CO<sub>2</sub>. Portanto, seria interessante obter o índice de carbonila, a fim de comparar a degradação radiolítica do PHB sem aditivo e aditivado. O índice de carbonila é calculado a partir da razão entre a área do pico da carbonila (1712 cm<sup>-1</sup>) e a área de um pico invariável com a irradiação, o qual foi sugerido por Oliveira (2006) ser o pico da conformação helicoidal das cadeias (1230 cm<sup>-1</sup>). Entretanto, não foi possível o cálculo da área do pico em 1230 cm<sup>-1</sup>, pois está localizado

numa faixa do espectro em que existem outras bandas de intensidades semelhantes e muito próximas uma das outras e, por conseguinte, o índice de carbonila não pode ser obtido. Oliveira (2006) realizou ensaios de FT-IR em amostras de PHB não irradiada e irradiada na dose de 300 kGy e obteve o índice de carbonila. Era esperada uma redução do índice de carbonila induzida pela irradiação. Contudo, os resultados mostraram que a banda da carbonila permaneceu praticamente inalterada com a irradiação. Foi suposto que processos oxidativos aconteceram simultaneamente à liberação dos gases.

### 4.3 Ressonância Magnética Nuclear Protônica (RMN ( $^1\text{H}$ ))

A Figura 26 apresenta os espectros de RMN do PHB sem aditivo não irradiado e irradiado a 35 kGy. Observa-se no espectro da amostra não irradiada um duplete em 1,3 ppm que é atribuído ao grupo metil, um multiplete em 2,6 ppm referente ao grupo metileno e um multiplete em 5,3 ppm atribuído a ressonância do grupo metino. Jan et al. (1996), Carswell-Pomerantz et al. (1996) e Oliveira (2006) também observaram esses mesmos sinais no espectro de RMN ( $^1\text{H}$ ) do PHB. Esses são os sinais de RMN ( $^1\text{H}$ ) característicos do PHB. Os sinais em torno de 3,6 ppm estão associados a impurezas. Esses sinais desaparecem no espectro da amostra irradiada. Sugere-se que a radiação gama tenha destruído essas moléculas. O espectro apresenta um sinal em 1,6 ppm devido à água, que permanece mesmo após a irradiação do polímero. Jan et al. (1996) também observaram um sinal em 1,6 ppm atribuído à água. Carswell-Pomerantz et al. (1996) observaram sinais nessa região em amostras de PHB irradiadas com dose de até 1400 kGy.

Não foram observadas novas estruturas no espectro do PHB irradiado em relação ao espectro do não irradiado. Luo e Netravali (1999) não observaram novas estruturas no espectro de RMN ( $^1\text{H}$ ) do P(HB-co-HV) irradiado na dose de 250 kGy. Os autores concluíram que a concentração das novas estruturas formadas seria muito baixa para ser observada ou essas estruturas estariam ausentes.

Carswell-Pomerantz et al. (1996) e Oliveira (2006) observaram novas ressonâncias em 3,4 e 4,2 ppm após irradiação do PHB. Todavia, Carswell-Pomerantz et al. (1996) utilizaram dose de irradiação de 1400 kGy e Oliveira (2006) irradiou o PHB na dose de 300 kGy. Segundo os autores, o deslocamento químico em 3,4 ppm está associado a um



grupo final éster ou éter metílico ( $\text{CH}_3\text{-O}$ ), devido a cisões na cadeia lateral do polímero. Já o deslocamento em 4,2 ppm, deve-se a formação de grupos terminais alcoólicos decorrentes das cisões no grupo éster da cadeia principal, com perda de monóxido de carbono. Carswell-Pomerantz et al. (1996), utilizando uma dose de irradiação de 1400 kGy, observaram ainda o surgimento de outras estruturas terminais como  $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-}$  e  $(\text{CH}_3)_2\text{-CH-O-}$ .

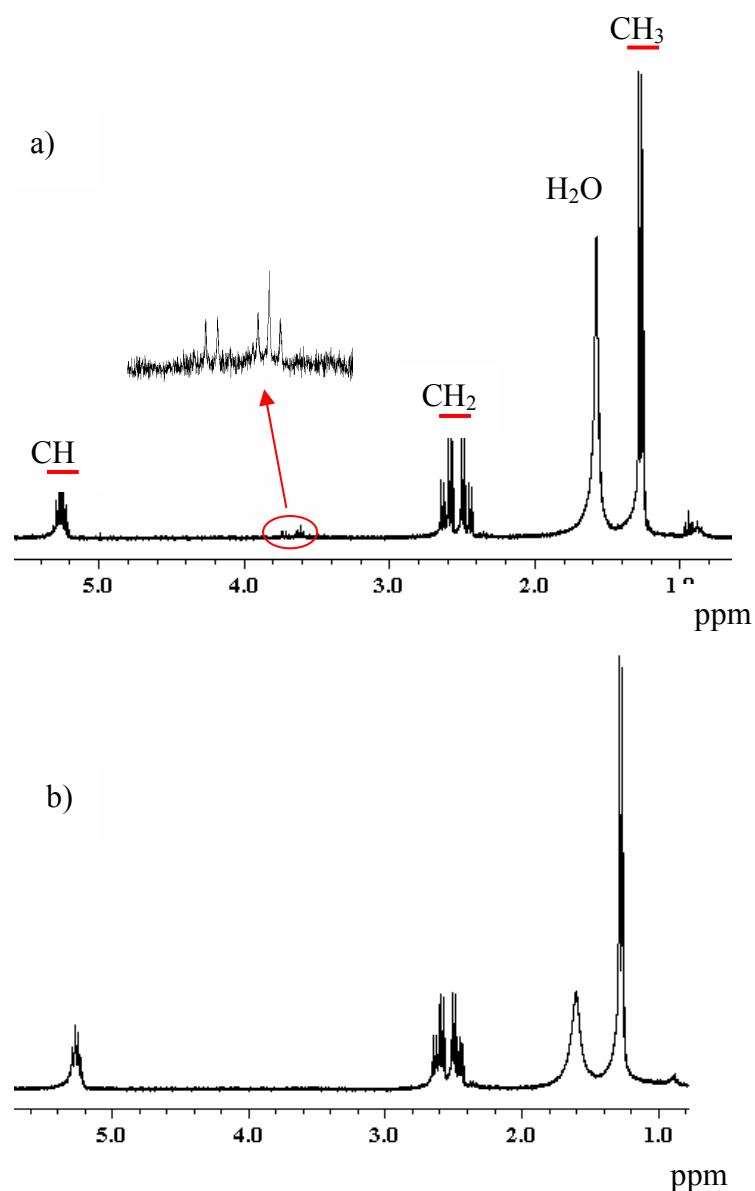


Figura 26 – Espectro de RMN ( $^1\text{H}$ ) do PHB sem aditivo: a) não irradiado, b) irradiado na dose de 35 kGy.

A Figura 27 apresenta os espectros de RMN ( $^1\text{H}$ ) do PHB aditivado não irradiado e irradiado na dose de 35 kGy. Nota-se que, as ressonâncias em torno de 3,6 ppm que aparecem no espectro do PHB sem aditivo e não irradiado (Figura 26), atribuídas as impurezas (apesar do material ter sido purificado), não aparecem no espectro do PHB aditivado e não irradiado. Isso apenas indicou que um material foi mais bem purificado do que o outro. No espectro da amostra aditivada e irradiada surge um pequeno multipeto em 3,4 ppm que pode ser associado a estruturas terminais alcoólicas provenientes da decomposição de hidroperóxidos macromoleculares pelo estabilizante (observar a atuação de um antioxidante secundário na Figura 14).

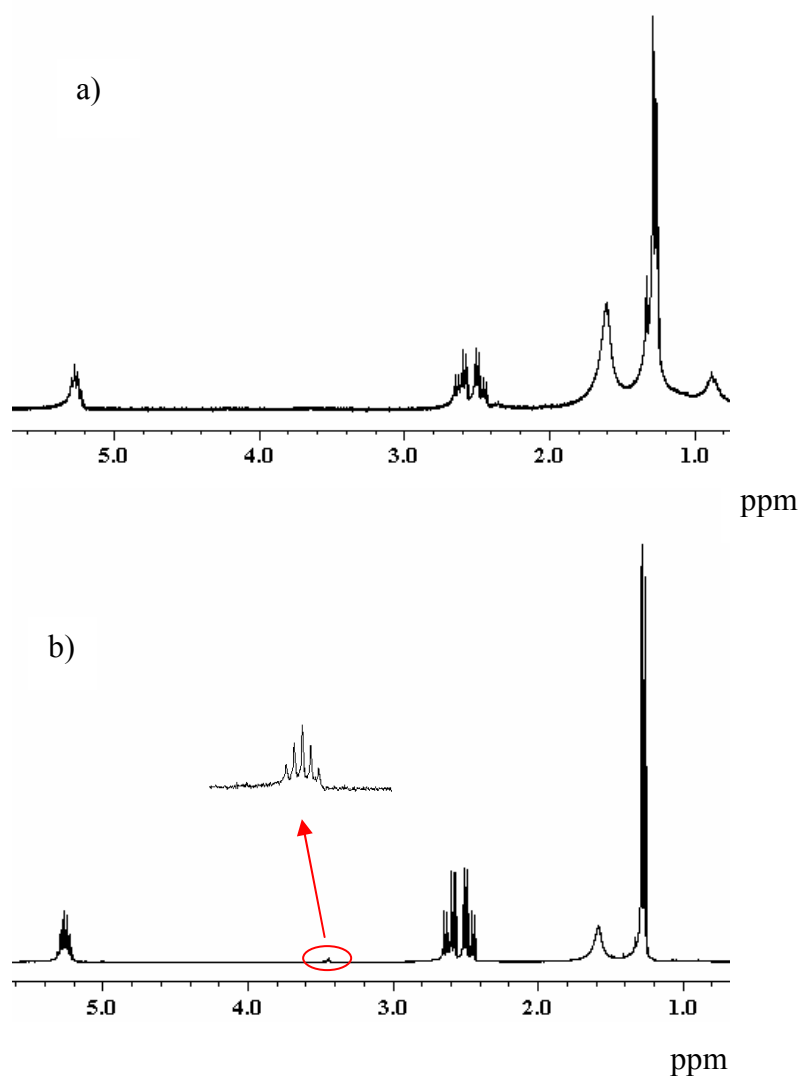


Figura 27 – Espectro de RMN ( $^1\text{H}$ ) do PHB aditivado: a) não irradiado, b) irradiado na dose de 35 kGy.

O Apêndice 5 apresenta os espectros de RMN ( $^1\text{H}$ ) de 0 a 8 ppm dos filmes de PHB controle e aditivado, não irradiados e irradiados na dose de 35 kGy.

As Figuras 28 e 29 mostram a estrutura e o espectro de RMN ( $^1\text{H}$ ) do aditivo E, respectivamente. Considerando o aditivo puro e com massa molecular constante (649 g/mol), pode-se fazer uma análise quantitativa por meio de seu espectro de RMN. Os sinais de RMN entre 1,0 e 1,6 ppm (Figura 29) são atribuídos aos grupos metil do aditivo. A razão entre a área total da região de 1,0 a 1,6 ppm e a quantidade de prótons dos 18 grupos metil presentes na molécula do aditivo é 1,56, que corresponde a um próton. O mesmo cálculo foi realizado utilizando a área dos sinais correspondentes aos 9 grupos metino presentes na molécula do aditivo, que surgem no espectro entre 7,0 e 7,5 ppm. A razão é 1,52, equivalente a um próton. A razão entre 1,56 e 1,52 é 1,03, valor próximo de 1 que seria o ideal. Esses resultados indicam a possibilidade de uma análise quantitativa quando se conhece o número e tipo de prótons que contribuem para um dado sinal ou grupo de sinais em um espectro de RMN. Os espectros de RMN ( $^1\text{H}$ ) do PHB sem aditivo e aditivado, não irradiados e irradiados a 35 kGy, foram analisados seguindo o mesmo princípio.

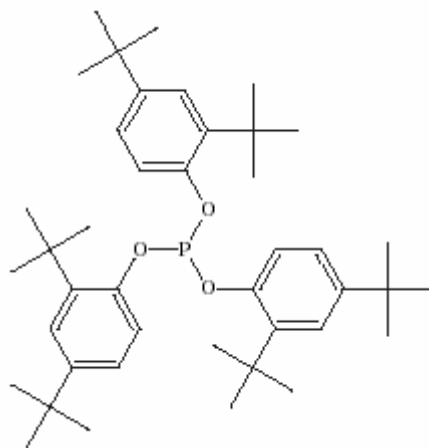
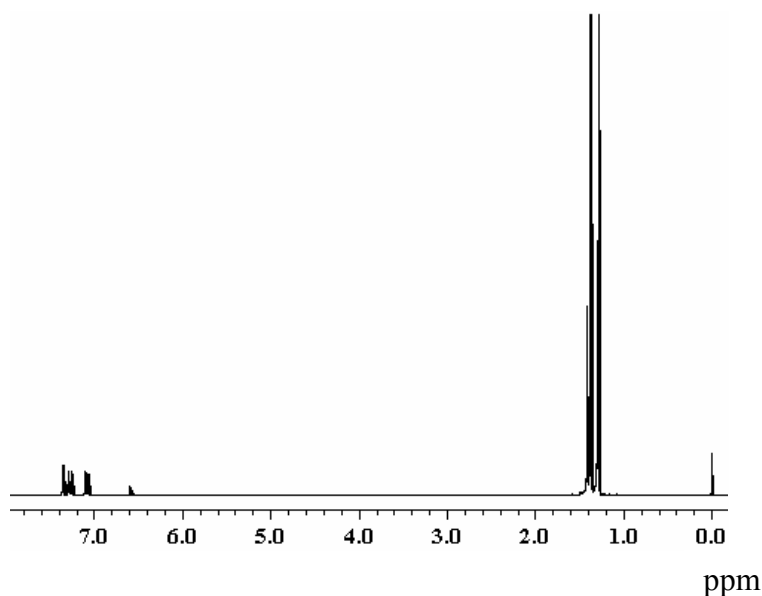
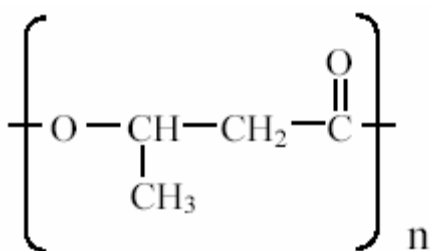


Figura 28 – Estrutura do aditivo E (Irgafós 168<sup>®</sup>)



**Figura 29 – Espectro de RMN ( $^1\text{H}$ ) do aditivo E.**

A Figura 30 apresenta a estrutura do PHB. Observa-se que para cada mero existe um grupo metil (3 prótons), um grupo metileno (2 prótons) e um metino (1 próton). Assim, a proporção entre os prótons é de 3:2:1. As áreas foram normalizadas, sendo divididas pela quantidade de prótons de cada grupo.



**Figura 30 - Estrutura do PHB**

Foi calculada a área do sinal de RMN para apenas um próton de cada grupo (da mesma maneira que foi calculada para o aditivo). Se a proporção entre os grupos ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}$ ) é de 1:1, a razão entre as áreas normalizadas dos sinais correspondentes a seus prótons deve ser igual a 1, como mostra o exemplo a seguir:

$$\frac{A_{\text{CH}_3}/3}{A_{\text{CH}_2}/2} = 1$$

A Tabela 5 mostra as razões entre as áreas normalizadas dos sinais de RMN dos grupos CH, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>. Nota-se que, para todas as amostras as razões entre as áreas dos sinais referentes aos grupos CH<sub>2</sub> e CH são próximas de 1 e os valores diferem apenas na segunda casa decimal. Isso significa que não houve grandes alterações nas concentrações dos grupos metileno e metino nas amostras sem aditivo e aditivada, tanto não irradiadas quanto irradiadas. Os resultados apresentados na segunda coluna da Tabela 5 demonstram que a concentração do grupo metil diminui em relação à concentração do grupo metileno quando o PHB é irradiado. Os valores apresentados na terceira coluna da Tabela 5 também indicam uma diminuição da concentração do grupo metil, em relação ao grupo metino, após a irradiação do polímero. Observa-se que a concentração de CH<sub>3</sub> é maior no sistema aditivado sem exposição à radiação. A razão entre as áreas associadas aos grupos CH<sub>3</sub> e CH<sub>2</sub> no PHB sem aditivo em 0 kGy é 1,37. Esse valor aumenta para 2,17 quando o sistema é aditivado. Isso se deve aos grupos CH<sub>3</sub> presentes na molécula do aditivo, os quais podem ser constatados no espectro de RMN (<sup>1</sup>H) do aditivo (Figura 29), em que é apresentado um grande duplete em torno de 1,58 ppm. É observado também que após a irradiação, a concentração de CH<sub>3</sub> diminui de forma mais drástica no sistema aditivado. Então, é possível dizer que o CH<sub>3</sub> que está reagindo é do aditivo, e o CH<sub>3</sub> do polímero, de certa forma, está sendo protegido.

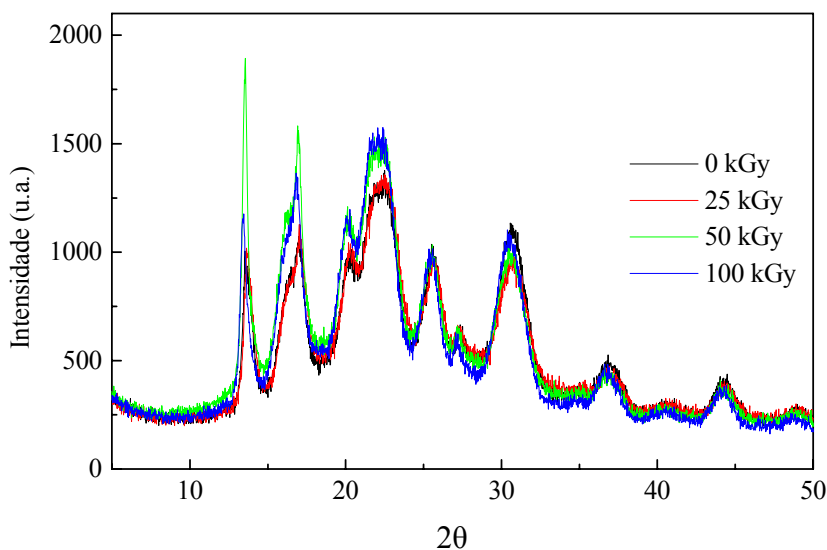
**Tabela 5 – Razões entre as áreas dos sinais de RMN dos grupos CH, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>**

Amostras de PHB	Razões entre as áreas		
	CH/ CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> / CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> / CH
Sem aditivo 0 kGy	0,97	1,37	1,41
Sem aditivo 35 kGy	0,95	1,25	1,31
Aditivada 0 kGy	0,94	2,17	2,31
Aditivada 35 kGy	0,97	1,08	1,11

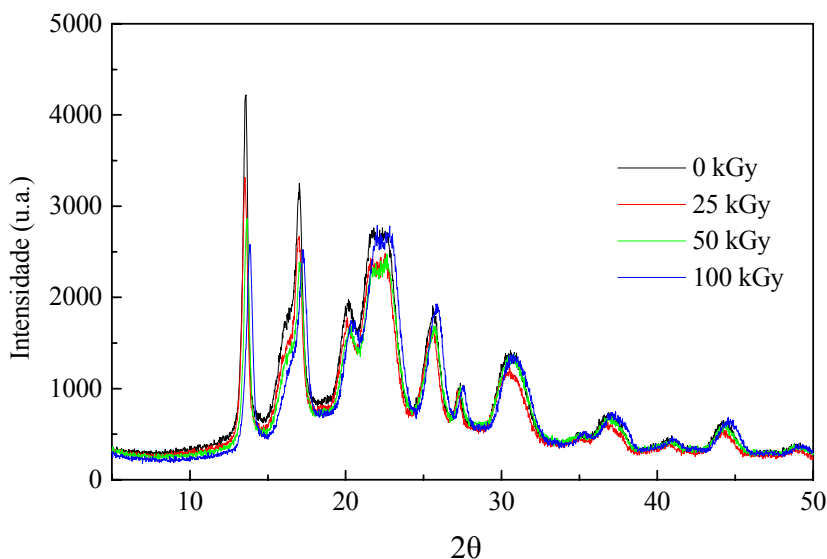
#### 4.4 Difração de raios-X (DRX)

Medidas de difração de raios-X de filmes de PHB sem aditivo não irradiado e irradiados nas doses de 25, 50 e 100 kGy são apresentados na Figura 31. Observa-se que a irradiação gama não dá origem a novos picos de difração nem causa o desaparecimento de picos antigos. Desse modo, constata-se que não houve reorganizações macromoleculares devido às cisões induzidas pela irradiação ao ponto de formar novas simetrias cristalinas. A irradiação gama também não provoca o surgimento de novas simetrias cristalinas nos filmes de PHB aditivados, cujas medidas de difração de raios-X são encontradas na Figura 32.

Comparando-se os difratogramas do PHB sem aditivo e aditivado (Figuras 31 e 32), nota-se que o aditivo E, na concentração de 0,5% (m/m), não causou modificações de posições e formas dos picos de difração do PHB.



**Figura 31 – Difratogramas de raios-X de filmes de PHB sem aditivo não irradiado e irradiados nas doses de 25, 50 e 100 kGy.**



**Figura 32 - Difratogramas de raios-X de filmes de PHB aditivados não irradiado e irradiados nas doses de 25, 50 e 100 kGy.**

A Tabela 6 mostra os graus de cristalinidade, calculados utilizando a eq. 12, para os filmes de PHB sem aditivo e aditivados, não irradiados e irradiados nas doses de 25, 50 e 100 kGy. Os parâmetros do cálculo da fração cristalina e a aproximação gaussiana para a subtração do halo amorfo nos difratogramas de todas as amostras estão nos Apêndices 6 e 7, respectivamente. Obteve-se dificuldade para a determinação da área do halo amorfo a partir da aproximação gaussiana de todo o difratograma. Foram realizados ajustes matemáticos por software. Todavia, sempre resultava da gaussiana abranger fração cristalina. Então, foi proposto construir um gráfico apenas com a fração amorfa. Para isso, foram plotados no gráfico os valores inicial e final da intensidade de cada pico de difração e a interpolação entre eles. A curva obtida foi ajustada com a função gaussiana para a determinação da área do halo amorfo.

Conforme os dados da Tabela 6, o grau de cristalinidade dos filmes de PHB, tanto sem aditivo quanto aditivado, permaneceu praticamente constante com a irradiação gama. Esse resultado diverge dos resultados obtidos por Mitomo et al. (1994). Os autores verificaram um aumento no grau de cristalinidade do PHB com doses de irradiação gama

até 100 kGy. Em doses maiores (acima de 100 kGy) o grau de cristalinidade diminuiu bruscamente.

Pesquisas com outros polímeros biodegradáveis apresentam diferentes resultados; como o de Bhat et al. (2005), que verificaram uma redução do grau de cristalinidade de filmes de PVA com o aumento da dose de irradiação gama (de 0 a 200 kGy). Loo et al. (2004) determinaram o grau de cristalinidade de filmes de PLLA irradiados com feixe de elétrons em doses que variaram de 50 a 500 kGy. Os resultados indicaram uma redução do grau de cristalinidade nas doses iniciais, até 300 kGy. Acima de 300 kGy o grau de cristalinidade aumentou. Kang et al. (2007) investigaram a degradação da quitosana com radiação gama na presença de peróxido de hidrogênio e observaram modificações na cristalinidade do biopolímero induzidas pela irradiação. A cristalinidade da quitosana diminuiu extremamente com a degradação radiolítica.

Comparando-se os valores do grau de cristalinidade dos filmes de PHB sem aditivo e aditivado não irradiados, observa-se que a introdução do aditivo E no sistema polimérico não causou modificações relevantes na cristalinidade do PHB. O grau de cristalinidade dos filmes aditivados também permaneceu quase constante após a irradiação gama.

**Tabela 6 – Grau de cristalinidade de filmes de PHB sem aditivo e aditivados em diferentes doses de irradiação.**

Grau de cristalinidade (C%)		
Dose (kGy)	Sem aditivo	Aditivado
0	73,11	75,22
25	71,09	75,32
50	73,08	74,71
100	72,79	77,58

#### 4.5 Teste de biodegradação aeróbia

A Figura 33 apresenta a massa de CO<sub>2</sub>, em miligramas, coletada em função do tempo, em dias, para os filmes de PHB sem aditivo irradiados a 25 e 50 kGy e não



irradiado; sendo descontada a massa de CO<sub>2</sub> produzida por materiais orgânicos já existentes no húmus (branco-controle). Para o filme não irradiado, inicialmente, há uma pequena formação de CO<sub>2</sub> (4,4 mg), permanecendo estável até o 11º dia. A partir do 12º dia, há um aumento acentuado da velocidade de formação do CO<sub>2</sub>. Depois a biodegradação se torna lenta novamente, aumentando de forma muito brusca no período de 29 a 32 dias, em que apresenta uma velocidade média de biodegradação, medida em miligramas de CO<sub>2</sub> por dia, de 1400,19 mg/dia. Após esse período o polímero adquire uma fase em que ocorre uma estabilização do processo durante 30 dias. A produção de CO<sub>2</sub> reinicia apenas no 62º dia, prosseguindo lentamente.

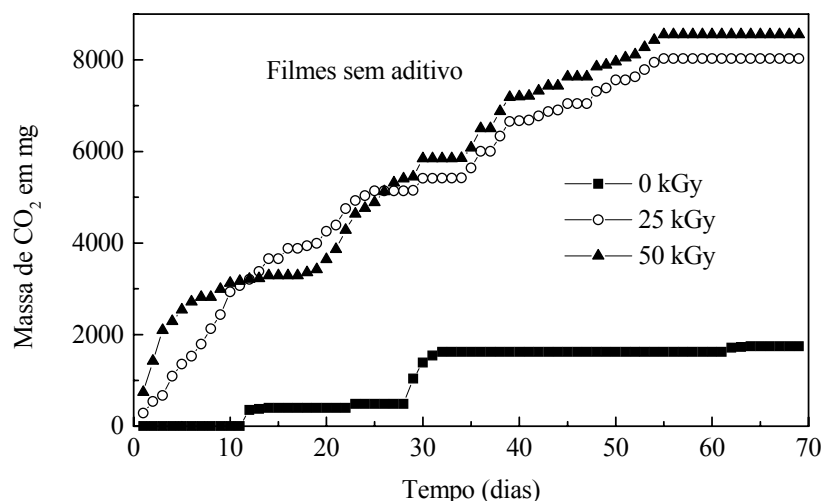
As curvas dos filmes irradiados, na Figura 33, mostram que a produção de CO<sub>2</sub> cresce constantemente desde o primeiro dia do experimento, diminuindo um pouco no período entre o 14º ao 17º dia. A partir do 18º dia, a velocidade de biodegradação aumenta novamente, até o 55º dia, em que ocorre uma estabilização da produção de CO<sub>2</sub>.

A biodegradação ocorre em dois estágios: fragmentação e mineralização. O primeiro estágio consiste na decomposição da macromolécula em cadeias menores pelas enzimas extracelulares. O segundo estágio, a mineralização, consiste no transporte dos fragmentos oligoméricos formados para dentro das células, em que eles são bioassimilados pelos microrganismos e então mineralizados. É neste processo que são produzidos gases, água, minerais, sais e nova biomassa. Nota-se que há uma diferença significativa no processo de biodegradação dos filmes de PHB não irradiado e os irradiados (Figura 33). Esse resultado era esperado, pois o processo de irradiação causa cisões na cadeia principal do polímero. Assim, possivelmente, um dos estágios da biodegradação, a fragmentação, em que as enzimas extracelulares decompõem a macromolécula em cadeias menores, foi acelerado. Por isso, os filmes irradiados apresentaram maior velocidade de biodegradação.

Os resultados para os filmes irradiados nas doses de 25 e 50 kGy foram semelhantes. A velocidade de formação de CO<sub>2</sub> é intensa e ao atingir seu mais alto nível, o filme irradiado a 50 kGy produz 8555,66 mg de CO<sub>2</sub> diariamente, apenas 530,64 mg a mais que o filme irradiado a 25 kGy.

Foi constatada a presença de *Pseudomonas aeruginosas* por meio de uma pesquisa bacteriológica e a ausência de fungos por meio de pesquisa micológica no húmus. As pesquisas foram realizadas no Laboratório Marcelo Magalhães.

Mitomo et al. (1994) estudaram a biodegradação de filmes de PHB irradiados por monitoramento da perda de massa molecular. Os resultados demonstraram que a taxa de biodegradação dos filmes irradiados aumentou com o aumento da dose de irradiação.

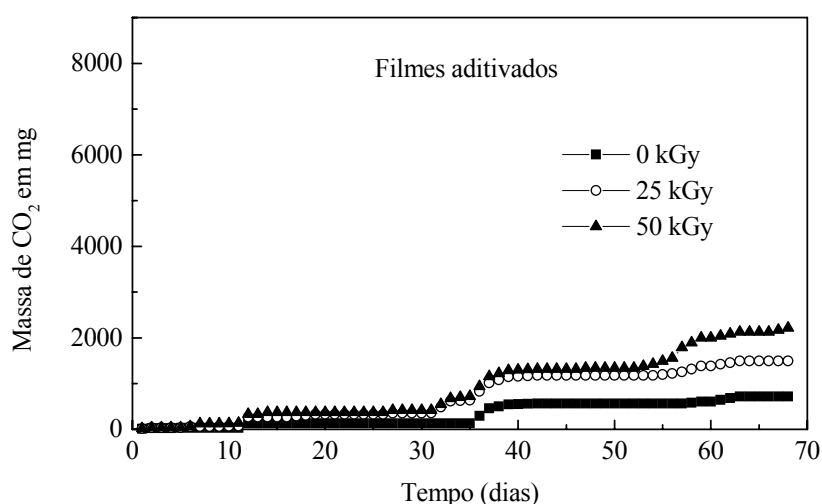


**Figura 33 – Variação na massa de CO<sub>2</sub> coletado na biodegradação dos filmes de PHB sem aditivo não irradiado e irradiados a 25 e 50 kGy.**

A Figura 34 apresenta a massa de CO<sub>2</sub>, em miligramas, coletada em função do tempo em dias, para os filmes de PHB aditivados (aditivo E na concentração de 0,5%) irradiados a 25 e 50 kGy e não irradiado. Comparando-se as Figuras 33 e 34, é evidente a grande diminuição na biodegradabilidade dos filmes de PHB quando aditivados. A maior produção de CO<sub>2</sub> entre os filmes sem aditivo foi alcançada pelo filme irradiado a 50 kGy, que atingiu 8555,66 mg de CO<sub>2</sub> diariamente. A maior produção de CO<sub>2</sub> entre os filmes aditivados também foi alcançada pelo filme irradiado a 50 kGy; porém, atingindo apenas 2215,03 mg de CO<sub>2</sub> diariamente.

Nota-se que o filme aditivado e não irradiado já apresenta uma velocidade de biodegradação menor que a do filme sem aditivo e não irradiado. De acordo com os resultados dos ensaios de FT-IR e RMN (<sup>1</sup>H), o aditivo não causa alterações na estrutura do polímero. Constatou-se que não houve alterações no grau de cristalinidade dos filmes de PHB devido à presença do aditivo no sistema, o que poderia influenciar na

biodegradabilidade dos filmes aditivados. Provavelmente, a presença do aditivo no sistema polimérico inibiu o metabolismo microbiano, provocando uma diminuição na biodegradabilidade dos filmes de PHB.



**Figura 34 – Variação na massa de CO<sub>2</sub> coletado na biodegradação dos filmes de PHB aditivados não irradiado e irradiados a 25 e 50 kGy.**

Yoshie et al. (2000) examinaram a degradação enzimática de filmes de PHB contendo aditivos de baixa massa molecular (dodecanol, ácido láurico, tributirin e trilaurim) nas concentrações de 1 e 9% (m/m). Os filmes contendo 9% de aditivo apresentaram uma menor taxa de biodegradação em comparação aos filmes de PHB sem aditivo. No entanto, a taxa de biodegradação dos filmes contendo 1% de aditivo foi a maior. Os aditivos atuaram como plastificantes, aumentando a mobilidade das moléculas na fase amorfa, o que acelerou a biodegradação. Porém, um aumento dessa concentração do aditivo, para 9%, dificultou o ataque enzimático. No presente trabalho, o aditivo E na concentração de 0,5% (m/m) é suficiente para reduzir a taxa de biodegradação do filme polimérico.

## 5 CONCLUSÕES

O presente trabalho consistiu no estudo da estabilização radiolítica de filmes de PHB por meio de aditivos originalmente utilizados na estabilização foto e termo-oxidativa de polímeros convencionais.

Dentre os estabilizantes testados, o aditivo E do tipo antioxidante, adicionado aos filmes de PHB na concentração de 0,5% da massa total do polímero, proporcionou a melhor radio-estabilização ao sistema. O aditivo E (0,5% m/m) promoveu uma redução considerável do valor G do PHB de 8,6 para 1,5 cisões/100 eV, conferindo uma ótima radio-proteção molecular de 82,6%. O índice de degradação  $\alpha$ , na dose de 25 kGy, diminuiu de 1,01 para 0,10 cisão por moléculas iniciais nos filmes de PHB com o aditivo E.

Os espectros de FT-IR demonstraram que o aditivo E (0,5% m/m) não modifica a estrutura molecular do PHB.

As análises de RMN ( $^1\text{H}$ ) mostraram que não foram observadas novas ressonâncias no espectro do PHB irradiado a 35 kGy. Sugere-se que as novas estruturas formadas após a irradiação estariam em concentração extremamente baixa para serem observadas, uma vez que, segundo dados da literatura, são observadas em doses de irradiação maiores. A introdução do aditivo E no sistema não modificou as ressonâncias características do polímero. No espectro do PHB com o aditivo E (0,5% m/m) irradiado a 35 kGy foram observadas novas ressonâncias em torno de 3,4 ppm, que podem ser associadas a estruturas terminais alcoólicas provenientes da decomposição de hidroperóxidos pelo estabilizante.

Medidas de difração de raios-X dos filmes de PHB, sem aditivo e aditivado, constataram que não houve reorganizações macromoleculares devido à irradiação gama ao ponto de formar novas simetrias cristalinas. O aditivo E (0,5% m/m) não causou modificações de posições e formas dos picos de difração do PHB. O grau de cristalinidade dos filmes de PHB permaneceu praticamente constante com a irradiação gama. A introdução do aditivo E no sistema polimérico não causou modificações na cristalinidade do PHB.

De acordo com os resultados do teste de biodegradação aeróbia, os filmes de PHB irradiados apresentaram maior velocidade de biodegradação do que o filme não irradiado. Possivelmente, um dos estágios da biodegradação, a fragmentação, foi acelerado devido às

cisões na cadeia principal do polímero provocadas pela irradiação gama. Foi evidente a grande diminuição na biodegradabilidade dos filmes de PHB quando aditivados. Provavelmente, a presença do aditivo no sistema polimérico inibiu o metabolismo microbiano, reduzindo a biodegradabilidade dos filmes.

## 6 TRABALHOS FUTUROS

- Estudar com mais detalhes o aditivo C.
- Investigar possíveis efeitos sinérgicos entre os aditivos C e E na radio-estabilização do PHB.
- Investigar com mais detalhes o efeito do aditivo no metabolismo microbiano durante a biodegradação dos filmes de PHB.
- Estudar a estabilização radiolítica de outros polímeros biodegradáveis como PCL, PLA e PGA, empregando a metodologia desenvolvida neste trabalho.

## 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.

ALARIQI, S. A. S.; KUMAR, A. P.; RAO, B. S. M.; TEVTIA, A. K.; SINGH, R. P. Stabilization of  $\gamma$ -sterilized biomedical polyolefins by synergistic mixtures of oligomeric stabilizers. **Polymer degradation and stability**, v. 91, p. 2451-2464, 2006.

AQUINO, K. A. S.; ARAÚJO, E. S. Uso de aditivos comerciais tipo HALS na estabilização radiolítica em filmes de PMMA nacional. **Revista brasileira de pesquisa e desenvolvimento**, v. 6, n. 2, p. 45-52, ago. 2004.

AQUINO, K. A. **Estabilização radiolítica do polimetacrilato de metila em escala industrial**. Recife, 2005. 105 p. (Doutorado – UFPE).

AQUINO, K. A. **Estabilização radiolítica do polimetacrilato de metila usando aditivos comerciais**. Recife, 2000. 68 p. (Mestrado – UFPE).

ARAÚJO, E. S. **Degradação e estabilidade radiolítica do policarbonato**. São Paulo, 1993. 124 p. (Doutorado – USP).

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.

BARBANTI, S. H.; ZAVAGLIA, C. A. C.; DUEK, E. A. R. Polímeros Bioreabsorvíveis na Engenharia de Tecidos. **Polímeros: ciência e tecnologia**, v. 15, n. 1, p. 13-21, 2005.

BHAT, N. V.; NATE, M. M.; KURUP, M. B.; BAMBOLE, V. A.; SABHARWAL, S. Effect of  $\gamma$ -radiation on the structure and morphology of polyvinyl alcohol films. **Nuclear instruments and methods in physics research B**, v. 237, p. 585-592, 2005.

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

BIOCYCLE. Disponível em: <[www.biocycle.com.br](http://www.biocycle.com.br)>. Acesso em: 10 maio 2006.

BYROM, D. Polyhydroxyalkanoates. *In: Mobley DP (ed) plastic from microbes: microbial synthesis of polymers and polymer precursors*. Hanser Munich, p. 5-33, 1994.

BOVEY, F. A. Radiation chemistry of Polymers (General). **The effects of ionizing radiation on natural and synthetic high polymers**, New York: Interscience Publishers, Inc., 1958, cap. 3, p. 49-71.

CAMILLI, M. C. **Princípios de estabilização térmica e à luz U V de materiais poliméricos**. Ciba-Geigy S/A-Divisão de Aditivos, São Paulo, 1991.

CANEVAROLO, V. S. **Técnicas de caracterização de polímeros**. Sao Paulo: Artiliber, 2004.

CARLSSON, D. J.; CHMELA, S. Degradation and stabilization. *In: SCOTT, G. Mechanisms of polymer degradation and stabilization*, New York: Elsevier, 1990, cap. 4, p. 109-133.

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.; DONG, L.; HILL, D. J. T.; O'DONNELL, J. H.; POMERY, P. J. Mechanistic Studies on the Radiation Chemistry of poly(hidroxybutyrate). *In: CLOUGH, R. L.; SCHALABY, S. W. Irradiation of polymers: fundamentals and technological applications*, Eds. American Chemistry Society, 1996, cap. 2, p. 11-21.

CÉSAR, G. Introduction aux journées biomériaux em agriculture. *In: Colloque biomateriaux*, Auray, 2001. Proceedings... Aury, 2001. 1 CD-ROM.

CHAPIRO, A. Chemical nature of the reactive species produced in polymers by ionizing radiations. *In: Irradiation of polymers*, Symposium Chairman, Washington: American Chemistry Society, 1967, cap. 2, p. 22-30.

CHARLESBY, A. **Atomic radiation and polymers**. New York: Pergamon Press, 1960, cap. 10, p. 159-169.

CHARLESBY, A. The effects of ionizing radiation on polymers. *In: CLEGG, D.; COLLYER, A. A. Irradiation effects on polymers*, Eds New York: Elsevier Science Publisher, 1991, cap. 2, p. 39-78.



CHEN, G.; WU, Q. The application of polyhydroxyalkanoates as tissue engineering materials. **Biomaterials**, v. 26, p. 6565-6578, 2005.

CLOUGH, R. L.; GILLEN, K. T.; DOLE, M. Radiation resistance of polymers and composites. *In*: CLEGG, D.; COLLYER, A. A. **Irradiation effects on polymers**. New York: Elsevier Science Publisher, 1991, cap. 3, p. 79- 156.

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

DE PAOLI, M. A.; **Polímeros: degradação e estabilização**. Instituto de Química. UNICAMP, 1995.

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

EPIC - ENVIROMENT AND PLASTIC INDUSTRY COUNCIL. Biodegradable polymer: a review. Technical Report. Disponível em: <[www.cpia.ca/files/files/files\\_BIODEGRADABLE\\_POLYMERS\\_A\\_REVIEW\\_24\\_Nov.\\_2000.\\_Final.pdf](http://www.cpia.ca/files/files/files_BIODEGRADABLE_POLYMERS_A_REVIEW_24_Nov._2000._Final.pdf)>. Acesso em 09 maio 2006.

FINDLAY, R. H.; WHITE, D. C. Polymeric beta-hydroxyalcanoates from environmental samples and *Bacillus megaterium*. **Applied and environmental microbiology**, v. 45, p. 71-78, 1983.

FLEMMING, H. Relevance of biofilms for the biodeterioration of surfaces of polymeric materials. **Polymer degradation and stability**, v. 59, p. 309-315, 1998.

FORMOLO, M. C.; DUARTE, M. A. T.; SCHNEIDER, A. L.; FURLAN, S. A.; PEZZIN, A. P. T. Poliídroxialcanoatos: biopoliésteres produzidos a partir de fontes renováveis. **Revista saúde e ambiente**, v. 4, n. 2, p. 14-21, 2003.

GILLEN, K. T.; CLOUGH, R. L. Accelerated aging methods for predicting long-term mechanical performance of polymers. *In*: CLEGG, D.; COLLYER, A. A. **Irradiation effects on polymers**. New York: Elsevier, 1991, cap. 4, p. 157- 222.

GRIFFITH, L. G.; NAUGHTON, G. Tissue engineering-current challenges and expanding opportunities. **Science**, v. 295, n. 5557, 1009 p., 2002.

GRIMA, S.; BELLON-MAUREL, V.; FEUILLOLEY, P.; SILVESTRE, F. Aerobic biodegradation of polymers in solid-state conditions: a review of environmental and physicochemical parameter settings in laboratory simulations. **Journal of polymers and the environment**, v. 8, n. 4, p. 183-195, 2000.

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.

HA, C.; CHO, W. Miscibility, properties, and biodegradability of microbial polyester containing blends. **Progress in polymer science**, v. 27, p. 759-809, 2002.

HALLS, N. A. Gamma-irradiation processing. *In*: CLEGG, D.; COLLYER, A. A. **Irradiation effects on polymers**. New York: Elsevier, 1991, cap. 6, p. 253.

HAMMOND, T.; LIGGAT, J. J. *In*: SCOTT, G.; GILEAD, D. **Degradable polymers**. London: Chapman & Hall, 1995, cap. 5, p. 88-109.

HUANG, S. J.; EDELMAN, P. G. *In*: SCOTT, G.; GILEAD, D. **Degradable polymers**. London: Chapman & Hall, 1995, cap. 2, p. 18-24.

INNOCENTNI-MEI, L. H.; MARIANI, P. D. S. C. **Visão geral sobre polímeros ou plásticos ambientalmente degradáveis PADs**, 2005. Disponível em: <[www.feq.unicamp.br/~dtp/EDPs.pdf](http://www.feq.unicamp.br/~dtp/EDPs.pdf)>. Acesso em 09 maio 2006.

JAN, S.; ROBLLOT, C.; COURTOIS, B.; BARBOTIN, J. N.; SÉGUIN, J. P. <sup>1</sup>H NMR spectroscopic determination of poly 3-hydroxybutyrate extracted from microbial biomass. **Enzyme and microbial technology**, v. 18, p. 195-201, 1996.

JELLINEK, H. H. G. **Degradation and stabilization of polymers**. New York: Elsevier, v. 1, 1983.

KANG, B.; DAI, Y.; ZHANG, H.; CHEN, D. Synergetic degradation of chitosan with gamma radiation and hydrogen peroxide. **Polymer degradation and stability**, v. 92, p. 359-362, 2007.

LEE, S. Y.; CHANG, H. N. Production of poly(hydroxyalkanoic acid). **Review biotechnology**, v. 52, p. 28-57, 1995.

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

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.

MARANGONI, C. Estudo de estratégias de produção de poli(3-hidroxibutirato) por *Ralstonia eutropha* utilizando substrato de baixo custo e ácido propiônico. Florianópolis, 2000. (Mestrado-UFSC)

MILOSAVLJEVIC, B. H.; NOVAKOVIC, L.J. Antioxidant action in irradiated polypropylene studied by ultraviolet spectroscopy. **Nuclear instruments and methods in physics research B**, v. 151, p. 462-466, 1999.

MITOMO, H.; WATANABE, Y.; ISHIGAKI, I.; SAITO, T. Radiation-induced degradation of poly(3-hydroxybutyrate) and the copolymer poly(3-hydroxybutyrate-co-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.

OKADA, M. Chemical syntheses of biodegradable polymers. **Progress in polymer science**, v. 27, p. 87-133, 2001.

OLIVEIRA, L. M. **Efeitos da radiação gama no polímero biodegradável poli(hidroxibutirato) e no copolímero poli(hidroxibutirat-co-hidroxivalerato)**. Recife, 2006. 130 p. (Doutorado – UFPE).

OLIVEIRA, L. M.; ARAÚJO, E. S.; GUEDES, S. M. L. Gamma irradiation effects on poly(hydroxybutyrate). **Polymer degradation and stability**, v. 91, p. 2157-2162, 2006.

PHB-PLÁSTICO BIODEGRADÁVEL. Disponível em:  
<[inventabrasilnet.t5.com.br/plástico.htm](http://inventabrasilnet.t5.com.br/plástico.htm)>. Acesso em: 20 fev. 2006.

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

QIAN, J. W.; Qi, G. R.; CHENG, R. S. Association of ethylene-vinyl acetate copolymer in dilute solutions – I. Solvent, concentration and annealing temperature effect. **European polymer journal**, v. 33, n. 8, p. 1263-1265, 1997.

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

RABELLO, M. S. Estabilizantes. **Aditivação de polímeros**. 1. ed. São Paulo, Artliber Editora, 2000. cap. 2, p. 29-62.

RIVARD, C. H.; CHAPUT, C.; RHALMI, S.; SELMANI, A. Bio-absorbable synthetic polyesters and tissue regeneration. A Study of three-dimensional proliferation of ovine chondrocytes and osteoblasts. *Ann-Chir*, v. 50, p. 651-8, 1996.

ROSA, D. S.; FRANCO, B. L. M.; CALIL, M. R. Biodegradabilidade e propriedades mecânicas de novas misturas poliméricas. **Polímeros: ciência e tecnologia**, v. 11, n. 2, p. 82-88, 2001.

ROSA, D. S.; QUEENIE, S. H. C.; FILHO, R. P.; AGNELLI, J. A. M. Avaliação da biodegradação de poli- $\beta$ -(hidroxibutirato-co-valerato) e poli- $\epsilon$ -(caprolactona) em solo compostado. **Polímeros: ciência e tecnologia**, v. 12, n. 4, p. 311-317, 2002.

ROSEN, S. **Fundamental principles of polymeric materials**. New York: John Willey and Sons, 1993.

ROTTAVA, I. **Seleção de linhagens de *Xanthomonas sp* para produção de goma xantana**. Erechim, 2005. 79 p. (Dissertação – URI).

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.

SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S.; FREITAS, L. L.; POHLMANN, A. R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química nova**, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.

SCHMACK, G.; KRAMER, S.; DORSCHNER, H.; GLIESCHE, K. Effect of electron irradiation on the properties of poly(3-hydroxybutyric acid). **Polymer degradation and stability**, v. 83, p. 467-472, 2004.

SCHNABEL, W. **Polymer degradation: Principles and practical applications**. New York: Macmillan Publishing Co., Inc., 1981, cap. 5, p. 135-153.

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.

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

STOJANOVIC, Z.; KACAREVIC-POPOVIC, Z.; GALOVIC, S.; MILICEVIC, D.; SULJOVRUJIC. 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, 2005.

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.

TAGER, A. **Physical chemistry of polymers**: Chemical transformations of polymers. Moscow: Mir Publishers, 1972, cap. 3, p. 57-77.

TOKIWA, Y.; CALABIA, B. P. Degradation of microbial polyesters. **Biotechnology letters**, v. 26, p. 1181-1189, 2004.

VILPOUXL, O.; AVEROUS, L. Plásticos a base de milho. São Paulo: Fundação Cargill, 2003. Cap. 18, p. 499-529. (Série culturas de tuberosas amiláceas latino americanas, v. 3). Disponível em: <[www.raizes.org.org.br/portugues/volume3.htm](http://www.raizes.org.org.br/portugues/volume3.htm)>. Acesso em: 22 maio 2006.

VOGELSANGER, N.; FORMOLO, M. C.; PEZZIN, A. P. T.; SCHNEIDER, A. L. S.; FURLAN, S. P.; BERNARDO, H. P.; PEZZIN, S. H.; PIRES, A. T. N.; DUEK, E. A. R. Blendas biodegradáveis de poli(3-hidroxi butirato)/poli( $\epsilon$ -caprolactona): obtenção e estudo da miscibilidade. **Materials research**, v. 6, n. 3, p. 359-365, 2003.

WILLIAMS, S. F.; MARTIN, D. P.; HOROWITZ, D. M.; PEOPLES, O. P. PHA applications: addressing the price performance issue. I. Tissue engineering. **Biological macromolecules**, v. 25, p. 111-121, 1999.

YOSHIE, N.; NAKASATO, K.; FUJIWARA, M.; KASUYA, K.; ABE, H.; DOY, Y.; INOUE, Y. Effect of low molecular weight additives on enzymatic degradation of poly(3-hydroxybutyrate). **Polymer**, v. 41, p. 3227-3234, 2000.

# APÊNDICES

## APÊNDICE 1

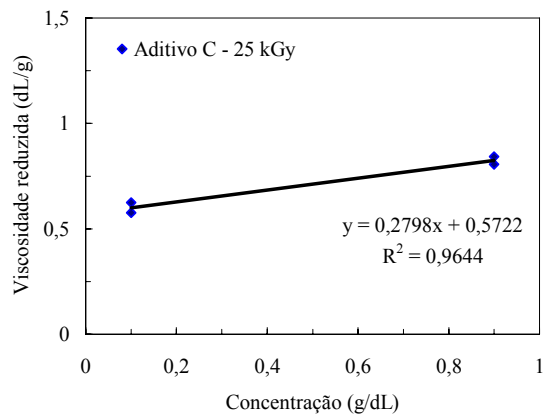
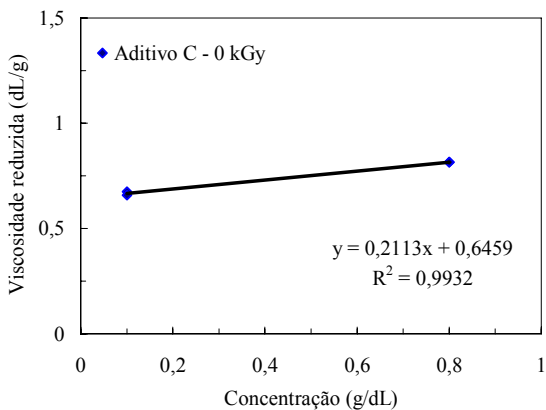
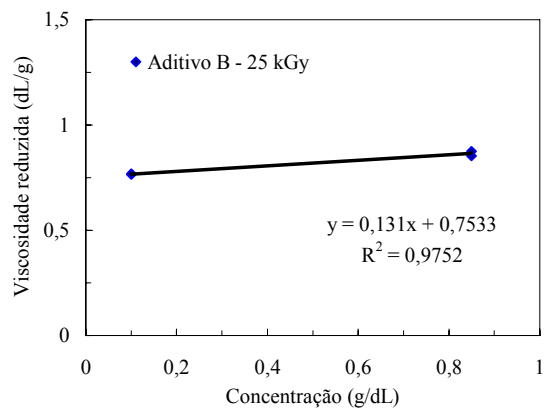
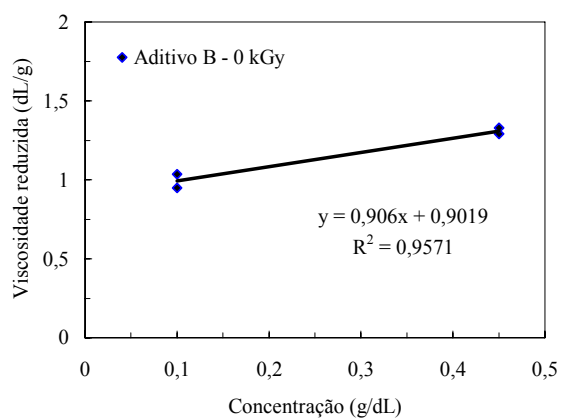
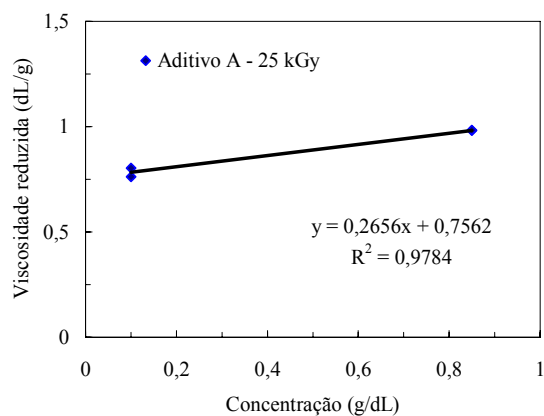
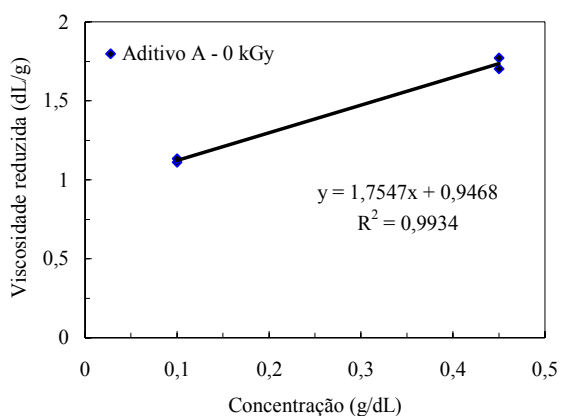
**Tabela 7 – Tempos de efluxo das soluções do PHB sem aditivo (controle) e com os aditivos A, B, C, D e E na concentração de 0,5% (m/m) em 0 e 25 kGy, para os cálculos de Mv por meio do planejamento D-otimizado.**

Amostras não irradiadas					
Aditivo A Soluções		Aditivo B Soluções		Aditivo C Soluções	
0,1g/dL	0,45g/dL	0,1g/dL	0,45g/dL	0,1g/dL	0,8g/dL
t. efluxo (s)	t. efluxo (s)	t. efluxo (s)	t. efluxo (s)	t. efluxo (s)	t. efluxo (s)
54,69 ± 0,07	87,59 ± 1,06	54,05 ± 0,30	78,15 ± 0,60	52,50 ± 0,06	81,04 ± 0,00
Aditivo D Soluções		Aditivo E Soluções		Controle Soluções	
0,1g/dL	0,6g/dL	0,1g/dL	0,8g/dL	0,1g/dL	0,8g/dL
t. efluxo (s)	t. efluxo (s)	t. efluxo (s)	t. efluxo (s)	t. efluxo (s)	t. efluxo (s)
52,17 ± 0,28	77,80 ± 1,22	52,76 ± 0,14	94,24 ± 0,99	52,53 ± 0,00	86,80 ± 2,34
Amostras irradiadas na dose de 25 kGy					
Aditivo A Soluções		Aditivo B Soluções		Aditivo C Soluções	
0,1g/dL	0,85g/dL	0,1g/dL	0,85g/dL	0,1g/dL	0,9g/dL
t. efluxo (s)	t. efluxo (s)	t. efluxo (s)	t. efluxo (s)	t. efluxo (s)	t. efluxo (s)
52,95 ± 0,24	90,21 ± 0,04	52,94 ± 0,01	85,31 ± 0,65	52,17 ± 0,16	85,44 ± 1,16
Aditivo D Soluções		Aditivo E Soluções		Controle Soluções	
0,1g/dL	0,85g/dL	0,1g/dL	1,0g/dL	0,1g/dL	0,9g/dL
t. efluxo (s)	t. efluxo (s)	t. efluxo (s)	t. efluxo (s)	t. efluxo (s)	t. efluxo (s)
51,62 ± 0,14	79,93 ± 0,42	52,34 ± 0,30	92,29 ± 1,48	51,07 ± 0,22	84,54 ± 0,44

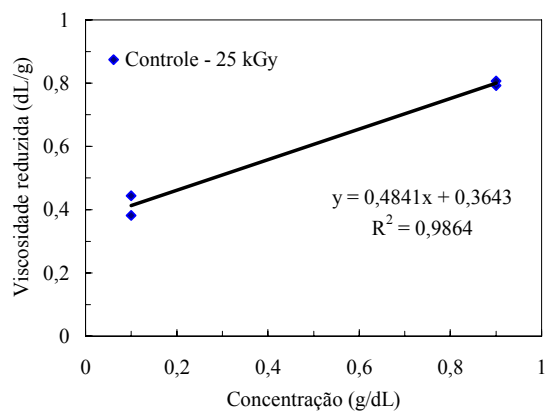
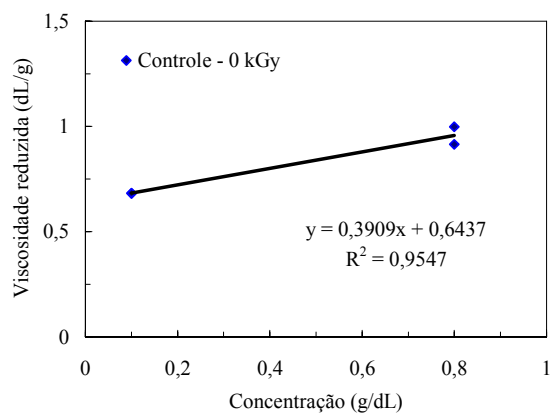
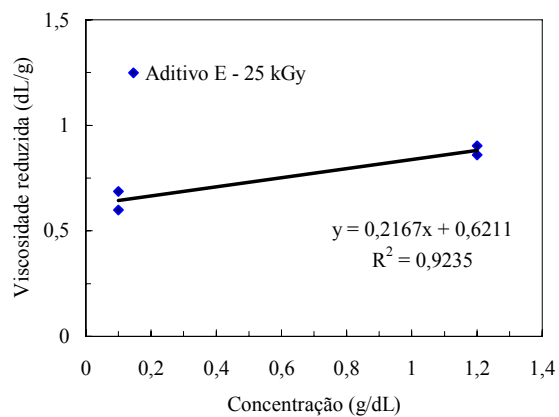
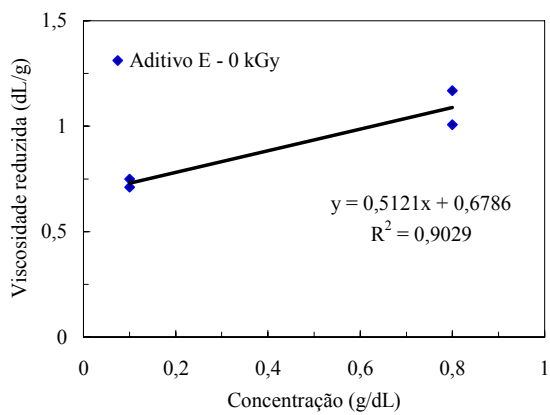
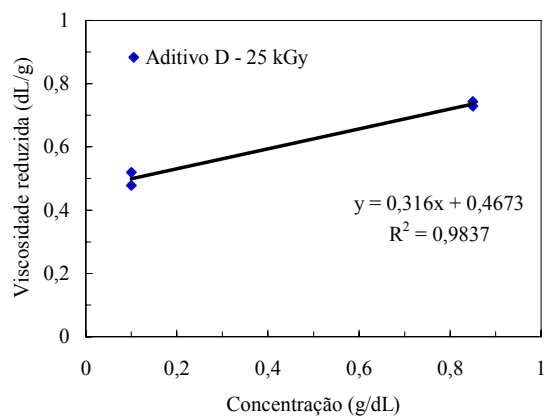
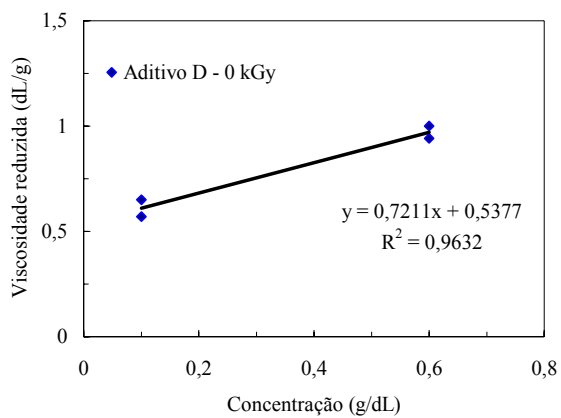
O tempo de efluxo do solvente clorofórmio, em segundos, foi  $49,12 \pm 0,07$ .

## APÊNDICE 2

Gráficos da viscosidade reduzida em função da concentração para o PHB com os aditivos A, B, C, D e E na concentração de 05% (m/m) e o controle em 0 e 25 kGy.







## APÊNDICE 3

**Tabela 8 - Tempos de efluxo das soluções (0,1g/dL) do controle e do PHB com o aditivo E em diferentes doses de irradiação , para os cálculos de Mv por meio da equação proposta por Qian.**

Dose (kGy)	Controle t. efluxo	Aditivo E			
		0,3% (m/m) t. efluxo (s)	0,5% (m/m) t. efluxo (s)	0,7% (m/m) t. efluxo (s)	1,0% (m/m) t. efluxo (s)
0	52,63 ± 0,15	54,64 ± 0,42	52,76 ± 0,14	53,34 ± 0,43	53,07 ± 0,10
15	51,50 ± 0,10	52,05 ± 0,15	52,23 ± 0,16	52,13 ± 0,27	51,98 ± 0,62
25	51,13 ± 0,19	52,05 ± 0,27	52,33 ± 0,30	51,79 ± 0,09	51,46 ± 0,15
35	51,21 ± 0,49	51,51 ± 0,05	51,89 ± 0,04	51,50 ± 0,08	51,55 ± 0,13
50	51,06 ± 0,12	51,28 ± 0,13	51,16 ± 0,01	51,28 ± 0,37	51,02 ± 0,28

O tempo de efluxo do clorofórmio, em segundos, foi  $49,17 \pm 0,10$ .

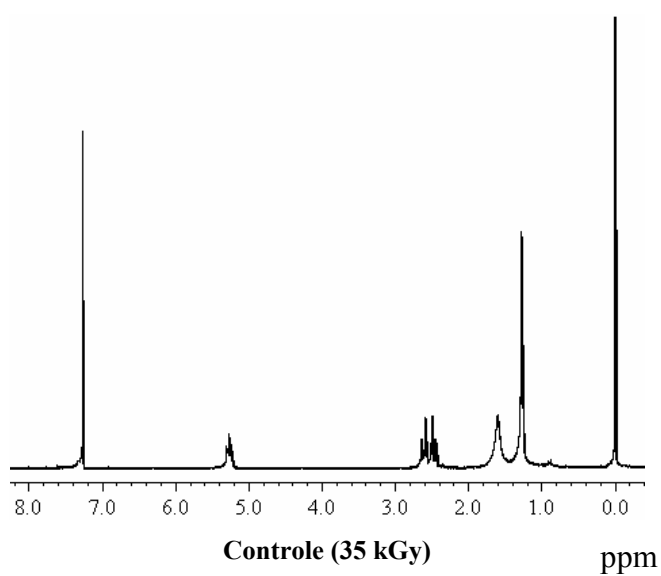
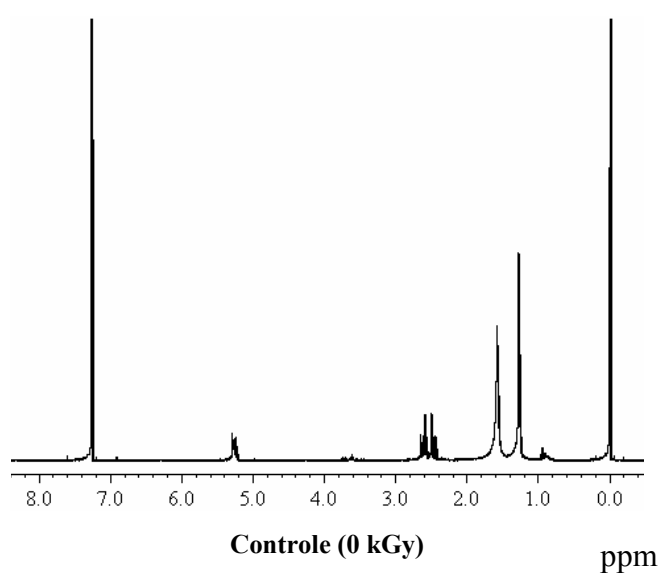
## APÊNDICE 4

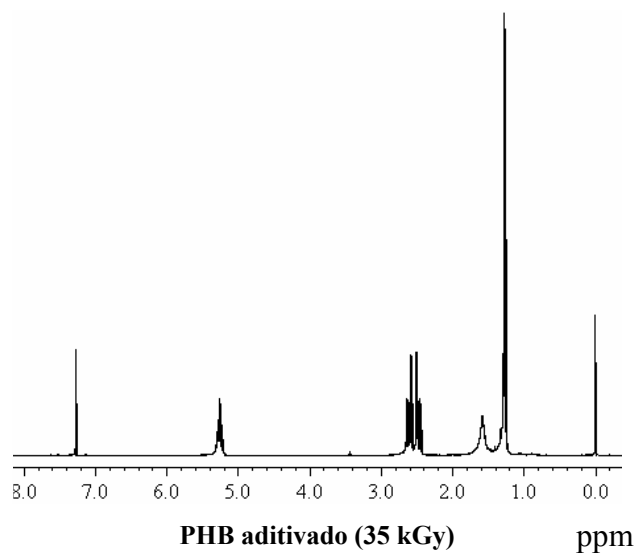
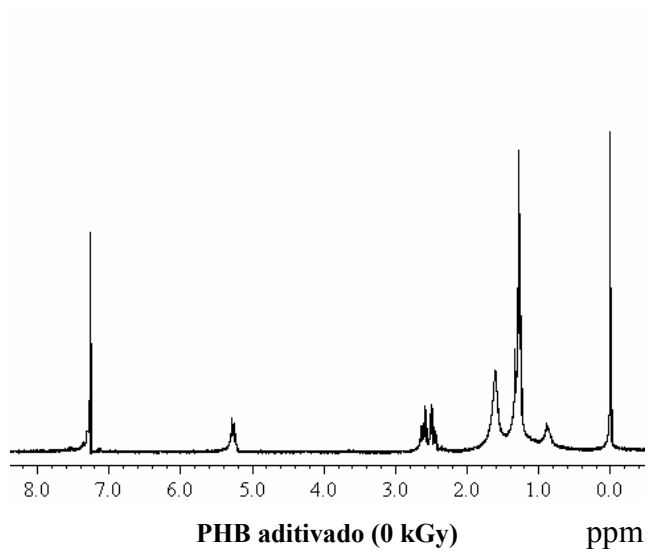
**Tabela 9 – Parâmetros de regressão linear da curva  $10^6/\text{Mv}$  x dose de irradiação dos filmes de PHB aditivados e do controle.**

$y (10^6/\text{Mv}) = ax (\text{dose}) + b$			
Aditivo E			
Concentração (%)	a	b	$r^2$
0,3	0,3985	9,558	0,9038
0,5	0,0835	15,152	0,9017
0,7	0,3145	12,586	0,9729
1,0	0,3128	13,500	0,9235
Controle	0,4728	15,978	0,925

## APÊNDICE 5

Espectros de RMN ( $^1\text{H}$ ) de 0 a 8 ppm dos filmes de PHB controle e aditivado, não irradiados e irradiados na dose de 35 kGy.





## APÊNDICE 6

**Tabela 10 – Parâmetros do cálculo do grau de cristalinidade dos filmes de PHB sem aditivo em diferentes doses de irradiação.**

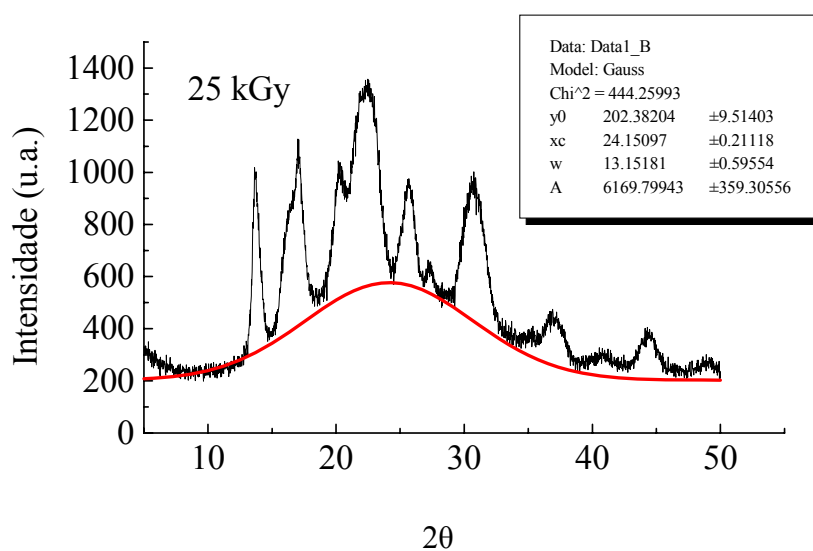
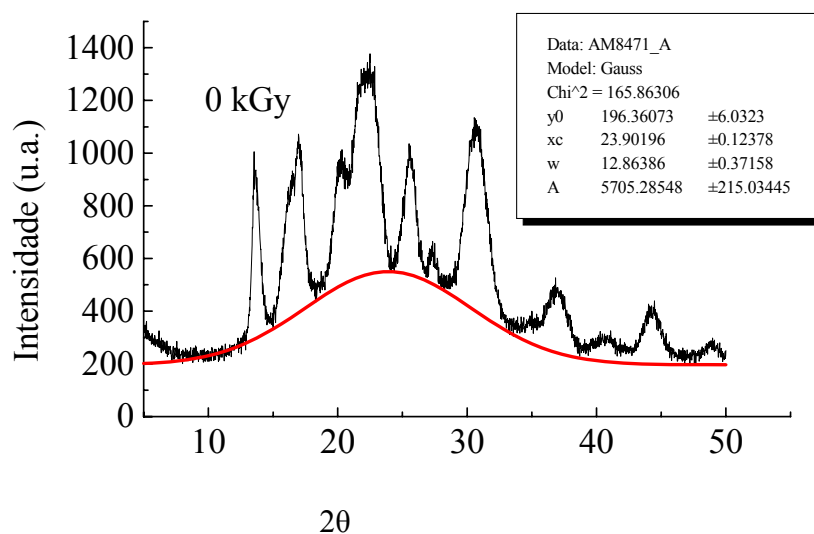
Dose (kGy)	I <sub>c</sub> (integração dos picos de difração)	I <sub>a</sub> (aproximação gaussiana)
0	16439,61	5705,29
25	16083,73	6169,80
50	17672,40	6141,07
100	16611,88	5858,64

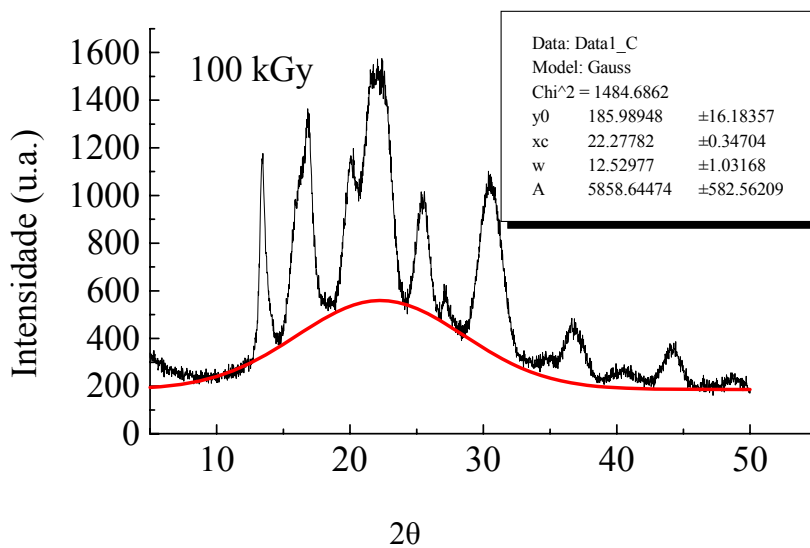
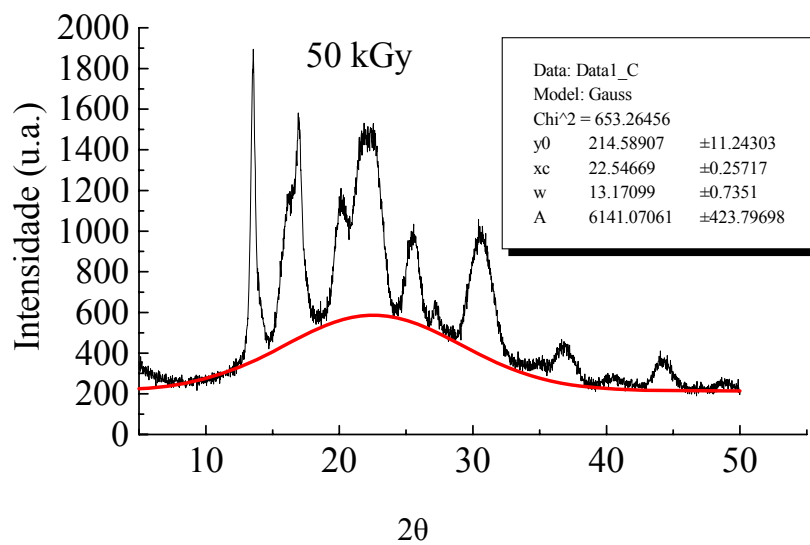
**Tabela 11 – Parâmetros do cálculo do grau de cristalinidade dos filmes de PHB aditivados em diferentes doses de irradiação.**

Dose (kGy)	I <sub>c</sub> (integração dos picos de difração)	I <sub>a</sub> (aproximação gaussiana)
0	27415,51	8518,78
25	24869,01	7685,89
50	24229,77	7738,28
100	25768,41	7023,55

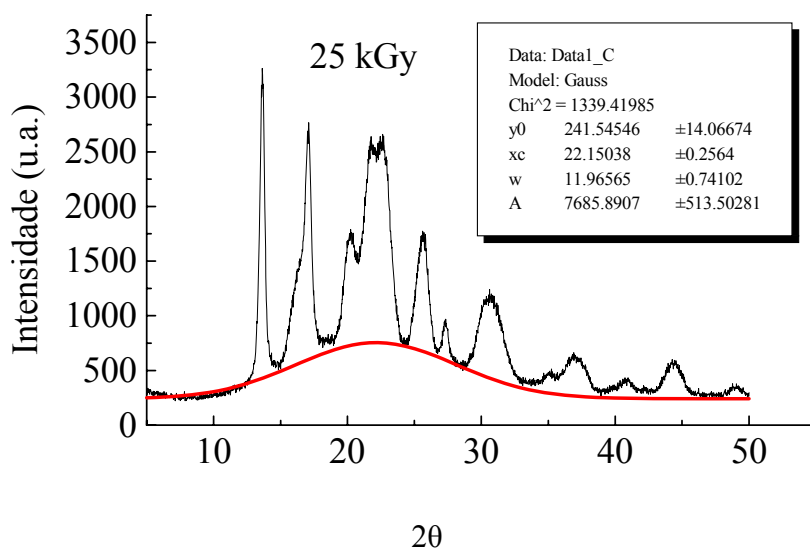
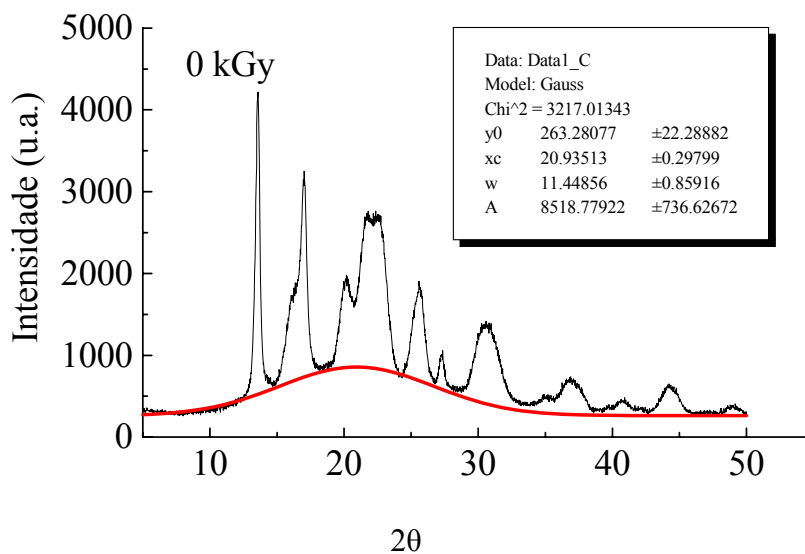
## APÊNDICE 7

Aproximação gaussiana para a subtração do halo amorfo nos difratogramas dos filmes de PHB sem aditivo não irradiado e irradiados nas doses de 25, 50 e 100 kGy.

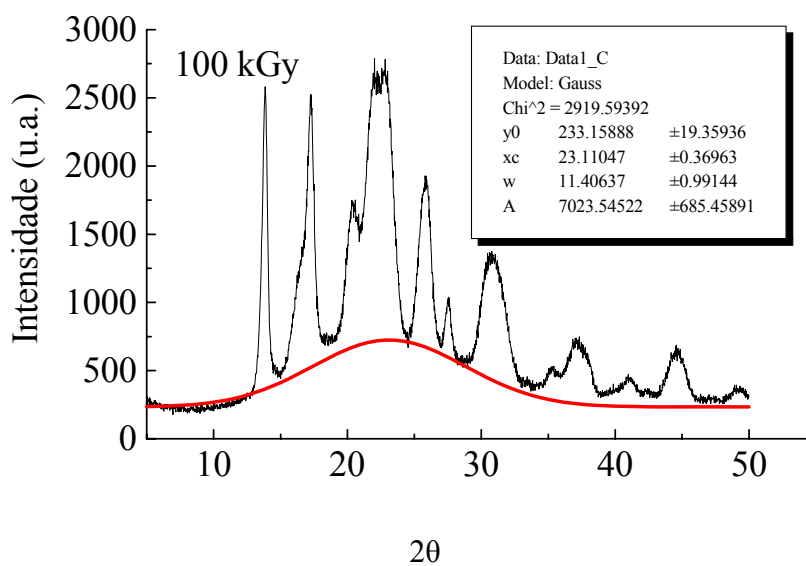
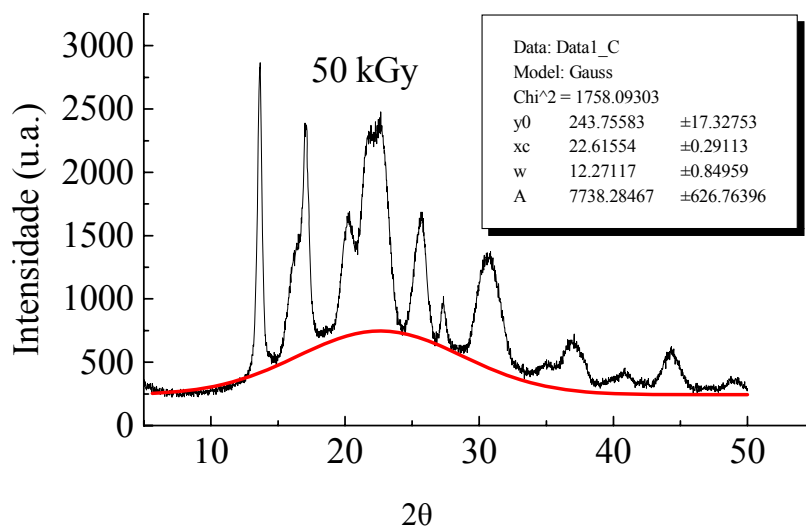




Aproximação gaussiana para a subtração do halo amorfo nos difratogramas dos filmes de PHB aditivados não irradiado e irradiados nas doses de 25, 50 e 100 kGy.







# ANEXO

## ANEXO 1

**Produção científica**

## Trabalhos em congressos:

1. International Nuclear Atlantic Conference. Local: Santos – SP, 09/2007.  
Título: Radiolytic stabilization of poly(hydroxybutyrate).
2. 9º Congresso Brasileiro de Polímeros. Local: Campina Grande – PB, 10/2007.  
Título: Efeitos da irradiação gama na biodegradação de filmes de poli(hidroxibutirato).

## Trabalhos em periódicos:

1. Use of commercial additives on the radiolytic stabilization of poly(hydroxybutyrate) (em submissão na Polymer Degradation and Stability).
2. Effects of gamma irradiation on the biodegradation of poly(hydroxybutyrate) (em submissão na Polymer Testing).

## Participação em outros projetos de pesquisa no Laboratório de Polímeros:

1. Polyaniline nanofibers as a new gamma radiation stabilizer agent for PMMA. Patrícia L. B. Araújo, Renata F. S. Santos, Elmo S. Araújo (publicado na Express Polymer Letters).
2. Synthesis and morphological characterization of PMMA/polyaniline nanofiber composites. Patrícia L. B. Araújo, Elmo S. Araújo, Renata F. S. Santos e Ana Paula L. Pacheco (publicado na Microelectronics Journal).

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)