

RĪGAS TEHNISKĀ UNIVERSITĀTE  
MATERIĀLZINĀTNES UN LIETIŠĶĀS  
ĶĪMIJAS FAKULTĀTE  
**POLIMĒRMATERIĀLU INSTITŪTS**

Ivars Bībers

HETEROGĒNAS  
POLI- $\beta$ -HIDROKSIBUTIRĀTA  
KOMPOZĪTSISTĒMAS

Promocijas darba kopsavilkums

Rīga, 2004

PROMOCIJAS DARBS  
IZVIRZĪTS RĪGAS TEHNISKĀS UNIVERSITĀTES  
INŽENIERZINĀTŅU DOKTORA GRĀDA IEGŪŠANAI

/Promocijas darbs inženierzinātņu doktora grāda iegūšanai tiek publiski  
aizstāvēts 2004. g..... Rīgas Tehniskās universitātes  
Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultātē, Āzenes ielā 14/24 .....  
auditorijā.

Darba zinātniskais vadītājs:

Mārtiņš Kalniņš Profesors,  
Dr. habil. sc. ing.

Oficiālie oponenti:

Skaidrīte Reihmane, Prof., Dr. sc. chem., RTU  
Andris Zicmanis, Prof., Dr. habil. sc. chem., LU  
Uldis Stirna, Dr. sc. chem., LV KĶI

APSTIPRINĀJUMS

Es apstiprinu, ka esmu izstrādājis doto promocijas darbu, kurš  
iesniegts izskatīšanai Rīgas Tehniskajā universitātē inženierzinātņu  
doktora grāda iegūšanai. Promocijas darbs nav iesniegts nevienā citā  
universitātē zinātniskā grāda iegūšanai.

Ivars Bībers

09.02.2004.

## DARBA VISPĀRĪGS RAKSTUROJUMS

Viena no svarīgākajām ķīmiskās rūpniecības jomām šodien ir organisko polimērmateriālu ražošana. Šo materiālu kopīgais gada ražošanas apjoms pēdējos gados pārsniedz 40 milj. tonnu. Apjoma lielākā daļa paredzēta iepakojuma un plaša patēriņa preču ražošanai. Nepārtraukta nolietotu polimērmateriālu apjoma palielināšanās atkritumos un to lēnais sadalīšanās ātrums apkārtējā vidē rada nopietnas ekoloģiskās problēmas. Tādēļ pēdējā laikā strauji pieaug bioloģiski noārdošos polimēru un uz to bāzes veidotu materiālu nozīme.

Pētījumi par šādu polimēru iegūšanu un izmantošanas iespējām tika aizsākti 70-to gadu sākumā, kad attīstītajās rietumu valstīs rūpniecības un ikdienā lietojamo polimēru atkritumi kļuva par sevišķi nopietnu problēmu. Par vienu no perspektīvākajiem biodegradabliem mikrobioloģiskas izcelsmes polimēriem izvirzījās poli-β-hidroksibutirāts (PHB). Tas ir lineārs, stereoregulārs poliesteris, kuru atsevišķas baktērijas sintezē no glikozes un uzkrāj kā oglekļa un enerģijas rezervi, līdzīgi kā ciete tiek uzkrāta augos vai tauki cilvēka un dzīvnieku organismos.

PHB ir termoplastisks materiāls. Tas ir guvis plašāku ievērību pateicoties tādām īpašībām kā biosavietojamība un biodegradējamība. Pateicoties PHB labai šķīdībai vairākos organiskos šķīdinātājos un termpolastiskumam, PHB izstrādājumus iespējams iegūt gan no šķīduma, gan kausējuma. Būtiska PHB priekšrocība ir iespēja to iegūt no vietējām atjaunojamām izejvielām.

Pēdējo desmit gadu laikā ir veikti PHB struktūras pētījumi. Tiek risinātas ar PHB pārstrādi, kā arī ar PHB mazo deformējamību saistītās problēmas. Tomēr informācija par PHB struktūru, tās ietekmi uz svarīgākajām polimēra īpašībām (tajā skaitā stiprības un deformācijas raksturlielumiem) ir fragmentāra *un* nepilnīga. Sistemātiski pētījumi šajā virzienā ir uzskatāmi par **aktuāliem**.

### Darba svarīgākie **mērķi bija:**

veikt detalizētu PHB molekulārās un virsmolekulārās struktūras un īpašību izpēti,  
meklēt iespējas mērķtiecīgi modificēt polimēra struktūru lai iegūtu materiālus ar īpašībām, kas ļautu tos izmantot tādās

jomās kā medicīna, lauksaimniecība un iepakojuma materiālu industrija.

Darba **zinātnisko novitāti** raksturo vairāki apsvērumi.

PHB struktūras raksturlielumi ir ievērojami atkarīgi no sintēzi veicošās baktērijas dabas. LU Mikrobioloģijas un Biotehnoloģijas institūtā izstrādāta PHB sintēzes tehnoloģija, izmantojot par producentu *Azotobacter chroococcum* 23. RTU Polimērmateriālu institūtā izstrādāta oriģināla šī polimēra izdalīšanas metodika no biomasas. Iegūtais produkts atšķiras no pasaulē pazīstamiem ar neparasti lielu molekulmasu - līdz pat 2500 kDa (visbiežāk sērijveidā ražoto PHB molekulmasa nepārsniedz molekulmasu 200 kDa).

Tas padara šo polimēru par interesantu struktūras un īpašību pētījumu objektu, kā arī izejmateriālu PHB paraugu iegūšanai ar mazāku molekulmasu, veicot mērķtiecīgu makromolekulu šķelšanu  $\gamma$ -radiācijas apstākļos. Veiktie struktūras pētījumi parādīja, ka starojuma izraisītās pārvērtības skar ne tikai polimēra amorfo daļu, kā pieņemts uzskatīt, bet arī PHB kristāliskos veidojumus.

Darbā pierādītas arī hidroksibutirāta-hidroksivalerāta kopolimēra (PHB/HV) iegūšanas iespējas, par producentu izmantojot minēto producentu *Azotobacter chroococcum* 23. Pētīta iegūto produktu struktūra un īpašības, atkarībā no kopolimēra sastāva, iai izveidotu polimēru ar uzlabotām stiprības un deformācijas īpašībām.

Īpaša uzmanība bija veltīta arī PHB saturošai biomasai kā potenciālam produktam polimērmateriālu iegūšanai. Biomasas uzskatāma par PHB ražošanas pusfabrikātu. Biomasas izmantošana noteiktu izstrādājumu iegūšanai ļautu ievērojami samazināt to pašizmaksu. Parādīts, ka izmantojot piemērotus plastifikātorus un izgatavošanas tehnoloģijas, iespējams iegūt materiālus ar visai plašu īpašību un tātad arī pielietojumu jomu spektru.

Izveidotas un izpētītas plastificētas PHB sistēmas, kurās sasniegts ne vien augsts plastificēšanas efekts (relatīvā trūkšanas pagarinājuma palielināšanās, amorfās daļas stiklošanās temperatūras pazemināšanās u.c), bet arī saglabātas PHB pozitīvās biomateriāla īpašības.

Darba **praktisko** nozīmi, galvenokārt, nosaka tas apstākļi, ka PHB ir ekoloģiski drošs materiāls, un tā bioloģiskās sabrukšanas

produkti augsnē un cilvēka ķermenī nav toksiski. Izstrādājot un pārbaudot uz PHB bāzes veidotus materiālus, uzmanības lokā atradās tādas pielietojuma jomas kā: medicīna (antiseptiskus preparātus saturošas terapeitiskās sistēmas; pārsienamie materiāli apdegumu ārstēšanai; sistēmas ar pakāpenisku, dozētu zāļu izdalīšanos; sistēmas, kas izmantojamas endoprotezēšanā; u.c), lauksaimniecība (ekoloģiski sēklu un citu lauksaimniecības produktu inkrustācijas materiāli; materiāli ar kontrolētu pesticīdu vai mēslojuma izdalīšanos; u.c), videi draudzīgi iepakojuma materiāli (vienreizējās lietošanas trauki, dažādi iepakojuma materiāli).

Izmantojot plastificēšanu un  $\gamma$ -apstarošanu kā PHB struktūras modificēšanas metodes, PHB/HV kopolimērus ar optimālu komonomēru attiecību makromolekulā, kā arī noteiktas PHB biomasas sistēmas, ir izdevies izveidot materiālus, kas būtu perspektīvi izmantošanai minēto izstrādājumu iegūšanai un pielietojšanai Latvijas apstākļos.

**Darba rezultātu apspriešana.** Par darba galvenajiem rezultātiem ziņots: RTU studentu konferencēs (Rīgā, 1997, 1998, 1999), LZP programmas "*Koksnes un augu valsts izejvielu materiāli?*" konferencē (Jelgava, 1999), starptautiskās konferencēs: "*Chemistry and Chemical Technology*" (Kauna, Lietuva, 1997), "*Mechanics of composite materiāls*" (Rīgā, 1998), "*Biodegradable plastics and polymers*" (Stokholma, Zviedrija, 1999), "*Property tailoring of thermoplastics - based blends and composites*" (Bratislava, Slovākija, 2000), "*Baltic Polymer Symposium*" (Jūrmalā, 2003).

**Publikācijas.** Pētījumu rezultāti publicēti 15 darbos, tai skaitā: 6 raksti zinātniskajos žurnālos un 9 raksti konferenču materiālu krājumos.

**Disertācijas struktūra un apjoms.** Disertācija sastāv no ievada, literatūras apskata, metodiskās daļas, rezultātu apspriešanas (5 nodaļas), secinājumiem un izmantotās literatūras saraksta. Saturs izklāstīts 108 lapaspusēs. Darbs satur 36 attēlus, 15 tabulas un izmantotās literatūras sarakstu, kas ietver 141 literatūras avotu.

## PĒTĪJUMU METODIKA.

Darbā kā galvenais pētījumu objekts ir izmantots LU Mikrobioloģijas un Biotehnoloģijas institūtā sintezēts PHB (producents *Azotobacter chroococcum* 23), kā arī atbilstoša biomasa. Kā salīdzināšanas objekts tika izmantots firmas ICI produkts (producents *Alcaligenes eutrophus*) ar molekulmasu 145 kDa.  $50 \pm 5$   $\mu\text{m}$  biezas plēves tika iegūtas no atšķaidīta (1%) PHB šķīduma hloroformā, ļaujot šķīdinātājam lēni iztvaikot istabas temperatūrā.  $100 \pm 10$   $\mu\text{m}$  biezas plēves tika iegūtas karstās presēšanas ceļā. Presēšana tika veikta 1,5 minūtes  $190 \pm 2$  °C temperatūrā.

Par PHB un tā biomasas plastifikatoriem tika izvēlēta virkne mazmolekulāru savienojumu ar līdzīgu molekulmasu un molekulu polaritāti, kā arī nepolārs polimērs - poliizobutilēns (PIB).

Sistēmas ar plastifikatora saturu līdz 50% izgatavotas samaisot attiecīgus daudzumus 1%-īgu PHB un attiecīgā plastifikatora šķīdumus hloroformā. Pēc tam istabas temperatūrā, šķīdinātājam iztvaikojot, iegūtas  $50 \pm 5$   $\mu\text{m}$  biezas plēves, kuras pirms tālākām pārbaudēm vismaz 10 dienas tika izturētas istabas temperatūrā, lai sasniegtu līdzsvara virsmolekulāro struktūru.

$\gamma$ -Starošana darbā tika izmantota kā metode mērķtiecīgai polimēra molekulmasas samazināšanai. Polimēra paraugu (pulveris, plēves) apstarošana tika veikta gaisā atmosfēras spiedienā un arī vakuumā ( $10^{-3}$  tor), par  $\gamma$ -starojuma avotu izmantojot  $\text{Co}^{60}$ , kas nodrošina apstarošanu ar pastāvīgu jaudu - 0,78 Mrad stundā.

PHB un PHB/HV paraugu molekulmasa tika noteikta ar viskozimetriskās metodes palīdzību. Tika izmantots polimēra šķīdums hloroformā ar temperatūru 30° C. Šķīduma viskozitāte tika mērīta ar Übelodes kapilāro viskozimetru. Molekulmasas vērtības tika aprēķinātas saskaņā ar Marka-Houvinika vienādojumu:  $[\eta] = K \times M^\alpha$ , kur  $[\eta]$  ir raksturīgā viskozitāte, bet K un  $\alpha$  ir konstantes dotajai sistēmai polimērs-šķīdinātājs ( $K = 1,18 \times 10^{-4}$ ,  $\alpha = 0,78$ ).

Sistēmu mehāniskās īpašības tika raksturotas veicot paraugu testēšanu stiepē. No polimēra plēvēm tika izcirsti paraugi dubultlāpstiņas formā (darba zonas platums -  $5 \pm 0,05$  mm, garums -  $10 \pm 0,2$  mm). Pārbaudes tika veiktas uz UTS-100 iekārtas istabas temperatūrā, arstiepes ātrumu 2 mm/min. No iegūtām sprieguma ( $\sigma$ ) -

relatīvās deformācijas ( $\epsilon$ ) līknēm tika noteikti stiepes robežspriegums ( $\sigma_B$ ) un relatīvais trūkšanas pagarinājums ( $\epsilon_B$ ).

Sistēmu mikroskopiskā analīze ļāva papildus raksturot PHB sistēmu virsmolekulāro struktūru. Pētījumos tika izmantots, ar apsildāmo galdiņu aprīkots, Leitz Laborlux 340 optiskais mikroskops caurejošās gaismas režīmā. Krāsainās mikrografijas tika iegūtas ar videoprintera Sony UP - 1200 EPM palīdzību.

Sistēmu termiskā- analīze tika veikta ar METTLER DSC-30 diferenciāli skanējošo kalorimetru slāpekļa atmosfērā, temperatūru diapazonā 25-220°C ar pastāvīgu sildīšanas ātrumu 10°C/min. (pirmais sildīšanas cikls), kas ļāva novērtēt PHB kristāliskās fāzes kušanas parametrus (kušanas pīķa maksimuma temperatūru  $T_{m1}$ , kušanas temperatūru diapazonu  $\Delta T_{m1}$  un kristāliskuma pakāpi  $\alpha_1$ ). Pēc tam paraugi tika strauji atdzesēti ar ātrumu 100°C/min., kā rezultātā tika panākta amorfās daļas palielināšanās.

Pēc tam paraugi tika ar to pašu ātrumu atkārtoti sildīti temperatūru diapazonā -50-220°C (otrais sildīšanas cikls). Atkārtotajā sildīšanas ciklā daudz precīzāk bija iespējams fiksēt PHB amorfās daļas stiklošanās procesus, kā arī gūt papildus informāciju par polimēra struktūru, analizējot "aukstās" kristalizācijas norisi un tai sekojošo jaunizveidotās kristāliskās fāzes kušanu. Nosakāmie parametri: PHB stiklošanās temperatūra  $T_{gl}$ , "aukstās" kristalizācijas pīķa maksimuma temperatūra  $T_c$ , temperatūru diapazons  $\Delta T_c$  un kristāliskuma pakāpe  $\alpha_c$ , jaunizveidotās kristāliskās fāzes kušanas pīķa maksimuma temperatūra  $T_{m2}$ , kušanas temperatūru diapazons  $\Delta T_{m2}$  un kristāliskuma pakāpe  $\alpha_2$ , plastificētām sistēmām arī plastifikatora stiklošanās temperatūra  $T_{gl}$  un dažos gadījumos kušanas temperatūra  $T_{mp}$ .

Visi raksturlielumi tika noteikti izmantojot oriģinālo programmu METTLER GraphVare TA72PS.5. PHB kristāliskuma pakāpe tika noteikta pēc kristāliskās fāzes kušanas siltumefekta, pieņemot, ka 100% kristāliskam PHB šis lielums ir 146 J/g.

Lai noteiktu PHB sistēmu destrukcijas temperatūru un mazmolekulāro produktu saturu, kas varētu uzkrāties polimērā starošanas rezultātā, tika izmantota termogravimetrija (TG) metode. Mērījumi tika veikti ar METTLER TG-50 iekārtu temperatūru diapazonā 25-400°C ar pastāvīgu sildīšanas ātrumu 10°C/min. Par destrukcijas temperatūru  $T_{destr}$  tika pieņemta vērtība, kas atbilst maksimālajam

polimēra parauga masas zudumu ātrumam. Mazmolekulāro produktu saturs tika raksturots ar masas zudumiem līdz 250°C temperatūrai

Materiālu spēja sadalīties apkārtējā vidē tika raksturota, izmantojot biodegradējamības pārbaudi augsnē. PHB un biomasas plēvju paraugus (masa 0.15±0.05 g, biezums 30-40 μm) ievietoja stikla konteineros, kas pildīti ar mikrobioloģiski aktīvu augsni (dārza augsne ar 2% humusa saturu, ūdens saturs 22-24%, pH 6.5) un izturēja 25°C temperatūrā. Pēc 3, 7, 14, 22 un 30 dienām paraugi tika izņemti no konteineriem, mazgāti destilētā ūdenī, žāvēti un svērti, nosakot masas zudumus attiecīgajā laika periodā.

Sistēmu hidrolītisko stabilitāti raksturoja pakļaujot tās fosfātu buferšķīduma ar pH 7.4 iedarbībai 70°C. 20x20 mm paraugi ar biezumu 30-40 μm tika ievietoti katrs savā slēgtā stikla traukā ar 20 ml buferšķīduma un izturēti termostatā 70°C. Ar apm. 4 dienu intervālu paraugi tika izņemti no buferšķīduma, mazgāti, žāvēti (lai sasniegtu līdzsvara masu, paraugus pēc nosusināšanas vairākas dienas izturēja eksikatorā) un nosvērti, fiksējot masas izmaiņas.

## PĒTĪJUMU REZULTĀTI UN TO ANALĪZE

### **PHB izdalīšana un produkta raksturojums**

Pētījumos izmantotais PHB tika iegūts LU Mikrobioloģijas un Biotehnoloģijas institūtā, veicot kontrolētu fermentāciju un par producentu izmantojot *Azotobacter Chroococcum* 23, kas nodrošina augstu polimēra saturu biomasā - līdz pat 80%. Darbā tika pilnveidota RTU Polimērmateriālu institūtā izstrādātā PHB izdalīšanas un attīrīšanas tehnoloģija. Polimēra atdalīšanai no baktērijas šūnu paliekām tika izmantota ekstrakcija ar šķīdinātāju. Šis process ietver trīs pamatstadijas:

- 1) šūnu degradēšana (lai palielinātu šūnu sienīņu caurlaidību) un lipīdu frakcijas atdalīšana;
- 2) polimēra ekstatēšana;
- 3) polimēra attīrīšana.

Optimizējot šīs stadijas, iespējams ietekmēt polimēra destruktācijas līmeni, paaugstināt iegūtā polimēra tīrību, kā arī realizēt racionālu izmantoto šķīdinātāju reģenerāciju. Šūnu priekšapstrādes stadijā tika pielietota kombinēta mehāniskā un ķīmiskā iedarbība, lai paātrinātu



šūnu apvalku degradāciju. Produkta izdalīšanas stadijā tika piemeklētas optimālas kombinācijas šķīdinātājs/izgulsnētājs un izdevīgākās to attiecības ekstrakcijai. Savukārt, polimēra attīrīšanas stadijā galvenā uzmanība tika pievērsta filtrēšanas metodikai un piemērota filtrmateriāla izvēlei.

Pētījumu rezultātā tika izstrādāta pilotiekārta PHB iegūšanai no biomasas pēc fermentācijas procesa, nodrošinot arī šķīdinātāju reģenerāciju un atkārtotu izmantošanu. Jāatzīmē, ka polimēra izdalīšana un tā īpašību modificēšana, lai iegūtu produktu ar definētām īpašībām, var tikt apvienotas vienā tehnoloģiskajā procesā. Lai noteiktu izmantošanas iespējas konkrētos izstrādājumos tika noteiktas galvenās iegūtā PHB īpašības un to modificēšanas iespējas (1. tab.).

Polimēra šķīduma tehnoloģiskās īpašības ir atkarīgas no raksturīgās viskozitātes  $[\eta]$  un polimēra molekulmasas (M) vērtības. Laboratorijā un uz pīotiekārtas iegūtā polimēra  $[\eta]$  vērtības ir līdzīgas un svārstās no 8 - 12, M ir 1500 - 2500 kDa attiecīgi. Kā redzams, izvēlētais producents un izdalīšanas metode ļauj iegūt polimēru ar ļoti lielu molekulmasu, kas paver plašas iespējas molekulmasas regulēšanai un PHB īpašību modificēšanai.

1. tab. Iegūtā PHB galvenās īpašības

1. Ķīmiskā struktūrformula	$\text{H} - \left[ \text{O} - \overset{\text{CH}_3}{\underset{ }{\text{CH}}} - \text{CH}_2 - \overset{\text{O}}{\underset{  }{\text{C}}} \right]_n - \text{OH}$
2. Raksturīgā viskozitāte	$n=17500 - 30000$
3. Molekulmasa	8 - 12
4. Piemaisījumu saturs	1500 - 2500 kDa
5. Blīvums	<1%
6. Kristāliskuma pakāpe	1,25 g/cm <sup>3</sup>
7. Kušanas temperatūra	69%
8. Stiklošanās temperatūra	180°C
9. Stiepes robežspriegums	4,3°C
10. Elastības modulis stiepē	31 MPa
11. Trūkšanas pagarinājums	2,7 GPa
	3%

Veicot vairākkārtēju polimēra šķīdināšanu un izgulsnēšanu, tika noskaidrots, ka PHB molekulmasa nemainās, un piēvju atliešanu no

šķīduma var izmantot kā drošu metodi pārbaudēm paredzētu PHB paraugu iegūšanai, nebaudoties no polimēra degradācijas.

Lai iegūtu polimēru ar noteiktu molekulmasu, iespējams veikt frakcionējošo izgulsnēšanu. PHB molekulmasas regulēšana iespējama arī ekstrakcijas procesā, polimēra šķīdinātāju maisījumā ietverot arī maigus hidrolizējošos aģentus. Šādi izdodas iegūt polimēru paraugus ar M vērtību diapazonā 30-1000kDa.

Ne mazāk svarīgas ir arī polimēra kausējuma īpašības, kas tika pētītas ar termiskās analīzes metodēm. Iegūtā PHB kušanas temperatūra ir 175 - 180°C. Pētot polimēra kausējuma tecētspēju, tika noskaidrots, ka tā pārstrāde ar tradicionālajām metodēm ir iespējama tikai šaurā temperatūru intervālā, kad kausējuma temperatūra par 5 - 10°C pārsniedz PHB kušanas temperatūru. Tas nozīmē, ka PHB ir pārstrādājams ar spiedliešanas metodi, ja tiek veikti pasākumi tā kušanas temperatūras pazemināšanai un minimizēti pārstrādes laiki, lai izvairītos no straujas termiskās destrukcijas. Vienlaicīgi ar PHB iegūšanas izstrādi un optimizēšanu, tika domāts arī par polimēra un tā kompozītu pielietojuma jomām.

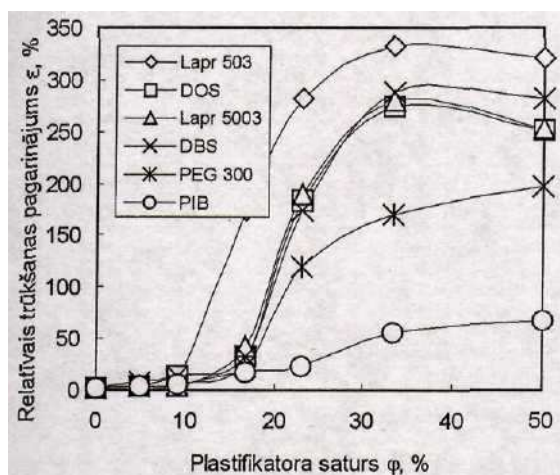
#### ***Plastificētas PHB sistēmas***

Par PHB plastifikatoriem tika izvēlēti vairāki mazmolekulāri savienojumi ar līdzīgu molekulmasu un tuvu molekulu polaritāti: sebacīnskābes diesteri: dibutilsebacināts (DBS), dioktilsebacināts (DOS), polietilēnglikols (PEG), poliēteri: laprols 503 (propilēnoksīda un glicerīna alkoholātpolimerizācijas produkts) un laprols 5003 (produkts, kuru iegūst polimerizējot propilēnoksīdu un glicerīnu ar sekojošu kopolimerizāciju ar etilēnoksīdu). Visi izmantotie produkti ir netoksiskas un biosadalās (izņemot laprolu 5003) vielas. Salīdzināšanai tika izpētīti arī PHB maisījumi ar poliizobutilēnu - nepolāru polimēru, kas apriori ir nesavietojams ar PHB.

Plastificētas PHB sistēmas plēvīšu veidā tika iegūtas no šķīdumiem. Šādi tika pilnīgi izslēgta PHB termo- un mehanodestrukcija, kā arī nodrošināti atkārtjami un viegli kontrolējami virsmolekulāro struktūru veidošanās apstākļi sistēmās PHB-plastifikators. Bez tam, šāda paraugu izgatavošanas tehnoloģija tika izvēlēta arī orientējoties uz plastificēta PHB plēvveida izstrādājumiem, kas varētu rast plašu pielietojumu medicīnā, lauksaimniecībā un iepakojumam.

Kā jau varēja sagaidīt, kompozīciju robežstiprība samazinās līdz ar plastifikatora satura  $\varphi_{pl}$ , palielināšanos. Sakarībai  $\sigma_B = f(\varphi_{pl})$  ir līdzīgs raksturs visu plastifikatoru gadījumā, un plastifikatoru satura intervālā līdz 0,5 to var apmierinoši ( $R^2 = 0,946$ ) aproksimēt ar lineāru sakarību ( $\sigma_B = \sigma_B^* - k\varphi_{pl}$ , kur  $\sigma_B^* = 30,8$  MPa ir plastifikatoru nesaturoša PHB stiepes robežspriegums;  $k = 55,3$ ). Pieņemot par minimālo pieļaujamo plastificētā polimēra  $\sigma_B$  vērtību 10 MPa (vairumam pielietošanas jomas tas ir pilnīgi pietiekošs lielums), var noteikt maksimāli pieļaujamo plastifikatora saturu  $\varphi_{pl} = 0,2 - 0,3$  masas daļas.

Galveno interesi izraisa trūkšanas pagarinājuma  $\varepsilon_B$  izmaiņas atkarībā no plastifikatora satura sistēmā. Visām kompozīcijām var konstatēt līdzīgu sakarību. Pie mazām plastifikatora koncentrācijām var novērot salīdzinoši nelielas  $\varepsilon_B$  izmaiņas, lai gan jau pie plastifikatora satura  $\varphi_{pl}$  ap 0,1  $\varepsilon_B$  vērtība praktiski visām kompozīcijām ir pieaugusi vairākas reizes salīdzinājumā ar sākotnējo vērtību ( $\varepsilon_B = 3\%$ ). Tālāka plastifikatora satura palielināšana izraisa strauju  $\varepsilon_B$  kāpumu, bet sākot ar  $\varphi_{pl} > 0,3$  atkal novērojams nenozīmīgs  $\varepsilon_B$  pieaugums (1. att.).



1. attēls. Plastificētu PHB sistēmu relatīvais trūkšanas pagarinājums  $\varepsilon_B$  atkarībā no plastifikatora satura  $\varphi$  sistēmā.

Atsevišķas plastificētas sistēmas atšķiras ar  $\epsilon_B$  maksimālajām vērtībām (pie  $\phi_{pl} > 0,3$ ) kā arī ar plastifikatora saturu, pie kura sākas straujš trūkšanas pagarinājuma vērtību kāpums. Visaugstākās  $e_B$  vērtības tiek sasniegtas L503 gadījumā ( $\epsilon_B > 300\%$ ). Ar šo plastifikatoru jau pie satura  $\phi_{pl} > 0,1$  novērojams ievērojams deformējamības pieaugums. Plastifikatoru grupa: DBS, L5003 un DOS ļauj sasniegt pagarinājuma vērtības 250-300%, straujš deformējamības pieaugums šīm sistēmām notiek pie ( $\phi_{pl} > 0,10-0,15$ ). PEG kaut cik ievērojamu PHB deformējamības pieaugumu izraisa tikai pie  $\phi_{pl} > 0,2$ . Kā jau varēja sagaidīt, vismazāk  $s_B$  vērtības ietekmē PIB, tomēr arī tas pie satura  $> 0,3$  nodrošina pagarinājumu  $> 60\%$  (1. att.).

Aplūkotās piedevas var izkārtot sekojošā rindā pēc to spējas plastificēt PHB, ņemot par atskaites punktu plastifikatora saturu  $\phi_{pl} = 0,2$ : PIB < PEG < (DBS, L5003, DOS) < L503.

Plastificēto sistēmu mehāniskās īpašības ir tieši saistītas ar izmaiņām PHB struktūrā. Atkarībā no konkrētā plastifikatora savietojamības pakāpes ar polimēru, šīs izmaiņas var skart kā PHB amorfo fāzi, tā arī kristālisko daļu. Lai gūtu informāciju par šo pārvērtību raksturu, tika veikta plastificēto sistēmu struktūras pārvērtību analīze, balstoties uz diferenciāli skanējošās kalorimetrijas (DSC) datiem.

Pirmkārt bija interesanti izsekot, kā plastifikatoru klātbūtne ietekmē PHB kristālisko daļu. Sistēmai PHB-plastifikators veidojoties no šķīduma, tiek sasniegta kristāliskās fāzes līdzsvara struktūra: uz DSC pirmā sildīšanas cikla termogrammām nav novērojams eksotermiskais "aukstās" kristalizācijas siltuma efekts. Kristāliskuma pakāpe  $\alpha_1$ , kas tiek noteikta no kušanas siltumefekta  $\Delta H_{m1}$  vērtībām, ar plastifikatora satura palielināšanos pieaug tikai nedaudz un paliek robežās 0,55 - 0,75.

Nelielu  $\alpha_1$  vērtību palielināšanās tendenci, kas novērojama pieaugot tādu plastifikatoru saturam kā L503, DOS un DBS, saistīta ar polimēra makromolekulu kustīguma pieaugumu, tam kristalizējoties minēto plastifikatoru klātbūtnē.

Kušanas pīķa maksimuma temperatūra  $T_{m1}$  nedaudz pazeminās, sakarā ar, vienlaicīgi notiekošo, PHB kristāliskās daļas sakārtotības samazināšanos

Par plastifikatoru ierobežoto savietojamās spēju ar PHB amorfo daļu liecina DSC dati, kas fiksē ar stiklveida stāvokļa pārejām saistīto

temperatūru vērtības. Uz sistēmu ar lielu plastifikatora saturu DSC līknēm ir novērojamas divas stiklošanās temperatūras. Temperatūra  $T_{gl}$ , kas zemāka par neplastificēta PHB stiklošanās temperatūru, atbilst plastifikatoru saturošas PHB amorfās daļas pārejai. Otrā temperatūra -  $T_{gl}$ , kas tuva nesavietotā plastifikatora stiklošanās temperatūrai  $T_g$  atbilst ar polimēru nesavietota plastifikatora fāzei, kura var saturēt PHB mazmoiekulāro frakciju piejaukumus.

Visām pētītajām sistēmām vērojamas vairākas kopīgas tendences. Plastifikatora saturam pieaugot līdz noteiktai vērtībai  $\phi_{pl}^*$  (orientējoši 0,1 - 0,2),  $T_{gl}$  vērtības samazinās. Tālāk palielinoties  $\phi_{pl}$ , tās praktiski nemainās.

Ja  $\phi_{pl} < \phi_{pl}^*$ , tiek fiksēta tikai viena pārejas temperatūra -  $T_{gl}$  kas liecina par pilnīgu plastifikatora savietošanos ar PHB šajā plastifikatora saturu diapazonā.

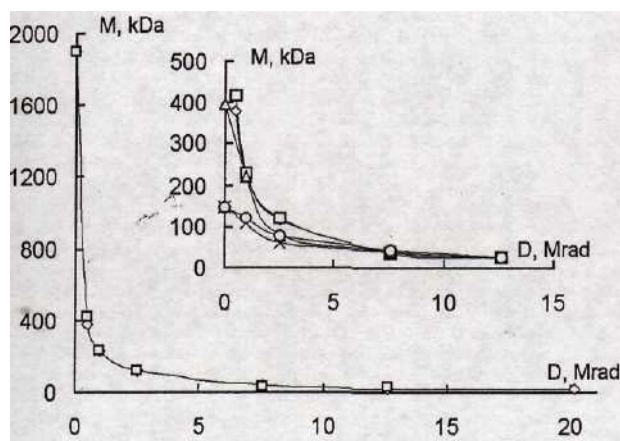
Pētītie plastifikatori izraisa dažādu  $T_{gl}$  kritumu, kas rodas PHB amorfās daļas starpmolekulārās iedarbības vājināšanās rezultātā. Visefektīvāk  $T_{gl}$  samazinās L503 klātbūtnē. Pārējie polārie plastifikatori: DBS, PEG un DOS izraisa līdzīgu  $T_{gl}$ , samazinājumu. Tajā pašā laikā L5003 klātbūtne, ko raksturo vislielākā molekulas un mazākā polaritāte, un tātad arī mazāka savietojamība ar PHB, tikai nedaudz samazina  $T_{gl}$ .

Varēja gaidīt, ka plastifikatoriem, kuri stipri samazina  $T_{gl}$  vērtības, būtu ievērojami jāpalielina arī PHB deformējamība. Vairākumam pētīto plastifikatoru šī likumsakarība tiešām ir novērojama.

### ***γ*-starojuma iedarbība**

Pētījumos tika izmantots LU Mikrobioloģijas un Biotehnoloģijas institūtā sintezētais PHB (turpmāk PHB-1) ar vidējo viskozimetrisko molekulasmasu 1900 kDa, kurš tika salīdzināts ar firmas ICI produktu ar molekulasmasu 145 kDa (turpmāk PHB-2).

Pilnīga apstaroto paraugu izšķīšana un raksturīgās viskozitātes vērtību samazināšanās līdz ar starojuma dozas pieaugšanu, liecina, ka  $\gamma$ -apstarošana uz PHB iedarbojas vienīgi destruktīvi.



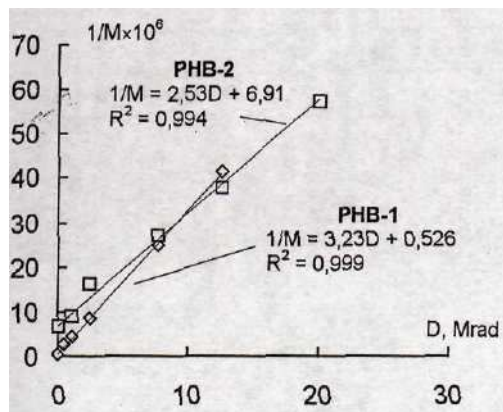
2. attēls. Molekulmasa  $M$  atkarībā no starojuma dozas  $D$ : PHB-1 pulverim, kas apstarots atmosfēras spiedienā (O) un retinājumā  $10^{-3}$  tor (□); presētai PHB-1 plēvei ar sfērisku struktūru, kas apstarota atmosfēras spiedienā (Δ); un PHB-2 pulverim, kas apstarots atmosfēras spiedienā (x) un retinājumā  $10^{-3}$  tor (O).

PHB-1 un PHB-2 molekulmasas atkarība no starojuma dozas ir parādīta 2. att. Kā redzams, jau nelielas dozas izraisa izteiktu abu pētīto polimēru molekulmasas kritumu. Tā piemēram, starojuma dozas 2,5 Mrad gadījumā, PHB-1 molekulmasa samazinās no 1900 līdz 116 kDa (vairāk nekā 16 reizes), bet PHB-2 no 145 līdz 61 kDa (vairāk nekā 2 reizes). 1-2 Mrad doza atbilst parastajām sterilizācijas dozām medicīnā. Iegūtie dati liecina par to, ka PHB izstrādājumu radiācijas sterilizācija jāveic visai piesardzīgi.

Literatūrā ir teorētiski pamatota radiācijas rezultātā destrūgējošo polimēru vidējās statistiskās molekulmasas apgrieztās vērtības lineārā atkarība no starošanas dozas  $D$ . Kā redzams no 3. att., iegūtos eksperimentālos datus labi apraksta šāda tipa sakarība:

$$\frac{1}{M(D)} = kD + \frac{1}{M(0)} \quad (1)$$

kur  $M(D)$  - polimēra molekulmasa pēc apstarošanas ar dozu  $D$   
 $M(0)$  - polimēra sākotnējā molekulmasa,  $k$  - koeficients, kurš atbilst  
 saišu trūkšanas varbūtībai, kas attiecināta uz starošanas dozi;  
 vienību un raksturo radiācijas destrukcijas procesa intensitāti.



3. Attēls. Apgrieztā molekulmasa  $1/M$  atkarībā no starojuma dozas polimēru PHB-1 un PHB-2 pulverim, kas apstarots atmosfēras spiedienā.

PHB-1 destrūgē nedaudz intensīvāk,  $k$  vērtības, kas aprēķinātas pēc taisņu, kuras izvilktas cauri eksperimentālajiem punktiem, slīpuma ir attiecīgi:  $3,23 \times 10^{-6} \text{ Mrad}^{-1}$  PHB-1 un  $2,53 \times 10^{-6} \text{ Mrad}^{-1}$  PHB-2 gadījumā.

No iegūtajiem rezultātiem var secināt, ka PHB molekulmasas izmaiņas starošanas rezultātā var pietiekoši precīzi prognozēt un  $\gamma$ -radiāciju var izmantot kā drošu metodi PHB iegūšanai ar nepieciešamo vidējo statistisko virkņu garumu.

Būtiskas atšķirības destrukcijas kinētikā dažādiem apstarojamo PHB-1 paraugu veidiem (no biomasas izdalīts PHB pulveris, PHB plēves, kas iegūtas no kausējuma un atlejojot no hloroforma šķīduma) netika konstatētas. Koeficienta  $k$  vērtības vienādojumā (1): 3.23, 3.26, un  $3.30 \times 10^{-6} \text{ Mrad}^{-1}$  attiecīgi.

Apstarojot polimēra pulveri un pēc tam atlejojot plēves no tā šķīduma (pie tam pulvera daļiņu virsmolekulārie veidojumi tiek pilnībā izjaukti un veidojas tā struktūra, kuru vienādos šķīdinātāja iztvaikošanas apstākļos nosaka polimēra molekulmasa pēc

apstarošanas) var izsekot molekulmasas un vienlaicīgi arī tā virsmolekulārās uzbūves ietekmei uz PHB mehāniskajām īpašībām.

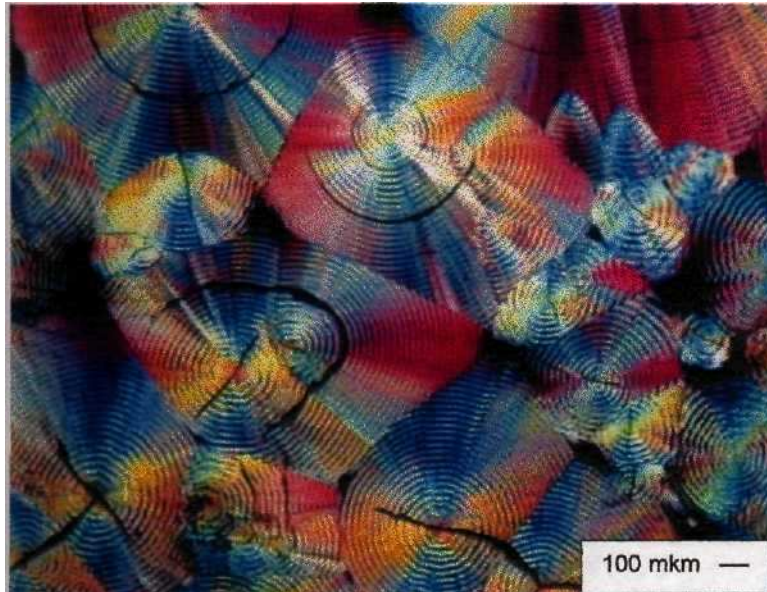
Jāpiegriež vērība faktam, ka virsmolekulārā struktūra, kas veidojas atlejšot plēves no PHB šķīduma, nav līdzsvara struktūra. Struktūras pārkārtošanās rezultātā pirmajās 6-10 diennaktīs pēc plēves atliešanas notiek straujš  $\sigma_B$  vērtību kritums, kas stabilizējas nākošo 40-50 diennakšu laikā;  $\sigma_B$  vērtības tajā pat laikā nedaudz pieaug. Deformējamības samazināšanās un noteikts stiprības pieaugums ir saistāms ar istabas temperatūrā notiekošo postkristalizāciju (PHB līdzsvara struktūras kristāliskuma pakāpe ir 68%, bet paraugiem tūlīt pēc izgatavošanas - tikai 58%), kā arī noteiktiem procesiem amorfajā polimēra daļā (stiklošanās temperatūra, kas noteikta uzreiz pēc polimēra plēvi izgatavošanas ir  $-4,8^\circ\text{C}$ , bet stiklošanās temperatūra plēvē, kas istabas temperatūrā izturētas līdz līdzsvara struktūras sasniegšanai ir  $4,3^\circ\text{C}$ ).  $\epsilon_B$  vērtības plēvē, kas atlietas no apstarota polimēra šķīduma, ievērojami samazinās līdz ar PHB molekulmasas samazināšanos.  $\sigma_B$  vērtības sāk strauji kristies tikai tad, kad molekulmasa kļūst mazāka par 250 kDa (starojuma doza  $> 2,5$  Mrad).

Apstarojot jau gatavus paraugus, kas iegūti no polimēra plēvē, kuras izturētas līdz līdzsvara struktūras sasniegšanai, var novērot nelielu  $\sigma_B$  krišanos un  $\epsilon_B$  vērtību samazināšanos par 20-40%. Iegūstot paraugus ar karstās presēšanas palīdzību, neskatoties uz relatīvi maigu presēšanas režīmu, notiek ievērojama PHB-1 termodestrukcija. Tā molekulmasa samazinās no 1900 līdz 400 kDa.

PHB virsmolekulārā struktūra, kas veidojas no kausējuma, ir stipri atkarīga no termiskās priekšvēstures. Lēnas atdzesēšanas rezultātā veidojas detektīva kristāliskā fāze, ko raksturo liela izmēra sferolītu struktūra (sferolītu izmēri atrodas robežās 200 - 1500 mkm, skat. 4. attēlu) un augstu kristāliskās fāzes saturu (62%). Rezultātā pazeminās paraugu stiprība un deformējamība. Šādu paraugu apstarošana noved pie tālākas  $\sigma_B$  un  $\epsilon_B$  vērtību samazināšanās.

Strauja atdzesēšana izraisa stipru paraugu pārdzesēšanos un amortizāciju (kristāliskuma pakāpe nokrīt praktiski līdz nullei). Rezultātā  $\epsilon_B$  vērtības pieaug gandrīz par divām kārtām (stiprība attiecīgi nedaudz krītas). Šos paraugus vairākas nedēļas izturot istabas temperatūrā, notiek "aukstā" kristalizācija, un PHB kristāliskuma pakāpe sasniedz savas ierastās vērtības 60-70% (sferolītu izmēri 100-1200 mkm).





4. attēls. PHB sferolītu struktūra, kas veidojas kausējuma lēnas atdzesēšanas rezultātā (palielinājums 40×).

Ņemot vērā PHB virsmolekulārās struktūras izšķirošo ietekmi uz tā īpašībām, tika veikti polimēra paraugu kalorimetriskie pētījumi pirms un pēc apstarošanas. Iegūtie rezultāti liecina par to, ka, līdz ar starojuma dozas palielināšanos un attiecīgo polimēra molekulasmasas samazināšanos, kristāliskās fāzes saturs nedaudz pieaug. Acīmredzot starošanas procesā, līdz ar ķēžu trūkšanas aktiem, polimēra amorfajā daļā notiek arī strukturālas pārkārtošanās, kurām ir fāžu pārvērtību raksturs. Kristāliskuma pakāpes pieaugums ir jo lielāks, jo mazāks ir makroķēžu garums (lielāka starojuma doza), t.i. jo lielāks ķēžu efektīvais kustīgums. Šeit jāatzīmē, ka temperatūra starošanas kamerā bija 60°C. Makro ķēžu kustīgums šajos apstākļos ir pietiekošs, lai varētu notikt noteiktas virsmolekulārās struktūras pārvērtības.

Kristāliskuma pakāpe a raksturo tikai kristāliskās fāzes saturu, bet kušanas temperatūra  $T_m$  - tās sakārtotības pakāpi. Kā redzams no iegūtajiem datiem,  $T_m$  vērtības krītas līdz ar molekulasmasas

samazināšanos radiācijas ietekmē. Acīmredzot tas notiek pieaugot makroķēžu, kuras ietilpst kristāliskajos veidojumos, konfigurātvajai nevienādībai. Tika konstatēta kanoniska stiklošanās temperatūras  $T_g$  atkarība no apstaroto polimēru molekulmasas, kā arī tuva lineārai korelācija starp polimēra amorfās daļas saturu un sistēmas siltumkapacitātes izmaiņām  $\Delta C_p$  stiklojoties.

Pastāv vispārpieņemts viedoklis, ka radiācijas izraisītie procesi pārsvarā notiek polimēra amorfajā daļā un praktiski neskar kristālisko fāzi. Ja tas tā būtu arī PHB gadījumā, kurš tiek pakļauts radiācijas destrukcijai 60°C temperatūrā, tad vidējās molekulmasas kritumam būtu jānotiek tikai uz amorfās daļas rēķina, kura ir mazāka par 40%. Rezultātā notiktu ievērojama polimēra molekulmasu sadalījuma paplašināšanās (diemžēl šajā pētījumā posmā mums nebija iespējas eksperimentāli novērtēt polimēra molekulmasas sadalījumu), un kā sekas tam, pieaugtu arī kristālisko struktūru sakārtotības pakāpes izkliede, kuru nosaka kušanas beigu un sākuma temperatūru starpība ( $T_{em}-T_{bm}$ ). Pētījumi ir parādījuši, ka ( $T_{em}-T_{bm}$ ) vērtības no starojuma dozas praktiski nav atkarīgas. Tas dod pamatu pieņēmumam, ka radiācijas destrukcija skar arī polimēra kristālisko daļu.

Termogravimetriskie pētījumi parādīja, ka molekulmasu intervālā 20 - 2000 kDa PHB destrukcijas temperatūra praktiski nemainās un ir 295-300°C robežās. Svāra zudumi līdz 250°C līdz ar polimēra molekulmasas samazināšanos palielinās gandrīz divas reizes, ko var izskaidrot ar pieaugušo PHB hidrofilitāti uz galagrupu skaita palielināšanās rēķina un ar mazmolekulāro destrukcijas produktu satura palielināšanos polimērā.

#### ***PHB/HV kopolimēri***

Lai noteiktu fosfāta koncentrācijas un oglekļa avotu ietekmi uz PHB/HV sastāvu un fizikāli mehāniskajām īpašībām, 48 stundu garumā tika audzētas *Azotobacter chroococcum* 23 kultūras glikozes vai saharozes vidē ar valerāta piedevu un bez tās. Augstākie polimēra iznākumi konkrētajos kultivēšanas apstākļos tika sasniegti kultūrās ar glikozi bez valerāta piedevas. Valerāta pievienošana negatīvi ietekmēja kultūru augšanas tempus gan glikozes, gan arī saharozes vidēs, tomēr vairāk ietekmējot kultūras ar saharozi.

A. *Chroococcum* 23 kultūras uzrādīja atšķirīgus augšanas ātrumus dažādās barotnēs. Augstākās PHB koncentrācijas šūnā tika

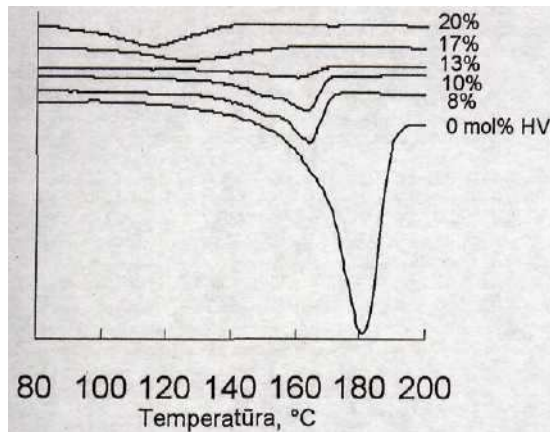
konstatētas kultūrās ar saharozi, bet zemākās PHB/HV kopolimēra koncentrācijas attiecīgi saharozē ar valerātu. Arī PHB/HV kopolimērs ar augstāko HV saturu tika konstatēts kultūrās ar saharozi. Kā saharozē, tā arī glikozē HV koncentrācija kopolimērā pieauga līdz ar fosfāta koncentrācijas palielināšanos barotnē. Tomēr pie augsta  $PO_4^{3-}$  koncentrācijas līmeņa tika novērota PHB veidošanās nomākšana un fosfāta akumulēšana *A. chroococcum* 23 šūnās. Iespējams, ka HV koncentrācijas atšķirības *A. chroococcum* 23 sintezētajā kopolimērā šūnu augšanu veicinošos apstākļos ir saistāmas arī ar kultūras pieauguma fāzi, un PHB/HV kopolimērs ar augstāko HV koncentrāciju tiek sintezēts lēnāk augošās kultūrās.

Lai noteiktu polimēra paraugu raksturīgās viskozitātes vērtības, tie tika izdalīti no *A. chroococcum* 23 kultūru biomasas un attīrīti. Kopumā homopolimēra raksturīgās viskozitātes un atbilstošo molekulasmasu vērtības ir augstākas nekā kopolimēram un svārstās no 7,7 (molekulmasa - 1488 kDa) līdz 12,3 (2713 kDa), kopolimēram attiecīgi no 6,4 (1174 kDa) līdz 8,7 (1740 kDa). Viszemākās PHB un PHB/HV molekulasmasu vērtības tika novērotas kultūrās ar zemāko fosfāta koncentrāciju (0,5 g/l). Šīs atšķirības varētu tikt izskaidrotas ar atšķirībām *A. chroococcum* 23 kultūru augšanas stadijās, ko izraisa fosfāta koncentrācija. Līdzīgi tiek ziņots arī par PHB molekulasmasu samazināšanos tā uzkrāšanās fāzē *Alcaligenes eutrophus* fosfāta nepietiekamības apstākļos.

Lai noskaidrotu *A. chroococcum* 23 sintezētā PHB un PHB/HV struktūras īpašības, tika veikta termiskā analīze paraugiem ar HV saturu no 0 līdz 20 mol%. Kopējā kristāliskuma pakāpe PHB/HV paraugiem bija ievērojami zemāka, nekā tīram PHB, un pieaugot HV saturam no 0 līdz 20 mol%, tā attiecīgi samazinājās 63 līdz 31%. Līdzīgi, arī stiklošanās temperatūras vērtības samazinājās no +4°C līdz -6°C, kas liecina par pieaugošu makromolekulu ķēžu lokanību un ļauj sagaidīt vēlamo polimēra deformējamības pieaugumu. Analizēto PHB/HV kopolimērā paraugu kušanas temperatūra  $T_m$  samazinājās no 180 līdz 116°C (5. att.), sasniedzot zemāko vērtību pie 20 mol% HV satura kopolimērā. Zemākā PHB/HV kopolimērā kušanas temperatūra, par ko tiek ziņots literatūrā, ir 75°C pie apm. 40 mol% HV satura. Arī uzņemto DSC termogrammu, kas ataino polimēra kristāliskās daļas kušanas procesu, raksturs un arī pašas kušanas temperatūras ir

līdzīgas kā citu autoru pētījumos par statistiskajiem PHB/HV kopoliesteriem.

Pazemināta kušanas temperatūra, salīdzinājumā ar tīru PHB, ir nozīmīga iegūtā PHB/HV kopolimēra priekšrocība, jo temperatūra, pie kuras sākas jūtama šī polimēra ķēžu destrukcija, līdz ar HV satura palielināšanos, mainās tikai nedaudz. Tādējādi PHB/HV kopolimēru būs daudz vieglāk pārstrādāt ar tradicionālajām termoplastu pārstrādes metodēm, jo tā pārstrādes temperatūru diapazons ir daudz plašāks un temperatūras zemākas, salīdzinājumā ar tīru PHB.



5. attēls. PHB un PHB/HV kopolimēru ar dažādu HV saturu termogrammas.

Pats par sevi saprotams, ka minētie struktūras raksturlielumi tieši ietekmē arī polimēra stiprības - deformējamības īpašības. Tādēļ iegūto PHB/HV paraugu ar atšķirīgu HV grupu saturu mehāniskās īpašības tika noteiktas veicot pārbaudes stiepē pēc 10, 28 un 224 dienu izturēšanas istabas temperatūrā. Tas tika darīts tādēļ, ka PHB un tā kopoliesteru deformējamība pakāpeniski samazinās, uzglabājot tos istabas temperatūrā. Iespējams, ka tieši šis fenomens ir par iemeslu jūtām atšķirībām starp dažādos pētījumos noteiktajiem PHB mehānisko īpašību rādītājiem.

Iegūtās PHB mehāniskās īpašības ir tipiskas no *A. chroococcum* 23 izdalītam polimēram. Izturība stiepē  $\sigma_B$ , kas noteikta PHB paraugiem pēc 10 dienām kopš to izgatavošanas, ir ap 30 MPa un

turpmākajās 18 dienās pieaug tikai līdz 31 MPa vērtībai. Trūkšanas pagarinājuma  $\epsilon_B$  vērtības PHB paraugiem pēc 10 dienu izturēšanas ir ap 6% un samazinās līdz 3,3% turpmākajās 18 dienās. Tālāka PHB paraugu izturēšana vairs neizraisa jūtamas polimēra mehānisko īpašību izmaiņas, kas labi saskan ar agrākos pētījumos iegūtiem datiem.

No *A. chroococcum* 23 iegūto PHB/HV kopolimēru izturība stiepē  $\sigma_B$  ir par 40-50% procentiem zemāka nekā analogiskos apstākļos iegūtam, tīram PHB un svārstās robežās no 15-23 MPa. Kopolimēra trūkšanas pagarinājuma  $\epsilon_B$  vērtības tajā pašā laikā ievērojami pārsniedz atbilstošās homopolimēra vērtības, un jūtami pieaug, pieaugot HV saturam. Īpaši augstas trūkšanas pagarinājuma  $\epsilon_B$  vērtības uzrāda sistēmas, kas tika iegūtas izmantojot saharozi: P1/SV, P2/SV un P3/SV, sasniedzot pat 800%, ja paraugi tiek pārbaudīti 10 dienas pēc izgatavošanas (sasniedzot līdzsvara struktūru,  $\epsilon_B$  samazinās līdz 182%). Paaugstinātas trūkšanas pagarinājuma vērtības sistēmām ar augstu HV saturu, acīmredzot ir jāsaista ar zemām kristāliskuma pakāpes un stiklošanās temperatūras vērtībām.

Tāpat kā tīra PHB, arī kopolimēru deformējamība ievērojami samazinās laikā pēc to izgatavošanas, pie kam PHB/HV kopolimēriem šī tendence ir ļoti izteikta, un var novērot  $\epsilon_B$  vērtību samazināšanos pat 5-10 reizes 224 dienu laikā no izgatavošanas brīža. Tajā pašā laikā ir skaidrs, ka kopolimēriem līdzsvara virsmolekulārās struktūras sasniegšanai ir nepieciešams ievērojami ilgāks laiks, nekā tīram PHB (istabas temperatūrā apm. 30 dienas), kas ir saistāms ar apgrūtinātiem kristāliskā režģa veidošanās apstākļiem kopolimēra. Tomēr arī sasniedzot līdzsvara struktūru, PHB/HV kopolimērs uzrāda daudzkārt augstāku deformējamību, salīdzinājumā ar PHB homopolimēru. A *chroococcum* 23 sintezētajam kopolimēram, atkarībā no HV satura, tika konstatētas  $\epsilon_B$  vērtības no 25 līdz 182%.

Tādējādi var apgalvot, ka izvēlētais producents *Azotobacter chroococcum* 23 var tikt izmantots PHB/HV kopolimēru iegūšanai un, variējot sintēzes apstākļus, ir iespējams iegūt polimērus ar plašu fizikāli mehānisko īpašību spektru. Vienlaicīgi augstā līmenī, protams, tiek saglabāta arī polimēra biodegradējamība un biosavietojamība.

### ***PHB biomasa kā patstāvīgs produkts***

Novērtējot PHB biomasas paraugu mehāniskās īpašības bija jāsecina, ka tīra biomasa praktiski nav izmantojama plēvveida izstrādājumu iegūšanai no šķīduma. Kā jau iepriekš minēts, biomasā ir tikai 75% PHB, kurš spēj veidot viendabīgu plēvi un nodrošināt tās mehānisko stiprību, pārējo daļu veido šūnu atliekas. Tās ir ļoti neviendabīgas un satur kā lielmolekulārus proteīnus, kas veido šūnu sienīgu membrānas un darbojas kā inerta pildviela, tā arī virkni mazmolekulāru lipīdu un proteīnu, kas spēj integrēties polimēra struktūrā, ietekmējot tā īpašības. Jāatzīmē arī, ka PHB saturs biomasā un šūnu atlieku sastāvs atkarībā no baktērijas - producenta veida un fermentācijas tehnoloģijas var mainīties plašās robežās.

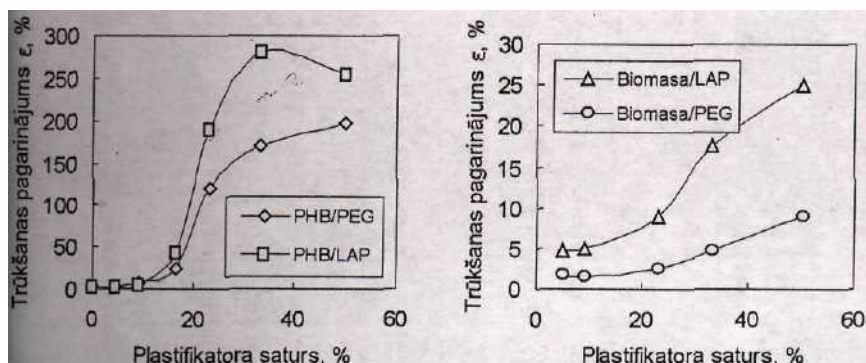
Polimēra plēvei veidojoties no šķīduma, šūnu paliekām ir tendence asociēties neregulāros aglomerātos. Tie nevienmērīgi sadalās pa plēves laukumu un veido apgabalus ar pazeminātu deformējamību un stiprību. Ja polimēra plēve ir nepietiekoši deformējama, nevienmērīga sarukuma rezultātā tā sagraust jau žūšanas procesā. Nofiltrējot rupjās šūnu palieku frakcijas, bez grūtībām izdodas iegūt viengabalainu polimēra plēvi, tomēr tās stiprība un deformējamība ir tik maza, ka to vērtības praktiski neizdodas noteikt.

Ievadot biomasā plastifikatorus, var jūtami palielināt iegūto plēvju deformējamību. Tā kā biomasa pēc būtības ir PHB sistēma, kurā šūnu atlikumu daļiņām ir pildvielas loma, plastificēto sistēmu īpašības vislabāk raksturot salīdzinājumā ar atbilstošām tīra PHB sistēmām.

Tāpat kā tīra PHB gadījumā, arī biomasas sistēmām plastifikators L5003 nodrošina daudz lielāku deformējamības pieaugumu, salīdzinot ar PEG. Jau 5-10% L5003 piedevas ļauj sasniegt trūkšanas pagarinājuma vērtības ap 5%, kas ir pietiekoši, lai ar polimēra plēvi i varētu brīvi manipulēt. PEG šādas pagarinājuma vērtības spēj nodrošināt tikai 30-40% rajonā (6. att.).

Plastificētās PHB un biomasas sistēmas visumā izturas līdzīgi, tomēr PHB sistēmās izdodas sasniegt daudz lielākas pagarinājuma vērtības, ievadot tādu pašu daudzumu plastifikatora. Kā jau minēts iepriekš, to var skaidrot ar šūnu palieku aglomerātu klātbūtni biomasā, kuriem ir struktūras defektu loma. Šo pieņēmumu apstiprina arī stiepes robežsprieguma vērtības biomasai, kas, atšķirībā no PHB, praktiski nemainās līdz ar plastifikatora saturu un ir vienādi zemas visām sistēmām.

Neskatoties uz to, ka plastificētas biomasas sistēmas nespēj tuvuoties tīram PHB ne deformējamības, ne arī stiprības rādītāju ziņā, sastāvi ar plastifikatora saturu >30% jau ir piemēroti izmantošanai, piem., kā agroķīmikāliju nesēji, vai sēklu inkrustācijas materiāli.



6. attēls. Plastificētu PHB un biomasas sistēmu trūkšanas pagarinājums  $\epsilon$  atkarībā no plastifikatora satura.

### **Plastificētu PHB biomasas sistēmu raksturojums**

Svarīgākā aplūkojamo materiālu vērtība, neapšaubāmi, ir to spēja bioloģiski pilnīgi sadalīties, noārdoties līdz  $\text{CO}_2$  un  $\text{H}_2\text{O}$ . Tā kā šos materiālus paredzēts iestrādāt augsnē, visprecīzāko priekšstatu sniedz doto norīšu simulācija - sistēmu degradācijas pārbaude augsnē laboratorijas apstākļos.

Pārbaudot paraugus pēc 3, 7, 14, 22 un 30 dienām, pilna biodegradācijas kinētika ir uzņemta tīram PHB, biomasai un divām plastificētām modelsistēmām PHB/L5003 33% un PHB/PEG 10%, lai principiāli raksturotu plastifikatoru ietekmi.

Visām sistēmām novērojama strauja masas samazināšanās dažas dienas pēc eksperimenta sākuma. Acīmredzot pirmajās dienās notiek intensīvs kolonizācijas process, kad augsnes baktērijas apgūst parauga virsmas laukumu. Pēc tam tiek noārdīts PHB un pārējās sistēmu biosadalās komponentes, pie kam polimēra amorfie apgabali destrūgē ievērojami ātrāk kā kristāliskās struktūras.

Tīrs PHB pilnīgi sadalās 30 dienu laikā, taču jau pēc nedēļas polimērs ir zaudējis gandrīz pusi savas masas. Vēl daudz ātrāk sadalās biomasa. Tas ir skaidrojams ar tajā atrodošos šūnu sienīgu atlikumu augsto biodegradējamību, kas, paātrināti noārdoties, ļauj uzirdināt polimēra struktūru. Rezultātā ievērojami palielinās baktērijām pieejamā parauga virsma.

Līdzīgi darbojas arī PEG, kas būdams zem molekulārs un pats uzrādot augstu biodegradējamību, tāpat īsā laikā uzirdina PHB struktūru, paātrinot sistēmas degradāciju. Sistēma ar L5003 kā plastifikatoru degradējas vislēnāk, jo augsnes baktērijas laproli praktiski nesadala, un acīmredzot L5003 aizkavē attiecīgo baktēriju un enzīmu piekļūšanu PHB. Tomēr arī šī sistēma 30 dienu laikā zaudē pusi savas masas, kas praktiski izraisa polimēra plēves dezintegrēšanos (pilnīgai sistēmas sadalīšanai nepieciešami 6-8 mēneši). Šādu sistēmu destrukciju var paātrināt, samazinot nedeštruģejošās komponentes saturu. Tā, piemēram, samazinot L5003 koncentrāciju līdz 10%, nepieciešams divreiz īsāks laiks, lai sistēma zaudētu pusi savas masas.

Lai pilnīgāk raksturotu biomasas sadalīšanās spēju, tika veikta arī sistēmu hidrolītiskās stabilitātes pārbaude. Šis eksperiments būtiski atšķiras no iepriekš aprakstītā, jo šajā gadījumā tiek izslēgta enzimatiskā iedarbība. Sistēmu stabilitāte fosfātu buferšķīdumā ar pH 7.4, ļauj novērtēt arī pārbaudīto materiālu izmantošanas iespējas par matricām veterinārijā prolongētai medikamentu izdalīšanai vai pārsienamajiem materiāliem.

PHB eksperimenta apstākļos gandrīz nemaz nepakļaujas hidrolītiskai iedarbībai un mēneša laikā hidrolītiskā degradācija PHB ir pārāk nenozīmīga, lai izraisītu kaut cik ievērojamus masas zudumus. Šāds rezultāts izskaidrojams ar polimēra augsto kristāliskumu (58%) un lielo molekulasmasu (1900 kDa). Pēdējā nosaka mazu gala hidroksilgrupu saturu un palielina polimēra hidrofobitāti.

Tādējādi, biomasas masas zudumus var attiecināt uz zem molekulāro piemaisījumu šķīšanu. Ņemot vērā, ka PHB praktiski nepakļaujas hidrolītiskai iedarbībai, un biomasas svara zudumi apskatītajā laika periodā nepārsniedz 10%, skaidrs, ka plastificēto PHB biomasas sistēmu masas zudums galvenokārt ir jāizskaidro ar plastifikatora fāzes izskalošanu no sistēmas. Pie kam, šis process gandrīz pilnīgi notiek jau pirmajā nedēļā pēc eksperimenta sākuma, pēc tam sistēmu masa paliek praktiski nemainīga. Iegūtie dati ļauj



apgalvot, ka sistēmā ir palikuši tikai 5-10% no sākotnējā PEG daudzuma un apmēram 25% no sākotnējā L5003 daudzuma. Acīmredzot PEG migrāciju no PHB matricas atvieglo tā salīdzinoši nelielā molekulmasa un labāka šķīdība attiecīgajā vidē. Šāds rezultāts pilnībā korelē arī ar biodegradācijas datiem augsnē, kas iztirzāti iepriekš.

Tika veikta arī polimēra sistēmu struktūrpārvērtību analīze ar diferenciāli skanējošās kalorimetrijas palīdzību. Salīdzinot tīra PHB un tā biomasas termogrammas, var konstatēt, ka PHB, kas atrodas biomasā, ir nedaudz zemāka kristāliskuma pakāpe, kā arī kristālisko struktūru sakārtotības pakāpe (kušanas pīķa maksimuma temperatūra ir par 5°C zemāka nekā tīram PHB). Kušana notiek šaurākā temperatūru intervālā. Izteikta atšķirība vērojama "aukstās" kristalizācijas pīķa izmēros, kas raksturo polimēra kristalizācijas ātrumu un līdz ar to arī ķēžu kustīgumu. Ja tīram PHB dzesēšanas laikā paspēj izveidoties 75% kristāliskās fāzes, tad biomasai šis lielums ir tikai 50%. Nedaudz pazemināta ir arī PHB stiklošanās temperatūra biomasā.

Papildus ievadot sistēmā plastifikatorus, augšminētās tendences vēl vairāk pastiprinās. PHB kristāliskuma pakāpes vērtības plastificētajā biomasā svārstās robežās 41-54%, un tās ir par 10-20% nemākas nekā atbilstošajām plastificēta tīra PHB sistēmām. Līdzīga tendence novērojama arī kušanas temperatūrām, kas ataino polimēra kristālisko veidojumu sakārtotības pakāpi. Tāpat kā neplastificētam tīram PHB un PHB biomasā, arī plastificētajām sistēmām saglabājas izteikta atšķirība "aukstās" kristalizācijas pīķa laukumā. Acīmredzot biomasā esošie piemaisījumi kavē PHB kristalizāciju un neļauj izveidoties tik sakārtotai kristāliskajai fāzei kā tīram PHB.

Salīdzinot savā starpā abu izvēlēto plastifikatoru iedarbību, redzams, ka zemfokulārais PEG, pieaugot tā saturam sistēmā, spējīgs daudz izteiktāk samazināt PHB kušanas temperatūru un ietekmēt kristalizācijas procesa ātrumu. Pie plastifikatora satura 50%, PHB makromolekulu kustīgums ir pieaudzis tik stipri, ka kristalizācija paspēj pilnīgi noritēt jau dzesēšanas laikā, un atkārtotajā sildīšanas ciklā "aukstās" kristalizācijas pīķis vispār vairs nav novērojams. Atšķirīgas ir arī kristāliskuma pakāpes izmaiņu tendences. Ja pieaugot L5003 saturam no 10% līdz 50%, PHB kristāliskuma pakāpe pieaug no 42% līdz 54%, tad PEG gadījumā tā attiecīgi samazinās no 50% līdz 41%. Šādas atšķirības var skaidrot ar plastifikatoru dažādo ķīmisko

uzbūvi un molekulmasas vērtībām, līdz ar to arī atšķirīgu savietojamības pakāpi ar PHB. Bez tam nedrīkst aizmirst, ka PEG ir spējīgs kristalizēties, tātad sistēmā ir vairākas amorfās un kristāliskās fāzes, kā arī virkne piemaisījumu no baktērijas šūnu paliekām. Jādomā, ka tieši PEG kristāliskums neļauj šim plastifikatoram nodrošināt tikpat lielu sistēmas deformējamību, kā L5003.

## Kopsavilkums

1. Pētījumu galvenais objekts bija līdz šim maz pētīts mikrobioloģiskā ceļā sintezēts poli-β-hidroksibutirāts (PHB), kura iegūšanā izmantots jauns efektīvs producents *Azotobacter chroococcum* 23. Šim PHB piemīt vairākas specifiskas iezīmes. To vidū sevišķi augsta molekulmasa (līdz 2500 kDa), kā arī visai zema deformējamība ( $\epsilon_B < 3\%$ ).

2. Analizēta PHB izdalīšanas un attīrīšanas procesa metodika, pilnveidoti atsevišķi paņēmieni. Eksperimentāli notriektas svarīgākās produkta īpašības.

3. Lai palielinātu PHB deformējamību, tika pētītas plastificētas PHB sistēmas, par plastifikatoriem izmantojot vairākus mazmolekulārus savienojumus, kas tradicionāli tiek izmantoti šim mērķim dažādās sistēmās: sebacīnskābes diesteri (dibutīlsebacināts, dioktīlsebacināts), polietilēnglikols (PEG), poliēteri (LAP). Visi minētie plastifikatori ir netoksiski biosadalīšies savienojumi ar tuvām molekulmasas vērtībām un līdzīgu molekulu polaritāti.

Izvēlētie plastifikatori pilnībā savietojas ar polimēru un veido ar to vienfāzes sistēmu līdz pat 15-20% saturam. Palielinot plastifikatora saturu šajā diapazonā, iespējams efektīvi paaugstināt polimēra deformējamību (relatīvais trūkšanas pagarinājums istabas temperatūrā sasniedz 250-300%). Vienlaicīgi notiek arī jūtama sistēmas stiprības samazināšanās, kas padara nelietderīgu plastifikatora ievadīšanu sistēmā virs 20 mas.%.

Saskaņā ar diferenciāli skanējošās kalorimetrijas datiem, minēto plastifikatoru klātbūtnē PHB kristāliskās un amorfās fāzes attiecība paliek praktiski nemainīga. Sistēmas PHB-plastifikators deformatīvo īpašību izmaiņas, galvenokārt, notiek pateicoties efektīvai starpmolekulārās iedarbības vājināšanai polimēra amorfajā daļā.

Zināmai kristāliskās daļas sakārtotības pakāpes samazināšanai ir otršķirīga nozīme.

4. Pētīta  $\gamma$ -starojuma ietekme uz PHB struktūru un īpašībām. Polimēra paraugi tika pakļauti 1-20 Mrad  $\gamma$ -starojuma dozām gaisa un vakuumā. Tika noteiktas molekulmasas, kristāliskās un amorfās fāzes struktūras raksturlielumu, kā arī deformatīvo polimēra īpašību izmaiņas. PHB molekulmasas samazināšanās atkarībā no starojuma dozas apraksta vienkāršs vienādojums:  $1/M(D) = kD + 1/M(0)$ , kur  $M(D)$  - polimēra molekulmasa pēc starojuma dozas  $D$ , bet  $M(0)$  - polimēra sākotnējā molekulmasa. Tas ļauj  $\gamma$ -starojumu izmantot kā drošu metodi mērķtiecīgai polimēra molekulmasas izmaiņai.

Relatīvā trūkšanas pagarinājuma  $\epsilon_B$  vērtības plēvēm, kas iegūtas no līdz 2,5 Mrad apstarota polimēra šķīduma (starosanas doza līdz 2,5 Mrad), ievērojami samazinās līdz ar PHB molekulmasas samazināšanos apstarošanas rezultātā. Stiepes robežspriegums  $\sigma_B$  sāk strauji samazināties, kad molekulmasa ir nokritusi zem 250 kDa (starojuma doza > 2,5 Mrad). Apstarojot gatavus paraugus, kas iegūti no lietām plēvēm un izturēti līdz līdzsvara struktūras sasniegšanai, novērojama neliela  $\sigma_B$  samazināšanās un  $\epsilon_B$  kritums par 20-40%.

Kalorimetrisko pētījumu rezultāti liecina par to, ka līdz ar starojuma dozas palielināšanos un tai atbilstošo molekulmasas kritumu, PHB kristāliskās fāzes saturs pieaug. Kristāliskās fāzes pieaugums ir jo lielāks, jo mazāks makrovirkņu garums (lielāka starojuma doza). Kušanas temperatūras  $T_m$  vērtības, kas raksturo kristāliskās fāzes sakārtotības pakāpi, samazinās līdz ar molekulmasas krišanos. Pretstatā esošajam viedoklim, ka radiācijas pārvērtību procesi (destrukcija, šķērssaistīšanās) pārsvarā norisinās tikai polimēru amorfajā daļā, kalorimetrisko pētījumu rezultāti ļauj secināt, ka radiācijas izraisītā destrukcija skar arī PHB kristālisko daļu.

5. Pētītas hidroksibutirāta-hidroksivalerāta kopolimēru (PHB/HV) iegūšanas iespējas, par producentu izmantojot *Azotobacter chroococcum* 23, kā arī iegūto produktu īpašības, atkarībā no kopolimēra sastāva. Noteikta fosfātu koncentrācijas un izvēlēto oglekļa avotu ietekme uz fermentācijas procesu un iegūtā kopolimēra sastāvu. Veikta iegūtā PHB/HV kopolimēra izdalīšana un attīrīšana un pētītas tā īpašības, salīdzinājumā ar līdzīgos apstākļos iegūtu PHB, lai izveidotu polimēru ar uzlabotām fizikāli mehāniskajām īpašībām.

Tika izolēti PHB/HV kopolimēri ar HV saturu no 0 līdz 20 mol%. Pieaugot HV saturam no 0 līdz 20 mol%, kopolimēru kušanas temperatūras vērtības samazinās attiecīgi no 180° C līdz 116° C un stiklošanās temperatūra no 3,1 līdz -6,3° C. Arī kopolimēra deformējamība likumsakarīgi ir ievērojami augstāka, nekā PHB un relatīvais trūkšanas pagarinājums stiepē pārsniedz 180%, pie 20 mol% HV satura. Tādējādi, izvēlētais produkts *Azotobacter chroococcum* 23 var tikt izmantots PHB/HV kopolimēra iegūšanai un, variējot sintēzes apstākļus, "ir iespējams iegūt polimēru ar plašu fizikāli mehānisko īpašību spektru.

6. Tika pētīts PHB, PHB biomasas un atbilstošu plastificētu sistēmu biosadalīšanās ātrums dažādās vidēs, mehāniskās īpašības un struktūru raksturojošie parametri.

Izstrādājumu iegūšanai no šķīduma, biomasu var izmantot tikai kopā ar plastificējošām piedevām. Abi izvēlētie plastifikatori - LAP un PEG ļauj iegūt biomasas plēves, kas derīgas tādu izstrādājumu kā agroķīmikāliju nesējmatricas vai sēklu inkrustācijas materiālu izgatavošanai.

PEG sistēmām raksturīga augsta biodegradējamība, augsnē tās pilnīgi sadalās dažu nedēļu laikā, tomēr, lai panāktu apmierinošas plēves deformatīvās īpašības, PEG saturam sistēmā jāpārsniedz 30%. Savukārt LAP ievērojami aizkavē biomasas degradāciju augsnē, taču jau neliels LAP daudzums nodrošina vairākkārtīgu deformējamības pieaugumu, kas pilnīgi kompensē šo trūkumu.

Hidrolītiskās noturības pārbaude parādīja, ka biomasā satur virkni migrētspējīgu, šķīstošu piemaisījumu, bet plastificētās sistēmas spēj tās laikā zaudēt arī lielāko daļu plastifikatora, uzirdinot polimēra struktūru un netieši palielinot tā biodegradējamību. Šādi rezultāti, papildinot DSC datus, apstiprina, ka tikai neliela daļa plastifikatora tiek saistīta polimērā, pārējā daļa sistēmā veido patstāvīgu fāzi. No DSC datiem var secināt arī, ka daļa biomasā atrodošos piemaisījumu PHB struktūru ietekmē līdzīgi kā plastificējošās piedevas, lai gan mehāniskajās īpašībās šī "plastificējošā" ietekme neatspoguļojas. Bez tam, DSC analīze ļāva pierādīt faktu, ka hidrolītiskās iedarbības rezultātā PHB struktūrā notiek dziļi un neatgriezeniski destruktīvie procesi ilgi pirms to uzrāda masas izmaiņas.

7. Ņemot vērā to, ka PHB un PHB/HV polimēri ir ekoloģiski droši, un to bioloģiskās sabrukšanas produkti augsnē un cilvēka ķermenī nav toksiski, kā arī to, ka plastificēšana un radiācijas modificēšana ļauj

sasniegt pieņemamus PHB sistēmu stiprības-deformējamības rādītājus, minētās sistēmas iespējams izmantot kā materiālus medicīnā (antiseptiskus preparātus saturošas terapeitiskās sistēmas; pārsienamie materiāli apdegumu ārstēšanai; sistēmas ar pakāpenisku, dozētu zāļu izdalīšanos; sistēmas, kas izmantojamas endoprotezēšanā; u.c), lauksaimniecībā (ekoloģiski sēklu un citu lauksaimniecības produktu inkrustācijas materiāli; materiāli ar kontrolētu pesticīdu vai mēslojuma izdalīšanos; u.c), videi draudzīgi iepakojuma materiāli (vienreizējās lietošanas trauki, dažādi iepakojuma materiāli).

### Publikāciju saraksts

*Galvenie disertācijas rezultāti atspoguļoti sekojošās publikācijās*

1. S. Gonta, L. Savenkova, **I. Bibers**, A. Dzene, V. Tupureina. Physical and mechanical characteristics of polyhydroxybutyrate produced by *Azotobacter chroococcum* in media with different iron concentrations. Baltic Polymer Symposium., September 17-19, 2003, Jūrmala, pp. 94-97.
2. **I. Bibers**, V. Tupureina, A. Dzene, L. Savenkova, M. Kalniņš. Biodegradable materials from plasticised PHB biomass. Macromolecular Symposia Thermoplastics - Based Blends and Composites". Copyright 2001 WILEY-VCH Verlag GmbH, pp. 61-71.
3. V. Tupureina, A. Dzene, M. Kalniņš, **I. Bibers**, L. Savenkova. Biodegradable PHB composite materials. Proceedings of the 14<sup>th</sup> Bratislava International Conference on Modified Polymers "Property tailoring of thermoplastics - based blends and composites" Bratislava, October 1-4, 2000, pp. 112-113.
4. L. Savenkova, Z. Gercberga, **I. Bibers**, M. Kalniņš. Effect of 3-hydroxy valerate content on some physical and mechanical properties of polyhydroxyalkanoates produced by *Azotobacter Chroococcum*, Process Biochemistry, 2000, vol. 36, pp. 445-450.

5. **I. Bībers**, V. Tupureina, A. Dzene, L. Savenkova, M. Kalniņš. Biodegradabli materiāli no plastificētas PHB biomasas. RTU zinātniskie raksti, sērija 1, "Materiālzinātne un lietišķā ķīmija", 1. izd., Rīga, RTU, 2000. g., 39.-49. lpp.
6. L. Savenkova, Z. Gerberga, V. Nikolaeva, A. Dzene, **I. Bībers**, M. Kalniņš. Mechanical properties and biodegradation characteristics of PHB-based films, *Process Biochemistry*, 2000, 35, 573-579.
7. **I. Bībers**, V. Tupureina, A. Dzene, M. Kalniņš. Improvement of the deformative characteristics of poly-β-hydroxybutyrate by plasticization, *Mechanics of Composite Materials*, 1999, 35, 4, 357-364.
8. **I. Bībers**, M. Kalniņš. Control of biopolymer poly-β-hydroxybutyrate characteristics by γ-irradiation, *Mechanics of Composite Materials*, 1999, 35, 2, 169-178.
9. **I. Bībers**, V. Tupureina, A. Dzene, M. Kalniņš. Modificēta poli-β-hidroksibutirāta sistēmas. LZP Programmas "Koksnes un augu valsts izejvielu materiāli" konference par 1998. gada rezultātiem. 1999. g. 12. marts, LLU, Jelgava.
10. **I. Bībers**, M. Kalniņš. Poli-β-hidroksibutirāta deformatīvo īpašību uzlabošana ar plastificēšanas palīdzību. - 40. Studentu Zinātniskās un Tehniskās konferences materiāli. 1999. g. 26.-30. aprīlis. - R.:RTU, 1999.-52. lpp.
11. **I. Bībers**, M. Kalniņš. Studies of poly-β-hydroxybutyrate degraded by γ-radiation. Starptautiskās konferences "Biodegradable plastics and polymers" materiāli. 1998. g. 9.-13. jūnijs. -Stokholma.
12. **I. Bībers**, M. Kalniņš. Degradēta poli-β-hidroksibutirāta struktūras un mehānisko īpašību pētījumi. - 39. Studentu Zinātniskās un Tehniskās konferences materiāli. 1998. g. 23.-27. aprīlis. - R.:RTU, 1998. -159. lpp.