

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**INSTITUTO DE QUÍMICA**

**Programa de Pós-Graduação em Química**

**DANIELLE JUAIS**

**Produção de Polímeros  
Derivados de Fontes  
Renováveis via Catálise  
Enzimática**

São Paulo

Data do Depósito na SPG:

06/03/2009

DANIELLE JUAIS

# **Produção de Polímeros Derivados de Fontes Renováveis via Catálise Enzimática**

*Dissertação apresentada ao Instituto de  
Química da Universidade de São Paulo para  
obtenção do Título de Mestre em Química  
(Química Orgânica)*

Orientador: Prof. Dr. Luiz Henrique Catalani

São Paulo

2009

Danielle Juais

Produção de Polímeros Derivados de Fontes Renováveis via Catálise Enzimática.

*Dissertação apresentada ao Instituto de Química  
da Universidade de São Paulo para obtenção do  
Título de Mestre em  
Química (Química Orgânica)*

Aprovado em: \_\_\_\_\_

**Banca Examinadora**

**Prof. Dr.** \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

**Prof. Dr.** \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

*Dedico este trabalho aos meus pais, Abrahão C. Juais e Maria de Fátima Juais, pelo amor, apoio e incentivo, e ao meu namorado, Renan Ferrarini, por ser um verdadeiro porto seguro no meio da tempestade, e por proporcionar os melhores momentos da minha vida.*

# AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por sempre ser um socorro presente no meio de tantas dificuldades.

Às agências de fomento à pesquisa, CNPq, pela bolsa de estudos, e Fapesp e Capes, pelo suporte financeiro indireto.

Ao Prof. Dr. Luiz Henrique Catalani, pela oportunidade de fazer parte do seu grupo de pesquisa.

Aos colegas e ex-colegas do Laboratório de Biomateriais Poliméricos, Alliny, Antônio, Fábio, Guilhermino, Janaína, Mariana, Patrícia, Renata, Ricardo, Romeu, Vânia, ao técnico Luiz e à secretária Sílvia pelo companheirismo, amizade, conselhos, discussões e inúmeras risadas. Meu especial agradecimento ao Romeu, por toda ajuda prestada, e pela paciência ao me ensinar.

Ao Prof. Dr. Richard A. Gross, do Laboratório do Centro NSF de Biocatálise e Bioprocessamento de Macromoléculas, da Polytechnic University, em Nova York, e seus alunos, pela realização das análises de DSC e TG.

Ao Prof. Dr. João V. Comasseto, bem como aos seus alunos, pela realização das análises de CG-MS, empréstimo de materiais, pela amizade e paciência na resolução de todas as minhas dúvidas com relação à síntese orgânica.

Aos funcionários do IQUSP, sobretudo da Central Analítica e da Secretaria de Pós-Graduação, principalmente ao Milton e à Cibele, pela amizade e eficiência.

À minha família, sobretudo aos meus pais e irmãos, Júlio, Carlos, Francisco, Débora e Helen e à minha sobrinha Letícia, que são a base que sustenta minha vida.

À dona Neide Dacunti Favorito, por ser uma verdadeira mãe para mim em São Paulo.

Aos amigos do IQ-USP, Aline, Lollo, Vítor Z. e Bruno, pela amizade e bons momentos compartilhados.

Aos meus amigos do Departamento de Química da UFPR, principalmente à Karen, Ju, Kimura, Carol, Samanta, Tico, Zé, Marcela, Zezé, Alcindo, Cida, Janjão, Soraia, Emir, Joel, Brazuka, Beijo, Flávio, Gustavo, Vítor, Alfredo e Sílvia, entre tantos outros, que com certeza contribuíram para mais essa vitória.

A todos que de alguma maneira colaboraram para a execução desse trabalho.

*"Aprendi através da experiência amarga a suprema lição: controlar minha ira é torná-la como o calor que é convertido em energia. Nossa ira controlada pode ser convertida numa força capaz de mover o mundo." (Ghandi)*

## RESUMO

Juais, D. **Produção de Polímeros Derivados de Fontes Renováveis via Catálise Enzimática**. 2009. 116p. Dissertação – Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

A busca por materiais derivados de fontes renováveis e com características como biocompatibilidade e biodegradabilidade tem crescido significativamente nos últimos anos. A utilização de enzimas na polimerização representa um grande passo para a obtenção destes, visto que possibilitam a produção de polímeros evitando a utilização de catalisadores tóxicos e, assim, melhorando sua biocompatibilidade.

O presente trabalho descreve a utilização de monômeros funcionais derivados de fontes renováveis na produção de poliésteres hidrolisáveis via catálise enzimática. As sínteses de polímeros produzidos a partir de isosorbídeo e ácidos dicarboxílicos ou derivados - como seus ésteres alquílicos e vinílicos - foram feitas utilizando a lipase de *Candida antarctica* – Fração B como catalisador. As polimerizações foram realizadas por policondensações em massa e em solução, utilizando-se diferentes solventes e diferentes técnicas para remoção de subprodutos de reação. A principal abordagem foi o estudo das diferentes condições reacionais realizadas, variando-se o tempo de reação, tipo do monômero, solvente utilizado (se for o caso) e tipo de técnica para remoção de subprodutos visando o aumento da massa molar dos polímeros.

A condição que forneceu os materiais com maiores massas molares foi a policondensação em solução, utilizando a mistura cicloexano:benzeno como



solvente. Tendo por objetivo investigar profundamente a condição ótima obtida, e estabelecer padrões de comparação com outros sistemas, foram estudados, nessa condição, parâmetros como tempo de reação, efeito do tamanho da cadeia carbônica do monômero, grupo de saída, solubilidade dos polímeros e diluição do sistema.

Os materiais obtidos foram caracterizados por cromatografia por exclusão de tamanho (SEC), termogravimetria (TG), calorimetria exploratória diferencial (DSC), espectroscopia no infravermelho, difração de raios-X, e Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .

Através deste trabalho foi provado que, embora apresente uma cinética de reação lenta, a polimerização enzimática deste diol secundário estericamente impedido é possível, fornecendo poliésteres com massas molares similares às obtidas via catálise química. Todos os resultados obtidos neste trabalho são inéditos no que diz respeito à polimerização enzimática de dióis secundários impedidos, mais especificamente de isosorbídeo.

**Palavras-chave:** isosorbídeo, catálise enzimática, dióis secundários, policondensação em solução.

## ABSTRACT

Juais, D. **Production of polymers derived from renewable sources by enzyme catalysis**. 2009. 116p. Masters Thesis – Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

The search for materials derived from renewable sources, with characteristics such as biocompatibility and biodegradability has grown significantly in recent years. The use of enzymes in the polymerization is a major step for the attainment of these materials, since it allows the production of polymers while avoiding the use of toxic catalysts and thus improving its biocompatibility.

This paper describes the use of functional monomers derived from renewable sources in the production of hydrolysable polyesters by enzyme catalysis. The synthesis and characterization of polymers derived from isosorbide and dicarboxylic acids or derivatives - such as alkyl and vinyl esters - were carried out using the lipase from *Candida antarctica* - Fraction B as catalyst. The polymerizations were accomplished by polycondensations in bulk and in solution, using different solvents and different techniques for removal of reaction byproducts. The main approach was to study the different reaction conditions, by varying the reaction time, monomer type, solvent used (if applicable) and the type of technique for removal of byproducts, aiming at maximizing polymer molar mass.

The condition that provided the material with higher molecular weight was the solution step-growth polymerization, using a mixture cyclohexane:benzene as solvents. Aiming to thoroughly investigate the optimum condition obtained, and to

establish standards for comparison with other systems, it was studied, in this condition, parameters such as reaction time, effect of monomer carbon chain length , leaving group, polymers solubility of and dilution of the reaction system.

The materials were characterized by gel permeation chromatography (SEC), thermogravimetry (TG), differential scanning calorimetry (DSC), infrared spectroscopy, X-ray diffraction and  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  Nuclear Magnetic Resonance (NMR).

Through this work it was proved that, in spite of a slow reaction kinetics, the enzymatic polymerization of this hindered secondary diol is possible, providing polyester with molecular weight similar to those obtained by chemical catalysis. All results obtained in this work are unprecedented with respect to the enzymatic polymerization of hindered secondary diols, more specifically of Isosorbide.

**Key words:** Enzyme catalysis, isosorbide, secondary diols, solvent-based step-growth polymerization

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- CAL-B:** Lipase de *Candida antarctica* – Fração B.
- CDCl<sub>3</sub>:** Clorofórmio deuterado
- DSC:** Calorimetria Exploratória Diferencial
- FDA:** Food and Drugs Administration
- FTIR:** Infravermelho com Transformada de Fourier
- IBGE:** Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- ITB:** Iterative Tandem Catalysis – Catálise Acoplada Iterativa
- MEK:** 2-Butanona
- MM:** Lipase de *Mucor miehei*
- $\bar{M}_n$ :** Massa molar numérica média
- $\bar{M}_w$ :** Massa molar ponderal média
- N-435:** Lipase de *Candida antarctica* – Fração B – Novozym 435
- P.E.:** Ponto de ebulição
- PD:** Índice de polidispersividade ( $PD = \bar{M}_w / \bar{M}_n$ )
- PET:** Poli(tereftalato de etileno)
- PF:** Lipase de *Pseudomonas fluorescens*
- PPL:** Lipase de pâncreas de porco
- PS:** Lipase de *Pseudomonas sp.*
- PTFE:** Poli(tetrafluoretileno)
- RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C:** Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio e carbono
- SEC:** Cromatografia por exclusão de tamanho
- T<sub>g</sub>:** Temperatura de Transição Vítreas
- TG:** Termogravimetria
- THF:** Tetraidrofurano
- T<sub>m</sub>:** Temperatura de Fusão Cristalina
- TMS:** Tetrametilsilano
- WAXD:** Difração de raios-X de alto ângulo.

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 - ESTRUTURAS DOS 1,4: 3,6 - DIANIDROEXITÓIS. _____	20
FIGURA 2 - ESTRUTURA TRIDIMENSIONAL DA CAL-B (WWW.NOVOZYMES.COM) _____	31
FIGURA 3 - RESULTADOS OBTIDOS ATRAVÉS DA POLIMERIZAÇÃO EM SOLUÇÃO COM DESTILAÇÃO AZEOTRÓPICA. _____	43
FIGURA 4 - ESTUDO COMPARATIVO ENTRE AS TÉCNICAS EMPREGADAS. _____	43
FIGURA 5 - ESTUDO COMPARATIVO DOS GRAUS DE POLIMERIZAÇÃO OBTIDOS EM CICLOEXANO E NA MISTURA CICLOEXANO:BENZENO. _____	43
FIGURA 6 - VANTAGEM DO USO DA MISTURA DE CICLOEXANO E BENZENO _____	55
FIGURA 7 - ESTUDO DO CRESCIMENTO DA MASSA MOLAR DO POLI(ADIPATO DE ISOSORBILA) EM FUNÇÃO DO TEMPO DE REAÇÃO. _____	57
FIGURA 8 - TROCA DE BENZENO POR TOLUENO NA MISTURA DE SOLVENTES. _____	43
FIGURA 9 - AVALIAÇÃO DAS MASSAS MOLARES DO POLI(ADIPATO DE ISOSORBILA) QUANTO AO ÁLCOOL DE SAÍDA. _____	43
FIGURA 10 - EFEITO DA PROPORÇÃO SOLVENTE: ISOSORBÍDEO. _____	43
FIGURA 11 - EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE BENZENO NA MISTURA DE SOLVENTES. _____	43
FIGURA 12 - CURVAS DE DSC DOS MATERIAIS OBTIDOS _____	43
FIGURA 13 - CURVAS DE ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA DOS MATERIAIS OBTIDOS. _____	43
FIGURA 14 - ESPECTRO DE <sup>1</sup> H-RMN DO POLI(SUCCINATO DE ISOSORBILA) _____	74
FIGURA 15 - ESPECTRO DE <sup>13</sup> C-RMN DO POLI(SUCCINATO DE ISOSORBILA). _____	43
FIGURA 16 - ESPECTRO DE <sup>1</sup> H-RMN DO POLI(GLUTARATO DE ISOSORBILA) _____	76
FIGURA 17 - ESPECTRO DE <sup>13</sup> C-RMN DO POLI(GLUTARATO DE ISOSORBILA). _____	43
FIGURA 18 - ESPECTRO DE <sup>1</sup> H-RMN DO POLI(ADIPATO DE ISOSORBILA). _____	78
FIGURA 19 - ESPECTRO DE <sup>13</sup> C-RMN DO POLI(ADIPATO DE ISOSORBILA). _____	43
FIGURA 20 - ESPECTRO DE <sup>1</sup> H-RMN DO POLI(SUBERATO DE ISOSORBILA). _____	43
FIGURA 21 - ESPECTRO DE <sup>13</sup> C-RMN DO POLI(SUBERATO DE ISOSORBILA). _____	43
FIGURA 22 - DESLOCAMENTOS QUÍMICOS DE <sup>1</sup> H-RMN DO POLI(SEBACATO DE ISOSORBILA). _____	43
FIGURA 23 - ESPECTRO DE <sup>13</sup> C-RMN DO POLI(SEBACATO DE ISOSORBILA). _____	43
FIGURA 24 - ESPECTRO DE <sup>1</sup> H-RMN DO POLI(DODECANODIOATO DE ISOSORBILA). _____	43
FIGURA 25 - ESPECTRO DE <sup>13</sup> C-RMN DO POLI(DODECANODIOATO DE ISOSORBILA). _____	43
FIGURA 26 - DIFRATOGRAMAS DE RAIOS-X DOS POLIÉSTERES OBTIDOS. _____	43
FIGURA 27 - ESPECTRO NO INFRAVERMELHO DO POLI(SUCCINATO DE ISOSORBILA) _____	43
FIGURA 28 - ESPECTRO NO INFRAVERMELHO DO POLI(GLUTARATO DE ISOSORBILA) _____	43
FIGURA 29 - ESPECTRO NO INFRAVERMELHO DO POLI(ADIPATO DE ISOSORBILA) _____	43
FIGURA 30 - ESPECTRO NO INFRAVERMELHO DO POLI(SUBERATO DE ISOSORBILA) _____	43
FIGURA 31 - ESPECTRO NO INFRAVERMELHO DO POLI(SEBACATO DE ISOSORBILA) _____	43
FIGURA 32 - ESPECTRO NO INFRAVERMELHO DO POLI(DODECANODIOATO DE ISOSORBILA) _____	43

## ÍNDICE DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1 - SÍNTESE DO ISOSOSORBÍDEO A PARTIR DA D-GLICOSE. _____	19
ESQUEMA 2 - REAÇÕES DE POLIMERIZAÇÃO CATALISADAS POR LIPASES. _____	29
ESQUEMA 3 - MECANISMO DO SÍTIO CATALÍTICO DA CAL-B. _____	30
ESQUEMA 4 - SÍNTESE DO POLI(ADIPATO DE ISOSORBILA), ATRAVÉS DE POLICONDENSAÇÃO EM MASSA. AS REAÇÕES FORAM REALIZADAS SOB VÁCUO E SOB PRESSÃO AMBIENTE. _____	43
ESQUEMA 5 - SÍNTESE DE POLÍMEROS UTILIZANDO DERIVADOS DIVINÍLICOS. _____	43
ESQUEMA 6 – SÍNTESE DE POLÍMEROS EM SOLUÇÃO COM DESTILAÇÃO AZEOTRÓPICA. _____	43

## ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1 - ESPECIFICAÇÕES TÉCNICAS DA CAL-B – NOVOZYM-435 – WWW.NOVOZYMES.COM	31
TABELA 2 - ÁCIDOS E ÁLCOOIS UTILIZADOS NA SÍNTESE DOS DIÉSTERES.	22
TABELA 3 - TEMPOS UTILIZADOS NAS POLIMERIZAÇÕES EM MASSA SOB PRESSÃO REDUZIDA.	38
TABELA 4 - POLIMERIZAÇÃO EM SOLUÇÃO SOB PRESSÃO REDUZIDA.	25
TABELA 5 – POLÍMEROS PRODUZIDOS A PARTIR DE POLIMERIZAÇÃO COM MISTURAS AZEOTRÓPICAS DE SOLVENTES.	39
TABELA 6 – MISTURAS AZEOTRÓPICAS BINÁRIAS.	39
TABELA 7 - MISTURAS AZEOTRÓPICAS TERNÁRIAS	28
TABELA 8 - RESULTADOS OBTIDOS NAS REAÇÕES DE POLICONDENSAÇÃO EM MASSA SOB PRESSÃO REDUZIDA.	37
TABELA 9 – RESULTADOS OBTIDOS PARA POLICONDENSAÇÕES REALIZADAS SOB PRESSÃO AMBIENTE.	43
TABELA 10 - RESULTADOS OBTIDOS PARA POLICONDENSAÇÕES UTILIZANDO MONÔMEROS DIVINÍLICOS.	43
TABELA 11 - VALORES DE LOG P PARA DIFERENTES SOLVENTES	46
TABELA 12 - RESULTADOS OBTIDOS PARA POLIMERIZAÇÃO EM SOLUÇÃO COM DESTILAÇÃO AZEOTRÓPICA.	43
TABELA 13 - POLIMERIZAÇÃO EM SOLUÇÃO SOB PRESSÃO REDUZIDA.	43
TABELA 14 - POLÍMEROS DA SÉRIE DE ÉSTERES DOS DIÁCIDOS CARBOXÍLICOS EM CICLOEXANO	51
TABELA 15 - POLÍMEROS DA SÉRIE DE ÉSTERES DOS DIÁCIDOS CARBOXÍLICOS EM CICLOEXANO: BENZENO 6:1.	<b>ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.</b>
TABELA 16 - ESTUDO DO CRESCIMENTO DA MASSA MOLAR DO POLI(ADIPATO DE ISOSORBILA) EM FUNÇÃO DO TEMPO DE REAÇÃO.	43
TABELA 17 - RESULTADOS OBTIDOS COM A TROCA DE TOLUENO POR BENZENO NA MISTURA DE SOLVENTES.	43
TABELA 18 - MASSAS MOLARES DO POLI(ADIPATO DE ISOSORBILA) OBTIDAS VARIANDO-SE O ÁLCOOL DE SAÍDA.	43
TABELA 19 - COMPOSIÇÃO DOS AZEÓTROPAS VARIANDO-SE A CADEIA CARBÔNICA DO ÁLCOOL.	43
TABELA 20 - SOLUBILIDADE DO POLI(ADIPATO DE ISOSORBILA) COM $M_w \sim 30kDa$ .	43
TABELA 21 - RESULTADOS OBTIDOS VARIANDO-SE A PROPORÇÃO ISOSORBÍDEO: SOLVENTE.	65
TABELA 22 - RESULTADOS OBTIDOS VARIANDO-SE A CONCENTRAÇÃO DE BENZENO NA MISTURA DE SOLVENTES.	43
TABELA 23 - TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO VÍTREA DOS POLIÉSTERES OBTIDOS VIA CATÁLISE ENZIMÁTICA E VIA CATÁLISE QUÍMICA.	43
TABELA 24 - PERDA DE MASSA DOS MATERIAIS OBTIDOS	71
TABELA 25 - DESLOCAMENTOS QUÍMICOS DE $^1H$ -RMN DO POLI(SUCCINATO DE ISOSORBILA).	74
TABELA 26 - DESLOCAMENTOS QUÍMICOS DE $^{13}C$ -RMN DO POLI(SUCCINATO DE ISOSORBILA).	43
TABELA 27 - DESLOCAMENTOS QUÍMICOS DE $^1H$ -RMN DO POLI(GLUTARATO DE ISOSORBILA)	76
TABELA 28- DESLOCAMENTOS QUÍMICOS DE $^{13}C$ -RMN DO POLI(GLUTARATO DE ISOSORBILA).	43
TABELA 29 - DESLOCAMENTOS QUÍMICOS DE $^1H$ -RMN DO POLI(ADIPATO DE ISOSORBILA).	43
TABELA 30 - DESLOCAMENTOS QUÍMICOS DE $^{13}C$ -RMN DO POLI(ADIPATO DE ISOSORBILA).	43
TABELA 31 - DESLOCAMENTOS QUÍMICOS DE $^1H$ -RMN DO POLI(SUBERATO DE ISOSORBILA).	43
TABELA 32 - DESLOCAMENTOS QUÍMICOS DE $^{13}C$ -RMN DO POLI(SUBERATO DE ISOSORBILA).	43
TABELA 33 - DESLOCAMENTOS QUÍMICOS DE $^1H$ -RMN DO POLI(SEBACATO DE ISOSORBILA).	43
TABELA 34 - DESLOCAMENTOS QUÍMICOS DE $^{13}C$ -RMN DO POLI(SEBACATO DE ISOSORBILA).	43
TABELA 35 - DESLOCAMENTOS QUÍMICOS DE $^1H$ -RMN DO POLI(DODECANODIOATO DE ISOSORBILA).	43
TABELA 36 - DESLOCAMENTOS QUÍMICOS DE $^{13}C$ -RMN DO POLI(DODECANODIOATO DE ISOSORBILA).	43
TABELA 37 - PICOS DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO.	43

# SUMÁRIO

<b>1 - INTRODUÇÃO.</b>	<b>17</b>
1.1 - POLÍMEROS DERIVADOS DE FONTES RENOVÁVEIS:	17
1.2 - DIANIDROEXITÓIS:	18
1.2.1 - <i>Isosorbídeo</i> :	21
1.3 - POLIMERIZAÇÃO POR CATÁLISE ENZIMÁTICA.	24
1.3.1 - <i>Lipases</i> :	28
1.3.1.1 - Lipase de <i>Candida antarctica</i> – Fração B - CAL-B:	29
<b>2 – OBJETIVOS.</b>	<b>34</b>
<b>3 – MATERIAIS E MÉTODOS.</b>	<b>35</b>
3.1 – MATERIAIS:	35
3.2 – MÉTODOS:	36
3.2.1 - <i>Preparação e purificação de reagentes, solventes e monômeros.</i>	36
3.2.1.1 - <i>Purificação do acetato de etila.</i>	36
3.2.1.2- <i>Purificação do clorofórmio.</i>	36
3.2.1.3- <i>Purificação do isosorbídeo (IS).</i>	37
3.2.1.5- <i>Purificação do ácido adípico.</i>	37
3.2.1.6- <i>Síntese dos Ésteres dos Ácidos Dicarboxílicos</i>	37
3.2.1.7- <i>Síntese do Adipato de Divinila.</i>	38
3.2.2 - <i>Polimerizações</i>	38
3.2.2.1- <i>Polimerização em massa sob pressão ambiente.</i>	38
3.2.2.2 - <i>Polimerização em massa sob pressão reduzida.</i>	38
3.2.2.3 - <i>Polimerização em solução sob pressão reduzida.</i>	39
3.2.2.4 - <i>Polimerização em massa sob pressão ambiente utilizando monômeros divinílicos.</i>	39
3.2.2.5 - <i>Polimerização com solvente sob refluxo em sistema aberto utilizando monômeros divinílicos.</i>	39
3.2.2.6 - <i>Polimerização com misturas azeotrópicas de solvente.</i>	39
3.2.3 - <i>Purificação dos polímeros obtidos.</i>	39
3.2.4 – <i>Teste de solubilidade dos polímeros obtidos:</i>	39
3.2.5 - <i>Caracterização dos polímeros obtidos.</i>	40
3.2.5.1 - <i>Cromatografia por exclusão de tamanho (SEC):</i>	40
3.2.5.2 – <i>Calorimetria exploratória diferencial (DSC):</i>	40
3.2.5.3 – <i>Análise termogravimétrica (TG):</i>	41
3.2.5.4 – <i>Espectroscopia no Infravermelho:</i>	41
3.2.5.5 – <i>Difração de Raios-X:</i>	42
3.2.5.6 – <i>Ressonância Magnética Nuclear de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C:</i>	42



<b>4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO:</b>	<b>43</b>
4.1 - POLICONDENSAÇÃO EM MASSA, SOB PRESSÃO AMBIENTE E SOB PRESSÃO REDUZIDA:	43
4.1.1 – Policondensação em massa sob pressão reduzida:	43
4.1.2 - Policondensação em massa sob pressão ambiente:	43
4.1.3 - Considerações gerais:	43
4.2 - POLICONDENSAÇÃO UTILIZANDO MONÔMEROS DIVINÍLICOS:	43
4.3 - POLICONDENSAÇÃO EM SOLUÇÃO COM DESTILAÇÃO AZEOTRÓPICA:	43
4.3.1 - Polimerização em solução sob pressão reduzida.	43
4.4 - INVESTIGAÇÃO DO SISTEMA CICLOEXANO: BENZENO.	43
4.4.1 – Estudo comparativo entre sistemas utilizando cicloexano e misturas cicloexano:benzeno 6:1.	43
4.4.1.1 - Vantagem do uso da mistura de cicloexano e benzeno:	43
4.4.2 – Estudo do crescimento da massa molar em função do tempo de reação:	43
4.4.3 – Troca de benzeno por tolueno na mistura:	43
4.4.4 - Avaliação das massas molares quanto ao álcool de saída.	43
4.4.5 - Teste de solubilidade dos materiais obtidos:	43
4.4.6 - Efeito da proporção monômero: solvente	43
4.4.7 - Efeito da concentração de benzeno na mistura:	43
4.5 - CARACTERIZAÇÃO DOS POLIÉSTERES OBTIDOS.	43
4.5.1 – Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC):	43
4.5.2 – Análise Termogravimétrica:	43
4.5.3 – Ressonância Magnética Nuclear:	43
Espectro de <sup>1</sup> H-RMN do Poli(succinato de isosorbila).	43
Espectro de <sup>13</sup> C-RMN do Poli(succinato de isosorbila).	43
Espectro de <sup>1</sup> H-RMN do Poli(glutarato de isosorbila).	43
Espectro de <sup>13</sup> C-RMN do Poli(glutarato de isosorbila).	43
Espectro de <sup>1</sup> H-RMN do Poli(adipato de isosorbila).	43
Espectro de <sup>13</sup> C-RMN do Poli(adipato de isosorbila).	43
Espectro de <sup>1</sup> H-RMN do Poli(suberato de isosorbila).	43
Espectro de <sup>13</sup> C-RMN do Poli(suberato de isosorbila).	43
Espectro de <sup>1</sup> H-RMN do Poli(sebacato de isosorbila).	43
Espectro de <sup>13</sup> C-RMN do Poli(sebacato de isosorbila).	43
Espectro de <sup>1</sup> H-RMN do Poli(dodecanodioato de isosorbila).	43
Espectro de <sup>13</sup> C-RMN do Poli(dodecanodioato de isosorbila).	43
4.5.4 – Difração de Raios-X:	43
4.5.5 – Espectroscopia no Infravermelho:	43
<b>5 - CONCLUSÕES:</b>	<b>43</b>
<b>6 - REFERÊNCIAS:</b>	<b>45</b>

# 1 - INTRODUÇÃO

## 1.1 - POLÍMEROS DERIVADOS DE FONTES RENOVÁVEIS

A biomassa constitui em uma fonte renovável de matérias-primas que dão origem a novos compostos menos poluentes, capazes de substituir os derivados do petróleo. A utilização efetiva da biomassa é um alvo de investigação atraente e desafiador.

O uso de fontes renováveis como uma alternativa para produtos derivados de combustíveis fósseis vem ganhando preferência, principalmente devido à sua disponibilidade inesgotável e às considerações ambientais, como por exemplo, o potencial “sequestro de carbono” (van Dam, et al., 2005). A utilização de derivados de fontes renováveis em detrimento do uso de produtos de fontes não-renováveis é um dos 12 princípios da química verde (Lenardão, et al., 2003). Muitos governos estão desenvolvendo políticas que visam o desenvolvimento de uma sociedade sustentável através da exploração de produtos renováveis (Clinton, 2000). Em 1998, o Departamento de Energia dos Estados Unidos estabeleceu uma meta para que, até 2020, haja um aumento de 10% na produção e no uso de produtos químicos básicos derivados de plantas, e que até 2050, o aumento seja de 50%. A substituição do uso do petróleo pelo uso de fontes renováveis para a produção desses produtos pode gerar uma redução de até 17% da utilização do petróleo e, conseqüentemente, diminuir a dependência mundial desse combustível (Executive Steering Committee, 1999).

O desenvolvimento de polímeros derivados de biomassa é um dos mais importantes e urgentes assuntos do ponto de vista da preservação ambiental, considerando-se o fato de que a grande maioria dos polímeros utilizados para fins comerciais origina-se de monômeros derivados do petróleo. A poluição ambiental causada pela produção e o descarte de polímeros derivados do petróleo tem levantado um crescente interesse nas indústrias químicas. Assim, polímeros derivados do amido ou outros carboidratos são de grande interesse, por serem provenientes de fontes inteiramente renováveis. Conseqüentemente, não é surpreendente o grande aumento das atividades de pesquisa nesse campo nos últimos anos (Kricheldorf, 1997; Chatti, et al., 2006).

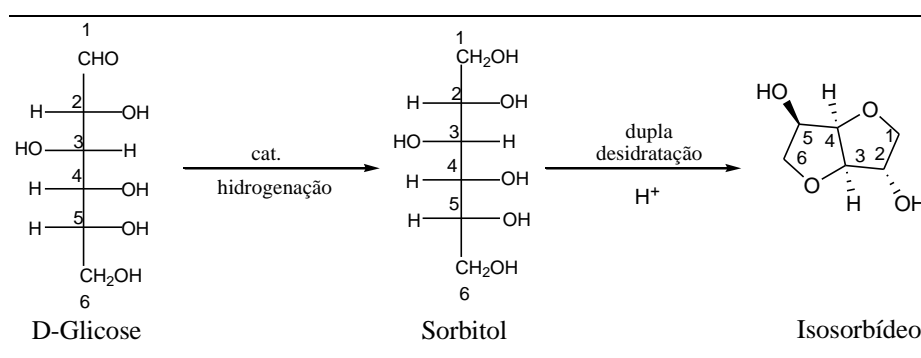
## 1.2 - DIANIDROEXITÓIS:

O milho é uma fonte de amido, matéria-prima natural, renovável, versátil e biodegradável, e vem substituindo o petróleo em muitas aplicações industriais, desde plásticos até para produção de etanol. No Brasil, a safra de milho em 2007 foi de 38,3 milhões de toneladas (IBGE, 2007). Os Estados Unidos são responsáveis por 44% da produção mundial de milho, com lavouras ocupando 77 milhões de acres. Entre todas as lavouras, o milho é a principal fonte de amido, devido ao seu amplo suprimento e baixo custo relativo a outras fontes de amido ou açúcar, e também porque existem sistemas bem estabelecidos de transporte e armazenamento (Busche, et al., 1983).

Os carboidratos utilizados na obtenção de polímeros biodegradáveis são em grande parte provenientes do amido. No entanto, o uso direto de derivados

monoméricos de carboidratos é extremamente difícil devido ao número de funcionalidades hidroxila nestes compostos. Esse problema pode ser contornado utilizando-se 1,4:3,6-dianidroexitóis.

Dianidroexitóis são conhecidos produtos da indústria do milho, obtidos através da hidrogenação seguida de dupla desidratação de açúcares como a D-glicose (Esquema 1) (Stross, et al., 1992). São produzidos mundialmente 650 mil toneladas por ano desses compostos (Sheldon, 1993), e seu potencial tem sido explorado para a síntese de diversos polímeros como poliéteres (Kricheldorf, et al., 1995) (Chatti, et al., 2002), poliuretanos (Bachmann, et al., 1998), policarbonatos (Kricheldorf, et al., 1997) e poliésteres (Kricheldorf, et al., 2003).



ESQUEMA 1 - SÍNTESE DO ISOSORBÍDEO A PARTIR DA D-GLICOSE.

Estes compostos quirais são obtidos a partir do amido como três isômeros de acordo com as configurações relativas das duas funções hidroxila (Flèche, et al., 1986) (Hopton, et al., 1969): isosorbídeo, isomanídeo, e isoidídeo, respectivamente derivados do D-glucitol, D-manitol e L-ídito (Figura 1). Analisando-se as estruturas tridimensionais destes compostos, pode-se observar que os dianidroexitóis têm dois anéis de cinco membros aproximadamente planares, fundidos em *cis*, em forma de “V”, com os grupos hidroxila nas posições C-2 e C-5, que podem ser “*endo*” ou “*exo*”,

dependendo de sua posição, dentro ou fora da “cunha”. No isosorbídeo, uma das hidroxilas está na configuração “*endo*” (C-5) e a outra “*exo*” (C-2), no isomanídeo, ambas estão na configuração “*endo*” e no isoidídeo, ambas estão na configuração “*exo*”. A reatividade relativa destes compostos pode ser explicada através do impedimento estérico que ocorre devido às posições dos grupos hidroxilas nas moléculas.

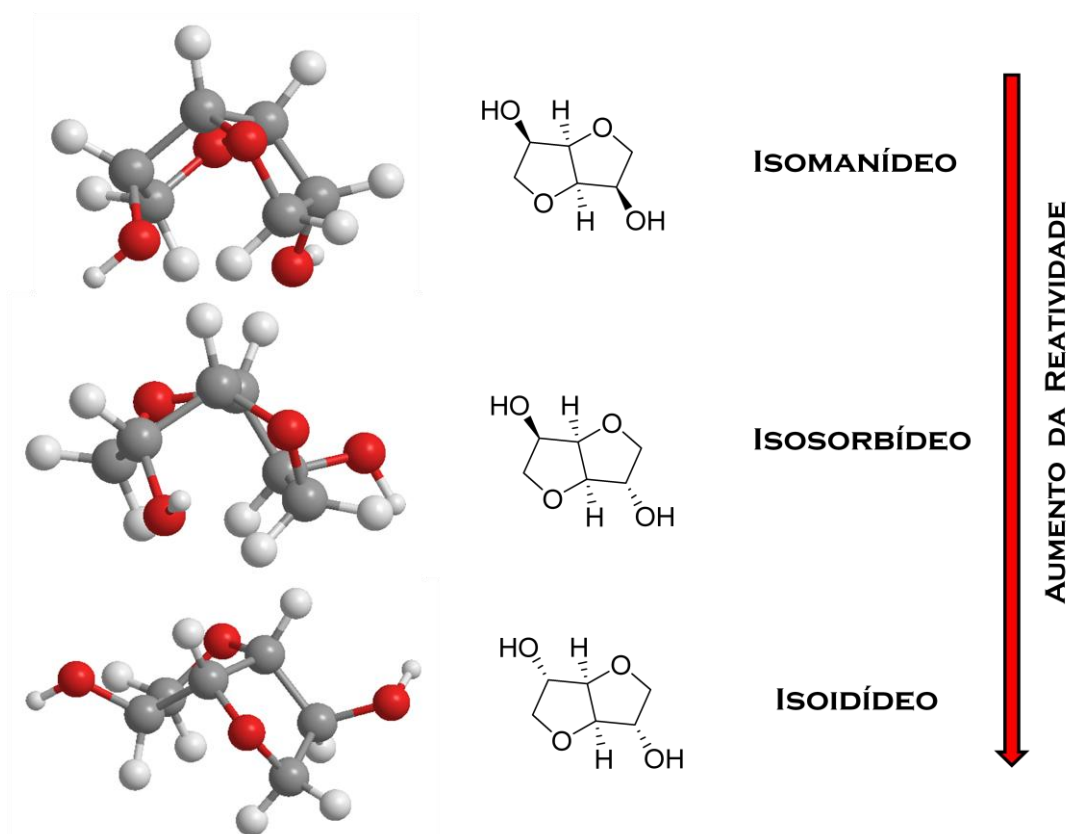


FIGURA 1 - ESTRUTURAS DOS 1,4: 3,6 - DIANIDROEXITÓIS.

O interesse nesse tipo de compostos como monômeros para a síntese de vários policondensados tem aumentado muito nos últimos tempos. Essa tendência se deve a vários motivos (Kricheldorf, 1997):

- Podem ser preparados a partir de sacarídeos e são, portanto, monômeros derivados de fontes renováveis;

- São substâncias atóxicas e seus poliésteres derivados de ácidos dicarboxílicos alifáticos são sensíveis à hidrólise, degradam-se em questão de meses em contato com a água, e por isso são considerados materiais biodegradáveis muito úteis;
- São compostos quirais e pertencem ao grupo de monômeros quirais de menor custo (particularmente o isosorbídeo). As aplicações potenciais de polímeros quirais são rentáveis e incluem membranas, fases estacionárias para cromatografia, entre outras.

### 1.2.1 – ISOSORBÍDEO:

O isosorbídeo é o dianidroexitol mais abundante, visto que é derivado da glicose via sorbitol. É biodegradável e recomendado pelo FDA<sup>1</sup> como um material seguro. É quimicamente e termicamente estável. Poliésteres derivados de isosorbídeo não racemizam ou decompõem quando aquecidos por poucos minutos acima de 350°C. Em princípio, o isosorbídeo pode ser diretamente incorporado em poliésteres comerciais como o poli(tereftalato de etileno) (PET), que é um polímero amplamente usado na fabricação de embalagens para alimentos e bebidas. Devido à sua rígida estrutura molecular, o isosorbídeo enrijece as cadeias de PET e aumenta a temperatura de transição vítrea do PET para 85 a 90°C, dependendo do grau de incorporação, o que permite que frascos feitos com esses copolímeros possam ser envasados à quente, com produtos que necessitam ser pasteurizados, ou que são tão viscosos que necessitam calor para reduzir o tempo de envase.

---

<sup>1</sup> FDA: Food and Drug Administration - agência americana reguladora de alimentos, medicamentos, vacinas e cosméticos para usos em seres humanos.

Frascos normais de PET simplesmente se distorcem quando são envasados à quente. (Adelman, et al., 2003).

Os custos preliminares estimados mostram que o isosorbídeo tem um preço competitivo com monômeros derivados de petróleo, usados para síntese de plásticos (Kricheldorf, et al., 1997; Adelman, et al., 2003). Assim como no PET modificado, há muitas aplicações potenciais para o isosorbídeo na indústria de polímeros. O uso do isosorbídeo derivado do milho irá reduzir potencialmente a quantidade de petróleo necessária para a produção de plásticos. Algumas aplicações potenciais para os materiais poliméricos derivados do isosorbídeo são (Malhotra, et al., 2007):

- Resinas de isosorbídeo biglicidil éter para substituir resinas epóxis de bisfenol-A, usadas como rótulos em latas de alimentos e bebidas. O bisfenol-A é suspeito de ser xenoestrógeno e sua substituição por um diol derivado de fontes naturais tem grandes vantagens;
- Resinas de policarbonatos de isosorbídeo como plásticos moldáveis, com altos valores de temperatura de transição vítrea, transparência e boa resistência aos raios UV, podem ser potenciais candidatos para substituição de policarbonatos nas embalagens de CD;
- Poliuretanos amorfos insolúveis baseados em isosorbídeo como resinas de separação quiral, de grande valor potencial no mercado de fármacos e química fina, para resolução de moléculas enantioméricas, explorando a quiralidade desse composto;
- Copoliésteres de isosorbídeo de estereoquímica controlada como potenciais fibras de alto desempenho e resinas de engenharia, podendo-se criar novas

classes de poliésteres de performance controlada, através do controle da quiralidade do polímero ao longo da cadeia;

- Resinas de poliésteres de isosorbídeo com ácidos tereftálico e isoftálico, e copolímeros com monômeros como L-lactídeo, caprolactona, etc. para usos em aplicações biomédicas. Essas aplicações variam de resinas ambientalmente corretas para liberação de fármacos até novos materiais de sutura degradáveis.

O primeiro registro da síntese do isosorbídeo data do ano 1946 (Montgomery, et al., 1946), e o uso do isosorbídeo como monômero para síntese de poliésteres insaturados foi publicado primeiramente por Jenkins e colaboradores (Jenkins, et al., 1963). Um dos primeiros trabalhos relevantes utilizando isosorbídeo como monômero foi feito por Thiem e Lüders (Thiem, 1984), que utilizaram um cloreto de ácido dicarboxílico aromático para a síntese de politereftalatos. Storbeck e colaboradores (Storbeck, et al., 1993) aperfeiçoaram as condições de reação usadas por Thiem e Lüders, utilizando piridina como acceptor de HCl (subproduto da policondensação). Braun and Bergmann (Braun, et al., 1992) sintetizaram poliésteres a partir de isosorbídeo e de cloretos de ácidos dicarboxílicos aromáticos e alifáticos. Okada e colaboradores (Okada, et al., 1995; Okada, 1996) também sintetizaram poliésteres alifáticos utilizando isosorbídeo e cloretos de ácidos dicarboxílicos alifáticos. Brandenburg e colaboradores (Brandenburg, et al., 2004) sintetizaram uma série grande de poliésteres alifáticos e aromáticos a partir de ácidos dicarboxílicos com uma série de dióis primários e isosorbídeo. Por transesterificação, sintetizaram copolímeros de um poliéster com isosorbídeo incorporado à sua estrutura química, com outro, sem conter isosorbídeo.



A variedade de trabalhos que vem sendo publicados comprova que a incorporação de isosorbídeo na cadeia polimérica de poliésteres tem provado ser uma abordagem interessante para obter produtos biodegradáveis com diferentes propriedades.

### 1.3 - POLIMERIZAÇÃO POR CATÁLISE ENZIMÁTICA

Organismos vivos produzem diferentes macromoléculas (polissacarídeos, polinucleotídeos, proteínas, poliésteres) para suas necessidades metabólicas. A síntese dessas substâncias geralmente envolve reações de polimerização via catálise enzimática *in vivo*. Uma atividade que tem crescido nos últimos anos é o uso de enzimas isoladas. Essas enzimas, originadas de organismos vivos, têm encontrado diversas aplicações como catalisadores para a síntese de polímeros *in vitro*.

Devido às suas características como diversidade, especificidade e biodegradabilidade, polímeros de origem enzimática têm recebido cada vez mais atenção como candidatos a aplicações industriais (Dalla Vecchia, et al., 2004). Em muitos casos, enzimas levam à síntese de polímeros que eram impraticáveis ou impossíveis de serem obtidos através da química convencional (Gross, et al., 2001). Além disso, os polímeros são sintetizados a partir de fontes renováveis e de matérias-primas de baixo custo, e as polimerizações ocorrem sob condições brandas com mínimo impacto ambiental.

Outras vantagens do uso de enzimas na polimerização:

- Alta eficiência na conversão de substratos devido à sua alta seletividade para uma dada transformação orgânica;
- Alta enantio e regiosseletividade;
- Possibilidade de reciclagem do catalisador;
- Enzimas têm a habilidade de serem usadas na maioria dos meios reacionais;
- Evitam o uso de catalisadores potencialmente tóxicos.

Avanços recentes na enzimologia não-aquosa têm expandido significativamente as condições potenciais nas quais as reações de polimerização via catálise enzimática podem ser executadas. Exemplos de meios reacionais alternativos incluem vários solventes orgânicos, misturas bifásicas de solventes orgânicos com misturas aquosas, misturas azeotrópicas, sistemas de micelas reversas, e fluidos supercríticos. Meios de reação não tradicionais têm oferecido novas opções para o controle do peso molecular, assim como da morfologia e arquitetura dos produtos poliméricos. Devido ao fato de que esterificações e transesterificações enzimáticas têm se mostrado efetivas em solventes orgânicos, muitas reações enzimáticas em meios não-aquosos têm sido reportadas (Klibanov, 1990). Algumas enzimas hidrolíticas são estáveis mesmo em solventes orgânicos, e podem ser empregadas em certas condensações difíceis de serem realizadas em meio aquoso. Por isso, a indústria química e os químicos orgânicos vêm mudando sua percepção quanto ao uso de enzimas em síntese, utilizando solventes orgânicos. A visão tradicional era baseada no conhecimento convencional de que o uso de enzimas era restrito a meios aquosos e temperaturas próximas à ambiente, que as enzimas eram muito caras e frágeis como catalisadores, e que eram

extremamente específicas (baseados no paradigma uma enzima/ uma reação/ um substrato).

Os estudos pioneiros de Klibanov e colaboradores, desde 1984 (Zaks, 1984; Klibanov, 1986), utilizando enzimas em solventes orgânicos contendo pouca água ou em meios completamente anidros constituem numa mudança no ponto de vista anterior dos químicos orgânicos. Hoje, já é muito bem aceito que as enzimas não só são capazes de funcionar perfeitamente em solventes orgânicos, como já se provou que as enzimas são mais estáveis termicamente em meio orgânico do que em água. Como a maioria dos compostos orgânicos é solúvel em solventes orgânicos e muito pouco solúveis em água, os químicos orgânicos rapidamente reconheceram o potencial das enzimas como catalisadores. O uso de enzimas em meios não aquosos oferece diversas vantagens (Dordick, 1991):

- Aumento da solubilidade de substratos apolares;
- Aumento da termoestabilidade;
- Fácil recuperação dos produtos através de solventes de baixos pontos de ebulição;
- A imobilização é frequentemente desnecessária, pois a enzima é insolúvel;
- Fácil recuperação da enzima por filtração ou centrifugação;
- Se a imobilização for necessária para melhor desempenho, a simples adsorção em superfícies não porosas é suficiente;
- Supressão de reações laterais “água-dependentes”;

- Deslocamento do equilíbrio termodinâmico favorecendo a síntese em detrimento da hidrólise em reações como a esterificação;
- A possibilidade de realizar reações com outros nucleófilos que não seriam praticáveis em água, como por exemplo, transesterificação;
- Fácil integração de passos enzimáticos com passos químicos convencionais em sínteses multietapas.

A polimerização por catálise enzimática vem se desenvolvendo rapidamente, principalmente nas duas últimas décadas, através do trabalho de autores como Gross e colaboradores (Gross, et al., 2001) e Kobayashi e colaboradores (Kobayashi, et al., 2001), entre outros. A síntese de poliésteres alifáticos por processos enzimáticos tem sido amplamente estudada do ponto de vista da ciência de materiais biodegradáveis (Albertsson, et al., 1995).

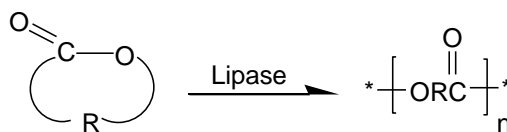
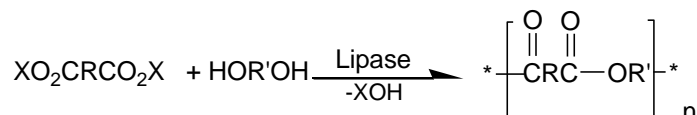
Certamente, ainda existem muitos desafios técnicos para o desenvolvimento de processos comerciais que envolvem polimerizações por catálise enzimática. A identificação de uma enzima com as capacidades sintéticas específicas requer uma intensa pesquisa. Comparando com catalisadores químicos, reações com enzimas geralmente ocorrem com baixa cinética de reação. Além disso, o isolamento e a purificação dos produtos poliméricos por processos de baixo custo também são um desafio. Um melhor entendimento dos mecanismos de reação pode identificar barreiras e limitações dos processos. Contudo, existem muitas razões para o otimismo que existe no que diz respeito a uma revolução que está começando, onde a catálise enzimática *in vitro* será incorporada em numerosos processos relacionados a polímeros.

### 1.3.1 - LIPASES:

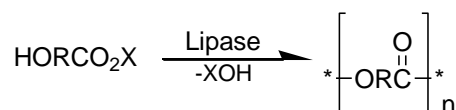
As lipases são enzimas pertencentes ao grupo das hidrolases, que catalisam a hidrólise de ésteres de ácidos graxos, normalmente em ambientes aquosos de organismos vivos. São encontradas em tecidos de vários animais e plantas e podem ser produzidas por fermentação de diversas espécies de microrganismos, tais como fungos, leveduras e bactérias. Têm sido amplamente utilizadas em síntese orgânica devido à sua alta disponibilidade e baixo custo, e têm sido extensivamente investigadas com relação às suas propriedades bioquímicas, fisiológicas e, mais recentemente, para aplicações industriais (Pandey, et al., 1999).

Algumas lipases são estáveis em solventes orgânicos e podem ser usadas como catalisadores para esterificações e transesterificações. Essa catálise possibilita a produção de poliésteres e policarbonatos através de vários métodos de polimerização. Reações típicas de polimerizações catalisadas por lipases estão resumidas no Esquema 2 (Kobayashi, et al., 2001). Biotransformações de várias combinações de derivados de ácidos dicarboxílicos e glicóis para obtenção de poliésteres foram publicadas nos últimos 20 anos (Bornschauer, et al., 2002). Ácidos dicarboxílicos e seus derivados, ésteres ativados e desativados, anidridos cíclicos e polianidridos foram reportados como monômeros para a síntese de poliésteres sob condições reacionais brandas.

---

**Polimerização de Lactonas por Abertura de Anel**

**Policondensação de Ácidos Carboxílicos ou Derivados com Glicóis**


X= H, Alquil, Alquil halogenado, Vinil, etc.

**Policondensação de Oxiácidos e seus Ésteres**


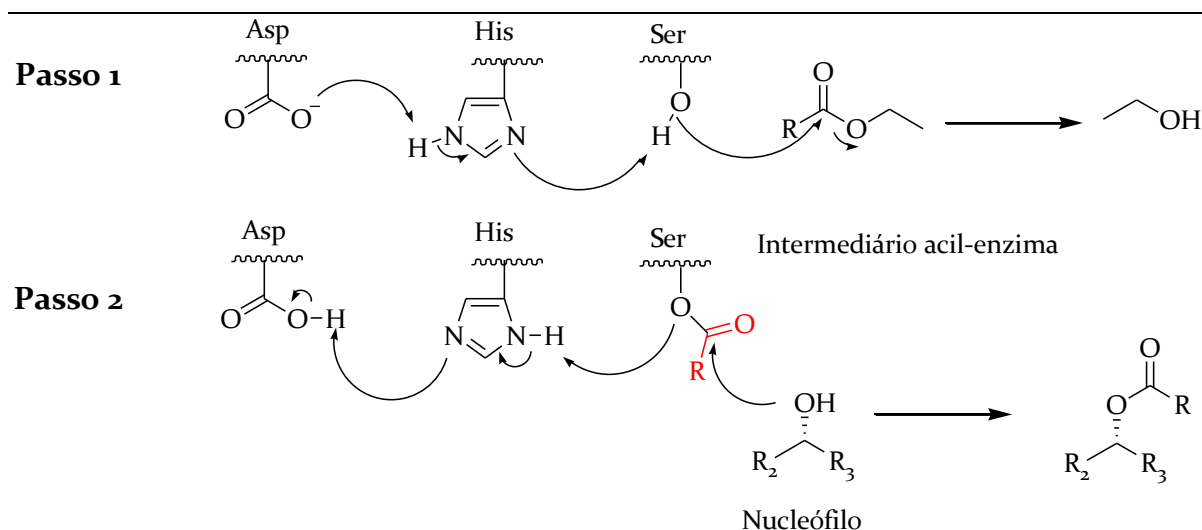
X= H, Alquil, Alquil halogenado, Vinil, etc.

---

ESQUEMA 2 - REAÇÕES DE POLIMERIZAÇÃO CATALISADAS POR LIPASES.

**1.3.1.1 – Lipase de *Candida antarctica* – Fração B - CAL-B:**

Muito tem sido publicado sobre o uso de lipases para catalisar biotransformações, muitas dessas reações são realizadas em meios não aquosos. Certamente, a CAL-B, que é a lipase de *Candida antarctica* - fração B, tem sido a lipase mais amplamente utilizada (Anderson, et al., 1998). Com sua estrutura completamente elucidada (Uppenberg, et al., 1994) e mecanismo do sítio catalítico bem conhecido (Faber, 1997; Kwon, et al., 2007) - Esquema 3, essa enzima tem sido amplamente usada nas pesquisas e na indústria, principalmente por possuir uma característica chamada promiscuidade catalítica (Copley, 2003), que é a habilidade do sítio ativo da enzima em catalisar diferentes transformações químicas.



ESQUEMA 3 - MECANISMO DO SÍTIO CATALÍTICO DA CAL-B.

Nos trabalhos de Uppenberg (Uppenberg, et al., 1994), e Cygler e Shrag (Cygler, et al., 1997), foi mostrado que o sítio ativo de uma lipase é dividido em um lado ligante-acila e outro lado ligante-álcool, o lado álcool sendo substrato-específico, e o lado acila é descrito como sendo relativamente não-específico. Um número considerável de trabalhos vem sendo publicado sobre a estereoespecificidade do lado álcool do sítio ativo das lipases. Como um exemplo, a CAL-B é altamente específica para alcoóis secundários, devido à cavidade oxiânion, que estabiliza o intermediário tetraédrico álcool-acil-enzima (Uppenberg, et al., 1995). As lipases, no geral, são capazes de hidrolisar triglicerídeos em uma interface óleo-água, onde sua atividade é drasticamente aumentada. A CAL-B, apesar de não ser tão eficiente como as outras lipases na hidrólise de triglicerídeos, é de particular interesse porque demonstra alta estereoespecificidade em substratos quirais durante a hidrólise ou a síntese orgânica.

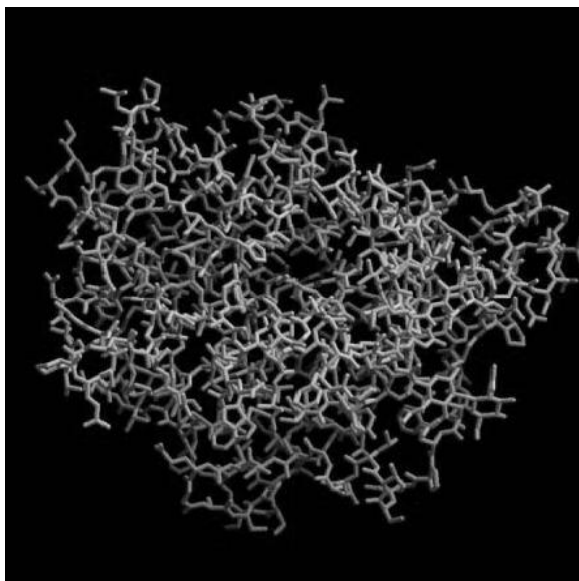


FIGURA 2 - ESTRUTURA TRIDIMENSIONAL DA CAL-B (WWW.NOVOZYMES.COM)

Neste trabalho, a CAL-B utilizada foi a NOVOZYM-435, que é a lipase de *Candida antarctica* imobilizada em matriz de poliacrilato, que confere uma maior termoestabilidade à enzima. As propriedades da NOVOZYM-435 estão resumidas na Tabela 1.

TABELA 1 - ESPECIFICAÇÕES TÉCNICAS DA CAL-B – NOVOZYM-435 – WWW.NOVOZYMES.COM

<b>Densidade</b>	430 kg/m <sup>3</sup>
<b>Diâmetro das partículas</b>	0,3-0,9 mm
<b>Quantidade de água</b>	1-2% m/m
<b>Peso Molecular</b>	33 kDa
<b>pH ótimo</b>	7,0
<b>Estabilidade ao pH</b>	7,0 – 10,0
<b>Temperatura ótima</b>	~70°C
<b>Atividade declarada<sup>a</sup></b>	10000 PLU/g

<sup>a</sup> – A atividade é dada pela síntese de laureato de propila (PLU=Propyl Laurate Units). 1 PLU corresponde à formação de 1 μmol de éster por minuto.



Muitos trabalhos vêm sendo publicados abordando a síntese de poliésteres de glicóis e diácidos e seus derivados via catálise enzimática utilizando lipases. No entanto, até o presente momento não há registros de polimerizações de dióis secundários via catálise enzimática propriamente dita. Inclusive, quando se realiza a polimerização enzimática de polióis como os alditóis (Hu, et al., 2006), que possuem em sua estrutura tanto hidroxilas primárias quanto secundárias, a enzima realiza a polimerização através das hidroxilas primárias e, como em se tratando de hidroxilas secundárias, até então só era conhecida a seletividade da CAL-B por configurações (R), somente as hidroxilas (R) secundárias reagiram, aumentando a massa molar do polímero através de ramificações na cadeia, em concordância com os estudos de Hult e colaboradores (Rotticci, et al., 1998).

Estudos recentes realizados por Palmans e colaboradores (Kanca, et al., 2008; van As, et al., 2007), mostram a polimerização de misturas racêmicas de monômeros contendo hidroxilas secundárias através de Catálise Acoplada Iterativa (Iterative Tandem Catalysis – ITC), mais especificamente resolução cinética dinâmica, que é a conversão química na qual dois ou mais catalisadores trabalham juntos para obter a reação química desejada. A resolução cinética dinâmica tem sido amplamente utilizada para obtenção de compostos enantiomericamente puros. Nesses trabalhos de polimerização, os autores utilizaram simultaneamente, CAL-B e um catalisador de rutênio. Assim, a enzima desempenhava o papel de esterificar os alcoóis com configuração (R), enquanto o catalisador basicamente convertia as hidroxilas (S) em (R), originando uma reação em cascata, obtendo polímeros com massas molares de 15 kDa.

Nesse trabalho, reportamos a utilização de isosorbídeo [(1*R*,4*R*,5*R*, 8*S*)-2,6-dioxabicyclo[3.3.0]octan-4,8-diol], um diol com hidroxilas nas configurações (R) e (S)

na mesma molécula, com ácidos dicarboxílicos e seus derivados, via catálise enzimática propriamente dita, utilizando como catalisador apenas a lipase de *Candida Antarctica*, fração B (CAL-B), para a obtenção de poliésteres.

## 2 – OBJETIVOS

Tendo em vista as recentes políticas de incentivo à exploração da biomassa para obtenção de materiais “ambientalmente corretos”, visando à redução do uso de compostos derivados do petróleo, e considerando ampla disponibilidade e as potencialidades químicas e econômicas do isosorbídeo descritas anteriormente, aliadas às múltiplas vantagens que a catálise enzimática pode proporcionar na obtenção de polímeros biodegradáveis e biocompatíveis, o objetivo principal desse trabalho foi desenvolver metodologias de preparo de poliésteres de isosorbídeo via catálise enzimática.

Dentro deste escopo, tendo por finalidade a obtenção de materiais com altos valores de massas molares, exploramos diferentes parâmetros como: técnicas de policondensação, solventes, tempo de reação, grupo de saída, solubilidade e diluição dos sistemas e tipos de monômeros, para a produção de polímeros com diferentes características.

A grande importância do trabalho, e o grande desafio proposto, nesse caso, consistem no fato de que, até o presente momento, não existem registros de êxito em polimerizações de dióis secundários impedidos estericamente, como é o caso do isosorbídeo, através de catálise enzimática, o que possibilitaria uma infinidade de aplicações dos polímeros, principalmente porque os materiais obtidos são livres de quaisquer resíduos de metais pesados, provenientes dos catalisadores convencionais.

## 3 – MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 – MATERIAIS:

Cicloexano, benzeno, tolueno, *n*-heptano, MEK (Merck), acetona, *n*-hexano, clorofórmio, metanol (Synth e Vetec), acetato de etila (Synth), foram secos e destilados previamente. O éter difenílico (Aldrich) foi previamente destilado.

Pentóxido de fósforo anidro (Sigma-Aldrich e Vetec), sulfato de magnésio anidro (J. T. Baker), cloreto de cálcio anidro (Synth e Casa Americana) e bicarbonato de sódio (Synth), foram utilizados para secar e purificar os solventes e monômeros.

O acetato de vinila (Aldrich), acetato cúprico (Malinckrodt), acetato mercúrico (Merck) e acetato de sódio (Synth) foram utilizados na síntese dos monômeros divinílicos sem purificação prévia.

Os ácidos succínico, adípico, glutárico, subérico, sebácico (Aldrich) e dodecanodióico (Merck), foram utilizados conforme recebido, nas sínteses dos seus respectivos diésteres. Nas polimerizações onde se utilizou o ácido propriamente dito, este foi purificado por recristalização conforme descrito abaixo.

O isosorbídeo (Cerestar e Aldrich) foi previamente recristalizado em acetato de etila e seco antes de ser utilizado.

A enzima CAL-B (Novozym-435) foi gentilmente cedida pela Novozymes do Brasil, e utilizada conforme recebido.

As peneiras moleculares de 3Å e 4Å (Aldrich) foram previamente ativadas em mufla por 6 horas a 300°C.

Na síntese e purificação dos monômeros, a pureza dos compostos foi determinada por CG e CG-MS, no Laboratório de Compostos de Selênio e Telúrio,

no IQ-USP. As análises por cromatografia a gás (CG) foram efetuadas nos cromatógrafos SHIMADZU GC-2010, equipado com um detector de ionização de chama, e os espectros de massa de baixa resolução foram obtidos em um instrumento Shimadzu CG-MS-17A/QP5050A. Os gases de arraste foram nitrogênio para CG, e hélio para CG-MS e a coluna empregada foi de sílica fundida revestida com goma de poli SPB-35 (35% difenil / 65% dimetilsilicone) . A rampa de aquecimento foi: temperatura inicial 100°C, gradiente de 10°C/min, temperatura final: 250°C.

## 3.2 – MÉTODOS:

### 3.2.1 - *PREPARAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE REAGENTES, SOLVENTES E MONÔMEROS.*

#### 3.2.1.1 - *Purificação do acetato de etila.*

O acetato de etila foi seco em  $\text{CaCl}_2$ , refluxado, duplamente destilado de  $\text{P}_2\text{O}_5$  e guardado sob peneira molecular de 3Å ativada.

#### 3.2.1.2- *Purificação do clorofórmio.*

O Clorofórmio (Synth) utilizado para as análises de SEC foi tratado com  $\text{NaHCO}_3$ , seco com  $\text{CaCl}_2$  anidro e filtrado em membrana de PTFE modificado de 0,45  $\mu\text{m}$  de poro.

### 3.2.1.3- Purificação do isosorbídeo (IS).

O isosorbídeo foi purificado por recristalização em acetato de etila previamente tratado, seco sob vácuo em dessecador com pentóxido de fósforo por 72h (até massa constante). O rendimento da recristalização foi, em média, 85%. A verificação da pureza do material obtido foi feita através de cromatografia gasosa (pureza >99,8%).

Antes de ser utilizado nas polimerizações, o isosorbídeo recristalizado foi, ainda, seco sob vácuo por 48h, em dessecador com pentóxido de fósforo até peso constante.

### 3.2.1.5- Purificação do ácido adípico.

O ácido adípico foi recristalizado em solução de etanol: água 2:1 e seco em dessecador sob vácuo por 24 h.

### 3.2.1.6- Síntese dos ésteres dos ácidos dicarboxílicos.

Os ésteres dos ácidos dicarboxílicos foram sintetizados de acordo com Klostergaard (Klostergaard, 1958) (dados na Tabela 2).

A uma mistura de 70 mmol do diácido de interesse em 700 mmol do álcool anidro, adicionou-se ácido sulfúrico até solubilização do ácido, e 50 mL de hexano, refluxou-se por 30 minutos. Ao fim da reação, a mistura foi lavada com solução saturada  $\text{NaHCO}_3$ . Após a separação de fases, lavou-se a fase aquosa com hexano (3X30 mL). As fases orgânicas combinadas foram secas com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e a mistura foi concentrada em rotoevaporador. Os produtos foram purificados por destilação a vácuo, e a pureza foi determinada por cromatografia gasosa (em todos os casos, maior que 99,5%).

TABELA 2 - ÁCIDOS E ÁLCOOIS UTILIZADOS NA SÍNTESE DOS DIÉSTERES.

Ácido	Álcool	Rendimento após purificação
Succínico	Etanol	62%
Succínico	Metanol	55%
Glutárico	Etanol	63%
Adípico	Metanol	65%
Adípico	Etanol	78%
Adípico	n-Propanol	56%
Adípico	n-Butanol	51%
Subérico	Etanol	72%
Sebácico	Etanol	70%
Dodecanodióico	Etanol	67%

### 3.2.1.7- Síntese do adipato de divinila e succinato de divinila.

Os ésteres divinílicos foram preparados através de uma adaptação do procedimento descrito por Kikukawa e colaboradores. (Kikukawa, et al., 1972).

Em um balão de 125 mL, foram adicionados 68 mmol de ácido adípico (ou ácido succínico), 330 mg de acetato mercúrico, 20 mg de acetato cúprico e 70 mL de acetato de vinila. A mistura foi aquecida sob refluxo por 15 minutos. Adicionou-se então, gota a gota, 70µL de ácido sulfúrico concentrado. A mistura foi deixada sob refluxo por 16h. Adicionou-se cerca de 5 g de acetato de sódio e a solução foi filtrada. Lavou-se com solução saturada de NaHCO<sub>3</sub> até cessar a efervescência. Extraiu-se com 3 X 40 mL de hexano, as fases orgânicas foram combinadas, lavadas com água, secas com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e concentradas. O rendimento foi de aproximadamente 40%. O produto foi purificado por destilação a vácuo (destilado duas vezes).

### 3.2.2 - PURIFICAÇÃO DOS POLÍMEROS OBTIDOS.

Os materiais obtidos foram purificados por dissolução e precipitação, conforme descrito abaixo: (Uyama, et al., 1999)

Em um béquer, o material impuro foi dissolvido na menor quantidade possível de clorofórmio, e, em seguida, adicionado gota a gota em uma grande quantidade de metanol (dez vezes o volume de clorofórmio utilizado), sob agitação vigorosa. O polímero permanece então aderido às paredes do béquer. O sobrenadante foi então eliminado e os materiais foram secos, primeiramente em dessecador sob vácuo por 1 h, e posteriormente em estufa sob vácuo a 45°C por 48 h.

### 3.2.3 – TESTE DE SOLUBILIDADE DOS POLÍMEROS OBTIDOS:

Com o objetivo de se determinar a solubilidade de uma amostra padrão de poli(adipato de isosorbila) com  $\bar{M}_w \sim 30000$  Da, uma grande quantidade de polímero foi adicionada a 2 mL de diferentes solventes de forma que o polímero formasse uma solução supersaturada com o solvente em questão, e a solução foi mantida sob agitação magnética por 48h. Decorrido este tempo, uma alíquota de 1,00 mL foi retirada e colocada em um béquer previamente pesado em balança analítica. O solvente foi então evaporado sob vácuo por 12 h, e o béquer foi novamente pesado. A diferença entre as massas obtidas é a solubilidade do material em 1 mL de solvente.



### 3.2.4 - CARACTERIZAÇÃO DOS POLÍMEROS OBTIDOS.

#### 3.2.4.1 - Cromatografia por exclusão de tamanho (SEC):

As massas molares médias  $\bar{M}_w$  e  $\bar{M}_n$ , bem como a razão  $\bar{M}_w / \bar{M}_n$  que é o índice de polidispersividade (PD), foram determinados por cromatografia por exclusão de tamanho, realizadas em um cromatógrafo Shimadzu modelo Class-VP 10A, equipado com um detector de índice de refração RID-10A com a cela a 35°C, forno CTO-10A a 35°C, loop de 20  $\mu$ L, bomba LC-10AD, com fluxo de 1 mL por minuto. Foram utilizadas quatro colunas Waters tipo Styragel® HR6 (WAT054468), HR4 (WAT044225), HR3 (WAT044222), e HR1 (WAT04234). A fase móvel utilizada foi clorofórmio. Os valores de massas molares foram reportados com relação a padrões de poliestireno (com  $\bar{M}_w = 820, 2460, 5120, 13200, 29300, 47500$  e  $216000$ ), que foram utilizados na construção de curvas de calibração. A concentração das amostras (injetadas) foi de aproximadamente 20 mg mL<sup>-1</sup>.

#### 3.2.4.2 – Calorimetria exploratória diferencial (DSC):

Os ensaios de DSC foram realizados no Laboratório do Centro NSF de Biocatálise e Bioprocessamento de Macromoléculas, na Polytechnic University, em Nova York, em um calorímetro TA Instruments DSC2920, calibrado com padrão de Índio. A taxa de aquecimento foi de 10°C/min, sob proteção de atmosfera de nitrogênio sob fluxo de 50mL/min, e a varredura foi feita de -70 a 200°C.

Primeiramente, a amostra foi resfriada a  $-70^{\circ}\text{C}$  e então aquecida a  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  até  $200^{\circ}\text{C}$ , mantida a  $200^{\circ}\text{C}$  por 3 minutos e, em seguida, resfriada a  $-70^{\circ}\text{C}$  a  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ . Assim que a amostra foi resfriada, esta foi aquecida novamente até  $200^{\circ}\text{C}$ . O software “TA Advantage Control” foi usado para controlar as condições experimentais e o software “TA Universal Analysis” para analisar os resultados.

#### **3.2.4.3 – Análise termogravimétrica (TG):**

As análises termogravimétricas foram realizadas no Laboratório do Centro NSF de Biocatálise e Bioprocessamento de Macromoléculas, na Polytechnic University, em Nova York, no equipamento TA Instruments TGA2950. Cada amostra (10 mg) foi aquecida de 40 a  $750^{\circ}\text{C}$ , a uma taxa de aquecimento de  $10^{\circ}\text{C}$  por minuto sob proteção de atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL/min. Os dados foram analisados utilizando o software “TA Universal Analysis”.

#### **3.2.4.4 – Espectroscopia no Infravermelho:**

Os ensaios de espectroscopia no infravermelho foram realizados no equipamento FTIR Bomem MB 100 (faixa de operação de  $350 - 4000\text{ cm}^{-1}$ , resolução de  $2\text{ cm}^{-1}$ ). As amostras foram analisadas em filmes preparados em clorofórmio e secos em estufa a vácuo.

### 3.2.5.5 – Difração de Raios-X:

Os ensaios de difração de raios-X de alto ângulo (WAXD) foram obtidos no equipamento X-Ray Difratometer Miniflex da Rigaku. Os ensaios foram realizados usando um feixe monocromático ( $\lambda$ ) de raios X de 0,194 nm ( $\text{FeK}_{\alpha}$ ) ou 0,154 nm ( $\text{CuK}_{\alpha}$ ), voltagem de 30 kV, corrente de 15 mA, intervalo de ângulo  $2\theta$  tipicamente de  $3^{\circ}$  a  $60^{\circ}$  e leitura de  $2\theta$  de  $0,02^{\circ}$  em  $0,02^{\circ}$ . As amostras na forma de pó sofreram tratamento térmico prévio (recozimento; *annealing*) em estufa a vácuo por 48 h a  $90^{\circ}\text{C}$ .

### 3.2.5.6 – Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ :

Para fins de determinação estrutural, as análises de ressonância magnética nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram realizadas em um equipamento Bruker DPX 300 (300 e 75 MHz, respectivamente). As amostras (20-60 mg e 20-150 mg para  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  NMR, respectivamente) foram dissolvidas em  $\text{CDCl}_3$  (0,5-0,7 mL), que continha tetrametilsilano (TMS) como referência interna, e em alguns casos, os espectros foram calibrados pelo deslocamento químico do  $\text{CDCl}_3$ , no caso do  $^{13}\text{C}$ , ou  $\text{CHCl}_3$  no caso do hidrogênio. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) são dados em ppm.

## 5 - CONCLUSÕES:

Atualmente, existe uma enorme demanda por polímeros derivados de fontes renováveis, devido aos benefícios oferecidos pelo uso desses materiais, que substituem com vantagens os polímeros derivados do petróleo, principalmente por terem custos de produção semelhantes aos materiais provenientes de combustíveis fósseis. Esse trabalho representa um grande avanço na área, por possibilitar a síntese via enzimática de polímeros de isosorbídeo, um diol secundário e estericamente impedido, obtendo materiais com características muito interessantes, de massas molares similares às obtidas via catálise química, sendo a catálise enzimática uma alternativa “limpa” de síntese de polímeros.

Esses materiais foram produzidos com sucesso em altos rendimentos, utilizando lipase de *Candida antarctica* – Fração B como catalisador, através de diversas metodologias: policondensação em massa sob pressão ambiente e sob pressão reduzida; policondensação em massa e em solução utilizando monômeros divinílicos e policondensação em solução com destilação azeotrópica.

Ao contrário do que previam todas as expectativas iniciais, a técnica que se mostrou mais eficiente de polimerização enzimática do isosorbídeo foi a polimerização em solução com destilação azeotrópica fornecendo materiais com massas molares maiores. Diz-se contrário às expectativas, pelo fato de que, dentro da varredura de condições realizadas, misturas de cicloexano e benzeno, onde os polímeros são praticamente insolúveis, mostraram-se mais eficientes do que solventes onde a solubilidade dos polímeros é maior. Ainda serão necessários outros estudos para elucidar o funcionamento desse sistema, onde os polímeros

continuam tendo suas massas molares aumentadas, mesmo quando o sistema polímero:solvente passa a ser heterogêneo. Dentro dessa investigação, alguns avanços já foram feitos, como a determinação da importância da diluição do sistema, a solubilidade dos polímeros nos solventes em questão, e a concentração de benzeno ideal para a obtenção de massas molares maiores. Com isso, alguns pontos foram esclarecidos, mas ainda devemos aprofundar os conhecimentos nesse assunto.

Embora tenham apresentado uma cinética de reação lenta, provou-se que polimerizações de dióis secundários, como o isosorbídeo, são possíveis de serem realizadas via catálise enzimática, com resultados muito promissores. Todos os resultados obtidos são inéditos para polímeros derivados de isosorbídeo, abrindo, assim, uma nova linha de pesquisas nessa área, ampliando ainda mais a variedade de potenciais aplicações desse diol.

## 6 - REFERÊNCIAS:

- Adelman, D.J., Charbonneau, L.F. e Ung, S. 2003.** *Process for Making Poly(ethylene-co-isosorbide) Terephthalate Polymer.* US6,656,577 USA, 2003.
- Albertsson, A. C. e Karlsson, S. 1995.** Degradable polymers for the future. *Acta Polym.* 1995, Vol. 46, 114.
- Anderson, E.M., Larsson, K.M. e Kirk, O. 1998.** The use of *Candida antarctica* Lipase B in Organic Synthesis. *Biocatal. Biotransform.* 1998, Vol. 16, 181.
- Azim, H., Dekhterman, Z.J., Gross, R.A. 2006.** *Candida Antarctica* Lipase B-Catalyzed Synthesis of Poly(butylene succinate): Shorter Chain Building Blocks Also Work. *Biomacromolecules.* 2006, Vol. 7, 3093.
- Bachmann, F., Ruppenstein, M. e Thiem, J. 1998.** Synthesis of a novel starch-derived AB-type polyurethane. *Macromol. Rapid Commun.* 1998, Vol. 19, 21.
- Billmeyer, F.W. 1984.** *Textbook of Polymer Science.* New York : John Wiley & Sons, 1984.
- Binns, F. Harffey, P., Roberts, S. e Taylor, A. 1999.** Studies Leading to the Large Scale Synthesis of Polyesters Using Enzymes. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.1.* 1999, 2671.
- Binns, F., et al. 1993.** Enzymic polymerization of an unactivated diol/diacid system. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1: Org. Bio-Org. Chem.* 1993, Vol. 8, 899.
- Binns, F., et al. 1998.** Studies of Lipase-Catalyzed Polyesterification of an Unactivated Diacid-Diol System. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* 1998, Vol. 36, 2069.
- Bornschaer, U.T. e Kazlauskas, R.J. 2002.** *Hydrolases in Organic Synthesis.* New York : Wiley -VCH, 2002.
- Brandenburg, C.J. e Hayes, R.A. 2004.** *Process to Produce Polyesters which Incorporate Isosorbide. (Du Pont).* US 6,818, 730 USA, 2004.
- Braun, D. e Bergmann, M. 1992.** Polymers from 1,4:3,6-dianhydrosorbitol. . *J. Prakt. Chem.* 1992, Vol. 334(4), 298.
- Busche, R.M., Donald, C.C. e Hardy, R.W.F. 1983.** Production of Feedstock Chemicals. *Science.* 1983, Vol. 219, 733.
- Chatti, S., et al. 2002.** Efficient synthesis of polyethers from isosorbide by microwave-assisted phase transfer catalysis. *Eur. Polym. J.* . 2002, Vol. 38, 1851.

**Chatti, S., et al. 2006.** Synthesis and Properties of new Poly(ether-ester)s Containing Aliphatic Diol Based on Isosorbide: Effects of the Microwave-assisted Polycondensation. *Eur. Polym. J.* 2006, Vol. 42, 410.

**Chaudhary, A.K., Lopez, J. e Russel, A.J. 1997.** Biocatalytic Solvent-Free Polymerization To Produce High Molecular Weight Polyesters. . *Biotechnol. Prog.* 1997, Vol. 13, 318.

**Clinton, W.J. 2000.** Developing and Promoting Biobased Products and Bioenergy. *White House: The Executive Order.* 2000, nº13134.

**Copley, S.D. 2003.** Enzymes with Extra Talents: Moonlighting Functions and Catalytic Promiscuity. *Curr. Op. Chem. Biol.* 2003, Vol. 7, 265.

**Cygler, M. e Schrag, J. 1997.** Structure as a Basis for Understanding Interfacial Properties of Lipases. *Methods Enzymol.* 1997, Vol. 284, 3.

**Dalla Vecchia, R., Nascimento, M.G. e Soldi, V. 2004.** Aplicações Sintéticas de Lipases Imobilizadas em Polímeros. *Química Nova.* 2004, Vol. 27(4), 623.

**Dong, H., Gui, C.S. e Shen, J.C. 1999.** Study on the enzymic polymerization mechanism of lactone and the strategy for improving the degree of polymerization. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* 1999, Vol. 37(9), 1265.

**Dordick, J.S. 1989.** Enzymatic Catalysis in Monophasic Solvents. *Enzyme Microb. Technol.* 1989, Vol. 11, 194.

—. **1991.** Principles and Applications of Nonaqueous Enzymology. [A. do livro] H.W. Blanch e D.S. Clark. *Applied Biocatalysis.* New York : Marcel Dekker, 1991.

**Edlund, U. e Albertsson, A.C. 2003.** Polyesters Based on Diacid Monomers. *Adv. Drug. Del. Rev.* 2003, Vol. 55, 585.

**Executive Steering Committee, Renewables Vision 2020. 1999.** *The Technology Roadmap for Plant/Crop-Based Renewable Resources 2020.* Washington, DC : U.S. Department of Energy, 1999. DOE/GO - 10099-706.

**Faber, K. 1997.** *Biotransformations in Organic Chemistry.* Berlin : Springer-Verlag, 1997.

**Ferreira da Costa, M. A., Barrozo da Costa, M. F. 2002.** Benzeno: uma questão de saúde pública. *Interciencia.* 2002, Vol. 27, 201.

**Flèche, G. e Huchette, M. 1986.** Isosorbide. Preparation, properties and chemistry. *Starch/Staerke.* 1986, Vol. 38 (1), 26.

**Gross, R.A., Kumar, A. e Kalra, B. 2001.** Polymer Synthesis by In Vitro Enzyme Catalysis. *Chem. Rev.* 2001, Vol. 101, 2097.

**Gutman, A. L., Knani, D., Kohn, D. 1993.** Enzyme Catalyzed Ring-Opening Polymerization of Ethylene Isopropyl Phosphate. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* 1993, Vol. 31, 1221.

**Hopton, F.J. e Thomas, G.H.S. 1969.** Conformations of some dianhydrohexitols. *Can. J. Chem.* 1969, Vol. 47, 2395.

**Hu, J., Gao, W. e Gross, R.A. 2006.** "Sweet Polyesters": Lipase-Catalyzed Condensation-Polymerization of Alditols. *Macromolecules.* 2006, Vol. 39, 6792.

**IBGE. 2007.** Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. *www.ibge.gov.br.* 2007.

**Jenkins, Victor F., Mott, Anthony e Wicker, Ronald J. 1963.** *Unsaturated polyesters and coatings therefrom.* GB 927786 Brit. Pat., 1963.

**Kanca, U., et al. 2008.** Iterative Tandem Catalysis of Racemic AB Monomers. *J. Pol.Sci. Part A: Pol. Chem.* 2008, Vol. 46, 2721.

**Kikukawa, K., Nozakura, S. e Murahashi, S. 1972.** Cyclopolymerization of Divinyl Esters of Dibasic Acids and Structure of Poly(Vinyl Alcohol) Derived from the Polymers. *J. Polym. Sci. Part A - Polym. Chem.* 1972, Vol. 10, 139.

**Klibanov, A.M. 1990.** Asymmetric Transformations Catalyzed by Enzymes in Organic Solvents. *Acc. Chem. Res.* 1990, Vol. 23, 114.

—. 1986. Enzymes that Work in Organic Solvents. *Chemtech.* 1986, 354.

**Klostergaard, H. 1958.** Esterification with Trapping Phase. *J. Org. Chem.* 1958, Vol. 23, 108.

**Kobayashi, S., Uyama e Kimura, H. 2001.** Enzymatic Polymerization. *Chem. Rev.* 2001, Vol. 101, 3793.

**Kricheldorf, H. R. e Al Masri, M. 1995.** New polymer syntheses. LXXXII. Syntheses of poly(ether-sulfone)s from silylated aliphatic diols including chiral monomers. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* 1995, Vol. 33(15), 2667.

**Kricheldorf, H. R. e Gomourachvili, Z. 1997.** Polyanhydrides. Part 10. Aliphatic polyesters and poly(ester-anhydride)s by polycondensation of silylated aliphatic diols. *Macromol. Chem. Phys.* 1997, Vol. 198(10), 3149.

**Kricheldorf, H.R. 1997.** "Sugar Diols" as Building Blocks of Polycondensates. *Rev. Macromol. Chem. Phys.* 1997, Vol. C37(4), 599.

**Kricheldorf, H.R., et al. 2003.** Macrocycles 27: Cyclic aliphatic polyesters of isosorbide. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* 2003, Vol. 41, 3414.



- Kumar, A., Gross, R.A. 2000.** *Candida antarctica* Lipase B Catalyzed Polycaprolactone Synthesis: Effects of Organic Media and Temperature. *Biomacromol.* 2000, Vol. 1, 133.
- Kwon, C.H., Shin, D.Y. e Kang, J.W. 2007.** Molecular Modeling and its Experimental Verification for the Catalytic Mechanism of *Candida antarctica* Lipase B. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2007, Vol. 17(7), 1098.
- Laane, C., et al. 1987.** Rules for Optimization of Biocatalysis in Organic Solvents. *Biotechnol. Bioeng.* 1987, Vol. 30, 81.
- Lenardão, E.J., et al. 2003.** "Green Chemistry" - Os 12 Princípios da Química Verde e sua Inserção nas Atividades de Ensino e Pesquisa. *Química Nova.* 2003, Vol. 26(1), 123.
- Lide, David R. 2005.** CRC Handbook of Chemistry, Internet Version. <<http://www.hbcplib.com>>. [Online] 2005.
- Linko, Y.Y., Wang, Z.L., Seppala, J. 1995.** Lipase-catalyzed synthesis of poly(1,4-butyl sebacate) from sebacic acid or its derivatives with 1,4-butanediol. *J. Biotechnol.* 1995, Vol. 40, 133.
- Mahapatro, A., Kalra, B. e Gross, R.A. 2003.** Lipase-Catalyzed Polycondensations: Effect of Substrates and Solvent on Chain Formation, Dispersity and End-Group Structure. *Biomacromolecules.* 2003, Vol. 4, 544.
- Malhotra, S.V., Kumar, V. e Jaffe, M. 2007.** Corn-Based Chemistry and its Applications. *The Bridge.* 2007, Vol. 37(4), 17.
- Montgomery, R. e Wiggins, L. F. 1946.** Anhydrides of polyhydric alcohols. IV. Constitution of dianhydrosorbitol. *J. Chem. Soc.* 1946, 390.
- Okada, M., Okada, Y. e Aoi, K. 1995.** Synthesis and Degradabilities of Polyesters from 1,4:3,6-Dianhydrohexitols and Aliphatic Dicarboxylic Acids. . *J. Polym. Sci. Part A. Polym. Chem.* 1995, Vol. 33, 2813.
- Okada, M., Okada, Y., Aoi, K. 1996.** Biodegradable Polymers Based on Renewable Resources: Polyesters Composed of 1,4:3,6-Dianhydrohexitol and Aliphatic Dicarboxylic Units. *J. Appl. Polym. Sci.* 1996, Vol. 62, 2257.
- Pandey, A., et al. 1999.** The Realm of Microbial Lipases in Biotechnology. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 1999, Vol. 29, 119.
- Rotticci, D., Orrenius, C. e Hult, K. 1998.** Molecular Recognition of sec-Alcohol Enantiomers by *Candida antarctica* Lipase B. *J. Mol. Catal. B: Enzymatic.* 1998, Vol. 5, 267.

**Sablong, R.I., Duchateau, R. e van Haveren, J. 2008.** Incorporation of Isosorbide into Poly(butylene terephthalate) via Solid-State Polymerization. *Biomacromolecules*. 2008, Vol. 9(11), 3090.

**Sheldon, R.A. 1993.** *Chirotechnology: Industrial Synthesis of Optically Active Compounds*. New York : Marcel Dekker, 1993. p. 145.

— **1996.** Large-scale enzymatic conversions in non-aqueous media. [A. do livro] A.M.P Koskinen e A.M. Klivanov. *Enzymatic Reactions in Organic Media*. Glasgow : Blackie Academic & Professional, 1996.

**Shuai, X., Jedlinski, Z. e Kowalckuk, M. 1999.** Enzymic synthesis of polyesters from hydroxyl acids. *Eur. Polym. J.* 1999, Vol. 35(4), 721.

**Storbeck, R., Rehahn, M. e Ballauff, M. 1993.** Synthesis and Properties of High-Molecular-Weight Polyesters Based on 1,4:3,6-Dianhydrohexitols and Terephthalic Acid. *Makromol. Chem.* 1993, Vol. 194, 53.

**Stross, P. e Hemmer, R. 1992.** 1,4:3,6-Dianhydrohexitol. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 1992, Vol. 49, 93.

**Thiem, J. Lüders, H. 1984.** Condensation Reactions. Synthesis of Polyterephthalates Derived from Dianhydrohexitols. *Polym. Bull.* 1984, Vol. 11, 365.

**Uppenberg, J., Hansen, M.T. e Jones, T.A. 1995.** Crystallographic and Molecular Modelling Studies of Lipase B from *Candida antarctica* Reveal a Stereospecific Pocket for Secondary Alcohols. *Biochem.* 1995, Vol. 34, 16838.

— **1994.** The Sequence, Crystal Structure Determination and Refinement of Two Crystal Forms of Lipase B from *Candida antarctica*. *Structure*. 1994, Vol. 2, 293.

**Uyama, H. e Kobayashi, S. 1994.** Lipase-catalyzed polymerization of divinyl adipate with glycols to polyesters. *Chem. Lett.* 1994, 1687.

**Uyama, H., Yaguchi, S. e Kobayashi, S. 1999.** Lipase-Catalyzed Polycondensation of Dicarboxylic Acid-Divinyl Esters and Glycols to Aliphatic Polyesters. *J. Polym. Sci - Part A: Polym. Chem.* 1999, Vol. 27, 2737.

**Uyama, H.i, Inada, K. e Kobayashi, S. 1998.** Enzymic polymerization of dicarboxylic acid and glycol to polyester in solvent-free system. *Chemistry Letters*. 1998, Vol. 12, 1285.

— **2000.** Lipase-catalyzed synthesis of aliphatic polyesters by polycondensation of dicarboxylic acids and glycols in solvent-free system. *Polym. J.* 2000, Vol. 32(5), 440.

**van As, B.A.C., Palmans, A.R.A. e Meijer, E.W. 2007.** Iterative Tandem Catalysis of Secondary Diols and Diesters to Chiral Polyesters. *Chem. Eur. J.* 2007, Vol. 13, 8325.

**van Dam, J.E.G., Klerk-Engels, B. e Rabbinge, R. 2005.** Securing Renewable Resource Supplies for Changing Market Demands in a Bio-based Economy. *Industrial Crops and Products*. 2005, Vol. 21, 129.

**Vollhardt, P.C. e Schore, N.E. 2002.** *Organic Chemistry*. New York : W.H. Freeman and Company, 2002.

**Yang, Z., Russel, A.J. 1996.** Fundamentals of Non-Aqueous Enzymology. [A. do livro] A.M.P. Koskinen e A.M. Klivanov. *Enzymatic Reactions in Organic Media*. Glasgow : Blackie Academic & Professional, 1996.

**Zaks, A., Klivanov, A.M. 1988.** Enzymatic Catalysis in Nonaqueous Solvents. *J. Biol. Chem.* 1988, Vol. 263, 3194.

— **1984.** Enzymatic Catalysis in Organic Media at 100°C. *Science*. 1984, Vol. 224, 1249.

— **1988.** The Effect of Water on Enzyme Action in Organic Media. *J. Biol. Chem.* 1988, Vol. 263, 8017.