İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ENZİMATİK POLİMERİZASYON İLE SENTEZLENEN POLİKAPROLAKTONA REAKSİYON KOŞULLARININ ETKİSİNİN VE POLİKAPROLAKTONUN BİYOBOZUNURLUĞUNUN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Erhan ÖZSAĞIROĞLU

Anabilim Dalı : Kimya Mühendisliği

Programı : Kimya Mühendisliği

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Yüksel AVCIBAŞI GÜVENİLİR

HAZİRAN 2011

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ENZİMATİK POLİMERİZASYON İLE SENTEZLENEN POLİKAPROLAKTONA REAKSİYON KOŞULLARININ ETKİSİNİN VE POLİKAPROLAKTONUN BİYOBOZUNURLUĞUNUN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Erhan ÖZSAĞIROĞLU
(506091038)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 05 Mayıs 2011
Tezin Savunulduğu Tarih : 09 Haziran 2011

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Yüksel AVCIBAŞI GÜVENİLİR (İTÜ)
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Nuran DEVECİ AKSOY(İTÜ)
Yrd. Doç. Dr. Didem OMAY (YÜ)

HAZİRAN 2011

Aileme,

ÖNSÖZ

Bitirme projem sırasında yüksek bilgi birikimi ve deneyimiyle beni yönlendirerek daima yol gösterici olan hocam Sayın Prof. Dr. Yüksel AVCIBAŞI GÜVENİLİR'e ilgi ve desteğinden dolayı teşekkür ederim. Desteklerinden dolayı Araş. Gör. Banu İYİSAN'a ve FTIR analizlerindeki yardımları için Sayın Yard. Doç. Dr. Didem OMAY'a, Sayın Yard. Doç. Dr. Ramazan KIZIL'a ve Kimya Mühendisi Nur ÇEBİ'ye teşekkür ederim.

Tüm çalışmam sırasınca benden desteklerini esirgemeyen ve her zaman yanımda olan aileme de teşekkürü bir borç bilirim.

Mayıs 2011

Erhan ÖZSAĞIROĞLU

(Kimya Mühendisi)

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ ..... **v**
İÇİNDEKİLER ..... **vii**
KISALTMALAR ..... **ix**
ÇİZELGE LİSTESİ ..... **xi**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **xiii**
SEMBOL LİSTESİ ..... **xv**
ÖZET ..... **xvii**
SUMMARY ..... **xix**
1. GİRİŞ **1**
2. TEORİK BİLGİLER **5**
2.1 Polikaprolaktonun Tarihçesi 5
2.2 Polikaropaktonun Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri 6
2.3 Lipaz Enzimi 7
2.4 Polikaprolaktonun Sentezi 7
2.4.1 Kimyasal sentez yöntemleri 7
2.4.2 Enzimatik sentez yöntemleri 9
2.4.3 2-metil 1,3-dioksepan ile radikal polimerizasyonu 11
2.5 Polikaprolaktonun Kullanım Alanları 12
2.6 Polikaprolaktonun Karakterizasyonu 14
2.6.1 Molekül yapısı ve bileşimi 14
2.6.2 Molekül ağırlığı tayini 15
2.6.3 Kristalinite, erime noktası ve camsı geçiş sıcaklığı 15
2.6.4 Mekanik dayanıklılık 16
2.6.5 Çözünürlük 17
2.6.6 Biyouyumluluk ve biyobozunurluk 17
2.7 Polikaprolaktonun Biyobozunma Mekanizması 18
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR **21**
3.1 Malzemeler 21
3.1.1 Monomer 21
3.1.2 Çözücüler ve kimyasallar 21
3.1.3 Enzimler 23
3.2 Ekipmanlar 24
3.2.1 Jel geçirgenlik kromatografisi (GPC) 24
3.2.2 Nükleer manyetik rezonans (NMR) 25
3.2.3 Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) 25
3.2.4 Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometresi (FT-IR) 26
3.2.5 Ekipmanlar 26
3.3 Deneysel Yöntemler 27
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA **31**
4.1 Diizopropil Eter Çözücülü Deneyler ve Sonuçları 31
4.2 Toluen Çözücülü Deneyler ve Sonuçları 38

4.3 n-hekzan Çözücülü Deneyler ve Sonuçları 45
4.4 Biyobozunma Deneyleri ve Sonuçları 54
4.4.1 Esteraz enzimli biyobozunma deneyleri ve sonuçları 54
4.4.2 Lipolaz enzimli biyobozunma deneyleri ve sonuçları 57
4.4.3 Esteraz ve lipolaz enzim karışımlı biyobozunma deneyleri ve sonuçları 59
4.4.4 Esteraz, lipolaz ve savinaz enzim karışımlı biyobozunma deneyleri ve sonuçları 62
4.4.5 Enzimsiz fosfat tampon çözeltisindeki biyobozunma deneyleri ve sonuçları 65
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER..... 69
KAYNAKLAR..... 81

KISALTMALAR

DMA	**:** Dynamic Mechanical Analysis
DP	**:** Degree of Polymerization
DSC	**:** Differential Scanning Calorimetry
EC	**:** Enzyme Classification
FTIR	**:** Fourier Transform Infrared Spectroscopy
GPC	**:** Gel Permeation Chromatography
^{1}H NMR	**:** Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
PCL	**:** Polikaprolakton
PGA	**:** Poliglikolik asit
PLA	**:** Polilaktik asit
THF	**:** Tetrahidrofuran
TL	**:** Toluen

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : Polikaprolaktonun fiziksel özellikleri. 7
Çizelge 3.1 : Polikaprolaktonun karakteristik kızılötesi bant değerleri..... 22
Çizelge 4.1 : 80 ^{o}C'de diizopropil eter deneyi sonuçları 31
Çizelge 4.2 : 60 ^{o}C'de diizopropil eter deneyi sonuçları 33
Çizelge 4.3 : 40 ^{o}C'de diizopropil eter deneyi sonuçları 36
Çizelge 4.4 : 80 ^{o}C'de toluen deneyi sonuçları 38
Çizelge 4.5 : 60 ^{o}C'de toluen deneyi sonuçları 40
Çizelge 4.6 : 40 ^{o}C'de toluen deneyi sonuçları 42
Çizelge 4.7 : 80 ^{o}C'de n-hekzan deneyi sonuçları 46
Çizelge 4.8 : 60 ^{o}C'de n-hekzan deneyi sonuçları 49
Çizelge 4.9 : 40 ^{o}C'de n-hekzan deneyi sonuçları 52
Çizelge 4.10 : TL40_72 numunesinin esteraz enzimli deneyin GPC sonuçları 55
Çizelge 4.11 : Ticari PCL numunesinin esteraz enzimli deneyin GPC sonuçları 56
Çizelge 4.12 : TL40_72 numunesinin lipolaz enzimli deneyin GPC sonuçları 57
Çizelge 4.13 : Ticari PCL numunesinin lipolaz enzimli deneyin GPC sonuçları 58
Çizelge 4.14 : TL40_72 numunesinin E+L enzimli deneyin GPC sonuçları 60
Çizelge 4.15 : Ticari PCL numunesinin E+L enzimli deneyin GPC sonuçları 61
Çizelge 4.16 : TL40_72 numunesinin E+L+S enzimli deneyin GPC sonuçları..... 62
Çizelge 4.17 : Ticari PCL numunesinin E+L+S enzimli deneyin GPC sonuçları..... 64
Çizelge 4.18 : TL40_72 numunesinin FT çözeltisindeki deneyin GPC sonuçları 65
Çizelge 4.19 : Ticari PCL numunesinin FT çözeltisindeki deneyin GPC sonuçları . 66

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Polikaprolaktonun yıllara göre yayın sayısı dağılımı 5
Şekil 2.2 : Polikaprolakton zincirinin görünümü 6
Şekil 2.3 : Endüstriyel boyutta yüksek molekül ağırlıklı PCL üretimi 8
Şekil 2.4 : Polikaprolaktonun enzimatik sentez mekanizması 9
Şekil 2.5 : 2-metil-1-3-dioksepan ile PCL eldesi 11
Şekil 2.6 : Suni iskelet yapının şematik gösterimi 13
Şekil 3.1 : Ticari polikaprolaktonun FTIR analizi 22
Şekil 3.2 : Polimerizasyon deney düzeneği 28
Şekil 3.3 : Biyobozunma deney düzeneği 29
Şekil 4.1 : 80 ^{o}C'de diizopropil eter deneyinde molekül ağırlığı dağılımı 32
Şekil 4.2 : 80 ^{o}C, 24 saatte diizopropil eter deneyinin FTIR analizi 32
Şekil 4.3 : 60 ^{o}C'de diizopropil eter deneyinde molekül ağırlığı dağılımı 34
Şekil 4.4 : 80 ^{o}C, 17 saatte diizopropil eter deneyinin FTIR analizi 34
Şekil 4.5 : 60 ^{o}C, 17 saatte diizopropil eter deneyinin ^{1}H NMR spektrumu 35
Şekil 4.6 : 60 ^{o}C, 17 saatte diizopropil eter deneyinin DSC analizi 36
Şekil 4.7 : 40 ^{o}C'de diizopropil eter deneyinde molekül ağırlığı dağılımı 37
Şekil 4.8 : 40 ^{o}C, 17 saatte diizopropil eter deneyinin FTIR analizi 37
Şekil 4.9 : 80 ^{o}C'de toluen deneyinde molekül ağırlığı dağılımı 39
Şekil 4.10 : 80 ^{o}C, 2 saatte toluen deneyinin FTIR analizi 39
Şekil 4.11 : 60 ^{o}C'de toluen deneyinde molekül ağırlığı dağılımı 41
Şekil 4.12 : 60 ^{o}C, 24 saatte toluen deneyinin FTIR analizi 41
Şekil 4.13 : 40 ^{o}C'de toluen deneyinde molekül ağırlığı dağılımı 43
Şekil 4.14 : 40 ^{o}C, 72 saatte toluen deneyinin FTIR analizi 43
Şekil 4.15 : 40 ^{o}C, 72 saatte toluen deneyinin ^{1}H NMR spektrumu 44
Şekil 4.16 : 40 ^{o}C, 72 saatte toluen deneyinin DSC analizi 45
Şekil 4.17 : 80 ^{o}C'de n-hekzan deneyinde molekül ağırlığı dağılımı 46
Şekil 4.18 : 80 ^{o}C, 6 saatte n-hekzan deneyinin FTIR analizi 47
Şekil 4.19 : 80 ^{o}C, 6 saatte n-hekzan deneyinin ^{1}H NMR spektrumu 48
Şekil 4.20 : 80 ^{o}C, 6 saatte n-hekzan deneyinin DSC analizi 48
Şekil 4.21 : 60 ^{o}C'de n-hekzan deneyinde molekül ağırlığı dağılımı 50
Şekil 4.22 : 60 ^{o}C, 6 saatte n-hekzan deneyinin FTIR analizi 50
Şekil 4.23 : 60 ^{o}C, 2 saatte n-hekzan deneyinin FTIR analizi 51
Şekil 4.24 : 40 ^{o}C'de n-hekzan deneyinde molekül ağırlığı dağılımı 53
Şekil 4.25 : 40 ^{o}C, 72 saatte n-hekzan deneyinin FTIR analizi 53
Şekil 4.26 : TL40_72 numunesinin esteraz enzimli deneyin FTIR analizi 55
Şekil 4.27 : Ticari PCL numunesinin esteraz enzimli deneyin FTIR analizi 56
Şekil 4.28 : TL40_72 numunesinin lipolaz enzimli deneyin FTIR analizi 58
Şekil 4.29 : Ticari PCL numunesinin lipolaz enzimli deneyin FTIR analizi 59
Şekil 4.30 : TL40_72 numunesinin E+L enzimli deneyin FTIR analizi 60
Şekil 4.31 : Ticari PCL numunesinin E+L enzimli deneyin FTIR analizi 61
Şekil 4.32 : TL40_72 numunesinin E+L+S enzimli deneyin FTIR analizi 63
Şekil 4.33 : Ticari PCL numunesinin E+L+S enzimli deneyin FTIR analizi 64

Şekil 4.34 : TL40_72 numunesinin FT çözeltisindeki deneyin FTIR analizi..... 66
Şekil 4.35 : Ticari PCL numunesinin FT çözeltisindeki deneyin FTIR analizi..... 67
Şekil 5.1 : Yüzde dönüşümün M_n ve Sıcaklıkla Değişim Grafikleri
(a) Mn - % Dönüşüm **(b)** Sıcaklık - % Dönüşüm..... 72
Şekil 5.2 : Enzim-monomer kompleksi ve polimerizasyonun sonlanma aşaması... 72
Şekil 5.3 : Polimerlere göre C-O ve C-C bağlarının absorbans değişimleri
(a) Ticari PCL **(b)** Sentez PCL..... 76
Şekil 5.4 : Polikaprolakton bağlarına enzimlerin etkisi..... 77

SEMBOL LİSTESİ

$\mathbf{M_n}$	**:** Sayıca Ortalama Molekül Ağırlığı
$\mathbf{M_v}$	**:** Viskozite Ortalama Molekül Ağırlığı
$\mathbf{M_w}$	**:** Ağırlıkça Ortalama Molekül Ağırlığı
$\mathbf{T_g}$	**:** Camsı Geçiş Sıcaklığı
$\mathbf{T_m}$	**:** Erime Sıcaklığı
$\boldsymbol{\eta}$	**:** Viskozite (cst)

ENZİMATİK POLİMERİZASYON İLE SENTEZLENEN POLİKAPROLAKTONA REAKSİYON KOŞULLARININ ETKİSİNİN VE POLİKAPROLAKTONUN BİYOBOZUNURLUĞUNUN İNCELENMESİ

ÖZET

Polimerler ve polimer kökenli malzemeler biyomedikal alanlarda özellikle de ilaç üretiminde ve taşınımında, yapay organ ve protez yapımında giderek artan bir önemle kullanılmaktadır. Polimerlerin tercih edilme sebepleri, yüksek elastik ve dayanım göstermeleri, hafif olmaları ve biyolojik uygulamalar için biyouyumlu ve biyobozunur olmalarındır. Biyouyumluluk özelliği canlı hücrede sorun yaratmadan polimerin işlev görebilmesini sağlarken; biyobozunurluk özelliği de günümüzde giderek büyüyen bir sorun olan çevre ve atık problemine karşı da bir çözüm üretmektedir. Polikaprolakton sentetik bir polimer olmasına rağmen hem biyolojik uygulamalarda çok geniş kullanım alanlarına sahip bir polimerdir hem de poliester sınıfından olan diğer polimerlerden farklı olarak biyobozunabilen bir polimerdir. Özellikle de polikaprolaktonun biyobozunabilir bir polimer olduğunun anlaşılmasından sonra önemi giderek artmaktadır.

Son yıllarda polikaprolakton üzerine yapılan araştırmalara bakıldığında optimum sentez koşullarının araştırılması, polimerizasyon reaksiyonunun enzimatik katalizörlerle gerçekleştirilmesi ve kopolimer veya homopolimer haldeki polikaprolaktonların farklı koşullarda biyobozunurluklarının araştırılması üzerine durulmaktadır.

Yapılan çalışmanın ilk aşamasında literatür araştırmalarından yola çıkılarak belirlenen sabit enzim/monomer konsantrasyonlarına göre farklı çözücü, sıcaklık ve sürelerde polimerizasyon reaksiyonlarında ne gibi değişikliklerin meydana geldiği araştırılmıştır. Sentez reaksiyonunda kullanılan katalizör immobilize haldeki *Candida antarctica* lipaz enzimidir. Polimerizasyon reaksiyonlarında elde edilen polimerlerin zamana karşı molekül ağırlıkları dağılımı çıkarılmış ve seçilen belirli numunelerin bağ yapılarının, termal davranımlarının ve reaksiyondaki dönüşüm oranlarının kıyaslanması yapılmıştır. Kıyaslanma hem sentez polimerlerin kendi aralarında hem de ticari polikaprolakton numunesiyle yapılmıştır. Çalışmanın ikinci aşamasında ise polimerizasyon reaksiyonları sonucu üretilen polikaprolakton numuneleri içerisinde en yüksek molekül ağırlıklı bir numune ile ticari polikaprolakton numunesinin sabit sıcaklık ve pH değerlerine sahip ortamda yine enzimatik ortamlarda biyobozunurlukları araştırılmıştır. Her bozunma ürününün molekül ağırlıkları ve bağ yapılarındaki değişimler analiz edilmiştir. Biyobozunmada biyolojik katalizörle sentezlenen polimerle ticari polimerin biyobozunma hızları ve oranları karşılaştırılmıştır.

INVESTIGATION OF EFFECTS OF REACTION MEDIUMS ON POLYCAPROLACTONE SYNTHESIS BY ENZYMATIC POLYMERIZATION AND ITS BIODEGRADATION

SUMMARY

Polymer and polymer based materials have used an increasing interest in biomedical applications especially drugs and drug delivery devices of active materials in human body, production of prosthesis. Their higher elastic and strength properties, slightness and especially the most majority for biological applications biocompatible and biodegradable properties make them first preference. Biocompatible features provide using in vivo conditions with no problem and biodegradable properties make a solution for global environmental pollution problem. Although polycaprolactone is a synthetic polymer, it has great practice areas in biomedical applications. Polyester class polymers are rarely biodegradable polymers and polycaprolactone is one of them. Especially, understanding of polycaprolactone is a biodegradable synthetic polymer; it has a significant importance last two decades.

When we scanned researches on polycaprolactone, we could see experiments usually focus on ideal polymerization conditions, using enzymes as a catalyst and biodegradation mechanisms of its homopolymers, copolymers and blends.

On this study, according to technical literature research constant enzyme/monomer concentration were determined and polymerization reaction were made with different temperature, solvent, reaction time, so reactions results were investigated. *Candida antarctica* lipase were used as a catalyst in synthesis reactions. Time versus molecular weight distribution were figured for all polymerization reactions and some samples were chosen to analyze and compare absorbances of characteristic chains, thermal behaviour of polymers and conversions of reactions. Results of analysis comprasion were made between each syntesis polymers and synthesis polymers versus commercial polymer. The second step of the study is biodegradation reactions were realized between commercial polycaprolactone and synthesis polycaprolactone which has the highest molecular weight. Biodegradation reactions carried out constant temperature and pH with different enzymes. All biodegradation samples were characterized respect to chanings of molecular weights and absorbances of chains. Moreover, synthesis polcaprolactone and commercial polycaprolactone were compared as degradation rates.

1. GİRİŞ

Biyoteknolojik uygulamaların önemli bir bölümünü oluşturan biyomalzeme üretimi günümüz mühendislik teknolojisinin güncel konularından biridir. Üretilen biyomalzemelerin biyouyumlu olması, toksik ve kanserojen olmaması, kimyasal açıdan kararlı olması, yeterli mekanik dayanıma sahip olması istenen özelliklerdendir. Seramik, metalik, polimerik ve kompozit malzemeler genellikle biyomalzeme olarak kullanılmaktadır. Kullanıldıkları biyolojik alanlara örnek olarak ilaç salım sistemleri, doku ve organ nakilleri ve ortopedik uygulamalar verilebilmektedir. Biyomalzemelerin birçok farklı alanda kullanılması ve giderek kullanım alanlarının yaygınlaşmasında en önemli etkenlerden birisi de bu malzemelerin doğal yollardan bertaraf edilebilmesi ve böylelikle günümüzdeki en önemli sorunların başında gelen çevre kirliliği ve atık problemlerine çözüm yolu sağlayabilmesidir [1].

Son yıllarda sürekli artan bir sorun haline gelen atık problemlerine karşı bir çözüm olarak biyobozunabilir yani çevreye dost plastiklerin üretilmesi gündeme gelmiştir. Bu malzemelerin sürdürülebilirliğe katkı sağlaması ve atık problemlerini sıfır olmasa bile en aza indirgemesi iyi birer alternatif çözüm olmalarını sağlamaktadır. Biyolojik olarak parçalanabilen malzemelerin başında da biyopolimerler gelmektedir. Biyobozunma mekanizması mikroorganizmalar ve enzimler tarafından gerçekleştirilen maddenin makro halinden yapı taşlarına ayrılması olayıdır.

Biyomalzemeler içerisinde biyopolimerler günümüzde en çok yer tutan ve araştırma konusu olan yapılardır. Biyopolimerlerin yaygın olarak tercih edilmelerinin sebepleri; kullanım kolaylığı ve esnekliği sağlayabilmeleri, biyouyumlu metallere kıyasla in-vivo uygulamalarda oksitlenme gibi sorunlarının olmaması, hafif ve esnek olabilmeleri ve diğer malzemelere oranla vücuda daha iyi uyum sağlayabilmeleridir.

Enzimatik polimerizasyon geleneksel koşullara kıyasla polimerler için daha farklı sentez metotları sağlar. Özellikle de son on yılda polimer zincirlerinin elde edilmesinde enzimatik polimerizasyon yöntemi üzerinde yapılan çalışmalarda su içermeyen ve geleneksel yapının dışındaki reaksiyon ortamları üzerinde

durulmaktadır [2]. Alifatik poliesterlerin ve polikarbonatların lipaz enziminin katalizör olarak kullanıldığı reaksiyonlarında sentezleri geleneksel koşullara göre daha ılımlı şartlarda gerçekleştirilebilmektedir.

Poliester temelli polimerlerden biri olan polikaprolakton biyobozunurluk, biyouyumluluk ve geçirgenlik gibi birçok önemli özelliğinden dolayı biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır [3]. Biyobozunur ve biyouyumlu bir termoplastik olan polikaprolakton, polilaktik asit gibi kısa sürede bozunabilen biyopolimerlere kıyasla daha uzun süre dayanım gösterir. Bu yapısından dolayı özellikle de ilaç taşınım sistemi olarak kullanılması en önemli uygulama alanını oluşturmaktadır.

Günümüzde, halka açılması polimerizasyonu ile sentezlenen polikaprolaktonun organik çözücülerle lipaz türevi enzimlerin katalizör olarak kullanıldığı araştırmalar yoğunluk kazanmıştır [4]. Bu araştırmalarda genel olarak, immobilize bir enzim olan *Candida antarctica* lipaz B (Novozym 435) diğer lipaz türevi enzimlere göre farklı reaksiyon koşullarında daha yüksek dönüşüm oranları verdiği için tercih sebebi olmuştur [5].

Lipaz, hidrolaz ailesinden bir enzim türüdür ve hem in-vivo hem de in-vitro ortamlarda su içerisinde veya organik çözeltilerde çalışır. Canlı hücrelerinde yağ asitlerini hidrolizleyebilirken, canlı organizma dışında ise esterleşme veya trans esterleşme reaksiyonlarını katalizler. Bu özelliğinden dolayı lipazlar farklı polimerizasyon modellerinde kullanışlı poliesterlerin ve polikarbonatların sentezlenmesini sağlarlar [5]. Laktonların, halkasal diesterlerin ve halkasal karbonatların halka açılması polimerizasyonunu gerçekleştirirler.

Lipaz katalizörlüğünde gerçekleştirilen halka açılması polimerizasyonunda laktonun aktivasyon sürecini açil-enzim ara ürününün oluşturması takip eder ve ara ürününün uygun bir nükleofil (organik veya iyonik çözücü) varlığında deaçillenmesi ile başlangıç aşaması sonlanır [6]. Yayılma aşaması ise deaçillenmiş ara ürünün terminal hidroksil gruplara katılmasıyla polimer zincirinin büyümesi sonucu gerçekleşir.

Yapılan bu çalışmada polikaprolaktonun *Candida antarctica* lipaz B (Novozym 435) enzimi katalizörlüğünde halka açılması polimerizasyonu ile farklı reaksiyon ortamlarında sentezi yapılmıştır. Reaksiyon koşulları değiştirilerek oluşan sentez polimerlerin karakterizasyonu yapılarak molekül ağırlıkları, termo plastik

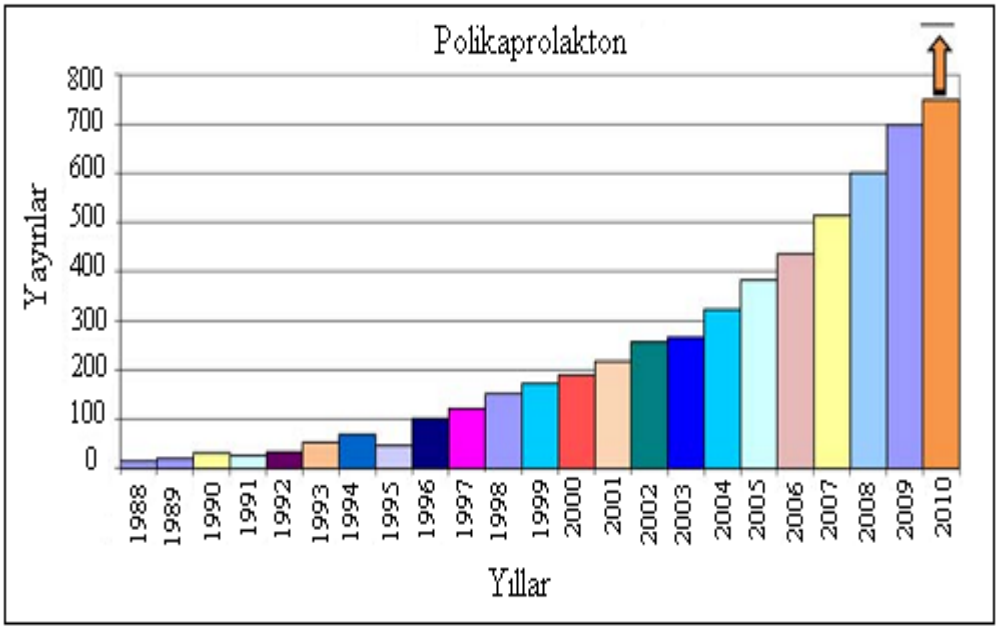
davranımları ve reaksiyon dönüşüm oranlarındaki değişimler incelenmiştir. Farklı reaksiyon ortamları sıcaklık, süre ve çözücü türü değiştirilerek gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonlar için 3 farklı sıcaklık ve 3 farklı çözücü türü denenerek enzimin hangi çözücüde ve hangi sıcaklık değerinde en iyi çalıştığı tespit edilmiştir. Seçilen çözücüler hidrofobik yapıdaki organik çözücülerdir. 7 farklı reaksiyon süresi tanımlanarak sürenin dönüşüm oranlarındaki ve molekül ağırlığının dağılımındaki etkisi araştırılmıştır. Tüm numuneler molekül ağırlıkları, termal davranımları, bağ yapıları ve reaksiyonda ulaşılan dönüşüm oranlarına göre analiz edilerek her parametrenin polimer yapısı ve reaksiyon üzerindeki etkisi çıkarılmış ve optimum koşul değerleri ortaya konulmuştur.

Tez çalışmasının ikinci aşamasında ise üretilen polimerler içerisinden seçilen bir numune ile ticari polikaprolakton numunesinin farklı ortamlardaki biyobozunması araştırılmıştır. Ticari polikaprolaktonun bozunma deneylerinde kullanılma sebebi enzimatik reaksiyonla sentezlenen laboratuar numunesiyle biyobozunma hızının ve oranının karşılaştırılmasını yapmaktır. Biyobozunma deneylerinde 3 farklı enzim türü kullanılmıştır. Bunlar esteraz, lipaz ve proteaz sınıfı enzimlerdendir. Enzim çözeltileri tek başına, ikili karışımları ve üçünün karışımıyla hazırlanan enzim kokteylleri 37 ^{o}C'de film halinde dökülmüş polikaprolakton numunelerine uygulanarak biyobozunma reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. Numuneler belirli aralıklarla alınarak molekül ağırlıklarındaki değişimler ve bağ yapılarındaki değişimler analiz edilerek bozunma durumları ve hızları gözlemlenmiştir.

2. TEORİK BİLGİLER

2.1 Polikaprolaktonun Tarihçesi

Polikaprolakton (PCL), 1930'ların başında Carothers Group tarafından sentezlenen ilk polimerlerdendir [7]. Ancak ticari olarak yaygınlaşması sentetik polimerlerin mikroorganizmalar tarafından bozundurulabileceğinin ortaya çıkarılmasından sonra olmuştur. Özellikle de Şekil 2.1'den görüldüğü üzere son 20 yılda PCL üzerinde yapılan çalışmaların sayısında hızla bir artış meydana gelmiştir [8]. Bu artışta PCL'nin iyi bir kopolimer veya karışım (blending) malzemesi olması da önemli rol oynamıştır.



Şekil 2.1: Polikaprolaktonun yıllara göre yayın sayısı dağılımı [8].

Polikaprolaktonun biyouyumlu ve biyobozunur olması medikal uygulamalarda kullanılmasını sağlamaktadır. Cerrahi amaçlı üretilen ipliklerde, ilaç salınım sistemi gibi biyolojik alanlar ve kolay şekil almasından dolayı naylon katkılı malzemelerin içinde ve ambalajlamada kullanılmaktadır. Ancak PCL, biyobozunurluğu çeşitli malzeme veya kopolimer yapılarıyla değiştirilebilir, kolay şekillenebilir ve farklı gözenek boyutunda üretilebilir olmasından dolayı diğer biyopolimerlere göre daha avantajlıdır [8].

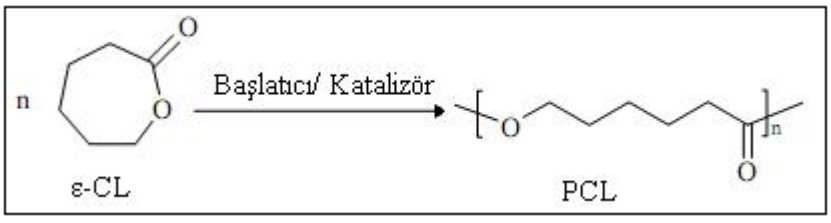
PCL, iki farklı monomerle ve farklı reaksiyonlarla sentezlenebilmektedir. Bunlardan birincisi ve en yaygın olan sentez mekanizması biyolojik veya kimyasal katalizörler yardımıyla halka açılması polimerizasyonu; diğeri ise 2-metil-1,3-dioksepan ile serbest radikal halka açılması polimerizasyonudur [9].

2.2 Polikaprolaktonun Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Polikaprolakton (PCL) monomeri ε-kaprolakton olan, hidrofobik, yarı kristalin yapıda bir homopolimerdir ve camsı geçiş sıcaklığı –60 ^{o}C, erime noktası 59 ^{o}C ile 64 ^{o}C arasındadır. Kristalin yapısı ve düşük erime sıcaklığı kolay şekil alabilir olmasını sağlamaktadır. Molekül ağırlığı 3.000 g/mol'den 100.000 g/mol'e kadar değişmektedir [8]. Molekül ağırlığına kristal yapı ters orantılı olarak etki etmektedir. Örneğin, PCL'nin % 40 kristal haldeyken molekül ağırlığı 100.000 g/mol iken kristal yapı % 80'e yükseldiğinde molekül ağırlığı 5.000 g/mol'e düşmektedir [9].

PCL oda sıcaklığında kloroform, diklorometan, karbon tetraklorür, benzen, toluen, siklohekzan ve 2-nitropropan gibi çözücülerde yüksek çözünürlüğe; aseton, 2-butanon, etil asetat, dimetilformamid ve asetonitril gibi çözücülerde düşük çözünürlüğe sahipken; alkol, petrol eteri ve dietil eter gibi çözücülerde ise hiç çözünmemektedir [8].

Yapısal olarak polikaprolakton zincirinin görünümü Şekil 2.2'de görünmektedir. Lineer zincir yapısı monomerdeki oksijen bağının koparak açılması sonucu oluşmaktadır.



Şekil 2.2: Polikaprolakton zincirinin görünümü.

Polikaprolaktonun bir diğer önemli özelliği de birçok farklı polimerle harmanlama (blending) yapılabilmesidir. Selüloz propiyonat, selüloz asetat, polilaktik asit ve polilaktik asit-ko-glikozit ile PCL harmanları gerilim ve kırılma direnci yüksek, boyanabilirliği arttırılmış ve adezyon kuvvet özelliği güçlendirilmiş yapılar olmaktadır [8]. Bunların yanı sıra PCL-poliüretan (PU) harmanları kardiyovasküler

uygulamalarda, PCL-kitosan harmanları doku mühendisliği ve ilaç taşınım sistemlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır [10-13].

PCL'nin diğer fiziksel özellikleri Çizelge 2.1'de verilmektedir.

Çizelge 2.1: Polikaprolaktonun fiziksel özellikleri.

Yoğunluk (60 ^{o}C)	1,1 g/cm^{3}
Viskozitesi (100 ^{o}C)	1.500.000 mPa.s
Erime Noktası	59 ^{o}C - 64 ^{o}C
Parlama Noktası	275 °C
Parçalanma Sıcaklığı	200 °C

2.3 Lipaz Enzimi

Lipaz, triaçilgliserol ester hidrolaz (E.C. 3.1.1.3), yağları yağ asitlerine, diaçilgliserollere, monogliserollere ve gliserollere kadar parçalayabilen bir enzimdir [14]. Canlı ve cansız ortamlarda çalışabilmesi ve farklı reaksiyon koşullarında bile verimli olması; aynı zamanda da kolay bulunabilir bir enzim olması günümüzde endüstriyel uygulamalarda geniş çapta kullanılmasını sağlamaktadır.

Lipaz enzimi mantar, bakteri veya çeşitli hayvanların pankreas ve karaciğerinden elde edilebilmektedir. *Candida* ve *Pseudomonas* türü bakterilerden elde edilen lipazlar biyokatalizör olarak en yaygın kullanılan çeşitleridir [5]. Ayrıca farklı yapıda yüzey aktif maddelere ve reçinelere immobilize edilerekte kullanılabilmektedir [5,15]. Bunun faydası endüstriyel uygulamalarda enzimin birden fazla kullanılabilmesini sağlamak ve reaksiyon çözeltisine karışarak son ürünü kirletmesini önlemektir. Ayrıca immobilize enzimlerin tekrar kullanılabilmeleri toplam maliyet üzerinde de önemli düşüşler sağlayarak endüstride yüksek maliyetli enzimatik reaksiyonların ekonomik olabilmelerinde yardımcı bir etken olmaktadır.

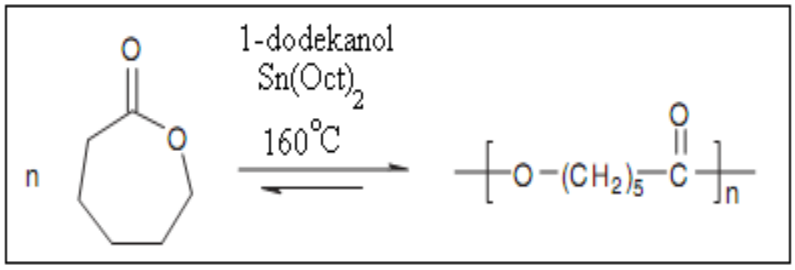
2.4 Polikaprolaktonun Sentezi

2.4.1 Kimyasal sentez yöntemleri

Polikaprolaktonun kimyasal sentez yönteminde metal türevi katalizörler veya yeni yapılan çalışmalarda farklı türde kimyasal malzemeler kullanılmaktadır [16-22]. Bunun yanı sıra her reaksiyonda olmamakla birlikte molekül ağırlığı kontrolü için başlatıcılar (genelde alkol türevi) kullanılmaktadır. Reaksiyonlar çözücüsüz veya

çözücülü ortamda yapılabilmektedir. Kimyasal sentez yönteminde reaksiyon koşulları enzimatik metotlara göre daha yüksek sıcaklık içerebilir. Endüstriyel üretimde ve genel araştırmalarda metal türevi katalizörler diğerlerine göre daha çok tercih edilirler. Bunun sebepleri ise metal katalizörlerin düşük maliyet, düşük toksisite ve yüksek verim sağlanmasıdır [1].

Endüstriyel boyutta yüksek molekül ağırlıklı PCL üretimi Şekil 2.3'te görüldüğü gibi kimyasal yöntemle kalay oktoat ($Sn(Oct)_2$) katalizörü varlığında ve 1-dodekanol başlatıcısı ile yapılmaktadır [23].



Şekil 2.3: Endüstriyel boyutta yüksek molekül ağırlıklı PCL üretimi [23].

Difenil çinko başlatıcısı ile yapılan çalışmalarda polimerizasyonda monomer/başlatıcı oranı düşürüldükçe dönüşüm oranında ve polimerin molekül ağırlığında artma meydana gelir [16]. Deneylerde reaksiyon süresinin artması dönüşüm oranını arttırmış ancak molekül ağırlığı belirli bir değerden sonra azalmaya başlamıştır. Benzer sonuçların alındığı diğer çalışmalarda da olduğu gibi molekül ağırlıklarında meydana gelen azalmanın sebebi ise prosesin yapısal olarak orta derece sıcaklıkta belirli bir süreden sonra kötüleşmesi ve polimerde bozulma başlaması olarak gösterilmiştir [16-19].

Kalay oktoat ($Zn(Oct)_2$) ile gerçekleştirilen çalışmalarda ise butanol varlığında $Zn(Oct)_2$'nin tek başına ne katalizör ne de başlatıcı gibi davranamadığı görülmüştür [17]. Bu yüzden benzer tüm çalışmalarda da metalik katalizörler daima başka bir bileşenle beraber kullanılmaktadır.

Kimyasal sentez yöntemleri içerisinde hidrojen peroksidin oksitleyici ve zeolit/kalay ikilisinin de katalizör olarak kullanıldığı çevreci yaklaşım metodu da yeni fakat gelecek vaat eden bir çalışma olarak görülmektedir [23]. Bu yöntemde kalay zeolite emdirildikten sonra katalizör olarak kullanılmakta ve böylece atık sorunu çevreye uyumlu malzeme kullanılarak ortadan kaldırılmaktadır.

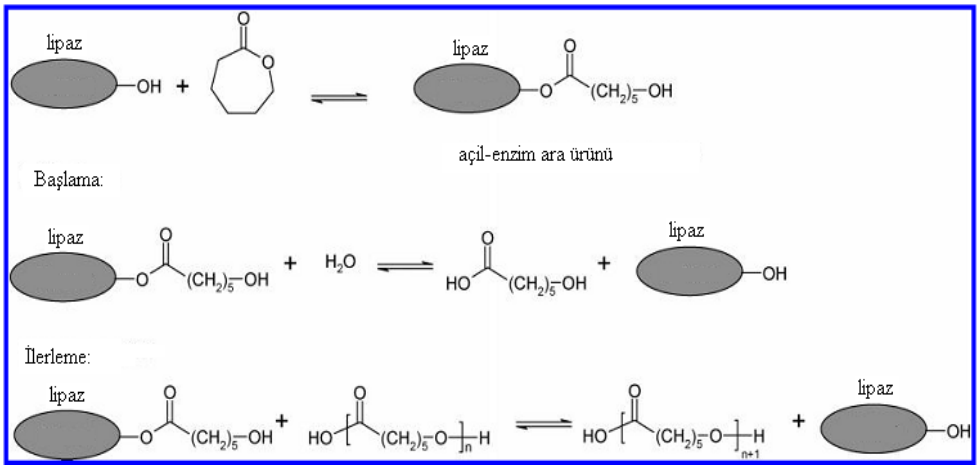
2.4.2 Enzimatik sentez yöntemleri

Enzimler yenilenebilir kaynaklardan elde edildikleri için metalik katalizörlere iyi bir alternatiftir. Özellikle de metal katalizörlü polimerizasyonlarda üretilen biyopolimerlerin bozunma ürünlerinde metalik safsızlıkların açığa çıkma ve toksik etki yaratma durumu vardır [24]. Bu nedenle enzimler biyopolimer üretimlerinin başlıca katalizör kaynaklarıdır.

Polikaprolaktonun enzimatik reaksiyonlarında genelde hidrofobik çözücüler kullanılmaktadır [25,26]. Çünkü hidrofobik çözücüler suyu ortamdan alarak enzimin reaksiyon başlangıcından sonra da aktif halde kalmasını engellemekte; böylece yüksek dönüşüm oranlarına ve molekül ağırlıklarına ulaşılabilmektedir [3]. Suyun ortamdan alınmak istenmesinin sebebi ise suyun başlatıcı görevi görerek ortamda reaksiyonu tekrar başlatması ve oluşan polimerin molekül ağırlığını düşürmesidir.

Çevreci faydalarının yanı sıra enzimler halka açılması polimerizasyonunda büyük halkalı yapıları metalik katalizörlerden çok daha hızlı, verimli dönüştürebilirler ve yüksek molekül ağırlıklı polimer elde edilmesini sağlarlar [5]. Ayrıca kaprolaktonun enzimatik halka açılması reaksiyonları daha düşük sıcaklıkta ve susuz ortamda gerçekleştirilebilmektedir.

Enzimatik reaksiyonda ise enzim-monomer ara kompleksi oluşmakta sonraki aşamalarda zincir uzaması ve polimer oluşumları Şekil 2.4'te gösterildiği gibi meydana gelmektedir [6]. Bu yöntemde herhangi bir başlatıcıya gerek kalmaksızın polimerizasyon gerçekleştirilebilmektedir.



Şekil 2.4: Polikaprolaktonun enzimatik sentez mekanizması [6].

Reaksiyonlarda genel olarak farklı sıcaklıklar, çözücü türleri, enzim/monomer konsantrasyonları ve süreler denenerek optimum koşullar araştırılmaktadır. *Candida antarctica* lipaz ve Novozym 435 genelde çalışmalarda seçilen enzim türüdür [26-30].

Yapılan çalışmalarda toluen, izopropil eter, kloroform, dioksan, benzen, tetrahidrofuran, asetonitril ve bütil eter gibi farklı organik çözücüler kullanılmıştır [2,26]. Reaksiyon sonuçlarına göre toluen, Novozym 435'i iyi bir şekilde stabile ettiği için polimerizasyon reaksiyonları daha yüksek dönüşüm oranlarında sonuçlanabilmektedir. Ayrıca çözücülü yapılan reaksiyonlardan yüksek molekül ağırlıklı polimerler elde edilmiştir [2].

Novozym 435 kullanılarak yapılan reaksiyonlarda en ideal enzim miktarının 1 mililitre monomer-çözücü çözeltisi için 10 mg olması gerektiği tespit edilmiştir [30]. Sabit monomer konsantrasyonunda enzim miktarının yükseltilmesi polimerin molekül ağırlığını ve polimer dönüşüm oranını düşürmektedir. Monomer-çözücü karışımı da 1 mililitre çözelti için 0,44 M monomer ve 0,56 M çözücü olarak ayarlanmaktadır [26].

Sıcaklığın etkisi ise monomer dönüşüm oranlarına olumlu etki yapması olarak gösterilebilir. Ancak sıcaklığın yükselmesi molekül ağırlığını da aynı paralellikte yükseltmemekte hatta molekül ağırlığını düşürücü bir etki yapmaktadır [2]. 90 ^{o}C'nin üzerindeki sıcaklıklar enzim aktivasyonunda, polimer dönüşüm oranlarında ve molekül ağırlıklarında olumsuz etki yaratmaktadır. Diğer yandan optimum sıcaklık değerleri çözücü ve enzim türüne göre de değişmektedir.

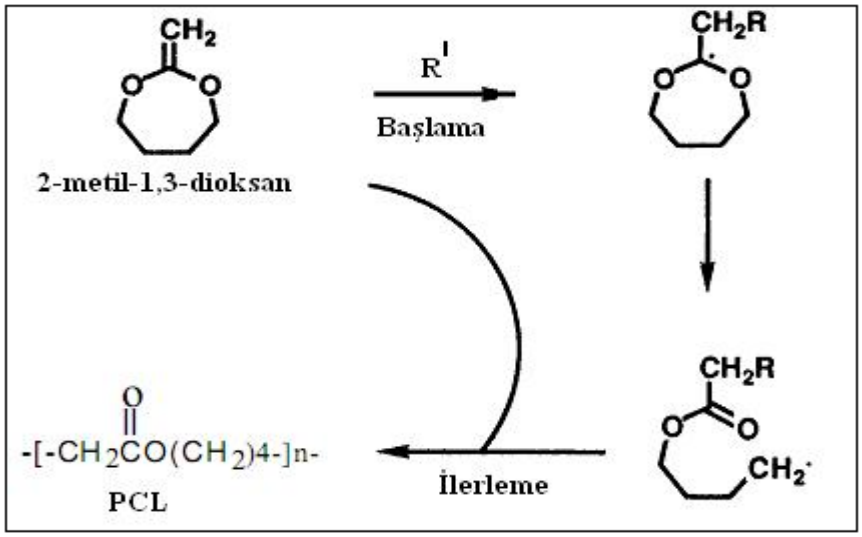
Organik çözücülerin yanı sıra süper kritik akışkanlar da kaprolaktonun polimerizasyonunda kullanılmaktadır [27]. Süper kritik karbon dioksitin ($scCO_2$) organik çözücülere göre avantajlı yönleri ucuz, yanmaz ve çevre dostu olmasıdır. Ayrıca süper kritik akışkan çözücüler polimerizasyon sonunda basıncın düşürülmesiyle kolaylıkla ortamdan alınabilirler ve fazladan çözücüler kullanıp polimeri çöktürme ve sonrasında çözücüyü uçurma işlemlerine gerek kalmamaktadır. Buna ek olarak, ε-kaprolakton $scCO_2$ içinde çözünürken polikaprolakton çözünmemektedir. Bu sayede polimerin ortamdan çekilmesi de kolay olmaktadır. $scCO_2$'li reaksiyonlarında yüksek molekül ağırlıklarına düşük sıcaklıklarda (35 ^{o}C gibi) ulaşılabilmesi de bir diğer önemli özelliktir.

Polimerizasyon sıcaklığının mikrodalga ışınlama ile sağlandığı farklı çalışmalar da bulunmaktadır [28]. Mikrodalga ışınlama yönteminin kullanılma amacı reaksiyon dönüşüm oranını ve verimi arttırmaktır. Yapılan çalışmalarda polimerizasyonda kullanılan çözücü türlerinin dönüşüm oranlarında farklı davranımlar gösterdikleri gözlemlenmiştir. Her çözücü türü mikrodalga ışınlarına farklı tepki vermektedir. Geleneksel ısıtma yöntemiyle yapılan karşılaştırmalarda çözücü türünün kaynama noktası düştükçe mikrodalga ışınların dönüşüm oranlarında daha etkili olduğu belirlenmiştir [28].

Candida antarctica bakterisinden elde edilen lipaz türü dışında *Aspergillus niger, Candida cylindracea, Humicola insolens cutinase, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas cepacia, Pseudomonas fluorescens, Rhizopus delemer* ve *Rhizopus japonicus* bakterilerinden elde edilen lipazlar da polikaprolaktonun halka açılması polimerizasyonda katalizör olarak kullanılmaktadır [3,5]. Ayrıca çeşitli hayvansal kaynaklardan ve dokulardan elde edilen lipazlar da yine polikaprolakton sentezinde kullanılan enzimlerdendir. Farklı lipaz türlerinin kullanılmasındaki amaç endüstriyel uygulamalarda yüksek sıcaklıklara çıkıldığında bile enzimin aktif kalabilmesini sağlamaktır [3]. *Candida antarctica* lipaz ise zorlu reaksiyon koşullarına çok uygun değildir.

2.4.3 2-metil 1,3-dioksepan ile radikal polimerizasyonu

Polikaprolaktonun serbest radikal halka açılması polimerizasyonu 2-metil-1,3-dioksepan monomeriyle de gerçekleştirilebilmektedir [9].



Şekil 2.5: 2-metil-1-3-dioksepan ile PCL eldesi [9].

Şekil 2.5'te görüldüğü gibi reaksiyon mekanizması 2-metil-1,3-dioksepan monomerinin reaksiyonun başlangıç aşmasında serbest bir radikal varlığında aktif hale getirilip halkalı yapının açılmasını ilerleme aşamasında da oluşan yapıların zincir halinde birbirine eklenerek polimeri oluşturmaları takip eder. Bu yöntem ε-kaprolakton monomerinin ticari olarak uygun olmadığı zamanlarda polikaprolaktonun ve onun kopolimerlerinin üretiminde kullanılmıştır.

2.5 Polikaprolaktonun Kullanım Alanları

Polikaprolaktonlar poliester ailesinden olan polimerlerin tam tersine enzimatik ve mikrobiyal ortamda bozunabilmektedir [31]. Ancak PCL'nin biyobozunması uzun ve yavaş bir süreçte gerçekleşmektedir. PCL tek başına, başka bir polimerle harmanlanarak veya kopolimeri yapılarak kullanılabilmektedir. Doku mühendisliği uygulamalarından, ilaç üretimine; medikal araçların üretiminden tekstil sanayine, yapıştırıcılardan boyalara kullanımına kadar çok geniş bir uygulama alanına sahiptir [8]. Toksisite testlerinde polikaprolaktonun canlı dokularıyla minimum etkileşime girdiği ve zararlı bir etki göstermediği gözlemlenmiştir. İyi bir biyouyumlu polimer olması biyolojik amaçlı kullanım alanını çoğaltmıştır.

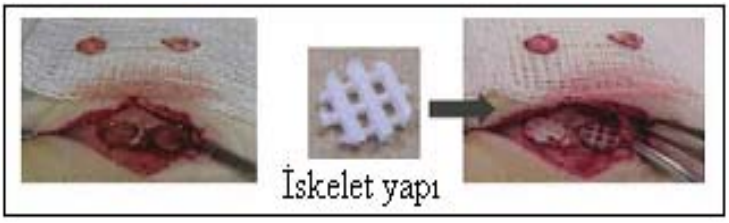
İlaç taşınım sistemlerinde ilaç aktif maddelerinin PCL'nin gözenekli yapısına kolaylıkla emdirilebilmesi, vücutta aktif maddeyi yüksek oranda geri salabilmesi, vücuttan ilacın tamamen boşaltımının sağlanabilmesi ve uzun biyobozunma süresi sayesinde ilacı stabil tutabilmesi gibi özellikleri kullanımını arttırmıştır [32]. Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi'nin (FDA) ilaç kullanımında onay almış belli sayıdaki polimerlerindendir. PCL ile üretilen mikro ve nano boyuttaki küreciklerin hidrofobik yapısı ilaç aktif maddesinin suda çözülüp dağılmasını önlemektedir. Ayrıca nano boyuttaki ilaç yüklü PCL küreleri seçici-hedefli özellikte olduklarından vücutta sadece hastalıklı bölge üzerinde ilaç sanımı yapmaktadırlar [33]. Bu sayede PCL ile günümüz ilaç endüstrisinin güncel konusu olan akıllı ilaç üretimi yapılabilmektedir.

Medikal malzeme üretimi olarak sütür, yara örtüsü bezi ve diş hekimliği uygulamalarında kullanılır. Ameliyat ipliği olan sütürlerin üretiminde kullanılacak bölgenin dayanımına ve kullanım süresine göre poliglikolik asit ile beraber harmanlanarak kullanılmaktadır [34]. Daha esnek ve uzun süre dayanım gerektiren sütürlerin üretiminde harman yapısındaki PCL içeriği artmaktadır. Diş hekimliğinde PCL termoplastik yapısı sayesinde dolgu malzemesi yapımında fosfatla kompozit

yapılarak kullanılmaktadır [35]. PCL'nin yüksek dayanımlı, sağlam ve sert olması; ortamdaki bakterilerin üremesine olanak vermemesi onu bu tür işler için uygun bir hale getirmektedir.

Çeşitli kazalar sonucu oluşan yaralanmalarda yaranın mikrobiyal çevreden izole edilmesi ve hızlı bir şekilde iyileşmesinin sağlanması çok önemlidir. Polikaprolakton ve polivinilpirolidon iyodin harmanından üretilen yara örtüsü bezleri hem yaranın iyileşmesi aşamasında hem de yara kapandıktan sonraki tedavilerde kullanılmaktadır [36]. Bu yara örtüsü bezine anti mikrobiyal ilaç emdirilmekte ve böylece yaranın daha çabuk iyileşmesi sağlanmaktadır. Polikaprolaktonun iyi bir ilaç taşıyıcı polimer olması bu uygulamada da devreye girmiştir.

Doku mühendisliği uygulamalarında PCL kemik ve kıkırdak yapılarının yerini alması amaçlı kullanılmaktadır [37-40]. Şekil 2.6'da görüldüğü gibi PCL'den üretilen iskelet yapı vücutta eksik olan yere yerleştirilerek kemik dokunun yerini almaktadır.



Şekil 2.6: Suni iskelet yapının şematik gösterimi [8].

PCL katkılı kemik malzemeler kalsiyum fosfat katkısı ile hazırlanmaktadır. PCL temelli yapay kemiklerin ve kıkırdakların hücre bağlanması için uygun yüzey yapısında olması, vücuda biyouyumluluklarında sorun olmaması, polimerin gözenekli yapısının kemik yapısına benzer olması, uzun süre dayanım göstermesi, esnek yapıda olması ve yüksek dayanıma sahip olması önemli avantajları olarak sıralanabilir.

Polikaprolakton, poliüretanla beraber kardiyovasküler alanda kullanılmasının yanında polilaktik asit (PLA) ve poliglikolik asit (PGA) gibi polimerlerle de beraber kullanılmaktadır [41]. PLA ve PGA iyi birer biyouyumlu malzeme olmalarına rağmen uzun süreli stres dayanımları düşük polimerlerdir ve yapay damar olarak kullanılmaları sırasında çabuk deforme olabilmektedirler. Bu dezavantajın önüne PCL katkılı kopolimerler hazırlanarak geçilebilmektedir [42]. Kopolimerlerin kullanımıyla beraber eski yapının elastikliğinde % 200'lük uzama ve germe

dayanımında ise % 85'lik bir iyileşme meydana geldiği yapılan çalışmalarda görülmüştür [41].

Yapay deri üretiminde kullanılan kolajen zayıf mekanik özelliklere sahiptir. Ayrıca deri uygulamalarında kullanılan biyomalzemenin iyi hücre bağlayıcı ve bağlanan hücrelerin yaygınlaşmasını sağlayıcı özellikte olması gerekmektedir. Kolajen ile polikaprolakton harmanlanarak üretilen kompozit malzemenin yüksek germe dayanımı gösterdiği, iyi bir hücre bağlayıcı olduğu ve lifli yapıların ve keratinositlerin yaygınlaşıp çoğalmalarına olanak sağladığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [43].

Sinir hücrelerinin yenilenmesinde ve tedavisinde PCL ve poli-L-laktik asit (PLLA) kopolimerleri kullanılmaktadır [44]. PCL/PLLA kompozit malzemesinin sürdürülen deneyler sonucunda hem ilk uygulama anında vücut tarafından çok az bir tepkiyle karşılaştığı hem de zamanla vücut içinde biyolojik yıkıma uğrarken bozulma ürünlerinin vücutta iltihaplanma veya toksik bir etki yapmadığı görülmüştür. Yaklaşık 1 cm'lik sinir hücresi boşluğuna yerleştirilen biyomalzemenin hücreler arasında sinirlerin oluşumunu sağladığı ortaya çıkarılmıştır [45,46].

2.6 Polikaprolaktonun Karakterizasyonu

2.6.1 Molekül yapısı ve bileşimi

Molekül yapısı ve bileşimi polimeri oluşturan monomerlerin yapısı ve oranlarına göre belirlenir. ^{1}H ve ^{13}C nükleer manyetik rezonans (NMR) polimerik malzemelerin molekül yapısı ve bileşimlerinin tayininde hayati öneme sahip bir yöntemdir [47]. ^{1}H NMR yapı hakkında bilgi edinilmesini sağlarken; ^{13}C NMR polimer içerisindeki zincirlerin yönlenme (tacticity) durumu hakkında bilgi verir. Polimer kompozisyonu belirlenerek her bir monomerin reaktivitesi belirlenir [48]. Monomer reaktivitesinden reaksiyon dönüşüm hesaplamaları yapılır. Polimerin yapısını oluşturan bileşimler ve dağılımları diğer tüm özelikleri üzerinde yaptırımı olan etkenlerdir. Bu etkenler polimerin molekül ağırlığı ve dağılımı, mekanik dayanımı, kristalinite, erime noktası ve camsı geçiş sıcaklığı değerleri, çözünürlüğü, biyouyumluluk ve biyobozunurluğu ve endüstriyel uygulamalarda şekillendirilmesi, kullanımı ve proses yapısı şeklinde özetlenebilir.

2.6.2 Molekül ağırlığı tayini

Polimerin molekül ağırlığı bozunma hızında, termoplastik özelliklerinde, mekanik dayanımında ve şekillendirilmesinde önemli rol oynar. Molekül ağırlığını ise reaksiyon süresi, sıcaklığı, katalizör miktarı, monomer konsantrasyonu, monomer saflığı ve eğer ortamda varsa başlatıcı ve sonlandırıcı ajanların türü ve yapısı gibi etkenler belirler [49].

Molekül ağırlığı tayini 'Jel Geçirgenlik Kromatografisi (Gel Permeation Chromatography-GPC)' veya viskozimetre ile yapılır [50]. Sıklıkla kullanılan yöntem ise jel geçirgenlik kromatografisidir. Yöntem bir çözelti içerisindeki polimerin gözenekli katı fazda divinil benzen ile çapraz bağlı polistren dolgulu kolonlardan geçmesi üzerine kuruludur. Küçük molekül ağırlıklı numuneler büyük molekül ağırlıklı olanlara göre gözeneklerden daha kolay geçebildiklerinden büyük molekül ağırlıklı numunelerin tutulma zamanları daha kısa olur. Ancak bu yöntemde kesin doğu sonuçlar elde edilemez, göreceli sonuçlar elde edilebilir. Çünkü farklı molekül ağırlıklarıyla yapılan kalibrasyon eğrileri oluşturulabilir ve hesaplamalar bu kalibrasyona göre yapılabilir. Ayrıca çözücü türü de yine sonuçlar üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Örneğin, kloroformda çözülen polistrenin molekül ağırlığı ile tetrahidrofuranda çözülen polistrenin molekül ağırlığı birbirinden farklı çıkar [51]. Yine polimetilmetakrilat standardına göre yapılan kalibrasyon ile polistren standardına göre yapılan kalibrasyonlarda da farklı sonuçlar elde edilir.

Polikaprolakton için molekül ağırlıkları hesaplanırken kesin sonuçlar için GPC analizlerinden, NMR analizlerinden ve viskozimetre analizlerinden elde edilen veriler beraber kullanılır [52]. Literatürde viskozimetre ile molekül ağırlığı ölçümlerinde Denklem 2.1, 2.2 ve 2.3'te verilen formüller, dönüşüm hesaplamalarının yapılmasında kullanılır [18].

$$[\eta] = 5{,}24x10^{-5}(M_v)^{0{,}76} \quad \textbf{(2.1)}$$

$$[\eta] = 8{,}69x10^{-5}(M_n)^{0{,}76} \quad \textbf{(2.2)}$$

$$[\eta] = 2{,}55x10^{-4}(M_n)^{0{,}635} \quad \textbf{(2.3)}$$

2.6.3 Kristalinite, erime noktası ve camsı geçiş sıcaklığı

Kristal yapı polimerin yoğunluk, şekil alma ve mekanik dayanım özelliklerini belirleyen, aynı zamanda da bozunurluğuna da en çok etki eden parametrelerdendir. Hiçbir polimer yapısal olarak %100 kristal halde bulunamaz. Polimer içerisinde kristal ve amorf bölgeler beraber bulunur.

Camsı geçiş sıcaklığı (T_g) polimer zincirindeki hareketliliğin hangi sıcaklık değerinde olacağını belirler. Ticari polikaprolakton için camsı geçiş sıcaklığı -60 ^oC'dir. T_g amorf bölgenin özelliğidir ve polimer T_g'nin altında hareketsiz moleküller, düzensiz amorf yapı; T_g'nin üzerinde hareketli moleküller, düzensiz amorf yapıda bulunur.

Erime noktası (T_m) ise kristalin bölgenin özelliğidir ve polimer T_m'in altında düzenli kristalin yapıda; T_m'in üstünde düzenli eriyik yapıda olur. Ticari polikaprolaktonun T_m değeri 60 ^oC'dir. T_m değeri polimerin endüstriyel uygulamalarda şekil verilirken kullanılan bir parametresidir. Erime noktasının düşük olması şekil verme işleminde kolaylık sağlamaktadır.

2.6.4 Mekanik Dayanıklılık

Polikaprolaktonun biyomalzeme olarak sıklıkla tercih sebebi olması yüksek mekanik dayanım özelliğinden kaynaklanır. Mekanik dayanımı polimerin yapısı, zincir düzenliliği, kristalinitesi ve molekül ağırlığı belirler. Kristal yapı polimer içerisinde arttıkça mekanik dayanım da artmaktadır. Çekme ve darbe dayanımı kristallikle artarken, viskoelastik özellikte amorfluk yükseldikçe artar.

Polimer çözeltileri diğer çözeltilerden ayrı olarak non-Newtonian akışkan özellik gösterirler. Karıştırma esnasında santrifüj etkisinin tersine dönen çubuğa tutunurlar. Çözeltileri yoğun ve viskoz akışkan haldedir. Birçok proseste kıvam arttırıcı olarak kullanılırlar ve karışımlarda flokülasyon ajanı görevi görürler. Polimerik çözeltiler gıda endüstrisinde depolama ve dayanım özelliklerinin geliştirilmesinde, jelleştirme katkısı olarak, donma-erime faz değişimlerinde düzenleyici olarak; kozmetik endüstrisinde kıvam arttırıcı olarak ve homojeniteyi geliştirmede; yağlarda da yoğunlaştırıcı olarak kullanılmaktadır [53-56].

2.6.5 Çözünürlük

Polikaprolakton organik çözücüler ve iyonik çözücülerde çözünebilen bir polimerdir [4,8]. Çözünürlükte polimerin bileşenleri, yapısı ve kristalinitesi belirleyici faktör olarak karşımıza çıkmaktadır.

Polimer çözücüleri iyi çözücü ve zayıf çözücü olmak üzere iki türlüdür. İyi çözücüler, polimerin iki ucu arasındaki uzunluğu arttırarak zincirlerinin genişlemesine neden olurlar. Zayıf çözücüler ise polimer zincirlerinin büzülmesine neden olarak zincirin iki ucu arasındaki uzunluğun azalmasına neden olurlar. Zayıf çözücü ve iyi çözücü arasındaki ayrım zayıf çözücüde polimer zincirleri birbiri içine girerek katı bir küre halini alırken iyi çözücüde polimer zincirleri çökmenin tersine şişme yaparak polimer sıvı etkileşimini maksimum olur [57].

2.6.6 Biyouyumluluk ve biyobozunurluk

Polimer yapısı, bileşenleri ve bunların dağılımları, kristalinitesi ve molekül ağırlığı biyobozunmada ve biyouyumlulukta etkilidir. Polikaprolakton biyobozunur ve biyouyumlu bir polimerdir ve bu sayede birçok farklı biyolojik alanda kullanılabilmektedir [31-46]. Kristal yapısı polikaprolaktonun uzun sürede bozunmasını; polimerik yapısı da biyolojik organizmalarda iltihaplanma, deformasyon sorunları yaratmadan kullanılmasını sağlamaktadır.

Kristalin faz arttıkça geçirgenlik azalır ve buna paralel olarak su ve diğer maddelerin polimerin bir yüzeyinden diğerine gitmesi zorlaşır. Böylece polimer bağlarına suyun temasının azalması hidrolitik bozulmayı ve enzimlerin bağları katalizlemesi olasılığını da azaltmaktadır. Biyobozunma hızı erişilebilir ester bağlarının sayısının azalmasıyla düşer.

Polikaprolaktonun bozunma mekanizması ise rastgele hernangi bir hidrolitik zincirdeki ester bağlarının ayrılmasıyla başlar polimerin viskozitesinin ve molekül ağırlığının düşmesiyle devam eder [58-60].

Biyouyumlulukta önemli bir parametre olan toksisite testleri biyomalzemelerin hücre yüzeylerinde ve hücrenin temel yapısındaki etkilerine bakılarak yapılır. Bunun için canlı yapının kan ve hücre boşluklarındaki değerler ölçülür [61]. Her biyomalzemenin canlı yapı içerisinde etkileşimi mutlaka olur. Ancak bunun canlı

yaşamına etki etmeyecek düzeyde olması gerekmektedir. Etki düzeyi de canlı dokuda iltihaplanmanın olmaması olarak kabul edilmektedir [62].

2.7 Polikaprolaktonun Biyobozunma Mekanizması

Biyobozunma, polimerlerin karbon dioksit, metan, su, inorganik bileşikler ya da mikroorganizmalarla meydana getirdikleri enzimatik reaksiyonları sonucunda oluşan biyolojik kütlelere ayrışabilme yeteneği olarak tanımlanabilir [49]. Biyobozunmada polimerin yapısına bağlı olduğu kadar pH, nem, sıcaklık ve enzim konsantrasyonu gibi dış etkenler de önemlidir. Bozunma sonucu oluşan son ürünler, aerobik ortamda karbon dioksit, yeni biyokütle ve su; anaerobik ortamda ise metan gazı halinde meydana gelir.

Biyobozunur polimerler doğal yollardan üretilebildikleri gibi sentez yoluyla da elde edilebilirler. Polikaprolakton sentez polimer olmasına rağmen biyobozunur olabilen nadir polimerlerdendir. Sentez proseslerine göre biyobozunur polimerler dört farklı sınıfa ayrılırlar [63]. Bunlar:

- Biyokütleden sentezlenen polimerler
- Mikrobiyal üretimle sentezlenen polimerler
- Doğal kaynaklı monomerlerden kimyasal olarak sentezlenen polimerler
- Monomeri de kendisi de kimyasal olarak sentezlenen polimerler (PCL bu sınıftandır)

Literatür araştırmalarına göre polikaprolaktonun en iyi lipaz türevi enzimler içerisinde bozunduğunu görülmektedir [64-69]. Lipaz türevi enzimlerin katalizörlüğünde yapılan polikaprolaktonun halka açılması polimerizasyonunda reaksiyonlar çift yönlü ilerleyebilmektedir. Yani lipaz türevi enzimler ε-kaprolaktonu sentezlerken bir yandan da polikaprolaktonu bozabilmektedir. Lipaz türevi enzimlerin bir diğer avantajlı yönü hem polikaprolaktonu bulk olarak bozabilmesidir ki bu mekanizmada biyobozunma reaksiyonu hızlı gerçekleşir hem de bulk bozunma yapamadığı zamanlarda yüzeysel deformasyonla yine biyobozunmayı gerçekleştirebilmesidir. Bu etkenlerden dolayı lipaz türevi enzimler polikaprolaktonun biyobozunmasında en çok tercih edilen enzimlerdir.

Polimerin biyolojik uygulamalarda kullanılması için örneğin implant veya ilaç taşıyıcı sistem olarak, onun in vivo ortamda bozunma mekanizmasının belirlenmesini

de gerektirmektedir. Bozunma sonucu oluşan ürünler hücre yapısında değişiklik veya deformasyona sebep vermemelidir. Polikaprolakton implant veya kapsül olarak kullanıldığı için in vivo ortamlardaki bozunma mekanizması ve sürecinin belirlenmesi önemlidir [64]. Bunun için yapılan araştırmalarda ilaç salınım sistemlerinde kullanılan PCL vücuttaki ortama benzer koşullarda biyobozunmaya tabi tutulmuş [64]. Polikaprolakton 37 ^{o}C'de pepsin enzimi içeren pH 1.2 olan mide özsuyunda ve proteaz, lipaz ve amilaz enzimlerini içeren pH 7.4 olan pankreas özsuyunda bekletilmiştir. Pepsin enzimi içeren mide özsuyu biyobozunmada etkisiz kalırken proteaz, lipaz ve amilaz içeren pankreas özsuyu polimerin yüzey morfolojisinin ve yapısının bozunmasına neden olmuştur [64].

Yapılan araştırmalarda polikaprolaktonun vücuttaki biyobozunmasında mekanizmasını araştırmak için lipaz, amilaz, pepsin ve proteaz türevi enzimler kullanılmıştır [64,65]. Pepsin ve α-amilaz enzimleri PCL'nin hem yüzey morfolojisinde hem de molekül ağırlığında bir değişiklik yapamazken, lipaz enziminin özellikle de yüzey morfolojisi üzerinde % 40'lara varan değişimler yaptığı belirlenmiştir [65].

Lipaz enziminin türevleri içerisinde yapılan biyobozunma çalışmalarında ise *Thermomyces lanuginosus* (lipolaz), *Candida antarctica*, *Candida rugosa*, *Mucor miehei* ve *Rhizopus delemar* lipazları kullanılmış ve *Mucor miehei* ve *Candida antarctica* lipazlarının biyobozunmada daha etkili oldukları gözlemlenmiştir [66,67]. *Mucor miehei* lipaz % 70 oranında bozunma gerçekleştirirken *Candida antarctica* lipaz organik çözücülerde daha aktif biyobozunma gerçekleştirmektedir. Biyobozunmada ortamdaki çözücünün varlığı ve türü de etkili bir parametredir. Ortamdaki suyun uzaklaştırılmasını sağlayan hidrofobik çözücüler biyobozunma hızının düşmesine sebep olurlar. Çünkü ortamdaki su polimerin hidrolizini hızlandırıcı etki yapar ve suyun reaksiyon ortamından alınması enzim aktivitesini azaltır, enzimin polimere difüze olmasını zorlaştırır ve sonuçta bozunma yavaşlar [67].

Polikaprolakton ile beraber hazırlanan harman polimerler veya kopolimerler biyobozunma hızında önemli etkiye sahiptir [64,65,68-69]. Örneğin selüloz asetat-PCL harmanı saf PCL polimerinden daha uzun sürede bozunurken polietilen glikol, polietilen karbonat ve poliester amid kopolimerleri ve oksazolin harmanları ortam koşullarına göre daha kısa sürede bozunabilmektedir.

Polikaprolaktonun bir diğer kullanım alanının plastik katkı malzemesi olması doğadaki bozunma mekanizmasının araştırılmasını gerektirmektedir. Polikaprolakton içerikli plastiklerin doğaya atıldıklarında toprakta veya suda bozunması çevresel açıdan iyi bir etki yaratmaktadır. Polikaprolakton harmanları veya kopolimerleri içeriklerine göre değişmekle beraber suda ve toprakta kendiliğinden bozunabilmektedir [70-72]. Su içerisinde tuz konsantrasyonu bozunmada önemli bir etken iken polimerin bozunması amorf bölgede başlamaktadır [72]. Çünkü suyun polimer içerisine işleyerek hidrolizi başlatması amorf bölümde daha kolay olabilmektedir. Yine toprak içerisinde PCL kopolimerleri mikroorganizmaların etkisiyle bozundurulabilmektedir. Kopolimerlerin kullanım alanlarına göre bozunma hızları 2 aydan 2 yıla kadar değişmektedir.

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1 Malzemeler

3.1.1 Monomer

Deneysel çalışmalarda ε-kaprolakton (%99, Aldrich) kullanılmıştır. Deneylerden önce monomer moleküler elekte bekletilmiştir. Moleküler elek monomerin içerisindeki suyun uzaklaştırılması amacıyla kullanılmıştır.

3.1.2 Çözücüler ve kimyasallar

n-hekzan (Aldrich)

n-hekzan, molekül ağırlığı 86,18 g/mol ve molekül formülü C_6H_{14}'tür. Reaksiyonlarda çözücü görevindedir ve hiçbir ön işlem yapılmadan kullanılmıştır.

Toluen (Merck)

Toluen, molekül ağırlığı 92,14 g/mol ve molekül formülü $C_6H_5CH_3$'tür. Reaksiyonlarda çözücü görevindedir ve hiçbir ön işlem yapılmadan kullanılmıştır.

Diizopropil eter (Merck)

Diizopropil eter, molekül ağırlığı 102,18 g/mol ve molekül formülü $((CH_3)_2CH)_2O$'dur. Reaksiyonlarda çözücü görevindedir ve hiçbir ön işlem yapılmadan kullanılmıştır.

Tetrahidrofuran (Carlo Erba)

Tetrahidrofuran, molekül ağırlığı 72,11 g/mol ve molekül formülü C_4H_8O'dur. Reaksiyonlarda çözücü görevindedir ve hiçbir ön işlem yapılmadan kullanılmıştır.

Kloroform (Aldrich)

Kloroform, molekül ağırlığı 119,38 g/mol ve molekül formülü $CHCl_3$'tür. Reaksiyonlarda enzimi inhibe ederek reaksiyonun durdurulmasını sağlar ve hiçbir ön işlem yapılmadan kullanılmıştır.

Metanol (Merck)

Metanol, molekül ağırlığı 32,04 g/mol ve molekül formülü CH_3OH'tır. Reaksiyon sonunda polimerin çöktürülmesi görevindedir ve hiçbir ön işlem yapılmadan kullanılmıştır.

Ticari Polikaprolakton (Aldrich)

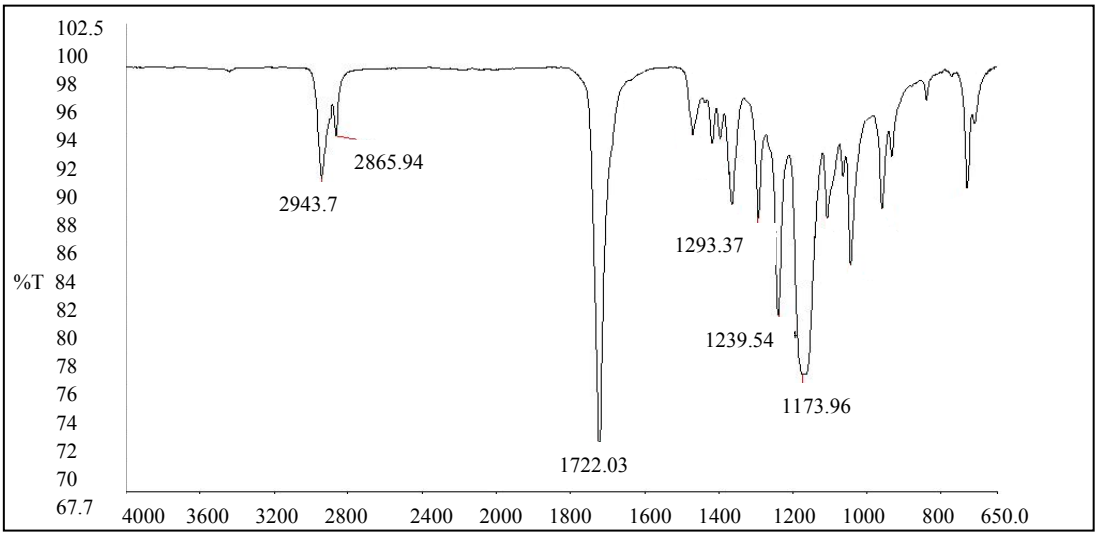
Polikaprolaktonun sayıca ortalama molekül ağırlığı M_n: 10.000 g/mol ve ağırlıkça ortalama molekül ağırlığı M_w: 14.000 g/mol değerindedir ve analizlerde sentez polimerlerle termal ve mekanik özelliklerinin, molekül ağırlıklarının ve bağ yapılarının karşılaştırılmasını yapmak amaçlı kullanılmıştır.

Çizelge 3.1'de polikaprolaktonun FTIR analizinde bağlara göre dalga boyu değerleri verilmiştir.

Çizelge 3.1: Polikaprolaktonun karakteristik kızılötesi bant değerleri [73].

Dalga boyu (cm^{-1})	Bağ yapısı
2949	Asimetrik CH_2
2865	Simetrik CH_2
1727	Karbonil (C=O)
1293	C-O ve C-C (kristalin fazda)
1240	Asimetrik -C-O-C-
1170	Simetrik -C-O-C-

Şekil 3.1'de ise yukarıda molekül ağırlıklarıyla ilgili özellikleri verilen ticari polikaprolaktonun FTIR analiz grafiği yer almaktadır.



Şekil 3.1: Ticari polikaprolaktonun FTIR analizi.

Fosfat Tampon Çözeltisi

Deneylerde fosfat tampon çözeltisi liyofilize haldeki esteraz enzimini ve immobilize haldeki lipolaz ve savinaz enzimlerini çözündürmek için kullanılmıştır.

Çözeltinin Hazırlanışı: İlk olarak 1,3609 gr potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) ve 1,7418 gr dipotasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4) alınarak 10 ml distile suda çözündürülerek 1M'lık iki farklı çözelti hazırlanmıştır. Daha sonra KH_2PO_4 çözeltisinden 4,01 ml ve K_2HPO_4 çözeltisinden 0,99 ml alınıp çözeltilerin hacmi distile su ilavesiyle 100 ml'ye tamamlanarak pH 7,4 değerine ayarlanmıştır [74].

Potasyum dihidrojen fosfat ve dipotasyum hidrojen fosfat Merck firmasından temin edilmiştir. Deneyler için fosfat tampon çözeltisi belirli aralıklarda tekrar hazırlanmıştır.

3.1.3 Enzimler

Candida antarctica lipaz - Novozym 435 (Aldrich)

Novozym 435, *Candida antarctica* lipazın (E.C. 3.1.1.3) ticari ismidir, aktivitesi 700 unit/g ve immobilize haldedir. Polimerizasyon reaksiyonlarında ε-kaprolaktonun katalizlenmesini sağlamak için kullanılmıştır. Reaksiyonlarda 1 ml monomer/çözücü için 10 mg enzim olacak şekilde kullanılmıştır.

Esteraz - Esterase from Porcine liver (Aldrich)

Hidrolaz sınıfından olan esteraz enzimi (E.C. 3.1.1.1), polikaprolakton numunelerindeki ester bağının katalizlenmesini sağlamak amacıyla kullanılmıştır. Deneylerde kullanılan esteraz enzimi fosfat tampon çözeltisi içerisinde çözündürülmüştür. Enzim, liyofilize toz halindedir ve 1 mg esteraz, 1 ml 0,05 M ve pH 7,4 olan fosfat tampon çözeltisi oranına bağlı kalınarak, aktivitesi 17 unit/ml olacak şekilde hazırlanmıştır.

Esteraz enziminin kullanılma sebebi, biyobozunmada literatürden farklı olarak ester bağlarına etki edecek farklı bir enzim kullanılmasıdır; bu yüzden esteraz enziminin polikaprolaktonun bozunmadaki etkisi incelenmiştir.

Thermomyces lanuginosa lipaz - Lipolaz 100T (Alpha Chem)

Lipolaz 100T, *Thermomyces lanuginosa* lipazın (E.C. 3.1.1.3) ticari ismidir, aktivitesi 1 unit/mg ve immobilize haldedir. Hidrolaz sınıfından bir enzim olan

lipolaz biyobozunma deneylerinde polikaprolaktonun katalizlenmesi için kullanılmıştır. Enzim 1 ml, 0,05 M ve pH 7,4 olan fosfat tampon çözeltisi 1 mg lipolaz oranına bağlı kalınarak kullanılmış ve aktivitesi 1 unit/ml olacak şekilde hazırlanmıştır.

Lipolaz enzimi lipaz türevi bir enzimdir ve lipaz türevi enzimler polikaprolaktonun hem sentez hem de bozunma mekanizmasını katalizleyebilmektedir. Böylece lipolazın polikaprolakton numuneleri üzerindeki biyobozunma etkisi incelenmiştir.

Bacillus clausii proteaz – Savinaz 6.0 (Alpha Chem)

Savinaz 6.0, *Bacillus clausii* proteazın (E.C. 3.4.21.62) ticari ismidir, aktivitesi 6 unit/mg ve toz halde bir enzimdir. Biyobozunma deneylerinde polikaprolaktonun katalizlenmesi sağlamak için kullanılan savinaz hidrolaz enzim sınıfındandır. Enzim 1 ml, 0,05 M ve pH 7,4 olan fosfat tampon çözeltisi 1 mg savinaz oranına bağlı kalınarak kullanılmış ve aktivitesi 6 unit/ml olacak şekilde hazırlanmıştır.

Proteaz türevi enzimler polimerlerin bozundurulmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca yine birçok araştırmada polikaprolaktonun biyobozunma ortamında farklı proteaz türevi enzimler yer almıştır. Savinaz enziminin, proteaz türevi bir enzimin lipolaz ve esteraza ek olarak enzim kokteyli içerisinde kullanılmasıyla nasıl bir farklılık yaratacağı araştırılmıştır.

3.2 Ekipmanlar

3.2.1 Jel geçirgenlik kromatografisi (GPC)

Jel geçirgenlik kromatografisi molekül ağırlıklarının tayininde kullanılmıştır. Numuneler, Agilent 1100 model GPC cihazında ölçülmüştür. Cihaz akışı sağlayan pompa, refraktif indeks ve UV detektör ve Zorbax PSM kolonlar (1000-S, 300-S, 60-S) bölümlerinden oluşmaktadır. Cihazda çözücü akışkan olarak tetrahidrofuran (THF) kullanılmıştır. Literatürdeki değerlere göre akış debisi olarak 1 ml/dk ve analiz sıcaklığı olarak 25 ^{o}C seçilmiştir [2,3,25,30]. GPC kalibrasyonu molekül ağırlıkları 580 g/mol ile 504.500 g/mol arasında değişen polistren standartlarına göre yapılmıştır.

3.2.2 Nükleer manyetik rezonans (NMR)

Nükleer manyetik rezonans (NMR) reaksiyonlardaki dönüşüm oranlarının hesaplanmasında, M_n değerlerinin hesaplanmasında ve polimerin yapısı ve bileşiminin açığa çıkarılmasında kullanılır. ^1H NMR spektrumları Bruker Ultrashield 300 MHz sıvı NMR spektrometresinde kaydedilmiştir. Cihazda çözücü olarak $CDCL_3$, kalibrasyon içinse tertametilsilan standardı kullanılmıştır. Polimerlerin M_n değerleri NMR analizinden elde edilen 2 pikin alanlarından yola çıkılarak Denklem 3.1 hesaplanmıştır [25]:

$$M_{n,NMR} = \left(\frac{5xI_{4.07}}{2xI_{3.65}} \right) xM_{\varepsilon-CL} \qquad \textbf{(3.1)}$$

Polimerizasyon reaksiyonundaki yüzde dönüşüm oranı 4.07 ppm ile 3.65 ppm piklerinin alanlarının oranlanmasıyla elde edilen polimerizasyon derecesinden (DP değeri) hesaplanmaktadır [26, 29, 75, 76].

Her üç çözücünün farklı sıcaklıkları için elde edilen polimer numunelerinin GPC analizine göre en yüksek M_n ve M_w değerlerine sahip olan deneylerin ^1H NMR analizleri yapılmıştır.

3.2.3 Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC)

Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) polikaprolakton numunelerinin termal davranımlarının belirlenmesini sağlar. DSC analiz cihazı Perkin Elmer Diamond DSC modeldir. Analizde sıcaklık aralığı -70 ^oC ile 220 ^oC arasında ve sıcaklık artış hızı da 10 ^oC/dk olarak belirlenmiştir. Analizler inert azot atmosferinde yapılmıştır. DSC analizleri ile polimerlerin camsı geçiş sıcaklıkları (T_g) ve erime noktaları (T_m) ölçülür. Bunun için referans numune ile ölçümü yapılacak numuneler aynı anda ısıtılır ve artan sıcaklığa bağlı olarak açığa çıkan ısı değerleri grafiğe dökülür. Camsı geçiş sıcaklığında dışarı ısı verilirken, erime noktasında ısıya ihtiyaç duyulur.

Her çözücünün farklı sıcaklık deneyleri sonucunda elde edilen en yüksek M_n ve M_w değerlerine sahip polimerlerin camsı geçiş sıcaklıklarındaki ve erime noktalarındaki değişimler karşılaştırılmıştır. Ayrıca DSC analizlerinden polimer numunelerinin ne kadarının kristal yapıda oldukları da hesaplanmıştır. Hesaplamalarda Denklem 3.2'den faydalanılmıştır [77].

$$X_c = \left(\frac{\Delta H_m}{\Delta H^0{}_m} \right) x100 \quad \textbf{(3.2)}$$

$\Delta H^0{}_m$ polikaprolaktonun % 100 kristalin halde olduğu durumdaki erime entalpisidir ve bu değer 139,3 j/g'dır [77]. Formülde T_m değerinin okunduğu noktada okunan erime entalpisi ΔH_m değeridir ve sonuçta polimer numunesinin yapısal olarak % kaçının kristal halde olduğu bulunmaktadır.

3.2.4 Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometresi (FTIR)

Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometresi (FTIR) deneylerden elde edilen örneklerin polikaprolakton yapısında olup olmadığının anlaşılmasını sağlar. FTIR cihazı, Perkin Elmer Spectrum One modelidir ve numune ölçümlerinde cihazın ATR kiti kullanılmıştır.

FTIR analizinde polimer yapısındaki bağların dalga boylarına karşılık ışığın geçirgenlik değerleri % T ölçülür. Bu değer her bağ için kendine özgüdür. Hazır olarak alınan polikaprolakton numunesi ile her çözücünün üç sıcaklıktaki en yüksek M_n ve M_w değerlerine sahip polimerizasyon numunelerinin % T sonuçları karşılaştırılmıştır. Böylece deney numunelerinin polikaprolaktonun karakteristik piklerine sahip olup olmadıklarının kontrolü yapılmış ve bağ yapılarının özellikleri çıkarılmıştır. Ayrıca biyobozunma deneylerinde numunelerin ilk halleri ve deney sonundaki hallerinin FTIR analizleri yapılarak bağ yapılarının ve absorbans değerlerinin ne kadar değiştiklerine bakılmıştır. Tüm biyobozunma ürünlerinin alınan numuneleri distile sudan geçirildikten sonra 24 saat, 25 ^oC'deki etüvde kurutulup FTIR analizleri yapılmıştır.

3.2.5 Diğer Ekipmanlar

- Manyetik karıştırıcı, Ikamag RH
- Etüv, Binder
- Isıtıcı, Ikamag RCT Classic
- Hassas Terazi, And, Gr-200
- Karıştırıcılı su banyosu, Juloba SW 22
- pH metre, Inolab WTW

3.3 Deneysel Yöntemler

Tüm reaksiyonlarda monomer/enzim konsantrasyonları sabit tutulmuş ve 1 ml ε-kaprolakton/çözücü (0.44 M ε-kaprolakton, 0.56 M çözücü) için 10 mg lipaz (*Candida antarctica* lipaz-Novozym 435) kullanılmıştır. Deneyler monomerin havanın oksijeni ile reaksiyona girmesini engellemek için inert azot atmosferinde gerçekleştirilmiştir. Polikaprolaktonun molekül ağırlıkların ortam koşullarına göre değişimlerinin görülmesi için deneylerde kullanılan 3 farklı çözücü n-hekzan, toluen ve diizopropil eter; 3 farklı sıcaklık değerleri ise 40 ^{o}C, 60 ^{o}C ve 80 ^{o}C'dir. Zamanın reaksiyon dönüşüm oranlarına ve molekül ağırlıklarının dağılımına etkisini görmek amacıyla da 7 farklı zaman değerinde (saat) deneyler yapılmıştır. Bu değerler sırasıyla 2s, 4s, 6s, 17s, 24s, 48s ve 72s'tir.

Tartımları alınarak 50 ml'lik balon jojeye aktarılan ε-kaprolakton ve çözücüye son olarak Novozym 435 inert atmosferde eklenmiştir. Uygun sıcaklığa getirilen ısıtıcıda önceden belirlenen sürede homojen olarak karıştırılan deneyler reaksiyona bırakılmıştır. Enzim ve monomer/çözücü karışımının homojen dağılması için reaktörler 120 rpm hızında karıştırılmıştır. Süre bitiminde numuneler alınarak reaksiyonu sonlandırmak için kloroform eklenmiştir. Kloroform katkılı deney karışımından toz haldeki enzim filtre edilerek alınmıştır. Çözücü ve polimer içerikli kalan sıvı kısımdan kloroform uçurulmuştur. Daha sonra metanol eklenerek polikaprolaktonun çökmesi sağlamıştır. Çökelti alınarak 30 ^{o}C ile 35 ^{o}C arasındaki etüve konulmuştur. Yeterli süre bekletilen polimer kurutulduktan sonra gerekli analizleri yapılmıştır. Molekül ağırlığı tayini için GPC, bağ yapısı ve polimer cinsinin analizi için FTIR, reaksiyon dönüşüm oranı ve molekül formülü tayini için NMR ve termal davranımların belirlenmesi için DSC kullanılmıştır. Şekil 3.2'de polimerizasyon deney düzeneğinin yapısı görülmektedir.

Çalışmanın ikinci aşamasın olan biyobozunma deneylerinde esteraz, lipolaz (lipaz türevi) ve savinaz (proteaz türevi) enzimleri kullanılmıştır. Deneylerden önce 0,05 M ve pH 7,4 olan fosfat tampon çözeltisinde tüm enzim türleri için 1 mg enzim/1ml çözücü olacak şekilde çözündürme yapılmıştır. Film halindeki polimerlerden tartıldıktan sonra alınarak enzim çözeltileri içerisinde bekletilmiştir. Biyobozunma deneyleri için 4 farklı enzim çözeltisi kullanılmıştır.



Şekil 3.2: Polimerizasyon deney düzeneği.

Ayrıca polimer filmlerin enzimsiz ortamda hidroliz olup olmadıklarını gözlemlemek içinde her iki polimerden birer örnek fosfat tampon çözeltisinde bekletilmiştir. Deneylerde ticari polikaprolakton (M_n: 19.976 g/mol, M_w: 28.079 g/mol) ve sentez polikaprolakton numuneleri içerisinde en yüksek molekül ağırlıklı polimer olan TL40_72 (M_n: 18.114 g/mol, M_w: 27.824 g/mol) numunesi kullanılmıştır. Ticari polikaprolakton ile sentez polikaprolaktonun biyobozunurluk derecelerinin karşılaştırılması yapılmıştır. Esteraz enzimi her iki günde bir, lipolaz ve savinaz enzimleri de her gün yenilenmiştir. Böylece tüm deneylerde her üç enzim çözeltisi için de sürekli olarak enzim aktivitesi sabit değerlerde tutulmuştur. Enzimlerin polimerlerdeki bağları katalizleyip kırabilmeleri için enerji vermeleri gerekmektedir ve bu enerji enzimin aktivasyon enerjisinden sağlanmaktadır. İşte bu sebepten dolayı azalan enzim aktivasyon enerjilerinin sabit tutulabilmesi için çözeltilerinin enzim türüne göre belirli araklıklarda tazelenmesi gerekmektedir. Fosfat tampon çözeltili numunelerinde de her gün yenileme yapılmıştır. Fosfat tampon çözeltisi de enzim çözeltileriyle aynı miktarda eklenmiştir. Diğer enzimlerden farklı olarak esteraz enziminin iki günde bir yenilenmesi aktivitesini 48 saat azalmadan devam ettirebilmesidir. Fosfat tampon çözeltisi de her hafta yeniden hazırlanmış ve deneylerde hergün tazelenerek yeniden eklenmiştir. Deney numuneleri her hafta alınarak 3 defa distile suyla yıkanmış ve etüvde kurutulmuştur ve molekül ağırlıklarındaki değişim için GPC analizleri yapılmıştır. Deney başlangıcında numunelerin ilk halleri ve son hallerinin bağ yapılarındaki değişiminin gözlemlenmesi için de FTIR analizi yapılmıştır. Şekil 3.3'te biyobozunma

deneylerinin gerçekleştirildiği deney düzeneği ve karıştırıcılı su banyosu görülmektedir.



Şekil 3.3: Biyobozunma deney düzeneği.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1 Diizopropil eter Çözücülü Deneyler ve Sonuçları

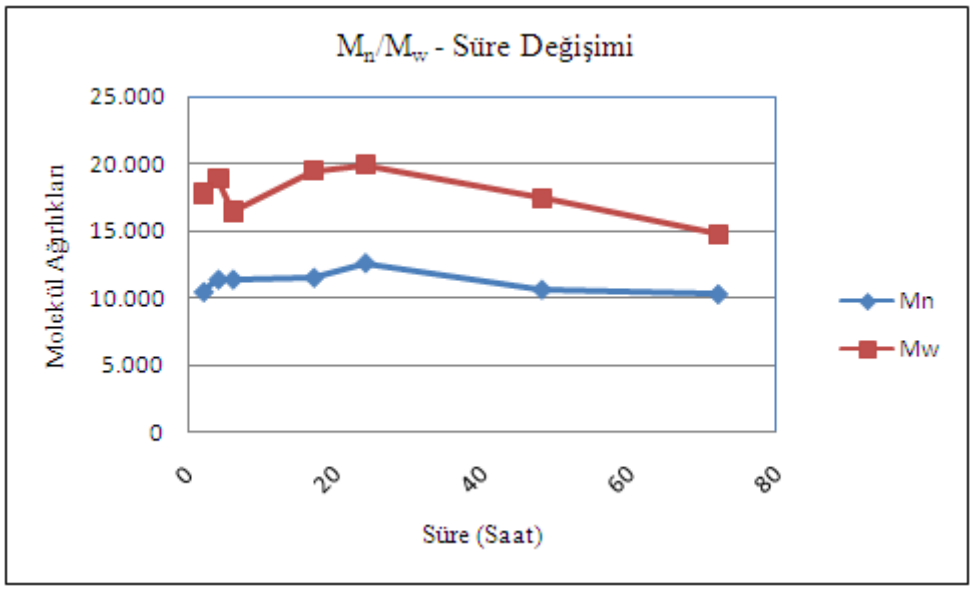
Diizopropil eter çözücüsü ile 80 ^{o}C, 60 ^{o}C ve 40 ^{o}C reaksiyon sıcaklıklarında çalışılmıştır. 80 ^{o}C sıcaklık değerindeki çalışmalar için reaksiyon süresine bağlı olarak deneyler sonucunda elde edilen sayıca ortalama molekül ağırlığı M_n ve ağırlıkça ortalama molekül ağırlığı M_w değerleri ve polidispersite (M_w/M_n) değerleri aşağıda Çizelge 4.1'de verilmektedir.

Çizelge 4.1: 80 ^{o}C'de diizopropil eter deneyi sonuçları.

Reaksiyon süresi	M_n	M_w	Polidispersite
72 saat	10.270	14.779	1,4390
48 saat	10.616	17.420	1,6410
24 saat	12.591	19.854	1,5769
17 saat	11.497	19.471	1,6936
6 saat	11.370	16.405	1,4428
4 saat	11.364	18.898	1,6630
2 saat	10.436	17.785	1,7043

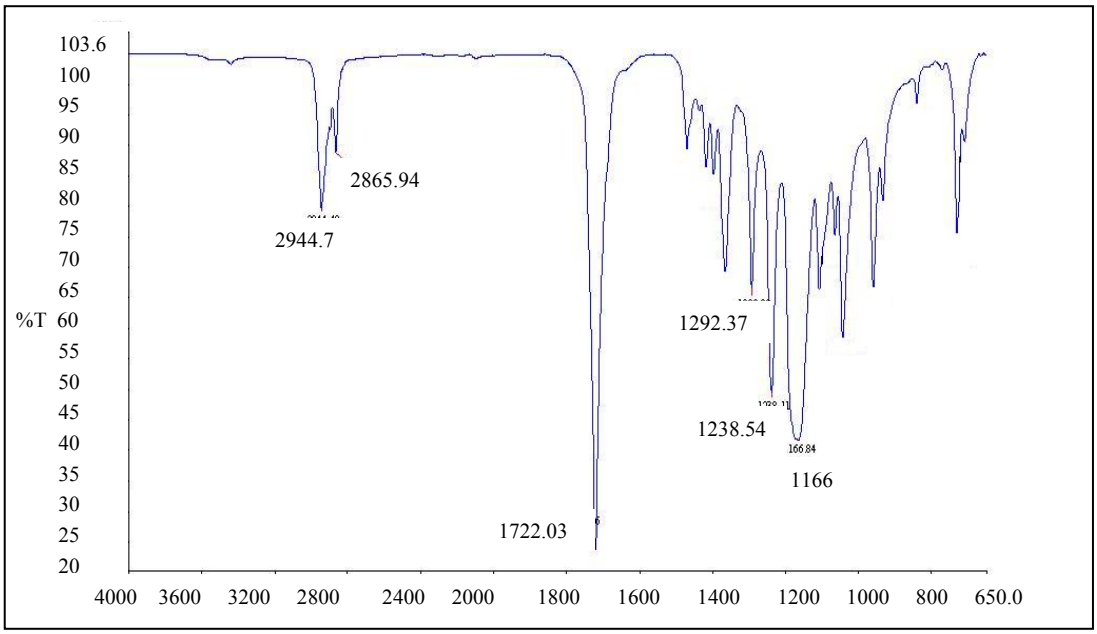
Çizelgeden de görülebildiği üzere sayıca ortalama molekül ağırlığı M_n değerleri 2 saatlik reaksiyon süresinden 24 saatlik reaksiyon süresine doğru gittikçe düzenli olarak artarken 24 saatten sonra 48 saat ve 72 saatlik sürede artan reaksiyon zamanı molekül ağırlığını olumsuz yönde etkilemiştir. GPC analizine göre 80 ^{o}C için en yüksek M_n 12.591 g/mol ve M_w 19.854 g/mol değerine 24 saatin sonunda ulaşılmıştır. Aynı yönelmenin sayıca ortalama molekül ağırlığı M_w değerlerinde de meydana geldiği görülmektedir. En yüksek M_w değeri de 24 saatlik sürede ortaya çıkmıştır. Yapılan literatür araştırmalarına da balkıdığında benzer yönelim görülmüştür[2]. Bunun sebebi olarak reaksiyon sıcaklığının bir süre sonra prosesi bozması ve polimeri termal bozunmaya uğratmasıdır. Ayrıca *Candida antarctica* lipaz enzimi polikaprolaktonun hem sentez hem de bozunma reaksiyonlarını katalizleyen bir enzimdir. Belirli bir reaksiyon süresinden sonra

molekül ağırlıklarındaki azalmanın sebebi olarak enzimin bir yerden sonra sentezleyici olarak değil de bozundurucu olarak görev yapması olarak gösterilebilir. M_w değerlerindeki dalgalanmanın M_n değerlerinden farklı olması da yüksek sıcaklığın etkisiyle polimerde molekül ağırlıklarının olumsuz etkilenmesidir. Aşağıda Şekil 4.1'de M_n ve M_w değerlerinin zamanla değişimi görülmektedir.



Şekil 4.1: 80 ^{o}C'de diizopropil eter deneyinde molekül ağırlığı dağılımı.

80 ^{o}C'de diizopropil eter çözücüsü deneyinde GPC analizi sonucu elde edilen verilerle serinin en yüksek molekül ağırlıklı numunesi olan 24 saatlik deneyin FTIR analizi de yapılmıştır. Analiz sonucu Şekil 4.2'de gösterilmektedir.



Şekil 4.2: 80 ^{o}C, 24 saatte diizopropil eter deneyinin FTIR analizi.

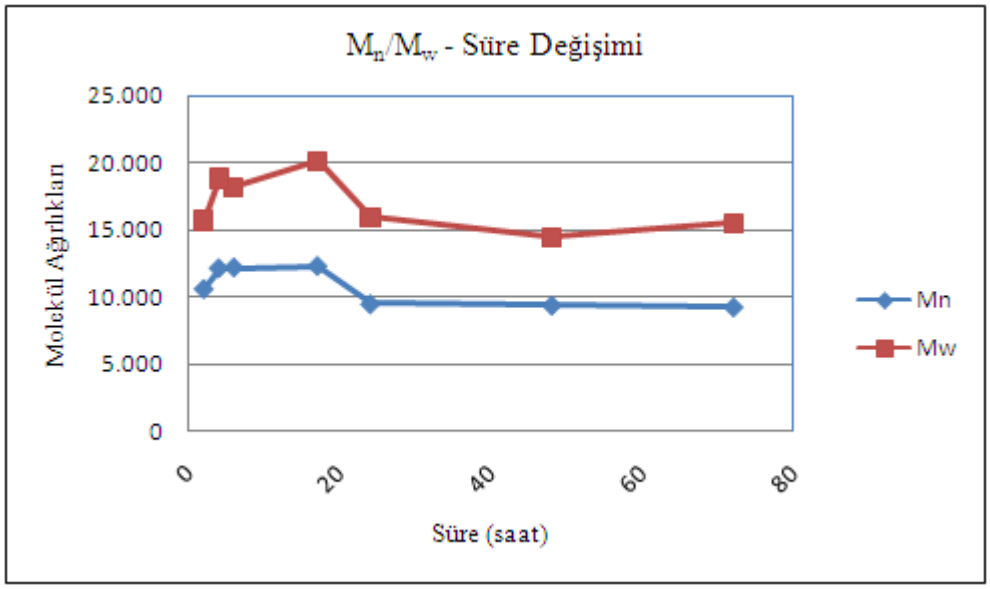
Şekil 4.2'de görülen sentez numunenin analiz çıktısında polikaprolaktonun karakteristik pikleri olan asimetrik CH_2 bağları 2944 cm^{-1} dalga boyunda, simetrik CH_2 bağları 2865 cm^{-1} dalga boyunda, karbonil (C=O) bağları 1720 cm^{-1} dalga boyunda, kristalin fazda görülen C-O ve C-C bağları 1292 cm^{-1} dalga boyunda, asimetrik C-O-C bağları 1238 cm^{-1} dalga boyunda ve simetrik C-O-C bağları da 1166 cm^{-1} dalga boyunda görülmektedir. Bu pikler sentez numunenin bağlarının ticari polikaprolaktonun karakteristik piklerine sahip olduğunu göstermektedir. Bu durum oluşan ürünün polikaprolakton olduğunu ispatlamaktadır. % T değerlerine baktığımızda ise sentez polikaprolaktonun ışık geçirgenliği daha düşüktür yani karakteristik bağları ticari polimere göre ışığı daha fazla absorblamaktadır. Bu sonuç sentez numunenin bağ yapılarının daha güçlü olduğunu göstermektedir.

60 ^{o}C'deki çalışmalar için reaksiyon süresine bağlı olarak deneyler sonucunda elde edilen M_n ve M_w değerleri ve polidispersite (M_w/M_n) değerleri aşağıda Çizelge 4.2'de verilmektedir.

Çizelge 4.2: 60 ^{o}C'de diizopropil eter deneyi sonuçları.

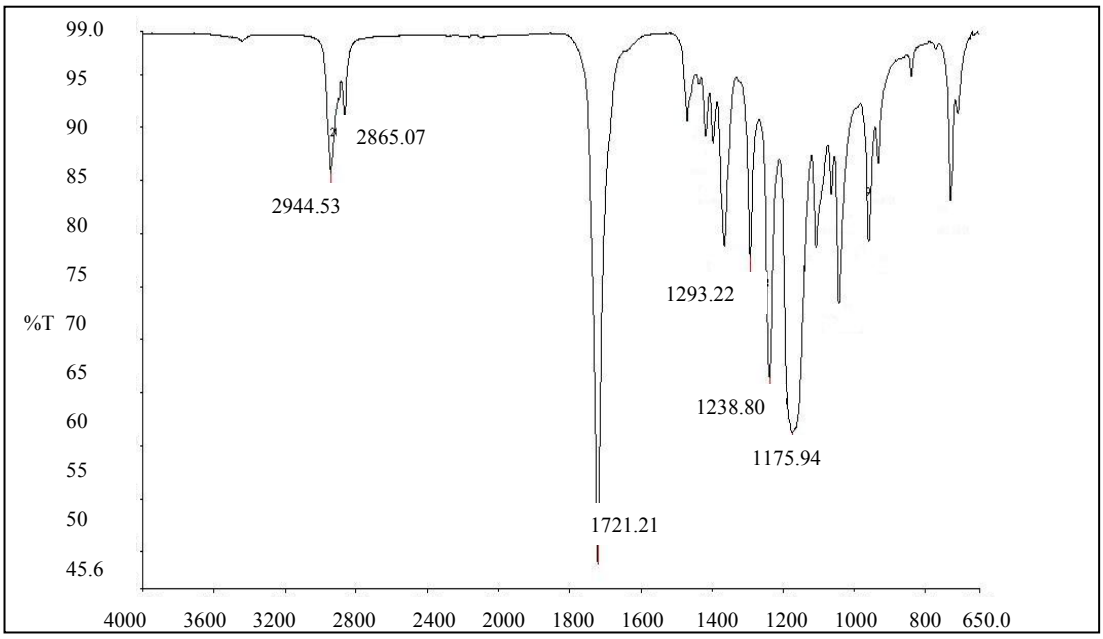
Reaksiyon süresi	M_n	M_w	Polidispersite
72 saat	9.241	15.487	1,6759
48 saat	9.380	14.490	1,5449
24 saat	9.474	15.934	1,6819
17 saat	12.310	20.150	1,6369
6 saat	12.213	18.168	1,4876
4 saat	12.149	18.914	1,5569
2 saat	10.606	15.748	1,4849

Çizelge 4.2'de görülen molekül ağırlıklarının dağılımları bir önceki 80 ^{o}C deneyleri sonuçlarına benzerlik gösterdiği görülmektedir. Ancak 60 ^{o}C deneylerinde farklı olarak M_n ve M_w değerleri maksimum noktasına 17 saatlik süresinin sonunda GPC analizine göre M_n 12.310 g/mol ve M_w 20.150 g/mol ile ulaşmıştır. Sıcaklığın düşmesi reaksiyonda maksimum noktayı daha düşük sürelere taşımıştır ancak elde edilen molekül ağırlıkları 80 ^{o}C deneylerinden daha düşüktür. Şekil 4.3'te M_n ve M_w değerlerine karşılık reaksiyon süresinin etkisi daha iyi bir şekilde gözlemlenmektedir.



Şekil 4.3: 60 ^{o}C'de diizopropil eter deneyinde molekül ağırlığı dağılımı.

Serinin en yüksek molekül ağırlıklı numunesi olan 17 saatlik deneyin FTIR analizi de Şekil 4.4'te verilmektedir.

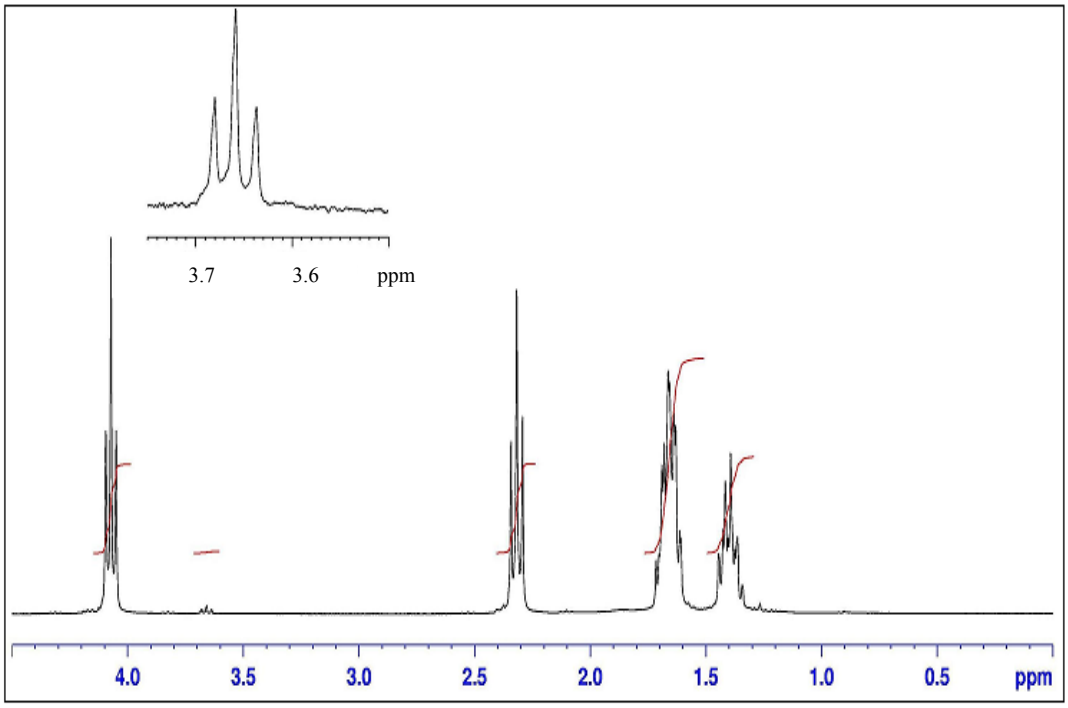


Şekil 4.4: 60 ^{o}C, 17 saatte diizopropil eter deneyinin FTIR analizi.

Şekil 4.4'te görülen sentez numunenin analiz çıktısında polikaprolaktonun karakteristik pikleri olan asimetrik CH_2 bağları 2944 cm^{-1} dalga boyunda, simetrik CH_2 bağları 2865 cm^{-1} dalga boyunda, karbonil (C=O) bağları 1721 cm^{-1} dalga boyunda, kristalin fazda görülen C-O ve C-C bağları 1293 cm^{-1} dalga boyunda, asimetrik C-O-C bağları 1238 cm^{-1} dalga boyunda ve simetrik C-O-C bağları ise 1175 cm^{-1} dalga boyunda görülmektedir. Oluşan piklerin dalga boyu değerleri

karakteristik polikaprolakton piklerini yansıtmaktadır. Bu durum sentez numunenin polikaprolakton olduğunun kanıtıdır. Ayrıca % T değerleri ticari polikaprolaktonunkine göre daha düşüktür; yani sentez numunenin bağ yapıları daha güçlüdür.

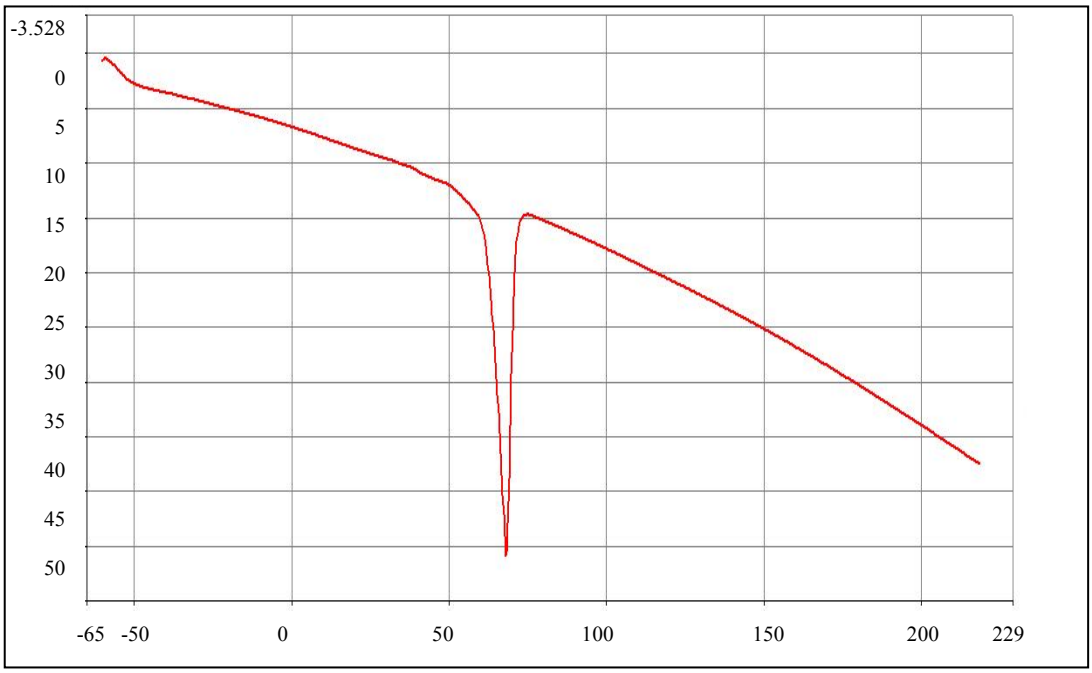
Aşağıdaki Şekil 4.5'te diizopropil çözücülü deneyler içerisinde en yüksek molekül ağırlıklı numune olan 60 ^{o}C sıcaklık ve 17 saatlik polimerizasyon süresi sonunda elde edilen deneyin ^{1}H NMR spektrumu verilmiştir. Analiz sonucunda yapısal gruplar şu şekilde sıralanmaktadır (δ, ppm): 4,07 (t,CH_2O), 3,65 (t, CH_2OH, sonlanma grubu), 2,32 (t, CH_2CO), 1,6-1,7 (m, CH_2) ve 1,37 (m, CH_2). Bu karakteristik gruplar FTIR analizlerindeki sonuçları da doğrular niteliğindedir. Yani polimer numunesinin lineer homopolimer yapılı polikaprolakton olduğu ispatlanmaktadır.



Şekil 4.5: 60 ^{o}C, 17 saatte diizopropil eter deneyinin ^{1}H NMR spektrumu.

NMR analizinden elde edilen diğer veriler Denklem 3.1'de yerine konulduğunda M_n değeri 13.412 g/mol ve polimerizasyon derecesi (DP değeri) 47 ve reaksiyonun dönüşüm oranı % 97,9 hesaplanmıştır.

Şekil 4.6'da ise aynı numunenin DSC analiz sonucu görülmektedir. Polimerin DSC analizinden termal davranışları analiz edilmiştir ve T_g, T_m ve polimer yapısal olarak yüzde kaçının kristal halde olduğu Denklem 3.2'den hesaplanarak bulunmuştur.



Şekil 4.6: 60 ^{o}C, 17 saatte diizopropil eter deneyinin DSC analizi.

DSC analizine göre camsı geçiş sıcaklığı T_g sıcaklığı -53,8 ^{o}C, erime sıcaklığı T_m 68 ^{o}C ve erime entalpisi 95,0703 j/g olarak ölçülmüştür. Erime entalpisi değerinden elde edilen değer Denklem 3.2'de yerine konulduğunda polimerin % 68,3'ünün kristal yapıda olduğu hesaplanmıştır.

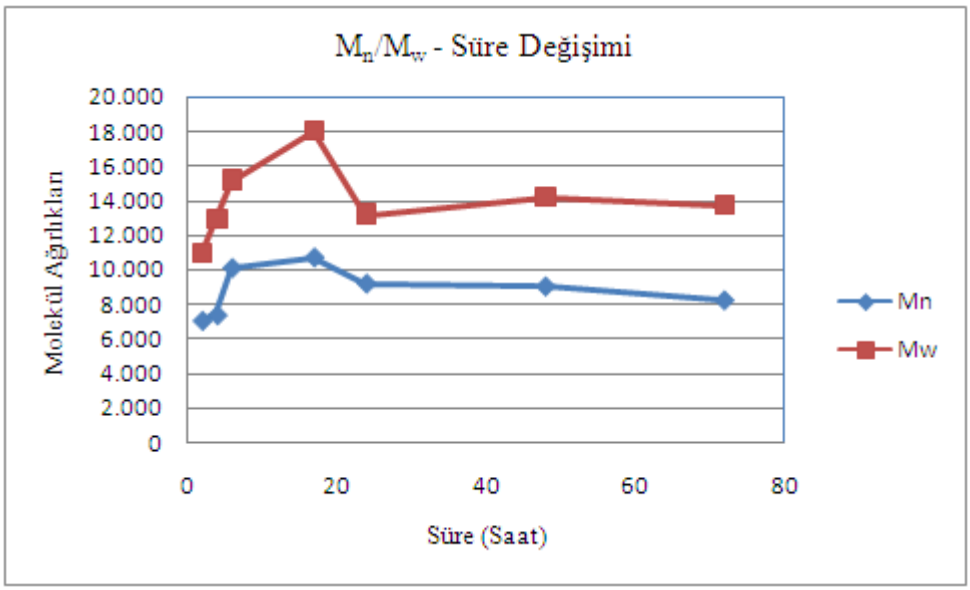
40 ^{o}C sıcaklık değerindeki çalışmalar için reaksiyon süresine bağlı olarak deneyler sonucunda elde edilen M_n ve M_w değerleri ve polidispersite (M_w/M_n) değerleri aşağıda Çizelge 4.3'te verilmektedir.

Çizelge 4.3: 40 ^{o}C'de diizopropil eter deneyi sonuçları.

Reaksiyon süresi	M_n	M_w	Polidispersite
72 s	8.217	13.727	1,6706
48 s	9.022	14.140	1,5672
24 s	9.180	13.185	1,4362
17 s	10.687	17.984	1,6829
6 s	10.082	15.145	1,5022
4 s	7.356	12.901	1,7540
2 s	7.028	10.931	1,5553

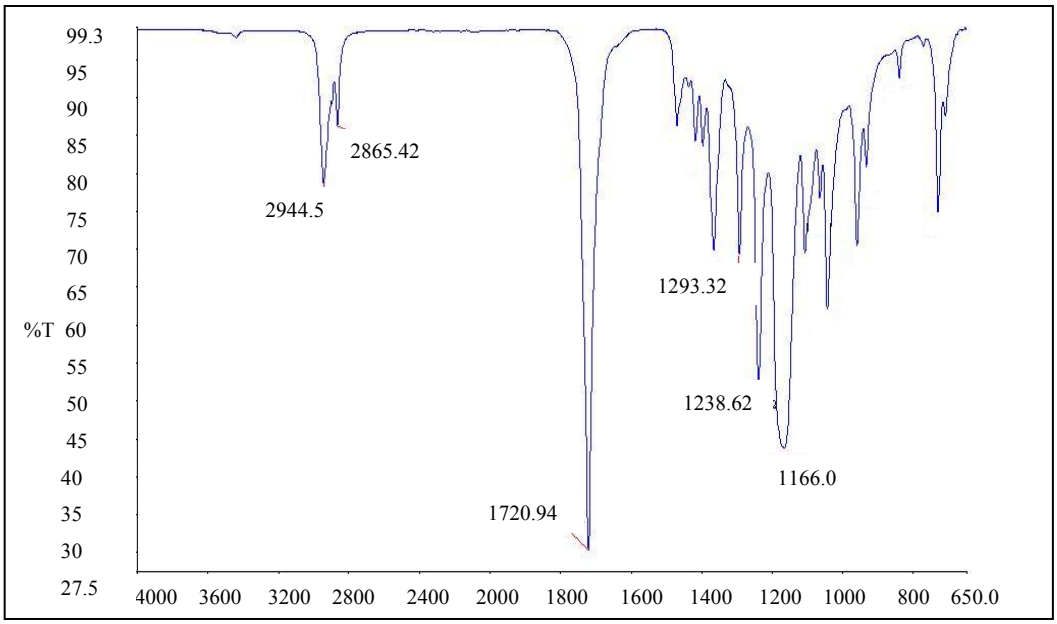
Çizelge 4.3'te 17 saatlik sürenin sonunda polikaprolakton molekül ağırlığı maksimum noktasına ulaştığı görülmektedir. 60 ^{o}C deneyi ile 40 ^{o}C deneyi paralel sonuçlar vermiştir. Bir diğer sonuçta; M_w değerlerindeki düşüş eğilimi daha sert olmuştur. GPC analizine göre maksimum değerler M_n için 10.687 g/mol ve M_w için

17.984 g/mol'dür. Ancak 40 ^{o}C deneylerinde elde edilen molekül ağırlıkları daha düşüktür. 17 saatlik sürenin sonunda proses molekül ağırlıklarında yine ters etki yaparak polimerlerin molekül ağırlığını düşürmüştür. M_n ve M_w değerlerinin reaksiyon süresine göre dağılım grafiği Şekil 4.7'de görülmektedir.



Şekil 4.7: 40 ^{o}C'de diizopropil eter deneyinde molekül ağırlığı dağılımı.

40 ^{o}C deneyi için 17 saatlik sürenin sonunda elde edilen polimer numunesi en yüksek molekül ağırlıklı deney olduğu için bu polimerin FTIR analizi yapılmıştır. Analiz sonuçları Şekil 4.8'de görülmektedir.



Şekil 4.8: 40 ^{o}C, 17 saatte diizopropil eter deneyinin FTIR analizi.

Şekil 4.8'de görülen sentez numunenin analiz çıktısında polikaprolaktonun karakteristik pikleri olan asimetrik CH_2 bağları 2944 cm^{-1} dalga boyunda, simetrik CH_2 bağları 2865 cm^{-1} dalga boyunda, karbonil (C=O) bağları 1720 cm^{-1} dalga boyunda, kristalin fazda görülen C-O ve C-C bağları 1293 cm^{-1} dalga boyunda, asimetrik C-O-C bağları 1238 cm^{-1} dalga boyunda ve simetrik C-O-C bağları da 1166 cm^{-1} dalga boyunda görülmektedir. Elde edilen pik değerleri ticari polimerde çıkan karakteristik piklerle paralel çıktığından sentez numunenin polikaprolakton odluğunu göstermektedir. Analizden elde edilen bir diğer sonuçta sentez numunenin bağ yapısının ışığı daha az geçirdiği ortaya çıkmıştır. Çıkan bu sonuca göre bağ yapısı sentez numunede daha güçlü olduğu sonucuna ulaşılabilmektedir.

4.2 Toluen Çözücülü Deneyler ve Sonuçları

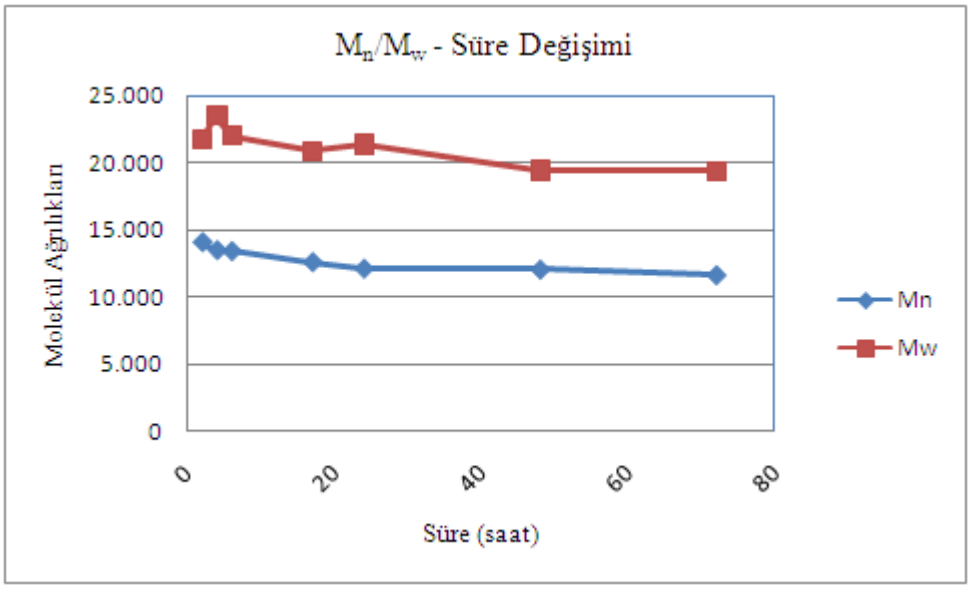
Toluen çözücüsü ile 80 ^oC, 60 ^oC ve 40 ^oC reaksiyon sıcaklıklarında çalışılmıştır. Literatür araştırmaları toluen çözücüsünü bu reaksiyonu en stabil hale getiren çözücü olarak göstermektedir [2]. Toluende 80 ^oC sıcaklık değerindeki çalışmalar için reaksiyon süresine bağlı olarak deneyler sonucunda elde edilen M_n ve M_w değerleri ve polidispersite (M_w/M_n) değerleri aşağıda Çizelge 4.4'te verilmektedir.

Çizelge 4.4: 80 ^oC'de toluen deneyi sonuçları.

Reaksiyon süresi	M_n	M_w	Polidispersite
72 s	11.624	19.447	1,6731
48 s	12.033	19.519	1,6220
24 s	12.107	21.433	1,7703
17 s	12.585	20.914	1,6619
6 s	13.399	22.066	1,6469
4 s	13.477	23.513	1,7447
2 s	14.057	21.736	1,5463

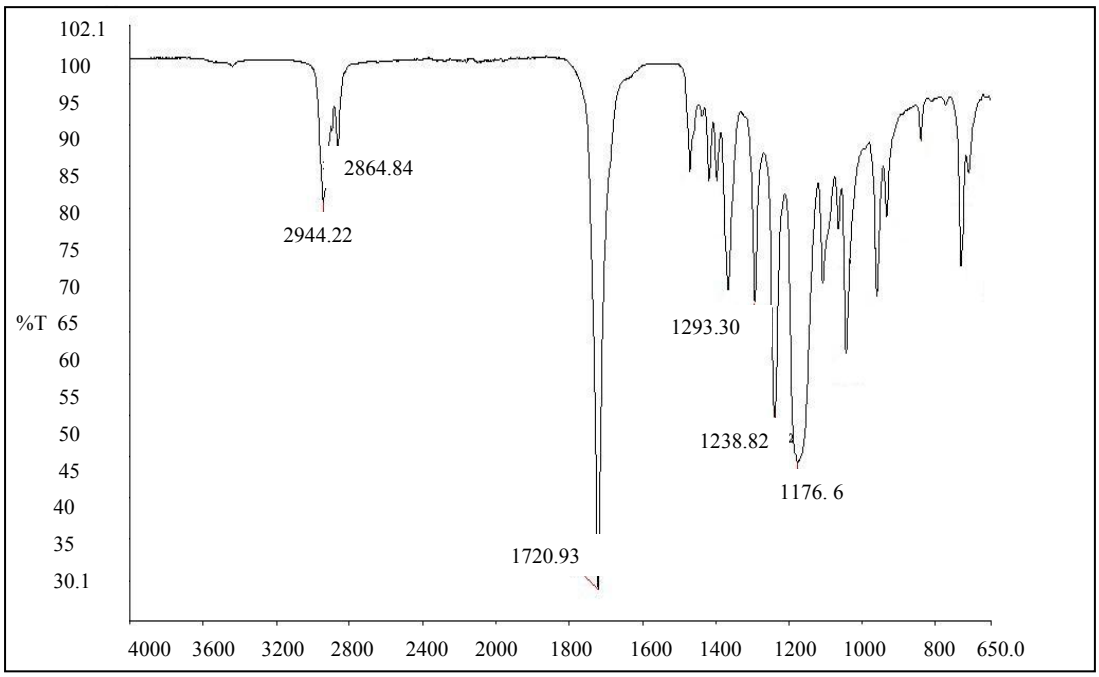
Çizelge 4.4'ün değerleri bu sıcaklık değerinde toluen çözücüsünde reaksiyonun M_n için 2 saat, M_w içinse 4 saat gibi çok kısa bir sürede maksimum noktasına ulaşabildiğini göstermiştir. Bu değerler GPC analizine göre M_n 14.057 g/mol ve M_w 23.513 g/mol olarak ölçülmüştür. Çizelge 4.4'ten elde edilen bir diğer önemli sonuçta çözücünün toluen olduğu reaksiyon koşulunda ve 80 ^oC sıcaklığında polimerizasyon prosesinin de çok kısa bir süreden sonra kötüleşmeye başladığı ve

molekül ağırlığının zamanla giderek azaldığıdır. 80 ^{o}C toluen çözücülü deney için M_n ve M_w değerlerinin zamanla değişim grafiği Şekil 4.9'dan de görülmektedir.



Şekil 4.9: 80 ^{o}C'de toluen deneyinde molekül ağırlığı dağılımı.

Deney sonunda elde edilen veriler neticesinde 2 saatlik deneyin M_n değeri en yüksek çıktığı için GPC analizine ek olarak FTIR analizi de yapılmıştır. 80 ^{o}C'de 2 saatlik deneyin FTIR analizi Şekil 4.10'da verilmiştir.



Şekil 4.10: 80 ^{o}C, 2 saatte toluen deneyinin FTIR analizi.

Şekil 4.10'da sentez numunenin analiz çıktısında polikaprolaktonun karakteristik pikleri olan asimetrik CH_2 bağları 2944 cm^{-1} dalga boyunda, simetrik CH_2 bağları

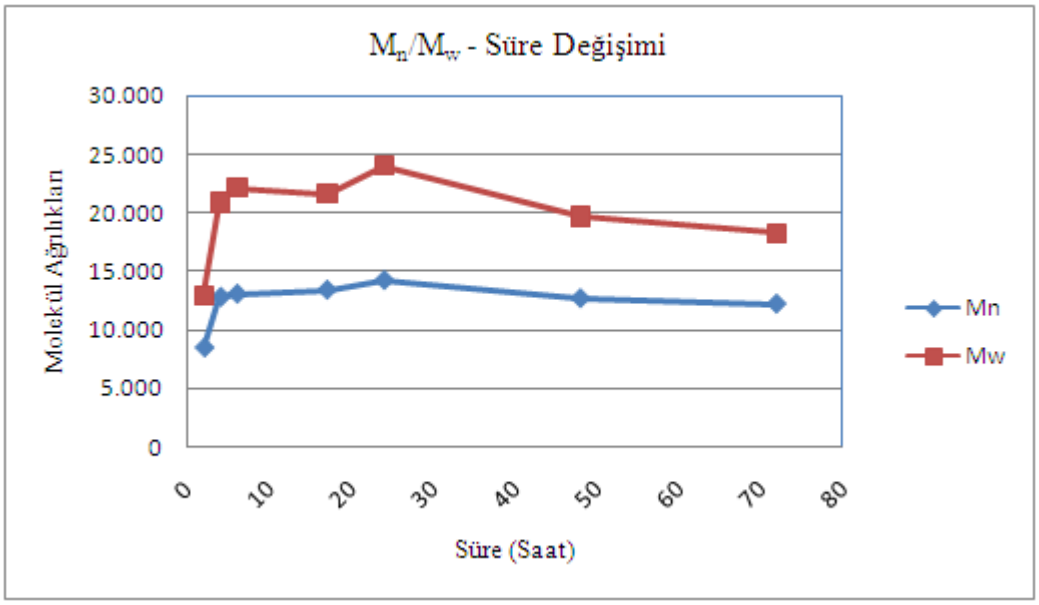
2864 cm^{-1} dalga boyunda, karbonil (C=O) bağları 1720 cm^{-1} dalga boyunda, kristalin fazda görülen C-O ve C-C bağları 1293 cm^{-1} dalga boyunda, asimetrik C-O-C bağları 1238 cm^{-1} dalga boyunda ve simetrik C-O-C bağları da 1176 cm^{-1} dalga boyunda görülmektedir. Çıkan sonuçlar karakteristik polikaprolakton piklerini yansıttığı için sentezlenen numunenin polikaprolakton olduğu ispatlanmıştır. Işık geçirgenlik değerleri % T sonuçları ise ticari numuneden daha düşük çıkmıştır. Analizden elde edilen bu sonuçlara göre sentez numunenin bağ yapıları ticari numuneden daha güçlüdür.

60 ^{o}C sıcaklık değerindeki çalışmalar için reaksiyon süresine bağlı olarak deneyler sonucunda elde edilen sayıca ortalama molekül ağırlığı M_n ve ağırlıkça ortalama molekül ağırlığı M_w değerleri ve polidispersite (M_w/M_n) değerleri aşağıda Çizelge 4.5'te verilmektedir.

Çizelge 4.5: 60 ^{o}C'de toluen deneyi sonuçları.

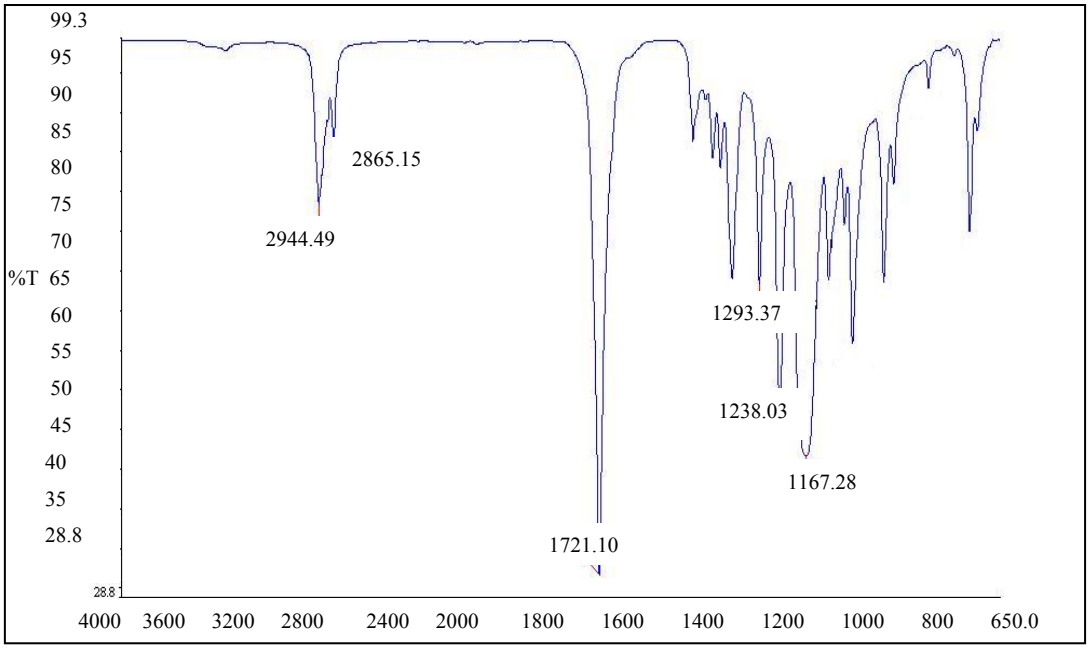
Reaksiyon süresi	M_n	M_w	Polidispersite
72 s	12.217	18.281	1,4964
48 s	12.691	19.660	1,5492
24 s	14.236	23.970	1,6838
17 s	13.418	21.606	1,6103
6 s	13.074	22.171	1,6958
4 s	12.803	20.839	1,6277
2 s	8.470	13.034	1,5388

60 ^{o}C için deney sonuçları toluen çözücülü ortamda polimerizasyon reaksiyonunun molekül ağırlığı olarak yüksek değerlerin alındığı ortamdır. 60 ^{o}C'de polimer molekül ağırlığının maksimum noktasına 24 saatlik sürenin sonunda çıkmıştır. Bu değer GPC analizine göre M_n için 14.236 g/mol, M_w için 23.970 g/mol olarak ölçülmüştür. 24 saatlik sürenin sonunda artan süreyle beraber molekül ağırlıkları olumsuz etkilenmeye başlamıştır ve bu durum M_n ve M_w için paralel gitmiştir. Bunun sebebi de diizopropil eter deneylerinde de olduğu gibi maksimum noktasından sonra reaksiyon prosesinin kötüleşmesi ve polimer bozunma sürecinin başlamasıdır. 60 ^{o}C toluen çözücülü deney için M_n ve M_w değerlerinin zamanla değişimini Şekil 4.11'de verilmiştir.



Şekil 4.11: 60 °C'de toluen deneyinde molekül ağırlığı dağılımı.

60 °C sıcaklık değerindeki çalışmaların en yüksek molekül ağırlıklı numunesi 24 saatlik deneyinin FTIR analizi Şekil 4.12'de yer almaktadır.



Şekil 4.12: 60 °C, 24 saatte toluen deneyinin FTIR analizi.

Şekil 4.12'de görülen sentez numunenin analiz çıktısında polikaprolaktonun karakteristik pikleri olan asimetrik CH_2 bağları 2944 cm^{-1} dalga boyunda, simetrik CH_2 bağları 2865 cm^{-1} dalga boyunda, karbonil (C=O) bağları 1721 cm^{-1} dalga boyunda, kristalin fazda görülen C-O ve C-C bağları 1293 cm^{-1} dalga boyunda, asimetrik C-O-C bağları 1238 cm^{-1} dalga boyunda ve simetrik C-O-C bağları da

1167 cm^{-1} dalga boyunda görülmektedir. Analiz sonucunda elde edilen pikler karakteristik polikaprolakton pikleri ile aynıdır. Yani sentez polimerin polikaprolakton olduğu fikrini desteklemektedir. Diğer deneylerde olduğu gibi bu deneyin FTIR analiz sonucunda da % T değerleri ticari polimerinkine göre daha düşüktür. Buradan elde edeceğimiz bir diğer sonuçta sentez polimerin bağ yapısı ticari polimere göre daha güçlü olduğudur.

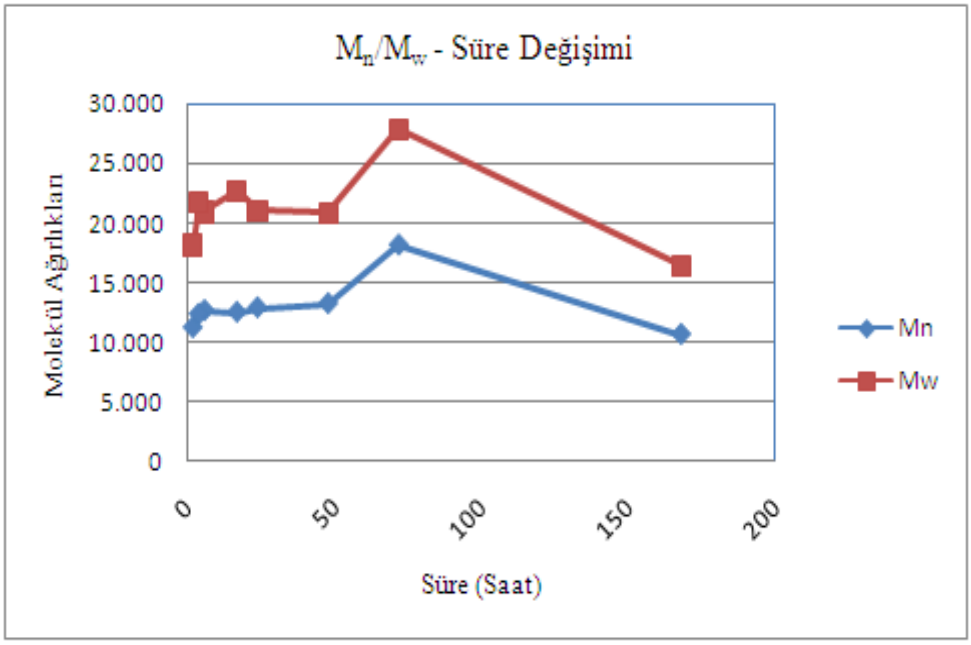
40 ^{o}C sıcaklık değerindeki çalışmalar için reaksiyon süresine bağlı olarak deneyler sonucunda elde edilen M_n ve M_w değerleri ve polidispersite (M_w/M_n) değerleri Çizelge 4.6'da verilmektedir.

Çizelge 4.6: 40 ^{o}C'de toluen deneyi sonuçları.

Reaksiyon süresi	M_n	M_w	Polidispersite
168 s	10.650	16.498	1,5490
72 s	18.114	27.824	1,5361
48 s	13.224	20.864	1,5778
24 s	12.881	21.091	1,6374
17 s	12.500	22.670	1,8136
6 s	12.641	20.993	1,6608
4 s	12.343	21.764	1,7633
2 s	11.219	18.221	1,6241

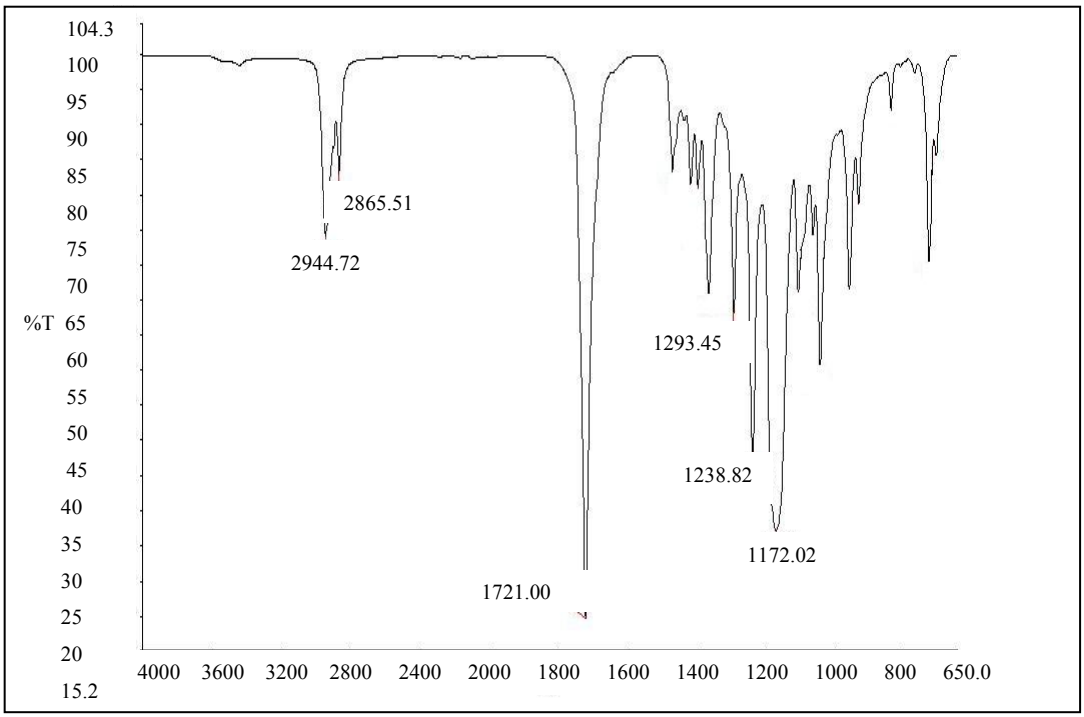
40 ^{o}C'de yapılan polimerizasyon deneylerinde yukarıdaki Çizelge 4.6'dan görüldüğü gibi molekül ağırlığının zamanla artma eğiliminde olduğu görülmektedir. 80 ^{o}C ve 60 ^{o}C sıcaklıklarında toluen çözücülü deneylerden farklı olarak molekül ağırlığı 72 saatlik sürenin sonunda maksimum değerine ulaşmıştır ve yapılan tüm deneyler içerisinde ulaşılan en yüksek molekül ağırlıkları bu değerlerdir. Bu değerler GPC analizine göre M_n 18.114 g/mol ve M_w 27.824 g/mol olarak ölçülmüştür. 40 ^{o}C'de toluen çözücülü deneyler diizopropil eter çözücülü deneylere göre proses olarak daha farklı işlediği de bir diğer çıkarımdır. Çizelge 4.6'da görüldüğü gibi 72 saatlik sürenin sonunda molekül ağırlığının artma eğiliminde olmasından dolayı 168 saatlik bir deney daha eklenmiştir. Prosesin çok daha uzun sürelerde nasıl yürüdüğünün anlaşılması için yapılan bu deney sonucunda 168 saatlik sürenin sonunda molekül ağırlığının azaldığı görülmüştür. Yani diğer deneylerde de olduğu gibi polimerin molekül ağırlığı maksimum noktasından sonra azalma eğilimine girmiştir. 40 ^{o}C toluen çözücülü deney için M_n ve M_w değerlerinin zamanla değişimini aşağıda Şekil 4.13'te verilmiştir. Şekil 4.13'den ve Çizelge 4.6'dan görülen bir sonuçta molekül

ağırlıklarının zamanla dağılımının çok dar bir aralıkta olması ve 72 saatin sonunda artan süreyle birlikte molekül ağırlığında keskin bir ivmeyle azalmanın gerçekleşmiş olmasıdır.



Şekil 4.13: 40 °C'de toluen deneyinde molekül ağırlığı dağılımı.

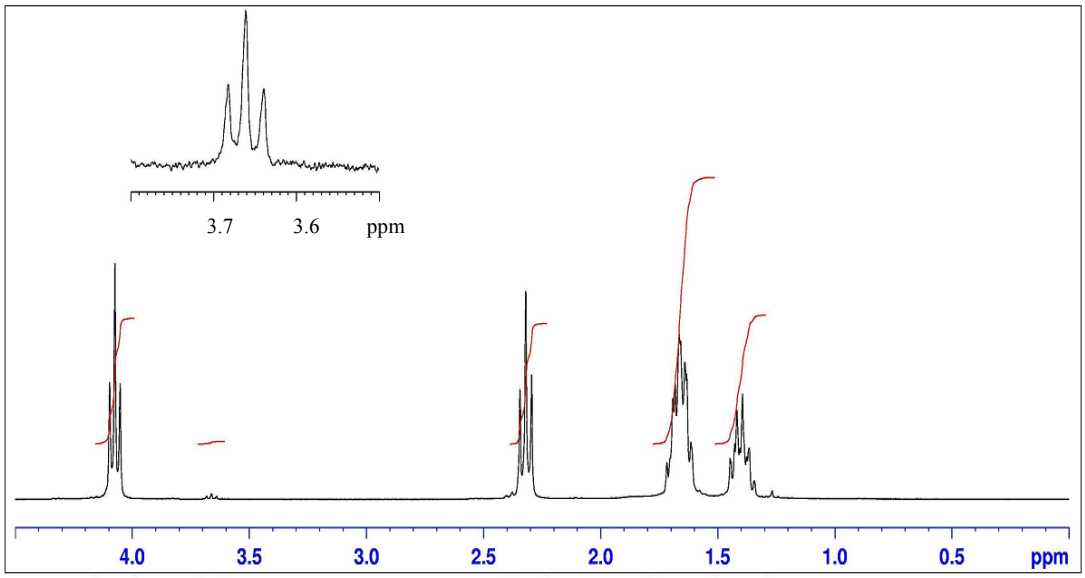
Deneysel çalışmanın sonunda bu seri için ulaşılan en yüksek molekül ağırlığı 72 saatlik sürenin sonunda gerçekleştiğinden GPC analizine ek olarak FTIR analizi yapılmıştır. 72 saatlik numunenin FTIR analizi Şekil 4.14'te görülmektedir.



Şekil 4.14: 40 °C, 72 saatte toluen deneyinin FTIR analizi.

Şekil 4.14'te görülen sentez numunenin analiz çıktısında polikaprolaktonun karakteristik pikleri olan asimetrik CH_2 bağları 2944 cm^{-1} dalga boyunda, simetrik CH_2 bağları 2865 cm^{-1} dalga boyunda, karbonil (C=O) bağları 1721 cm^{-1} dalga boyunda, kristalin fazda görülen C-O ve C-C bağları 1293 cm^{-1} dalga boyunda, asimetrik C-O-C bağları 1238 cm^{-1} dalga boyunda ve simetrik C-O-C bağları da 1172 cm^{-1} dalga boyunda görülmektedir. Karakteristik polikaprolakton pikleri ve dalga sayılarının değerleri sentezin değerleriyle paraleldir; yani sentez numunenin polikaprolakton olduğu görülmektedir. En yüksek molekül ağırlıklı sentez numunenin FTIR analizinden çıkan bir diğer sonuç ise toluen serisinde elde edilen polimerlere göre bağ yapısı ışığı çok daha düşük oralarda geçirmektedir. Bağ yapısı daha güçlü olduğu için ışığın absorplanması daha yüksek olmuştur.

Toluen çözücüsünün seri deneyleri içerisinde elde edilen en yüksek molekül ağırlıklı numune olan 40 ^oC sıcaklık ve 72 saatlik süre sonundaki deneyin ^1H NMR analiz spektrumu Şekil 4.15'te verilmektedir. Analiz sonucunda yapısal gruplar şu şekilde sıralanmaktadır (δ, ppm): 4,07 (t,CH_2O), 3,65 (t, CH_2OH, sonlanma grubu), 2,32 (t, CH_2CO), 1,6-1,7 (m, CH_2) ve 1,37 (m, CH_2). Tüm yapısal gruplar polikaprolaktonun bağ yapısıyla birebir aynıdır. Hem FTIR sonucu hem de ^1H NMR sonucu birbirleriyle uyumlu sonuçlar vermektedir. İki farklı analizin çapraz doğrulaması numunenin polikaprolakton olduğunun ispatıdır.

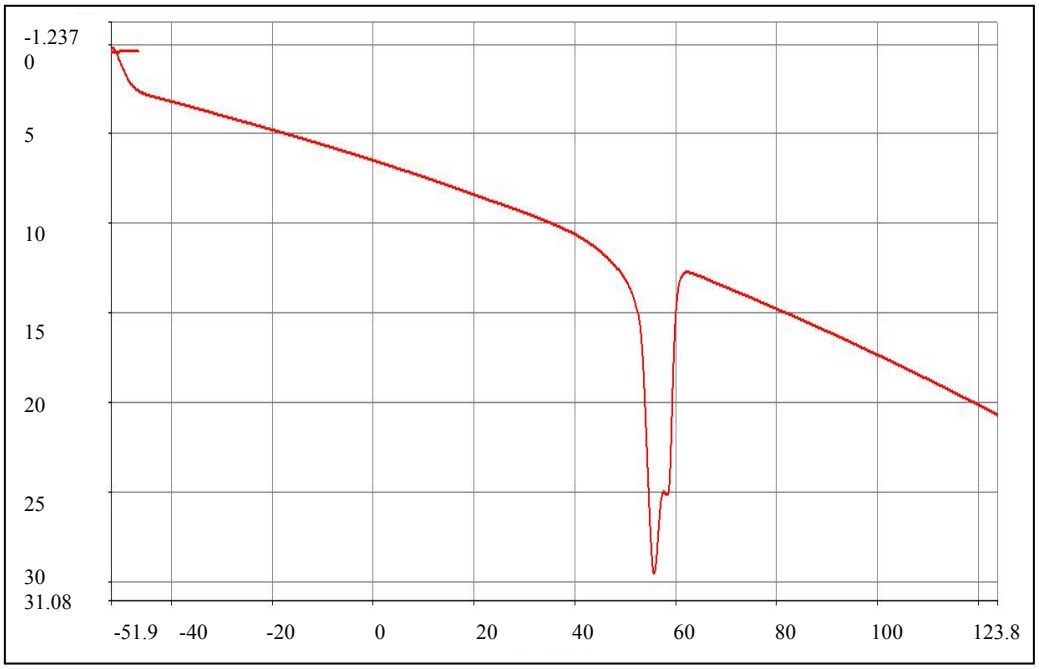


Şekil 4.15: 40 ^oC, 72 saatte toluen deneyinin ^1H NMR spektrumu.

Bu analizden **(3.1)** formülüyle hesaplanan molekül ağırlığı M_n değeri 14.268 g/mol, polimerizasyon derecesi 50 ve reaksiyonun yüzde dönüşüm oranı ise % 98'dir.

Yapılan NMR analizleri içerisinde en yüksek DP ve yüzdesel dönüşüm oranı GPC analizine göre deneylerde elde edilen en yüksek molekül ağırlıklı olan bu numunede ortaya çıkmıştır.

40 ^{o}C sıcaklıkta ve 72 saatteki toluen deneyinden elde edilen polikaprolaktonun termal davranımları DSC analiziyle incelenmiş ve elde edilen analiz sonucu Şekil 4.16'da verilmiştir.



Şekil 4.16: 40 ^{o}C, 72 saatte toluen deneyinin DSC analizi.

DSC analiz sonucuna göre en yüksek molekül ağırlıklı polimerin T_g sıcaklığı diğer polimerlere göre daha yüksek; T_m sıcaklığı ve erime entalpisi daha düşük çıkmıştır. Analizden elde edilen bu değerler T_g sıcaklığı -49,3 ^{o}C, T_m sıcaklığı 55,8 ^{o}C ve erime entalpisi 68,61 j/g'dır. Erime entalpisi sonucuna göre Denklem 3.2'deki hesaplamalar yapılırsa polimerin % 49,25'inin kristal halde olduğu ortaya çıkmaktadır.

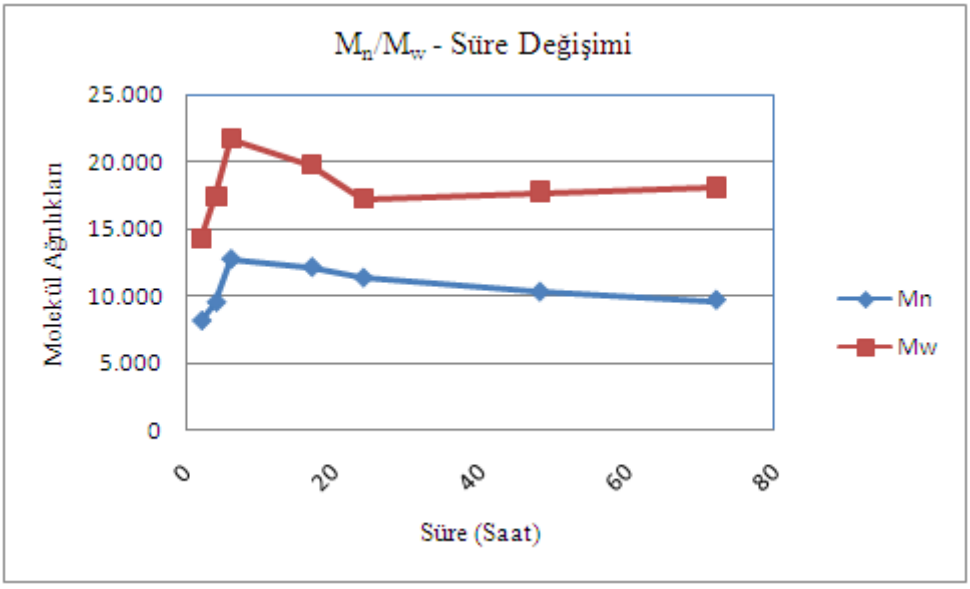
4.3 n-hekzan Çözücülü Deneyler ve Sonuçları

Lineer yapılı organik bir çözücü olan n-hekzan ile 80 ^{o}C, 60 ^{o}C ve 40 ^{o}C reaksiyon sıcaklıklarında çalışılmıştır. n-hekzan diğer çözücülere göre molekül ağırlıklarında daha düşük sonuçlar vermiştir. Aşağıdaki Çizelge 4.7'de n-hekzan deneylerinden biri olan 80 ^{o}C sıcaklıktaki polimerizasyon reaksiyonları sonucu elde edilen M_n ve M_w değerleri ve polidispersite (M_w/M_n) değerleri verilmektedir.

Çizelge 4.7: 80 °C'de n-hekzan deneyi sonuçları.

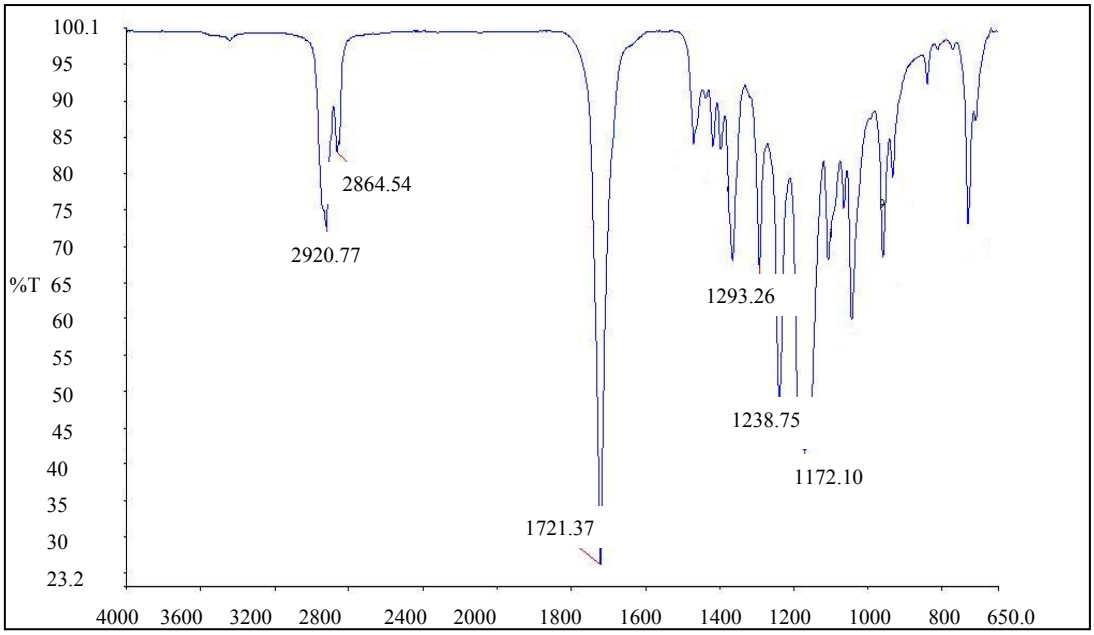
Reaksiyon süresi	M_n	M_w	Polidispersite
72 s	9.675	18.051	1,8656
48 s	10.286	17.741	1,7247
24 s	11.335	17.180	1,5156
17 s	12.129	19.723	1,6261
6 s	12.739	21.706	1,7040
4 s	9.504	17.323	1,8227
2 s	8.115	14.244	1,7552

Çizelge 4.7'nin sonuçlarına bakıldığında 80 °C sıcaklığında n-hekzan çözücüsü polimerizasyon reaksiyonunda en yüksek molekül ağırlıklarına 6 saatlik bir sürede ulaşmaktadır. Aynı sıcaklıktaki toluen deneyinde bu değer 2 saat; diizopropil eter deneyinde ise 24 saatti. Ulaşılan maksimum molekül ağırlığı GPC analizi sonucuna göre M_n için 12.739 g/mol ve M_w için 21.706 g/mol değeridir. Reaksiyonda 6 saat sürenin sonunda ulaşılan maksimum molekül ağırlığından sonra zamanın artması diğer çözücülü deneylerde de olduğu gibi molekül ağırlığında azaltıcı bir etki yapmıştır. Şekil 4.17'de zamanla M_n ve M_w değerlerinin değişim eğrisi verilmektedir.



Şekil 4.17: 80 °C'de n-hekzan deneyinde molekül ağırlığı dağılımı.

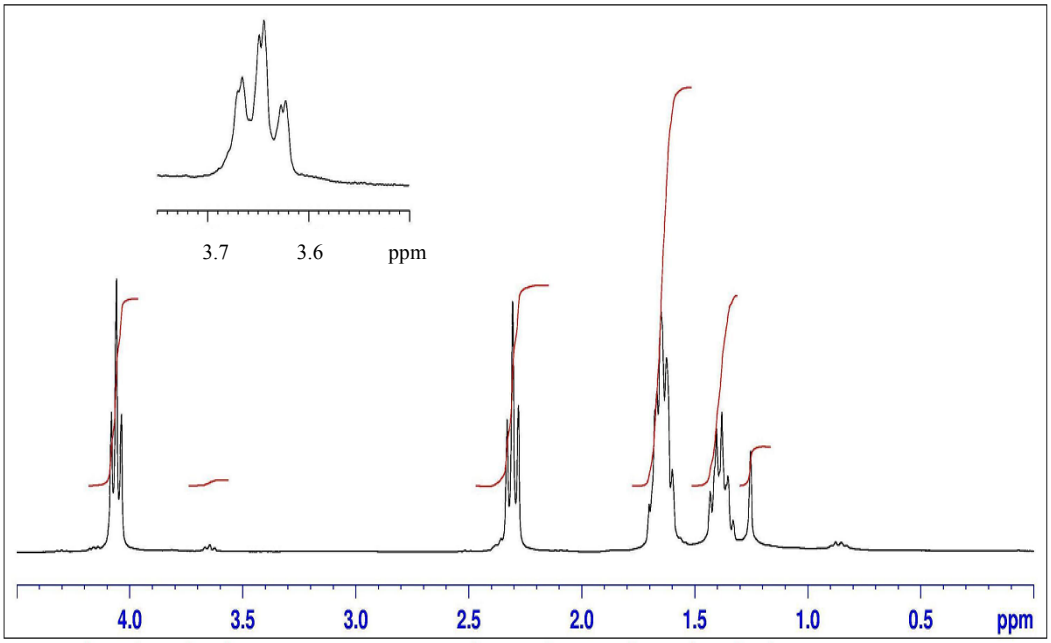
80 °C deneyin sonucunda elde edilen veriler neticesinde en molekül ağırlıklı numune olan 6 saatlik deneyin FTIR analizi Şekil 4.18'de verilmektedir.



Şekil 4.18: 80 ^{o}C, 6 saatte n-hekzan deneyinin FTIR analizi.

Şekil 4.18'de görülen sentez numunenin analiz çıktısında polikaprolaktonun karakteristik pikleri olan asimetrik CH_2 bağları 2920 cm^{-1} dalga boyunda, simetrik CH_2 bağları 2864 cm^{-1} dalga boyunda, karbonil (C=O) bağları 1721 cm^{-1} dalga boyunda, kristalin fazda görülen C-O ve C-C bağları 1293 cm^{-1} dalga boyunda, asimetrik C-O-C bağları 1238 cm^{-1} dalga boyunda ve simetrik C-O-C bağları da 1172 cm^{-1} dalga boyunda görülmektedir. Sentez numunenin analiz verileri ile ticari numunenin verileri karşılaştırıldığında karakteristik piklerin uyduğu görülmektedir ki bu sonuç sentez numunenin polikaprolakton olduğunu kanıtlamaktadır. Ayrıca % T değerleri sentez numunede daha düşük çıkmıştır. Bununla da bağ yapısını karşılaştırması yapılırsa sentez numunenin daha güçlü bağ yapısına sahip olduğu görülmektedir.

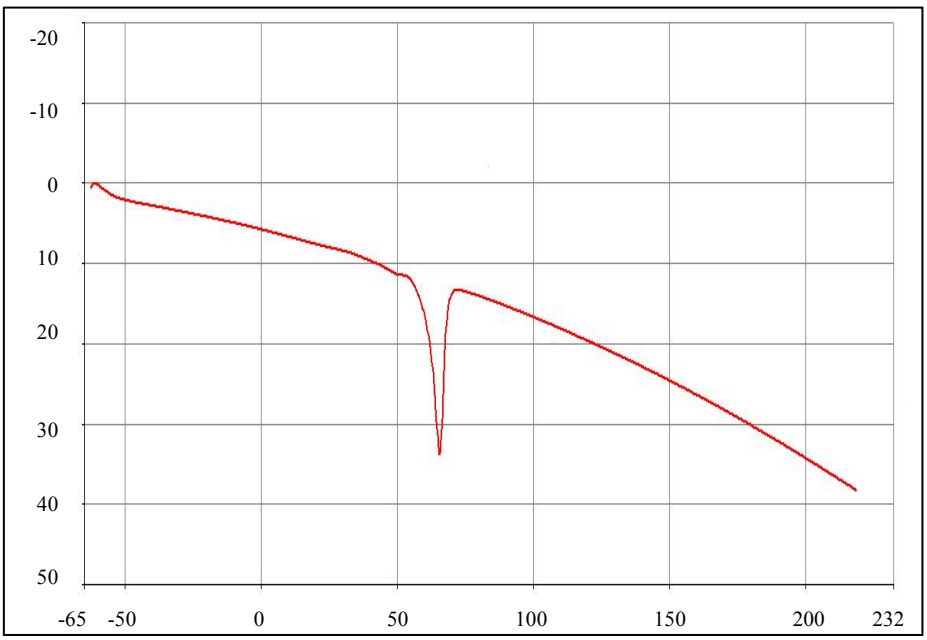
Şekil 4.19'da toluen ve diizopropil eter deneylerinde olduğu gibi n-hekzan çözücülü deneyin en yüksek molekül ağırlıklı numunesinin ^{1}H NMR spektrumu görülmektedir. 80 ^{o}C sıcaklıkta ve 6 saatlik süre sonundaki deney numunesinin analiz sonucunda ortaya çıkan pikler ve bap yapıları şöyledir (δ, ppm): 4,07 (t,CH_2O), 3,65 (t, CH_2OH, sonlanma grubu), 2,32 (t, CH_2CO), 1,6-1,7 (m, CH_2) ve 1,37 (m, CH_2). Gerek FTIR analiz sonucundaki dalga boyuna karşılık gelen karakteristik piklerin çeşitleri gerekse NMR spektrumundan elde edilen veriler deney numunesinin polikaprolakton olduğunu ispatlamaktadır.



Şekil 4.19: 80 ^{o}C, 6 saatte n-hekzan deneyinin ^{1}H NMR spektrumu.

NMR analizinden elde edilen verilerle yapılan hesaplamalarda M_n değeri 9.512 g/mol çıkmaktadır. Polimerizasyon derecesi 33,3 ve polimerizasyondaki dönüşüm oranı % 97 çıkmıştır.

Aynı numunenin DSC analizi ise Şekil 4.20'de görülmektedir. Diğer analizlerde olduğu gibi bunda da T_g ve T_m sıcaklıkları bulunmuş ve polimerin yüzde kristalliği hesaplanmıştır.



Şekil 4.20: 80 ^{o}C, 6 saatte n-hekzan deneyinin DSC analizi.

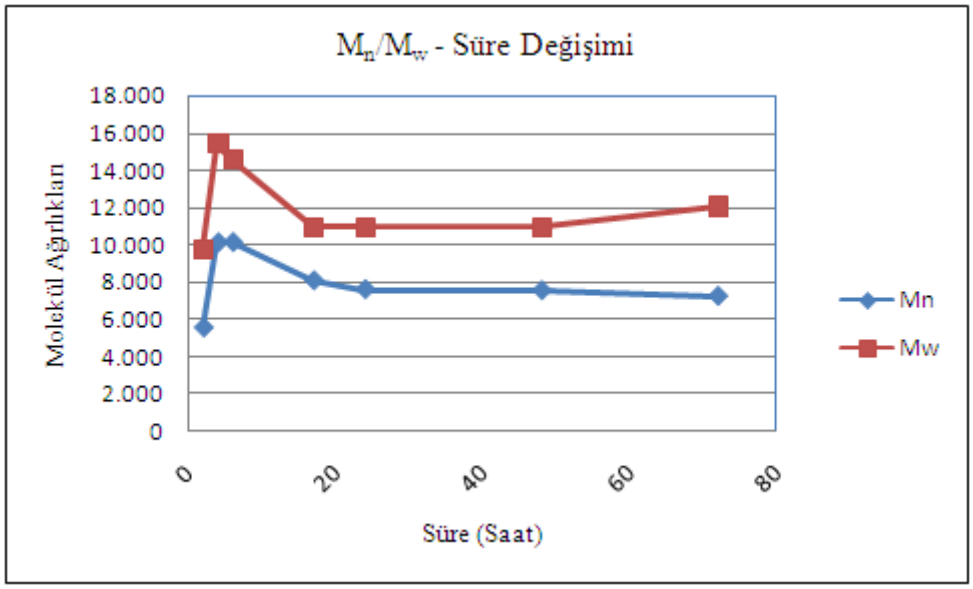
Analiz sonuçlarına göre T_g sıcaklığı -57,3 ^oC, T_m sıcaklığı 65,3 ^oC ve erime entalpisi de 81,6244 j/g olarak ölçülmüştür. Denklem 3.2'ye göre hesaplamalar yapıldığında ise polimerin % 58,6'sının kristal halde olduğu bulunmuştur.

Çizelge 4.8'de n-hekzan çözücüsünün 60 ^oC sıcaklıktaki polimerizasyon reaksiyonları sonucu elde edilen M_n ve M_w değerleri ve polidispersite (M_w/M_n) değerleri gösterilmektedir.

Çizelge 4.8: 60 ^oC'de n-hekzan deneyi sonuçları.

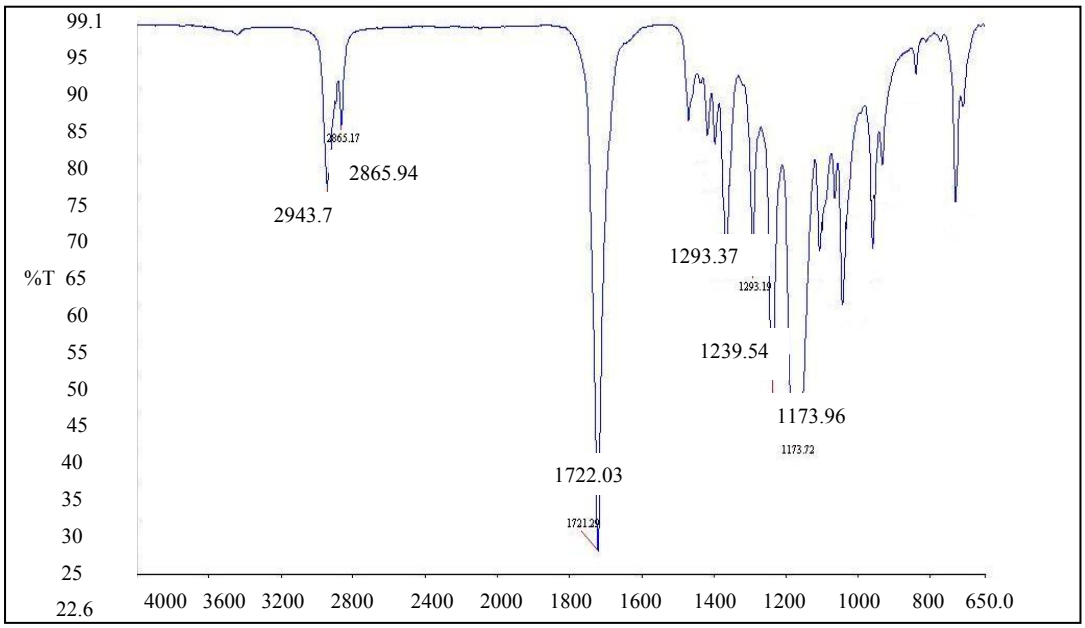
Reaksiyon süresi	M_n	M_w	Polidispersite
72 s	7.236	12.059	1,6665
48 s	7.538	10.949	1,4526
24 s	7.593	10.967	1,4445
17 s	8.064	10.983	1,3619
6 s	10.107	14.605	1,4451
4 s	10.099	15.429	1,5277
2 s	5.545	9.799	1,7670

Çizelge 4.8'in sonuçları 60 ^oC'de n-hekzan çözücüsünün deney sonuçları 80 ^oC sıcaklığındaki deneylerle paralel veriler elde edildiğini göstermektedir. Bu deneyde de polimerizasyon reaksiyonunda en yüksek M_n değerine 6 saatlik bir sürede, en yüksek M_w değerine ise 4 saatlik bir sürenin sonunda ulaşmaktadır ve bu değerler GPC analizine göre M_n için 10.107 g/mol ve M_w için 15.429 g/mol'dür. Ancak tüm molekül ağırlıklarına bakıldığında elde edilen değerlerin 80 ^oC deneylerinden daha düşük oldukları görülmektedir. Çizelge 4.8'den elde edilebilecek bir diğer çıkarım ise 60 ^oC sıcaklığında enzimin aktivitesi n-hekzan çözücüsü içerisinde 80 ^oC sıcaklığından daha düşük olmasıdır. Ayrıca tüm deneyler içerisinde elde edilen en düşük M_n ve M_w değerleri de bu sıcaklıkta 2 saatlik deneyde ortaya çıkmıştır. En düşük M_n değeri 5.545 g/mol ve M_w değeri de 9.799 g/mol'dür. Şekil 4.21'de M_n ve M_w değerlerinin zamanla değişimleri aşağıdaki grafikte gösterilmektedir.



Şekil 4.21: 60 ^{o}C'de n-hekzan deneyinde molekül ağırlığı dağılımı.

Bu çalışmanın en yüksek molekül ağırlıklı numunesi olan 6 saatlik deneyin FTIR analizi Şekil 4.22'de görülmektedir.

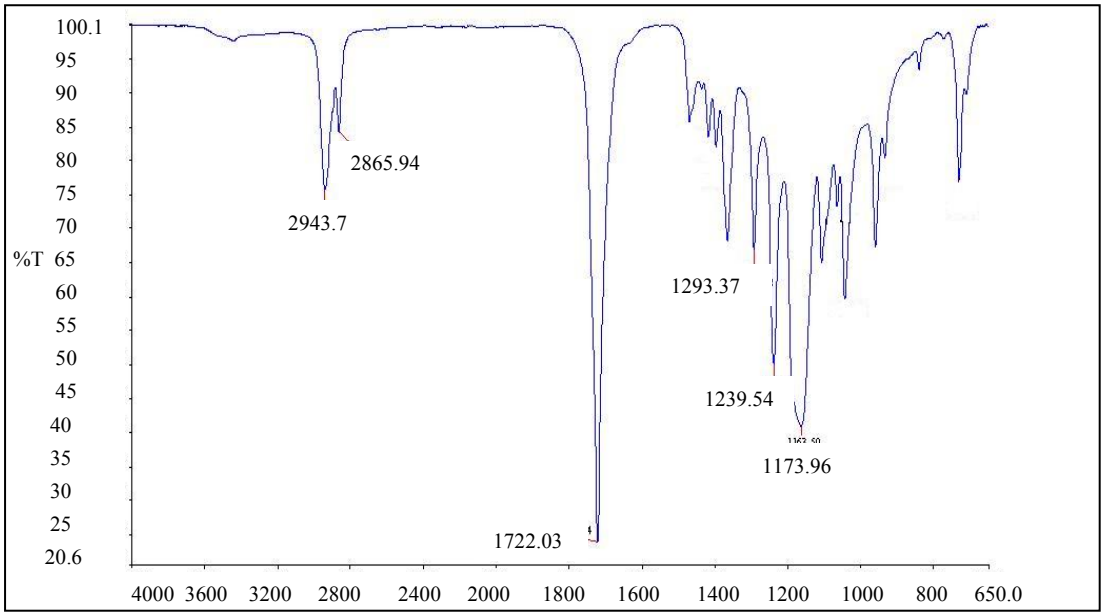


Şekil 4.22: 60 ^{o}C, 6 saatte n-hekzan deneyinin FTIR analizi.

Şekil 4.22'de görülen sentez numunenin analiz çıktısında polikaprolaktonun karakteristik pikleri olan asimetrik CH_2 bağları 2944 cm^{-1} dalga boyunda, simetrik CH_2 bağları 2865 cm^{-1} dalga boyunda, karbonil (C=O) bağları 1721 cm^{-1} dalga boyunda, kristalin fazda görülen C-O ve C-C bağları 1293 cm^{-1} dalga boyunda, asimetrik C-O-C bağları 1238 cm^{-1} dalga boyunda ve simetrik C-O-C bağları da 1173 cm^{-1} dalga boyunda görülmektedir. Söz edilen bağlar ve dalga sayıları

karakteristik polikaprolakton piklerini yansıttığı için sentez numunenin polikaprolakton olduğu görülmektedir. Diğer yandan molekül ağırlığı bakımından sentez numunenin ticari numune ile kıyaslandığında değerlerin yakın olmasına rağmen bağların ışığı geçirme oranları yani % T değerleri farklı çıkmıştır. Bu sonuç bağ yapısının sentez polimerde daha güçlü olduğunun kanıtıdır.

Ayrıca yapılan tüm deneyler içerisinde en düşük molekül ağırlığı bu serinin içerisinden çıktığı görülmüştü. 60 ^{o}C sıcaklıkta n-hekzan çözücüsünde deneylerde 2 saatlik sürenin sonunda elde edilen polimer numunesinin M_n ve M_w değerleri tüm deneysel numunelerden daha düşüktür. Bu deneyin bağ yapıları ve % T değerlerindeki değişimler de analiz edilmiştir. 2 saatlik sürede elde edilen polimer numunesinin FTIR analiz grafiği Şekil 4.23'te yer almaktadır.



Şekil 4.23: 60 ^{o}C, 2 saatte n-hekzan deneyinin FTIR analizi.

Şekil 4.23'te görülen sentez numunenin analiz çıktısında polikaprolaktonun karakteristik pikleri olan asimetrik CH_2 bağları 2920 cm^{-1} dalga boyunda, simetrik CH_2 bağları 2864 cm^{-1} dalga boyunda, karbonil (C=O) bağları 1721 cm^{-1} dalga boyunda, kristalin fazda görülen C-O ve C-C bağları 1293 cm^{-1} dalga boyunda, asimetrik C-O-C bağları 1238 cm^{-1} dalga boyunda ve simetrik C-O-C bağları da 1172 cm^{-1} dalga boyunda görülmektedir. Polikaprolaktonun karakteristik piklerinin sentez numunesinde de çıktığı görülmüştür. Bu durum elde edilen sentez numunenin polikaprolakton olduğunun ispatıdır. Diğer yandan molekül ağırlıklarına bakıldığında sentez polikaprolaktonun ticari polimere göre daha düşük değerleri olmasına rağmen

ışık geçirgenlik oranları daha düşük çıkmıştır. Özellikle de karbonil (C=O) bağındaki % T değerleri oldukça farklıdır. Bunun sebebi sentez numunede bağ yapısı ve karakteristiğinin daha güçlü olmasıdır.

n-hekzan deneyinin son sıcaklığı olan 40 ^{o}C sıcaklıktaki polimerizasyon reaksiyonları sonucu elde edilen M_n ve M_w değerleri ve polidispersite (M_w/M_n) değerleri Çizelge 4.9'da verilmektedir.

Çizelge 4.9: 40 ^{o}C'de n-hekzan deneyi sonuçları.

Reaksiyon süresi	M_n	M_w	Polidispersite
168 s	10.449	17.312	1,6569
72 s	8.207	13.382	1,6306
48 s	7.326	11.557	1,5775
24 s	7.247	11.613	1,6024
17 s	7.070	11.546	1,6331
6 s	6.690	13.540	2,0240
4 s	6.670	11.855	1,7773
2 s	6.579	11.257	1,7112

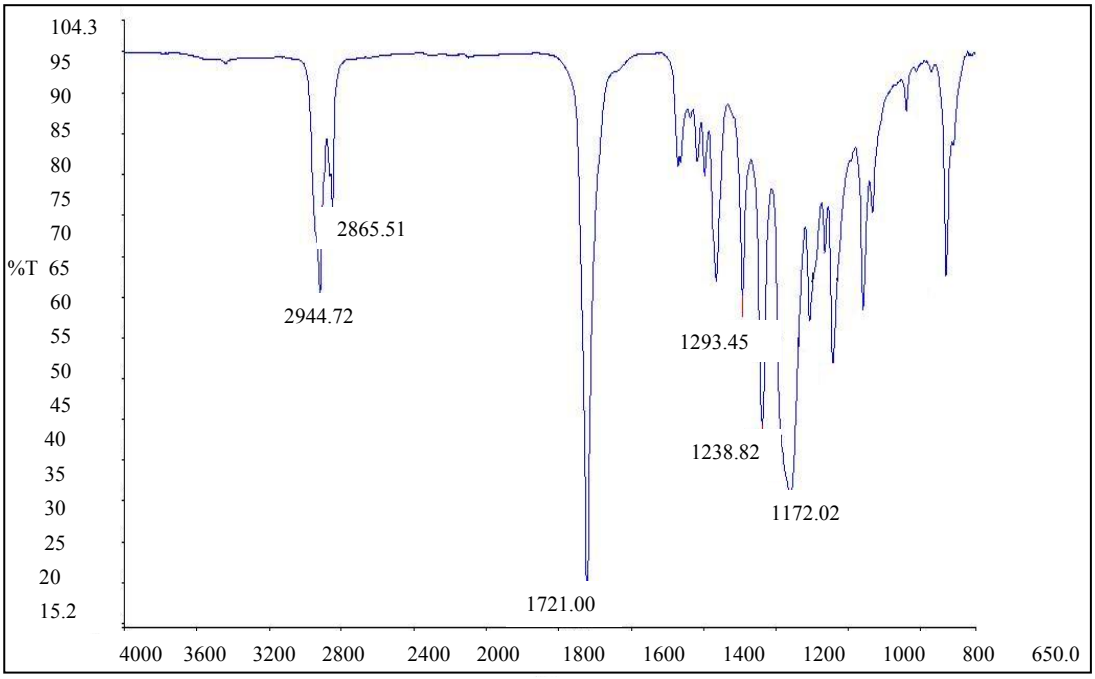
n-hekzan çözücüsünün 40 ^{o}C sıcaklıktaki değerlerine bakıldığında molekül ağırlıklarında zamanla meydana gelen yükselme miktarlarının dar bir aralıkta gerçekleşmiştir. İlk etapta 40 ^{o}C sıcaklıkta toluen çözücüsündeki sentez reaksiyonlarında olduğu gibi n-hekzan çözücüsünde de en yüksek M_n ve M_w değerlerine 72 saatlik sürenin sonunda ulaşıldığı saptanmış ve ek olarak 168 saatlik bir deney daha yapılmıştır. 168 saatlik sürenin sonunda toluenin 40 ^{o}C sıcaklığındaki deneylerden farklı olarak polimerin molekül ağırlığı artma eğilimine devam etmiştir. Bu sıcaklık için yapılan deneylerde elde edilen en yüksek M_n değeri 10.449 g/mol ve M_w değeri 17.312 g/mol'dür. n-hekzan çözücüsü için 40 ^{o}C sıcaklığındaki deneylerin bir diğer sonucu da molekül ağırlıklarının 72 saatlik süreye kadar 60 ^{o}C ve 80 ^{o}C deneylerinden daha düşük çıkmış olmasıdır. 168 saatlik sürenin sonunda ise 60 ^{o}C deneylerindeki molekül ağırlıklarının da üzerine çıkılabilmiştir. Bu sebepten deneye daha uzun sürelerde devam edilmemiştir. n-hekzan deneyinin 40 ^{o}C sıcaklığındaki deneylerinin bir diğer sonucu da reaksiyonlarda yüksek polidispersite değerlerine ulaşılmış olmasıdır. n-hekzan çözücüsünün 60 ^{o}C ve 80 ^{o}C deneylerinde de polidispersite değerleri diğer çözücülerin deneylerindekilere göre yüksek çıkmıştır. Yine en yüksek polidispersite değeri olan 2,024 değerine n-hekzan çözücüsünde 40 ^{o}C sıcaklığında ulaşılmıştır. n-hekzan çözücüsünde yüksek

polidispersite değerlerine ulaşılırken molekül ağırlıklarında giderek daha düşük değerler elde edilmiştir. Şekil 4.24'te n-hekzan çözücüsü için 40 ^{o}C sıcaklıkta elde edilen molekül ağırlıklarının zamanla dağılımlarını göstermektedir.



Şekil 4.24: 40 ^{o}C'de n-hekzan deneyinde molekül ağırlığı dağılımı.

40 ^{o}C, n-hekzan deneyinin en yüksek molekül ağırlığı ilk serinin sonundaki deneylerden ekstra olarak yapılan 168 saatlik sürenin sonunda çıkmıştır. Ancak FTIR analizi için 72 saatlik deney numunesine bakılmıştır. Şekil 4.25, 72 saatlik deneyin FTIR analizini vermektedir.



Şekil 4.25: 40 ^{o}C, 72 saatte n-hekzan deneyinin FTIR analizi.

Şekil 4.25'te görülen sentez numunenin analiz çıktısında polikaprolaktonun karakteristik pikleri olan asimetrik CH_2 bağları 2917 cm^{-1} dalga boyunda, simetrik CH_2 bağları 2849 cm^{-1} dalga boyunda, karbonil (C=O) bağları 1721 cm^{-1} dalga boyunda, kristalin fazda görülen C-O ve C-C bağları 1292 cm^{-1} dalga boyunda, asimetrik C-O-C bağları 1237 cm^{-1} dalga boyunda ve simetrik C-O-C bağları da 1160 cm^{-1} dalga boyunda görülmektedir. Sentez numunenin FTIR sonucuna göre elde edilen pikler polikaprolaktonun karakteristik pikleriyle paraleldir. Bu sonuca göre sentez numunenin de polikaprolakton olduğu görülmektedir. Ayrıca diğer sentez numunelerde olduğu gibi bu numunenin analiz sonucunda da % T değerleri ticari polimerin değerlerinden daha düşüktür. Yani sentez polikaprolakton ışığı daha çok absorplayabilmektedir. Bu durum sentez polimerdeki bağ yapılarının daha kuvvetli olduğunun ispatıdır.

4.4 Biyobozunma Deneyleri ve Sonuçları

Biyobozunma deneyleri esteraz, lipolaz ve savinaz enzimlerinin 0,05 M ve pH 7,4'te ayarlanan fosfat tampon çözeltisinde önceden belirlenen seyreltme oranlarına göre 1x1 cm boyutlarındaki polikaprolakton numuneleri ile gerçekleştirilmiştir. Polimerizasyon işlemi sonucu üretilen ve en yüksek molekül ağırlığına sahip sentez TL40_72 numunesi (toluen çözücüsünde 40 ^oC ve 72 saatlik polimerizasyon süresinin sonunda elde edilen PCL numunesi) ve ticari PCL numunesi 4 farklı enzim çözeltileri ve enzim ilavesiz fosfat tampon çözeltisi içerisinde polimer filmleri farklı sürelerde bekletilmiştir.

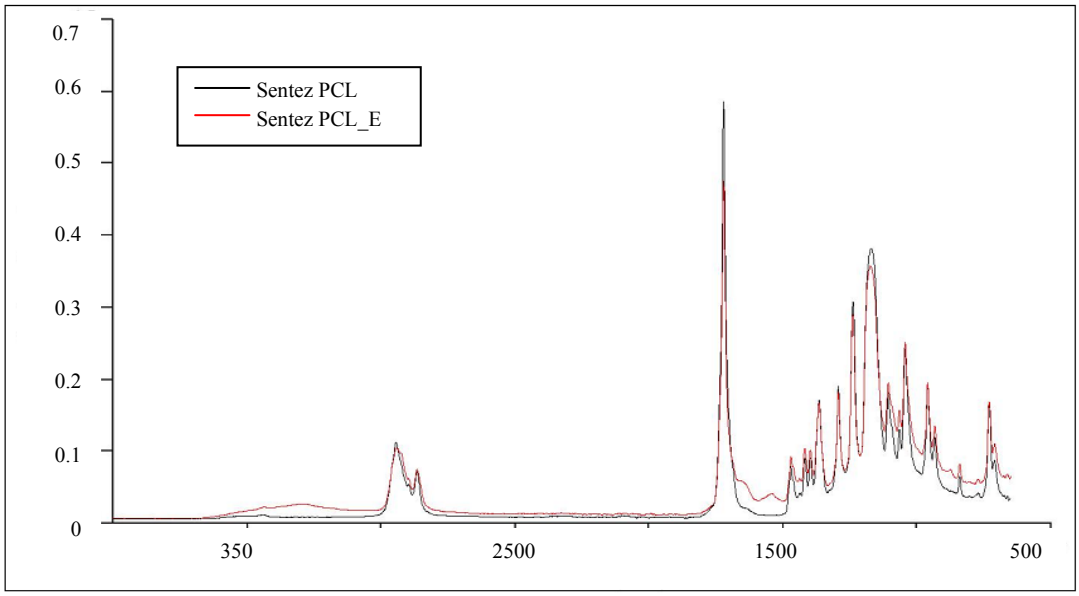
4.4.1 Esteraz enzimli biyobozunma deneyleri ve sonuçları

TL40_72 numunesi 2 günde bir yenilenen esteraz çözeltisinde 60 gün bekletilmiştir. Esteraz enzimli çözeltide polime filmin 60 günün sonunda parçalanmadığı ancak molekül ağırlıklarında önemli miktarda değişim olduğu görülmüştür. Çizelge 4.10'dan da görüldüğü gibi polimerin 60. günün sonunda M_n değerinde % 43,5'lik ve M_w değerinde ise % 32,2'lik bir azalma meydana gelmiştir. Molekül ağırlıklarındaki azalmanın ilk haftada oldukça hızlı olduğu ve yüksek bir ivmeyle gerçekleştiği görülürken diğer zamanlarda bu ivmelenmenin azaldığı ve molekül ağırlıklarındaki değişimin de yavaşladığı görülmektedir.

Çizelge 4.10: TL40_72 numunesinin esteraz enzimli deneyin GPC sonuçları.

Süre (Gün)	M_n	M_w	Polidispersite
0	18.114	27.824	1,5361
7	13.501	21.409	1,5857
10	12.632	21.954	1,7380
14	12.494	20.833	1,6675
21	12.051	21.058	1,7474
42	11.757	21.034	1,7891
56	11.413	20.850	1,8269
60	10.236	18.858	1,8423

Şekil 4.26'da sentez polikaprolaktonun 60. günün sonunda çekilmiş FTIR analizi ilk haliyle karşılaştırmalı olarak görülmektedir. Absorbanslardaki değişimlere bakıldığında sadece simetrik CH_2 bağının absorbansının % 3,8 gibi az bir miktarda arttığı ancak diğer tüm bağlarda absorbansların azaldığı yani bağlar arası kuvvetin zayıfladığı görülmektedir. Diğer bağlardaki değişimler ise asimetrik CH_2 bağında % 7,1; en fazla değişimin olduğu C=O bağında % 19,3; kristalin fazdaki C-O ve C-C bağında % 4,1; asimetrik C-O-C bağında % 5,8 ve simetrik C-O-C bağında % 6,3 oranlarında gerçekleşmiştir.



Şekil 4.26: TL40_72 numunesinin esteraz enzimli deneyin FTIR analizi.

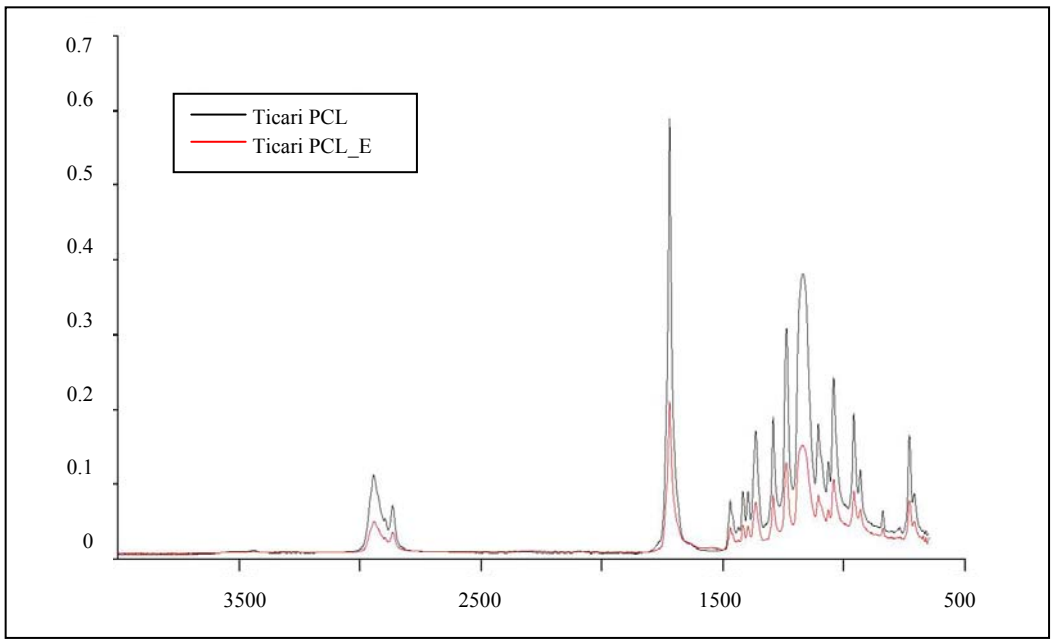
Ticari PCL numunesi de 2 günde bir yenilenen esteraz çözeltisinde 60 gün bekletilmiştir. Aynı şekilde sentez polikaprolaktonda olduğu gibi ticari polikaprolakton da 60 günün sonunda dağılmadan kalabilmiştir. Ancak sentez polimerden farklı olarak ticari polikaprolakton numunesinde molekül ağırlıklarının

zamanla azalma miktarları ve bozunma hızı oldukça düşük kalmıştır. Çizelge 4.11'den molekül ağırlıklarının zamanla değişimi görülmektedir.

Çizelge 4.11: Ticari PCL numunesinin esteraz enzimli deneyin GPC sonuçları.

Süre (Gün)	M_n	M_w	Polidispersite
0	19.976	28.079	1,4056
7	19.127	26.474	1,3841
10	18.940	27.946	1,4755
14	18.920	27.070	1,4307
21	19.191	27.924	1,4550
28	18.065	27.444	1,5192
42	18.261	28.035	1,5353
56	18.465	28.382	1,5370
60	17.687	25.438	1,4382

Tablodan elde edilen verilere göre M_n değerinin maksimum değişimi % 11,5 ve M_w içinse % 9,4 olarak gerçekleşmiştir. Aşağıda Şekil 4.27'de ticari polikaprolaktonun 60 günün sonundaki deneyinin ve ilk halinin FTIR analiz spektrumları görülmektedir.



Şekil 4.27: Ticari PCL numunesinin esteraz enzimli deneyin FTIR analizi.

Sentez polikaprolaktonun FTIR analizinden farklı olarak ticari polikaprolaktonun analiz sonucu bağlarındaki değişimlerin daha fazla olduğunu göstermektedir. Biyobozunma deneyinden sonra tüm bağların absorbanslarında artış meydana gelmiştir. Bağların absorbanslarındaki artış oranları asimetrik CH_2 bağında % 52,3;

simetrik CH_2 bağında % 59,9; C=O bağında % 81,2; kristalin fazdaki C-O ve C-C bağında % 72,9; asimetrik C-O-C bağında % 81,0 ve simetrik C-O-C bağında % 86,7 şeklinde gerçekleşmiştir.

4.4.2 Lipolaz enzimli biyobozunma deneyleri ve sonuçları

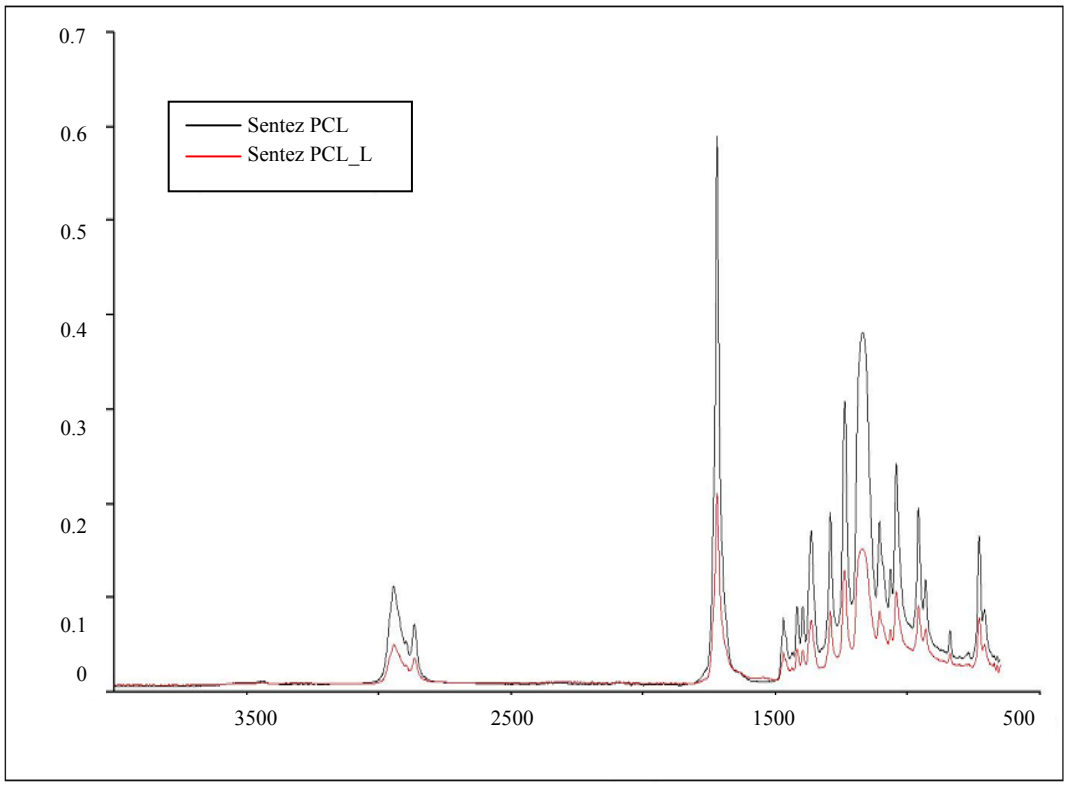
Sentez TL40_72 numunesi sabit konsantrasyondaki her gün tazelenen lipolaz çözeltisinde 6 gün bırakılmıştır. Lipolaz enzimi TL40_72 numunesini 6. günün sonunda yüzey erozyonuna uğratarak tamamen dağılmasına sebep olmuştur. Çizelge 4.12'de belirli aralıklarla alınan numunelerin GPC analizleri verilmiştir.

Çizelge 4.12: TL40_72 numunesinin lipolaz enzimli deneyin GPC sonuçları.

Süre (Gün)	M_n	M_w	Polidispersite
0	18.114	27.824	1,5361
2	14.088	19.227	1,3648
3	13.984	19.014	1,3597
5	13.933	19.006	1,3641
6	Dağılma	Dağılma	-

Lipolaz enzimli çözelti sentez polikaprolaktonun hem molekül ağırlıklarında hızlı bir azalmaya sebep olmuş hem de 6 gün gibi kısa bir sürede polimer filmi parçalayarak dağılmasına yol açmıştır. Biyobozunma süreci sonunda polimerin dağılmadan önceki molekül ağırlıkları M_n % 23,1 M_w % 31,7 oranlarında azalmıştır. Şekil 4.28'de ise polimer numunesinden alınan örneklerin 0. günde ve 5. günün sonundaki hallerinin karşılaştırmalı olarak FTIR analiz sonuçları verilmiştir.

Sentez numunenin biyobozunma deneyi sonrasında tüm bağlardaki absorbans değerlerinin değiştiği görülmektedir. Absorbanslardaki değişimler polimerdeki güçlü bağlar olan 1293 cm^{-1} dalga boyunda bulunan ve C-O, C-C bağlarını içeren kristalin fazdaki bölgede ve 1721 cm^{-1} dalga boyunda bulunan C=O bağlarında da yüksek oranlarda gerçekleştiği görülmektedir. Tüm karakteristik piklerin absorbans değerlerinde azalma yani bağlar arası kuvvette zayıflama meydana gelmiştir. C-O ve C-C bağlarının absorbans değerinde % 55,1; C=O bağının absorbansında % 64,2 oranında azalma görülmektedir. Diğer yandan asimetrik CH_2 bağında % 55,3; simetrik CH_2 bağında % 50,2; asimetrik C-O-C bağında % 58,0 ve simetrik C-O-C bağında da % 60,2 oranında değişim olmuştur.



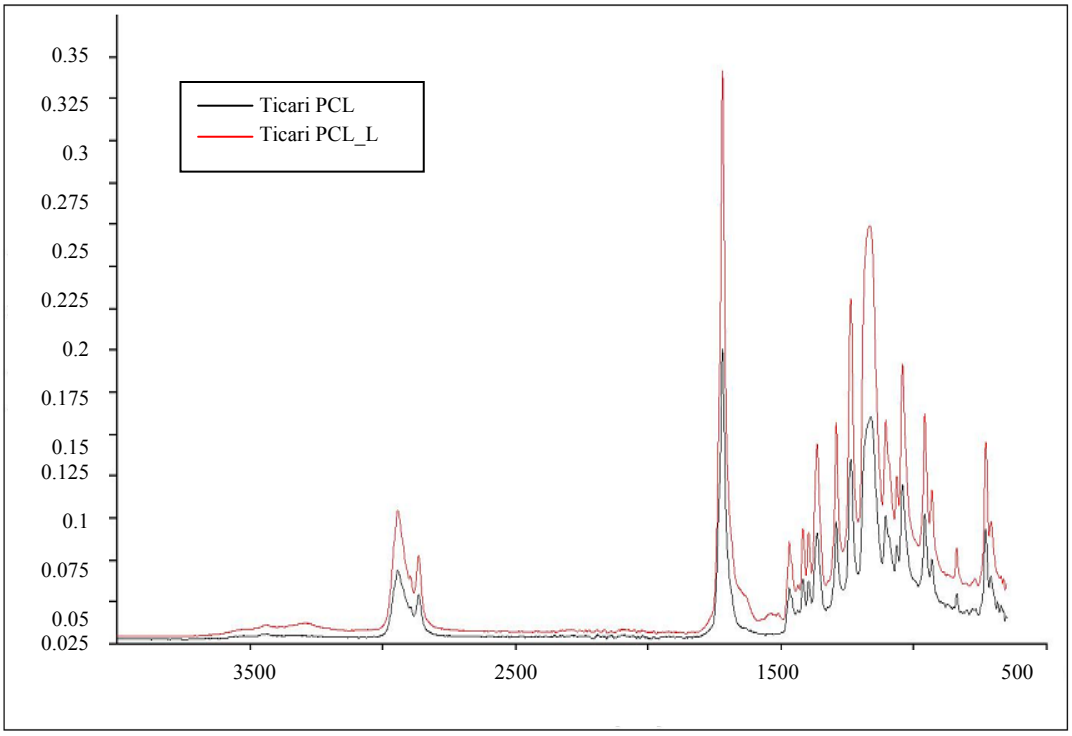
Şekil 4.28: TL40_72 numunesinin lipolaz enzimli deneyin FTIR analizi.

Ticari PCL numunesi ise sentez polimere göre lipaz çözeltisinde biraz daha uzun bir süre kalmıştır. Ticari PCL numunesi 8. günün sonunda yüzey erozyonuna uğrayarak parçalanmıştır. Ancak sentez polimerin biyobozunma deneylerinden farklı olarak molekül ağırlıkları çok az değişmeye uğramıştır. Polimerin dağılmadan önceki molekül ağırlıkları M_n % 7,6 ve M_w maksimum % 3,6 kadar azalmıştır. Çizelge 4.13 ticari PCL için lipolaz çözeltisindeki biyobozunma deneyi GPC sonuçlarını göstermektedir.

Çizelge 4.13: Ticari PCL numunesinin lipolaz enzimli deneyin GPC sonuçları.

Süre (Gün)	M_n	M_w	Polidispersite
0	19.976	28.079	1,4056
2	19.818	27.785	1,4020
3	19.274	27.093	1,4056
6	18.451	27.062	1,4667
8	Dağılma	Dağılma	-

Ticari PCL numunesinin 0. gündeki ve 7. gündeki FTIR analizi sonuçları karşılaştırmalı olarak Şekil 4.29'da gösterilmektedir.



Şekil 4.29: Ticari PCL numunesinin lipolaz enzimli deneyin FTIR analizi.

Sadece lipolaz enzimli biyobozunma deneyinde ticari polikaprolakton numunesinin bağ yapılarında bir değişim olmazken, bağların absorbans değerlerinde de yükselmeler meydana değişmiştir. Yine polimerdeki en güçlü bağ olan karbonil bağının (C=O bağı) absorbans değeri en yüksek oranda değişime uğrayan bağ olmuştur. Bağların absorbanslarında meydana gelen artışlar sırasıyla asimetrik CH_2 bağında % 82,0; simetrik CH_2 bağında % 80,3; C=O bağında % 94,0; kristalin bölgedeki C-O, C-C bağlarında % 80,7; asimetrik C-O-C bağında % 87,4 ve simetrik C-O-C bağında % 83,9 değerindedir. Bu değerlerden de görüldüğü gibi sentez polikaprolaktona göre ticari polikaprolaktonun absorbans değerlerindeki değişimler oldukça farklı çıkmıştır.

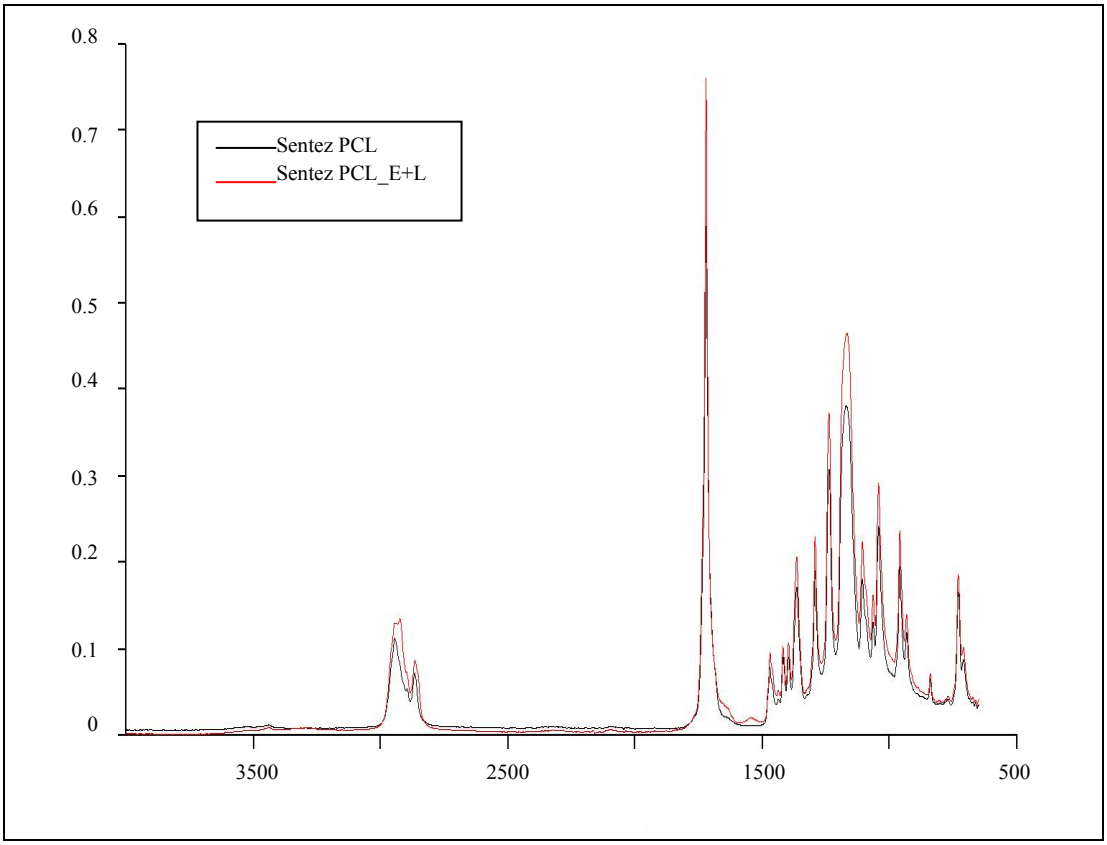
4.4.3 Esteraz ve lipolaz enzim karışımlı biyobozunma deneyleri ve sonuçları

Esteraz ve lipolaz enzim kokteyli (E+L) içinde sentez TL40_72 numunesi biyobozundurulma için 15 gün bekletilmiştir. Esteraz ve lipolaz enzimlerinin ikisi de hidrolaz sınıfı enzimlerdir. Her ikisinin karışımı olan enzim çözeltisi içerisinde polimerin dağılma süresi lipolazın tek başına olduğu duruma göre daha uzun sürmüştür. Ancak molekül ağırlıklarındaki yüzdesel azalmalar daha fazladır. Çizelge 4.14 esteraz ve lipolaz enzim kokteylinin TL40_72 numunesi üzerinde yaptığı molekül ağırlığı değişimini göstermektedir.

Çizelge 4.14: TL40_72 numunesinin E+L enzimli deneyin GPC sonuçları.

Süre (Gün)	M_n	M_w	Polidispersite
0	18.114	27.824	1,5361
7	15.356	22.373	1,4570
10	14.529	22.061	1,5184
14	14.020	20.605	1,4696
15	Dağılma	Dağılma	-

Polimerin dağılmadan önceki molekül ağırlıklarındaki yüzdesel değişim M_n için % 22,6 ve M_w için % 26,0 olarak gerçekleşmiştir. Deneyde polimerin bağ yapısındaki değişimlerin görülebilmesi amacıyla 0. günde ve 14. günde alınan numunelerin FTIR sonuçları karşılaştırmalı bir şekilde Şekil 4.30'da verilmiştir.



Şekil 4.30: TL40_72 numunesinin E+L enzimli deneyin FTIR analizi.

FTIR analiz sonucuna bakıldığında sentez PCL'nin absorbanslarında yine artış meydana geldiği görülmektedir. Polikaprolaktonun en güçlü bağı olan C=O bağının absorbansındaki en fazla artışın olduğu deney bu biyobozunma deneyi olmuştur. Absorbanslardaki artış asimetrik CH_2 bağında % 15,8; simetrik CH_2 bağında % 20,7; en fazla değişimin olduğu C=O bağında % 29,0; kristalin fazdaki C-O ve C-C

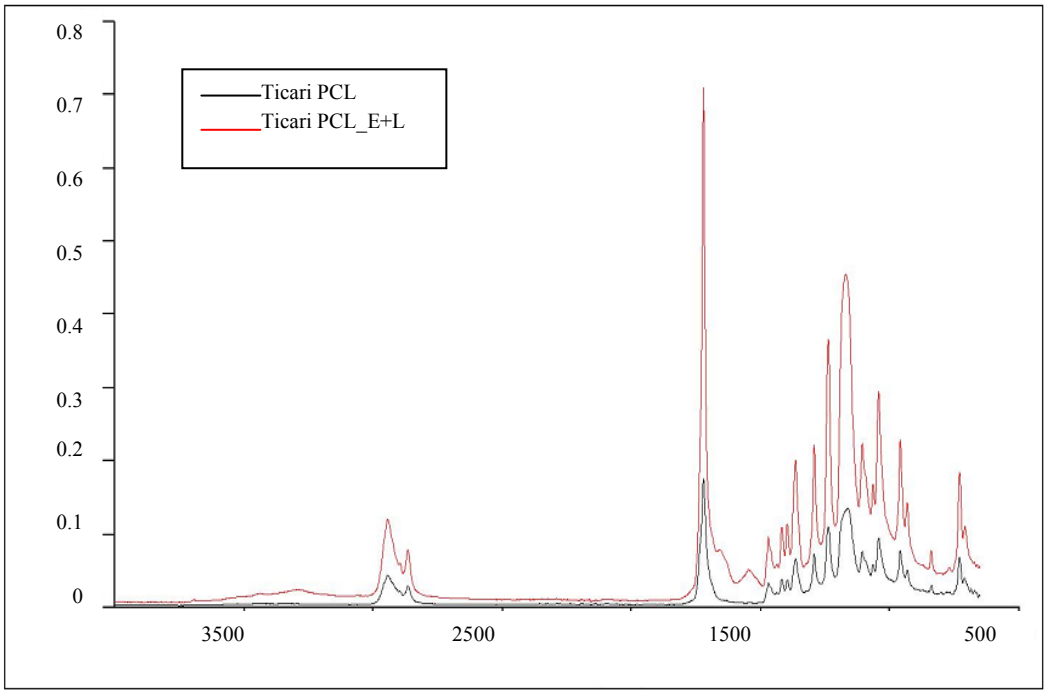
bağlarında % 20,6; asimetrik C-O-C bağında % 21,1 ve son olarak simetrik C-O-C bağında ise % 21,9 oranındadır.

Ticari polikaprolakton numunesinin esteraz ve lipolaz enzim kokteylindeki biyobozunma deneylerinde ise yine sentez polikaprolakton numunesine göre yüzdesel olarak molekül ağırlıkları daha az değişmiştir. Bu deneyde polimerin yüzey erozyonuna uğraması ve dağılması ise 18. günün sonunda gerçekleşebilmiştir. Çizelge 4.15 esteraz ve lipolaz enzim kokteyli içerisinde bekletilen ticari PCL numunesinin molekül ağırlıklarının zamanla değişimini vermektedir.

Çizelge 4.15: Ticari PCL numunesinin E+L enzimli deneyin GP sonuçları.

Süre (Gün)	M_n	M_w	Polidispersite
0	19.976	28.079	1,4056
7	18.808	26.859	1,4281
10	18.612	27.760	1,4915
14	16.750	26.134	1,5602
18	Dağılma	Dağılma	-

Molekül ağırlıkları polimer dağılmadan önce M_n için % 16,1 ve M_w için % 6,9 değerlerindedir. Bağ yapılarının değişim durumu için 0. gün ve 16. gündeki FTIR analizleri karşılaştırmalı olarak Şekil 4.31'de olarak verilmiştir.



Şekil 4.31: Ticari PCL numunesinin E+L enzimli deneyin FTIR analizi.

Ticari polikaprolaktonun biyobozunmasında FTIR sonuçları sentez polimerinkine göre daha farklı çıkmıştır. FTIR analiz sonucuna bakıldığında tüm biyobozunma deneyleri içerisinde bağların absorbans değerlerindeki yüzdesel değişim en çok bu deneyde meydana gelmiştir. Polikaprolaktonun en güçlü bağı olan C=O bağında en fazla değişim de yine bu biyobozunma deneyinde gözlemlenmiştir. Tüm bağların absorbans değerlerinde yükselme meydana geldiği analiz sonucunda ortaya çıkmıştır. Absorbanslardaki değişim asimetrik CH_2 bağında % 174,0; simetrik CH_2 bağında % 168,4; C=O bağında % 302,9; kristalin fazdaki C-O ve C-C bağlarında % 204,1; asimetrik C-O-C bağında % 233,6 ve son olarak simetrik C-O-C bağında ise % 235,2 oranındadır.

4.4.4 Esteraz, lipolaz ve savinaz enzim karışımlı biyobozunma deneyleri ve sonuçları

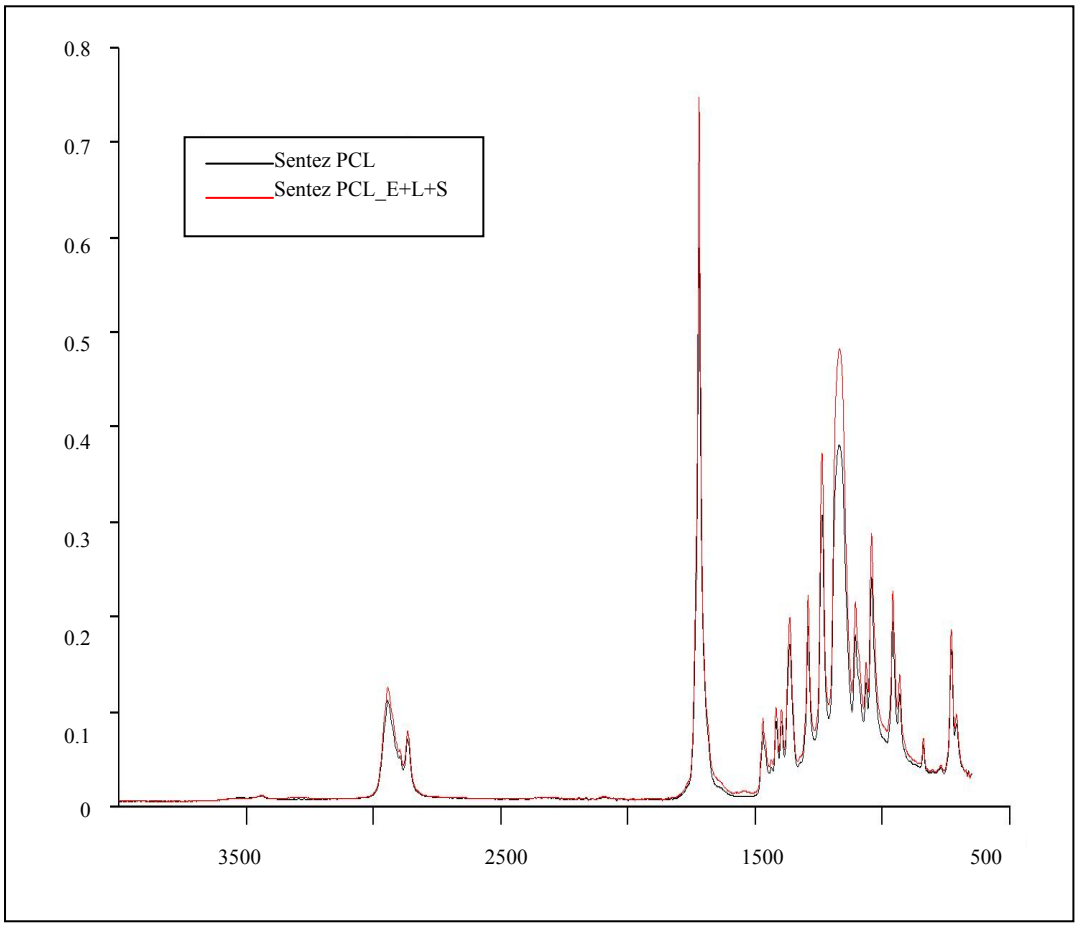
Sentez TL40_72 polimerleri esteraz, lipolaz ve savinaz enzimlerinden (E+L+S) oluşan ve her gün yenilenen üçlü kokteyl çözeltisinde 6 gün bekletilmiştir ve yüzey erozyonuna uğraması 6. günde gerçekleşmiştir. Deney süresince alınan numunelerin GPC analizleri Çizelge 4.16'da verilmiştir.

Çizelge 4.16: TL40_72 numunesinin E+L+S enzimli deneyin GPC sonuçları.

Süre (Gün)	M_n	M_w	Polidispersite
0	18.114	27.824	1,5361
2	14.008	19.308	1,3784
3	13.539	19.185	1,4171
5	12.795	18.927	1,4793
6	Dağılma	Dağılma	-

Üçlü enzim karışımı molekül ağırlıklarında diğer enzim çözeltilerine göre daha fazla değişim yapmıştır ve parçalanma süresi de yine 6. günde gerçekleşmiştir. Polimerde parçalanma gerçekleşmeden önceki molekül ağırlıklarındaki yüzde değişim M_n için % 29,4 ve M_w % 32,0 kadar meydana gelmiştir. Şekil 4.32'de 0. gündeki ve üçlü enzim kokteylinin 5. günün sonunda bağ yapılarına etkisi karşılaştırmalı olarak gösterilmektedir.

3'lü enzim kokteylinin biyobozunmasında da bağların kimyasal formasyonlarının değiştiği görülmüştür. Tüm bağların absorbans değerlerinde artışlar meydana gelmiştir.



Şekil 4.32: TL40_72 numunesinin E+L+S enzimli deneyin FTIR analizi.

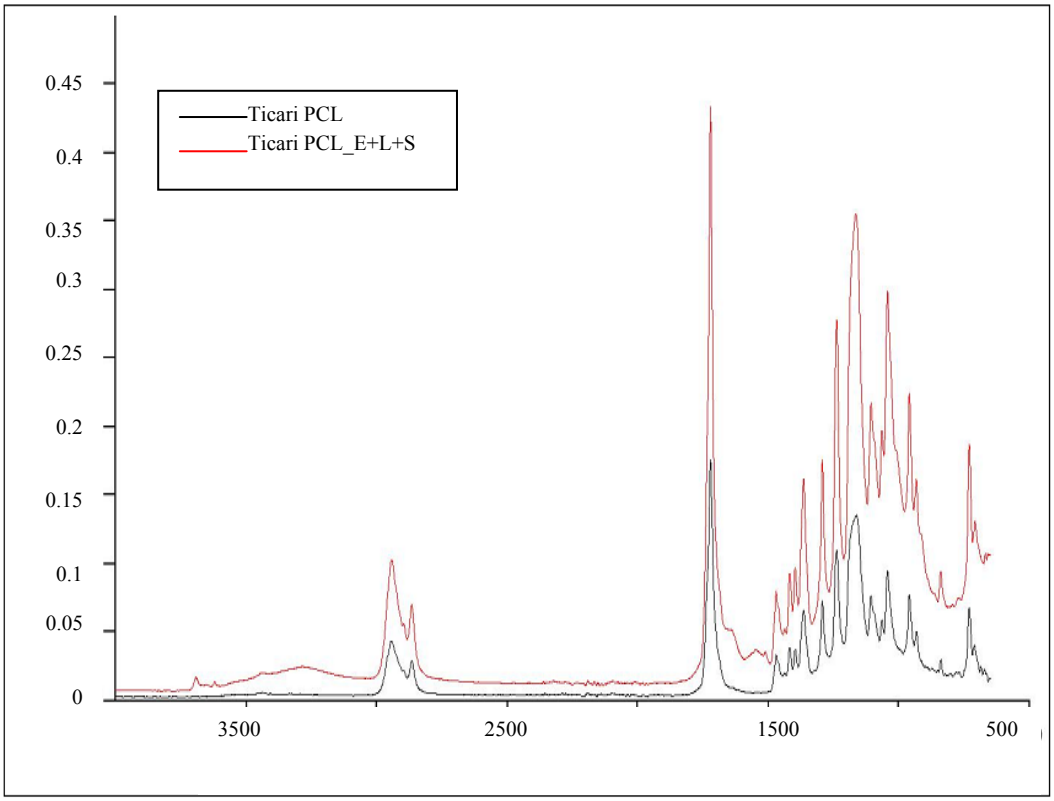
FTIR analiz sonuçları açısından sentez PCL'nin esteraz+lipolaz enzim çözeltili biyobozunma deneyi ile yakın sonuçlar elde edilmiştir. Bağların absorbanslarında meydana gelen yüzdesel artış değerleri sırasıyla, asimetrik CH_2 bağında % 12,5; simetrik CH_2 bağında % 11,7; karbonil bağında (C=O) % 27,0; kristalin fazdaki C-O ve C-C bağları için % 17,0; asimetrik C-O-C bağında % 21,2 ve simetrik C-O-C bağında % 26,6 kadar olmuştur.

Ticari polikaprolakton numunesinin üçlü enzim kokteylindeki biyobozunması ise 15. günün sonunda gerçekleşmiştir. Sentez polimere göre yüzey erozyonuna uğrama süresi daha uzun sürmüştür ve molekül ağırlıklarındaki değişimler daha az olmuştur. GPC analizlerine göre elde edilen veriler sonucunda M_n değerlerindeki değişim % 6,2 ve M_w değerlerindeki maksimum değişim ise % 12,6 kadardır. Üçlü enzim kokteyli içerisinde ticari PCL'nin biyobozunma deneylerinden elde edilen molekül ağırlıklarının zamanla değişimi Çizelge 4.17'de görülmektedir.

Çizelge 4.17: Ticari PCL numunesinin E+L+S enzimli deneyin GPC sonuçları.

Süre (Gün)	M_n	M_w	Polidispersite
0	19.976	28.079	1,4056
6	19.294	26.966	1,3977
7	19.244	24.529	1,2746
10	19.182	27.996	1,4595
14	18.741	27.660	1,4759
15	Dağılma	Dağılma	-

Ticari PCL numunesinin 14. günde alınan biyobozunma örneği ile ilk haldeki polimer numunesinin FTIR analizleri karşılaştırmalı olarak Şekil 4.33'de gösterilmektedir.



Şekil 4.33: Ticari PCL numunesinin E+L+S enzimli deneyin FTIR analizi.

Ticari polikaprolaktonun üçlü enzim kokteylinin FTIR analizinde ise hem bağların absorbanslarında yüksek artış oranları hem de yeni bağ oluşumu görülmektedir. Asimetrik CH_2 bağının absorbans değerinde % 134,4; simetrik CH_2 bağında % 138,8; en güçlü bağ olan C=O bağında % 146,5; kristalin fazdaki C-O ve C-C bağlarında % 141,2; asimetrik C-O-C bağında % 152,9 ve simetrik C-O-C bağında ise % 162,1 oranında artış meydana gelmiştir.

4.4.5 Enzimsiz fosfat tampon çözeltisindeki biyobozunma deneyleri ve sonuçları

Bu deneyler sentez ve ticari polimer numunelerinin enzimsiz ortamda sadece fosfat tampon (FT) çözeltisindeyken hidroliz olup olmadıklarına bakabilmek amaçlı yapılmıştır ve her iki polimer de 56 gün süreyle fosfat tampon çözeltisi içerisinde bekletilmişlerdir. Enzim çözeltili ortama göre polimerler çok daha uzun süre fosfat tampon çözeltisinde bekletilmelerine rağmen hem molekül ağırlıklarında değişimler düşük oranlarda gerçekleşmiş hem de numuneler dağılmamıştır.

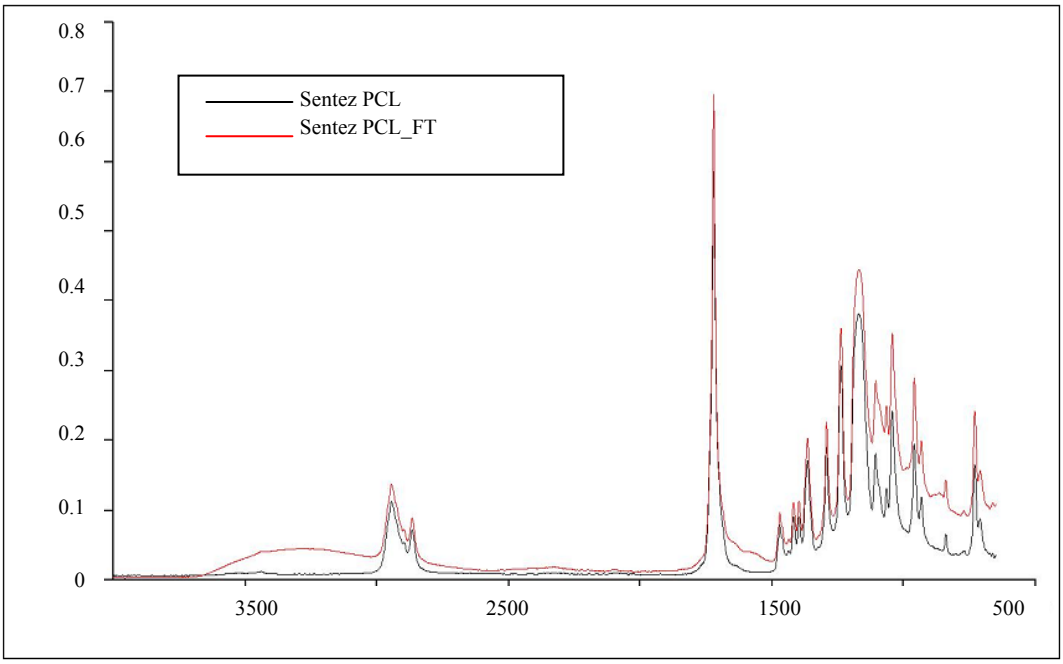
TL40_72 numunesinin fosfat tampon çözeltisinde bekleme süresine bağlı olarak molekül ağırlıklarında meydana gelen değişimler Çizelge 4.18'de yer almaktadır.

Çizelge 4.18: TL40_72 numunesinin enzimsiz fosfat tampon çözeltisindeki deneyin GPC sonuçları.

Süre (Gün)	M_n	M_w	Polidispersite
0	18.114	27.824	1,5361
7	17.913	27.705	1,5467
14	17.774	27.315	1,5367
21	17.556	27.574	1,5707
28	17.512	27.471	1,5688
42	13.898	19.304	1,3890
56	17.728	26.840	1,5140

Çizelge 4.18'in verilerine göre 56 günün sonunda M_n değeri % 2,1 ve M_w değeri ise % 3,5 kadar azalmıştır.

Deney süresi sonundaki numunenin ve deneysiz ilk hallerinin bağ yapılarındaki değişimleri gösteren FTIR analizi Şekil 4.34'te görülmektedir. Analiz sonuçlarına göre bağların hepsinin absorbans değerlerinin arttığı yani sentez polimerin hidroliz reaksiyonuyla bağlarının kimyasal formasyonlarının değişmeye başladığı görülmüştür. Absorbanslardaki artışlar asimetrik CH_2 bağında % 21,9; simetrik CH_2 bağında % 23,8; C=O bağında % 17,1; kristalin fazdaki C-O ve C-C bağlarında % 19,0; asimetrik C-O-C bağında % 17,1; simetrik C-O-C bağında % 16,7 şeklinde meydana gelmiştir. Sentez polikaprolaktonun bağ yapısının en az etkilendiği deney fosfat tampon çözeltisinde gerçekleşmiştir. Özellikle de en güçlü bağ olan C=O bağının absorbans değişiminin en az gerçekleştiği bozunma deneyi budur. Yapısal olarak sentez polikaprolaktonun hidrolize karşı direncinin daha yüksek olduğu ticari polikaprolakton için yapılan deneylerdeki sonuçlarda da görülmüştür.



Şekil 4.34: TL40_72 numunesinin FT çözeltisindeki deneyin FTIR analizi.

Ticari PCL numunesinin fosfat tampon çözeltisinde bekleme süresine bağlı olarak molekül ağırlıklarında meydana gelen değişimler Çizelge 4.19'da yer almaktadır.

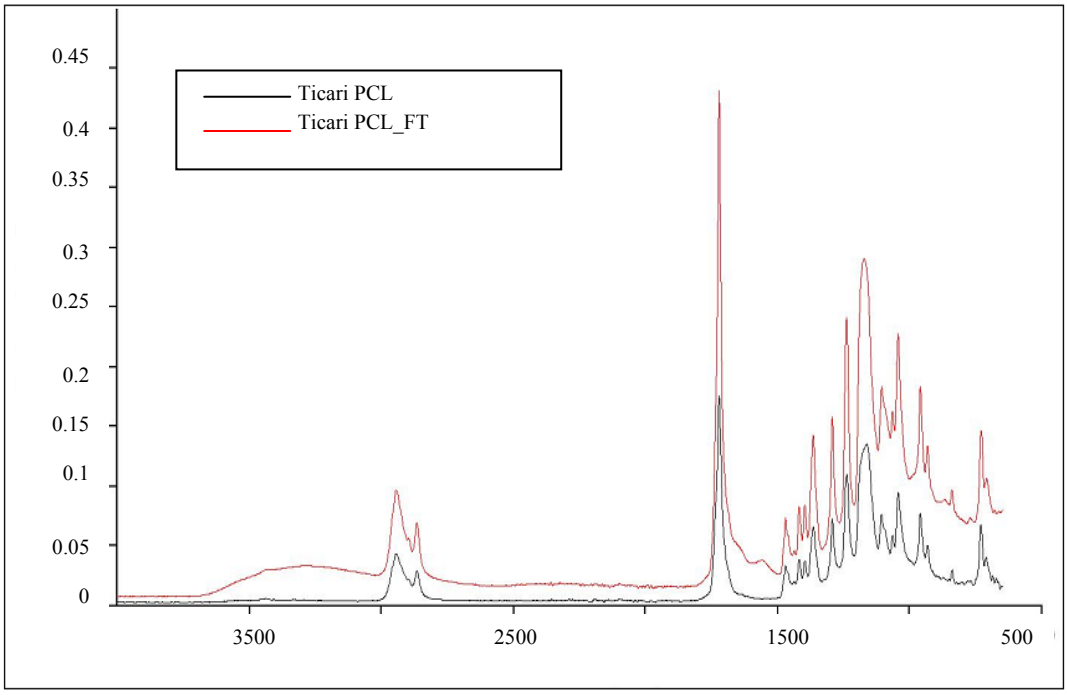
Çizelge 4.19: Ticari PCL numunesinin FT çözeltisindeki deneyin GPC sonuçları.

Süre (Gün)	M_n	M_w	Polidispersite
0	19.976	28.079	1,4056
7	19.870	27.671	1,3926
14	19.844	27.535	1,3876
21	19.200	27.552	1,4349
28	18.826	26.973	1,4327
42	18.281	26.942	1,4738
56	18.259	27.293	1,4948

Ticari PCL numunesinin GPC analizlerine göre 56 günlük sonuçlarda molekül ağırlıklarındaki elde edilen maksimum değişimler M_n için % 8,6 ve M_w için % 4,1 olarak gerçekleşmiştir. Ticari PCL numunesinin deneyden önceki ve deney süresi sonunda bağ yapılarındaki değişimin yer aldığı FTIR analizi Şekil 4.35'de görülmektedir.

Ticari polikaprolaktonun fosfat tampon çözeltisindeki bozunma deneyinde hidrolizin bağ yapılarını daha çok etkilediği görülmektedir. Çünkü bağların absorbanslarındaki artış oranları oldukça yüksek değerlere çıkmıştır ve bazı enzim çözeltili deneylerin

sonuçlarından daha fazla değişim gözlemlenmiştir. Bağların absorbanslarındaki artış oranlarına bakıldığında ise asimetrik CH_2 bağında % 121,2; simetrik CH_2 bağında % 136,4; C=O bağında % 145,0; kristalin bölgedeki C-O ve C-C bağlarında % 117,2; asimetrik C-O-C bağında % 119,8 ve simetrik C-O-C bağında % 114,4 olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.35: Ticari PCL numunesinin FT çözeltisindeki deneyin FTIR analizi.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Diizopropil eter çözücüsü ile yapılan deneylere bakıldığında elde edilen en yüksek M_n ve M_w değerlerinin 80 ^oC ve 60 ^oC sıcaklıklarında birbirine yakın çıktığı ve 40 ^oC sıcaklığındaki deneye göre bu değerlerin daha yüksek oldukları görülmektedir.
Toluen çözücüsünün deneylerinde ise molekül ağırlıkları M_n ve M_w en yüksek değerlerinin büyükten küçüğe sıralanması 40 ^oC, 60 ^oC ve 80 ^oC sıcaklıklarına göre olduğu görülmüştür.

n-hekzan çözücüsü kullanıldığında ise molekül ağırlıklarının büyükten küçüğe doğru dağılımının toluen çözücüsünün tam tersine 80 ^oC, 60 ^oC ve 40 ^oC sıcaklıklarına göre olduğu tespit edilmiştir.

Her üç sıcaklık değeri için bir kıyaslama yapmak gerekirse toluen çözücülü deneylerdeki en yüksek molekül ağırlıklı numunelerin diizopropil eter ve n-hekzan çözücülü deneylere göre M_n ve M_w değerleri daha yüksektir. Yani *Candida antarctica* lipaz katalizörlüğünde ε-kaprolaktonun halka açılması polimerizasyon reaksiyonunu toluen çözücüsünde daha kararlı olmakta ve daha iyi sonuçlar elde edilebilmektedir.

Polidispersite değerlerine bakıldığında n-hekzan çözücüsünün deneylerinde çıkan sonuçlar daha yüksektir. Aynı zamanda en yüksek polidispersite değerine bu çözücünün 40 ^oC sıcaklıktaki 6 saatlik deney süresinin sonunda ulaşılmıştır. 2,02 polidispersite değeri reaksiyonda orantısız sonlanma gerçekleşerek bittiğini göstermektedir.

En düşük polidispersite değeri de yine n-hekzan çözücünde 60 ^oC sıcaklıktaki 17 saatlik deneyde elde edilmiştir. 2 ve 4 saatlik sürelerde ise polidispersite değerleri giderek küçülmekte ve 6 saatlik sürede en düşük değeri olan 1,3619'a ulaşmaktadır.

Yapılan tüm deneylerde lipaz enzimi yüksek aktivite gösterdiği ve elde edilen polimerlerin molekül ağırlıklarının genelde ticari polikaprolaktondan daha yüksek olduğu görülmektedir. Bunun sebebi ise lipaz enziminin hidrofobik yüzey varlığında daha kararlı olması ve daha yüksek aktivite göstermesidir [78]. Kullanılan tüm

çözücüler de hidrofobik oldukları için reaksiyonlarda yüksek dönüşüm oranları ve verim elde edilebilmiştir.

Hidrofobik çözücülerle yapılan ε-kaprolaktonun halka açılması reaksiyonlarından daha yüksek dönüşüm oranları ve molekül ağırlıkları elde edilmesinin bir sebebi de bu çözücülerin ortamdaki suyu alıp uzaklaştırarak enzimi dehidrate etmeleridir [3]. Reaksiyon başladıktan sonra zincirler birbirine eklenerek polimer büyümektedir. Ortamda suyun bulunması reaksiyon zincirlerinde hidrolize neden olduğundan molekül ağırlıklarını düşürücü bir etki yapmaktadır. Hidrofobik çözücüler bunu önlemektedir.

Toluen çözücüsündeki deneyler diizopropil eter çözücüsüne göre daha iyi sonuçlar vermiştir. Bunun sebebi toluenin diizopropil eterden daha yüksek hidrofobiklik değerine sahip olmasıdır [2].

Toluenin n-hekzana göre hidrofobiklik değeri daha düşüktür. Ancak toluen çözücü deneylerde elde edilen veriler daha iyidir. Yani reaksiyon stabilitesinde sadece hidrofobik ortam etkisi değil çözücü türü ve yapısı (apolarlık değeri) da etkilidir [4]. PCL'nin polimerizasyonu iyonsuz çözücülerde daha kararlı ilerlemektedir. Çünkü ortamda bulunan bir iyonun varlığı zincirlerin büyümeden sonlanmasına sebebiyet verebilmektedir. Bu yüzden toluenin apolaritesi n-hekzandan daha yüksek olması polimerizasyon reaksiyonundan elde edilen polimerlerin molekül kütlelerinin daha yüksek olmasında önemli bir etkidir.

n-hekzan ve diizopropil eter çözücülerini karşılaştırmak gerekirse de yapılan deneylerde elde edilen molekül ağırlıkları birbirine yakın çıkmasına rağmen genelde diizopropil eterde elde edilen değerler daha yüksektir. Bunda da diizopropil eterin kaynama noktasının biraz daha yüksek olması ve sudaki çözünürlüğünün de yüksek olmasından ortamdaki suyu daha rahat alabilmesiyle reaksiyon stabilitesini arttırması olarak gösterilebilir.

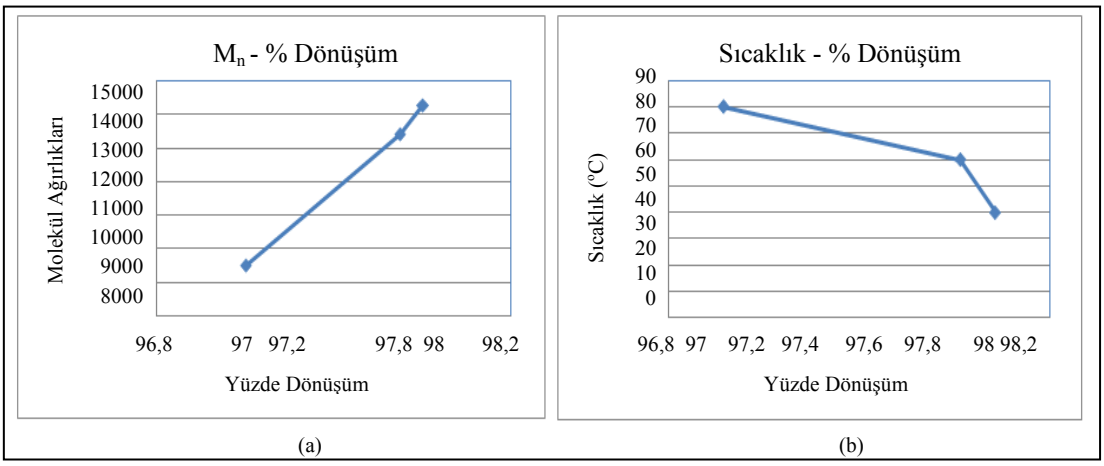
Toluenin her üç sıcaklık değerlerinde elde edilen en yüksek molekül ağırlıklarına bakıldığında ise 40 ^{o}C'de en yüksek değere ulaşırken 60 ^{o}C'de daha düşük bir değerde ve 80 ^{o}C'de en düşük değerde kalmıştır. Ancak 40 ^{o}C'deki en yüksek değerine 72 saatte ulaşabilmişken bu değer 60 ^{o}C'de 24 saate ve 80 ^{o}C'de 2 saate kadar düşmüştür. Yani maksimum noktasına ulaşma durumu sıcaklık süre açısından ters orantılı olmuştur. Yüksek sıcaklıkta dönüşüm hızlıyken molekül ağırlıkları daha düşük; düşük sıcaklıkta ise dönüşüm daha yavaşken elde edilen molekül ağırlıkları

daha yüksektir. Bu değerler n-hekzan çözücüsü için 80 ^{o}C'de ve 60 ^{o}C'de 6 saat iken 40 ^{o}C'de 72 saat; diizopropil eter çözücüsünde ise 80 ^{o}C'de 24 saat iken 60 ^{o}C'de ve 40 ^{o}C'de 17 saattir.

Genel olarak deneylerde elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında M_n ve M_w değerlerinin zamanla değişim grafikleri her zaman bir maksimum noktasından sonra azalma eğilimine girmektedir. Yani polimerizasyon reaksiyonu belirli bir aşamadan sonra bozulmaya başlamakta ve polimerlerin molekül ağırlıklarında azalma gözlemlenmektedir. Bu bozulmada sıcaklığın polimer yapısı üzerinde artan süreyle beraber bozunma etkisi yapması ve *Candida antarctica* lipaz enziminin polimer numunelerini sentezlemekten çok hidroliz etmeye başlaması gösterilebilir.

Sentez numunelerin FTIR analizlerinin ışığı absorbe etme yüzdeleri daha yüksek çıkmıştır. Özellikle diğer bağlardan daha güçlü olan C=O bağlarının % T değerleri ticari polikaprolaktonun analiz sonucuna göre oldukça farklılık göstermektedir. Bu durum bağların gerilme kuvvetlerinin (tensile strength) sentez numunelerde daha kuvvetli olduklarını göstermektedir [79]. Daha güçlü bağ yapılarının olması polimerin kullanım esnasında dayanımının daha yüksek olmasına olanak tanımaktadır. Özellikle de biyolojik uygulamalardaki kullanımlarda polimerler için yüksek dayanım gerektirmesi yukarıdaki yöntemlerle sentezlenen polikaprolaktonlar açısından bir sorun yaratmayacaktır.

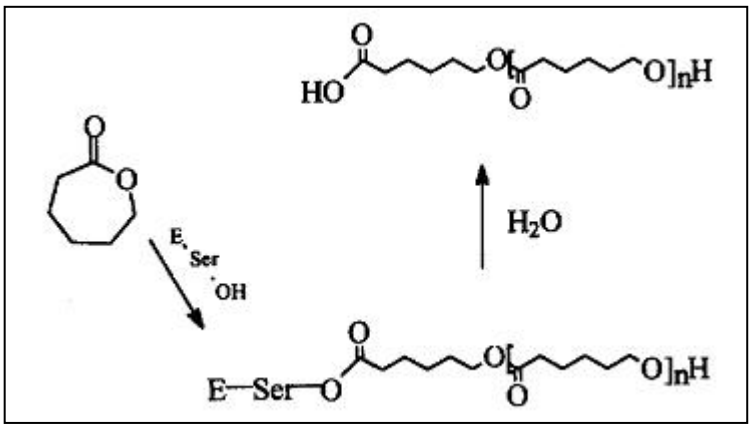
Deneylerin FTIR ve ^{1}H NMR analizlerinden elde edilen tüm veriler polimer numunelerinin lineer yapıda, homopolimer olan polikaprolaktonun olduğunu ispatlamaktadır [2, 26, 28, 80, 81]. Dönüşüm oranlarının artması molekül ağırlıklarının da artmasını beraberinde getirmiştir. Bu sebeple en yüksek dönüşüm oranı molekül ağırlığı en yüksek olan polikaprolakton numunesinde elde edilmiştir. Reaksiyon süresinin artması dönüşüm oranlarını arttırmıştır fakat 17 saatlik süreden 72 saatlik süreye kadar bu artım ancak % 0,1 kadar olabilmiştir. Bunun yanında n-hekzan çözücüsünde elde edilen dönüşüm oranı da diizopropil eter deneyindeki yüzdesel dönüşüme oldukça yakındır. Sürenin 6 saat gibi kısa bir zaman olmasına rağmen dönüşümün bu kadar yüksek çıkmasında sıcaklık etkili olmuştur. Yani dönüşüm oranında yüksek sıcaklık değeri hızlı artım sağlamaktadır [2]. Aşağıda Şekil 5.1'de sıcaklık ve M_n değerlerinin dönüşüm üzerine etkisi daha net görülmektedir.



Şekil 5.1: Yüzde dönüşümün M_n ve Sıcaklıkla Değişim Grafikleri
(a) Mn - % Dönüşüm **(b)** Sıcaklık - % Dönüşüm.

Yüksek dönüşüm oranı gerçekleşmesine rağmen düşük molekül ağırlığı çıkması da yine yüksek sıcaklık değerinden kaynaklanmıştır. Bundaki sebepte yüksek sıcaklığın molekül ağırlığı üzerinde yüzde dönüşümden daha fazla etkili olması gösterilebilmektedir.

NMR sonuçlarından elde edilen bir diğer veriyse metalik katalizörlerle yapılan polimerizasyon reaksiyonlarında polimerizasyonun sonlanma aşamasında polimer zinciri bir metal atomunun gelmesiyle bitmektedir. Yani homopolimer yapılı polikaprolaktonda safsızlıklar oluşmaktadır. Ancak *Candida antarctica* lipaz enzimli polimerizasyonda zincir sonlandırılması Şekil 5.2'de görüldüğü gibi sadece hidrojen atomlarıyla gerçekleştirilmektedir. Bu da polimerde kontaminasyonu önlemektedir ve biyolojik uygulamalar için önemli bir artı değer sağlamaktadır.



Şekil 5.2: Enzim-monomer kompleksi ve sonlanma aşaması.

DSC analizleri sayesinde sentez polikaprolakton numunelerinin termal davranışları tespit edilebilmiştir. Literatürde yapılan araştırmalarda polikaprolaktonun artan polimerizasyon süresi ve molekül ağırlıklarıyla camsı geçiş sıcaklığı T_g değerinin

yükseldiği açığa çıkarılmıştır [82]. Yapılan analizler de bunu kanıtlar niteliktedir. En yüksek M_n değerine ve dönüşüm oranına sahip polikaprolakton numunesi olan TL40_72 polimerinin T_g sıcaklık değeri de en yüksek çıkmıştır. Ayrıca erime sıcaklığı Tm değerinin de artan kristaliniteyle beraber yükseldiği ancak kristalinitenin artmasının molekül ağırlıklarına ters etki yaptığı tespit edilmiştir [70, 83]. DSC analizlerinden elde edilen T_m sıcaklık değerleri ve erime entalpilerinden hesaplanan polimerlerin yüzde kristalin değerleri hesaplandığında literatürdeki verilerle paralel sonuçlar alınmıştır. Yapılan üç DSC analizi içerisinde en yüksek molekül ağırlıklı polikaprolaktonun en düşük T_m ve dolayısıyla en düşük yüzde kristaliniteye sahip olduğu görülürken molekül ağırlıklarının giderek azalmasıyla T_m değerleri yükselmekte ve polimer içerisindeki kristal fazda artış olduğu görülebilmektedir. Nitekim en yüksek T_m sıcaklığı ve erime entalpisine bağlı olarak yüzde kristal değeri DSC analizi yapılan numuneler içerisinde en düşük molekül ağırlıklı diizopropil eter çözücülü deneyin numunesinde ortaya çıkmıştır.

Biyobozunma deneyleri için molekül ağırlıklarındaki farklı oranlarda değişimler enzimlerin bağlara işleme ve katalizleme oranlarının farklılığından, sentez polimer ve ticari polimerin her ikisi de homopolimer olmasına rağmen oluşan farklılık ise kristaliniteleri arasındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır. Kristalinitelerin farklılığı polimer zincirlerinin hidrolizini azalttığından çözeltideki enzim de zincirlerin kırılabilirliğine yeterince etki edememektedir. Sentez polikaprolaktonun erime sıcaklığı T_m'in ticari polikaprolaktona göre düşük olması yapısında kristalin bölgenin daha az olduğunu göstermektedir. Polimerlerin aynı enzim çözeltilerinde dağılma sürelerindeki farklılıklar ve bağların absorbanslarıyla molekül ağırlıklarındaki yüzdesel değişimlerdeki farklılıklarda sentez mekanizmalarının değişikliği kadar kristalinitelerin farklılığı da etkili olmuştur.

Enzim çözeltili deneylerde lipolaz enziminin olduğu tüm çözeltilerde polimerler bir süre sonra dağılırken sadece esteraz enzim çözeltisinin olduğu durumda polimerler 60 gün boyunca dağılmadan kalmıştır. Ancak esteraz enzim çözeltisi deneyleri polimerlerin dağılmasına neden olmasa da özellikle de sentez polikaprolaktonun molekül ağırlıklarında en fazla azalmanın sağlandığı deneyler olmuştur. Bozunma süreçlerinde polimer türü kadar enzim türü de önemli bir etkendir. Aynı sınıf iki enzim olmasına rağmen lipolaz ve esteraz enzimlerinin bozunma deneylerinde hem

molekül ağırlıklarındaki değişimler hem de bağ yapılarının değişim oranları oldukça farklı çıkmıştır.

Tüm biyobozunma deneylerinde molekül ağırlıklarının ölçümlerinde meydana gelen dalgalanmalar bozunmayla beraber polimerin yapısında oluşan değişimler olarak gösterilebilir. Çünkü polimer bozunmaya başladıkça zincir uzunluğu azalmakta ve buna bağlı olarak amorf/kristalin oranı, su geçirgenliği ve enzimin difüze olma hızı da değişmektedir [2,68].

Enzimsiz sadece fosfat tampon çözeltisiyle yapılan deneylerde hidroliz işlemi incelenmiştir. Sentez polikaprolakton daha iyi biyobozunur olmasına rağmen fosfat tampon çözeltisinde M_n ve M_w değerlerindeki azalma yüzdeleri daha düşük çıkmıştır. Bu durum hidrolitik bozunmaya sentez polimerin daha dayanıklı olduğunu göstermektedir. Polimerlerin ilk hallerinin FTIR analizlerinde sentez polikaprolaktonun bağlarının absorbans değerlerinin ticari polikaprolaktonun absorbanslarına göre daha yüksek çıkması hidrolitik bozunmadaki dayanıklılığın sebebidir. Özellikle de hidrolitik bozunmaya yüksek direnç gösteren bağlar olan kristalin fazdaki C-O ve C-C bağları ile güçlü C=O bağlarının absorbanslarının yüksek olması bu farkı ortaya çıkarmıştır.

Enzimsiz fosfat tampon çözeltili bozunma deneylerinden çıkarılacak bir diğer sonuçta sentez polikaprolaktonun hidrolitik dayanımının ticari polikaprolaktonunkinden daha yüksek olduğudur. Bu durum özellikle de yüksek su dayanımı gerektiren biyolojik uygulamalarda sentez polikaprolaktona önemli ölçüde avantaj sağlayabilir.

Biyobozunma deneylerinde FTIR analizleri, bozunma ürünleri ile normal haldeki polikaprolakton numunelerinin spesifik dalga boyuna karşılık gelen bağlardaki değişimi görmek amacıyla kullanılmıştır. Elde edilen verilere ve literatür çalışmaları incelendiğinde bozunma ürününün analiz sonucunda yeni pik oluşumu veya ilk haldeki yapının piklerinin yok olması durumu polimerin kimyasal olarak değiştiğinin ve bozunduğunun göstergesi; bağların absorbans değerlerinde meydana gelen azalma ise bağ kuvvetlerinin zayıfladığının göstergesi olarak kabul edilmektedir [79,84-87]. Ayrıca yine aynı kaynaklarda piklerin absorbans değerlerinde yükselme meydana gelmesi de bağların formasyonlarının değiştiğinin ve kimyasal yapılarının dönüşüme uğramaya başladığının kanıtı olarak gösterilmektedir [79,84-87]. Bu yorumlamalara göre sentez polikaprolaktonun lipolaz enzimli ve esteraz enzimli biyobozunma

deneyinin (simetrik CH_2 bağı hariç) tüm bağlarında absorbans değerleri artmıştır. Bu değişim bağların sadece molekül ağırlıklarının değil aynı zamanda polimerin yapısının da dönüşüme uğradığını göstermektedir. Aynı etki ticari polikaprolaktonun sadece fosfat tampon çözeltili bozunma deneyi de dahil olmak üzere tüm enzim çözeltilerindeki biyobozunma deneyleri sonucunda bağların absorbanslarında artış görülmüştür.

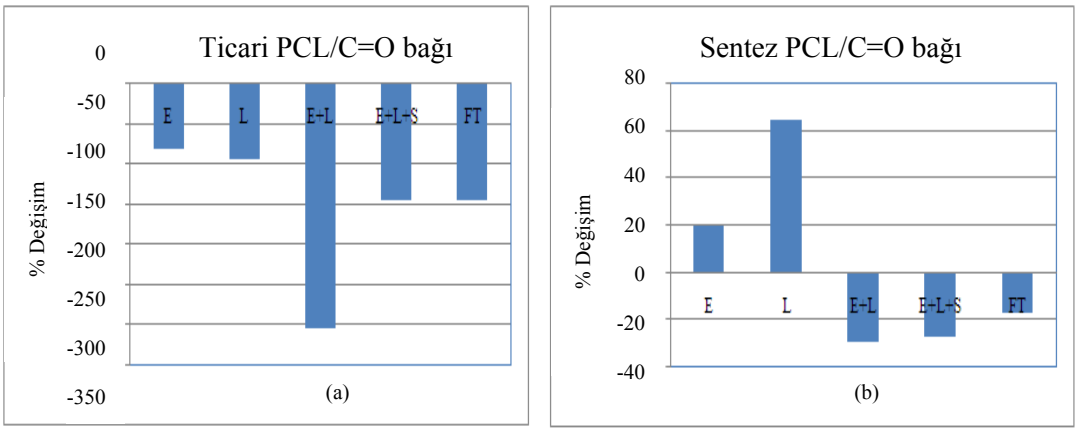
Fosfat tampon çözeltilerine enzim ilavesi hem ticari polikaprolakton hem de sentez polikaprolakton için bağların hidrolitik bozunmasını yavaşlatmış gibi görünmesine rağmen enzimler polimerlerin bağlarını parçalayıp ayrıştırdığından dolayı molekül ağırlıklarındaki düşüş hızlanmıştır.

Polimerlerin bozunması bulk bozunma veya yüzey deformasyonu şeklinde gerçekleşmektedir [65,69]. Bulk bozunmada molekül ağırlıklarında azalma ve bağların kopmasıyla oluşan kütle kayıpları oluşurken, yüzey deformasyonunda ise molekül ağırlıkları değişmezken sadece polimer kütlesinde bir azalma görülür ve bağlarda değişim oranları çok az olur. Sentez polimerin enzimatik bozunmasında molekül ağırlıkları önemli miktarlarda değişime uğramıştır. Ticari polikaprolakton içinse molekül ağırlıklarındaki azalmalar daha düşük oranlarda kalsa da FTIR analizlerine göre bağlarındaki değişim oranları daha yüksek çıkmıştır. Bu sonuçlara göre tüm deneylerde bulk bozunma gerçekleştiği görülmüştür.

Polikaprolaktonun FTIR sonuçlarında en çok dikkat edilen bağlar karbonil (C=O) ve kristalin bölgedeki C-O ve C-C bağlarıdır [88]. FTIR sonuçlarından elde edilen bir diğer veri ise polikaprolaktonun en güçlü bağı olan C=O bağında absorbans değerleri hep değişmiştir. Yine zor bozunan kristalin fazdaki C-O ve C-C bağlarında ise değişimler olduğu görülmüştür.

Sentez polikaprolaktonda sadece lipolaz enzimli çözeltide bağların absorbansları artmıştır; diğer tüm çözeltilerde ticari polikaprolaktonun da bozunma deneyleri dahil olmak üzere bağın absorbans değeri artarak yapısında değişim meydana gelmektedir. Özellikle de ticari polikaprolaktonun daha çok etkilenmesi ilk hallerindeki bağ yapısının yani absorbans kuvvetlerinin sentez polikaprolaktonunkinden düşük olmasıdır. Ayrıca burada sentez mekanizması farklılığı da lipolaz enzim çözeltisinde meydana gelen farklılığın sonucu olarak görülebilmektedir.

Şekil 5.3'te görüldüğü gibi polimerlerin C=O bağının absorbanslarında meydana gelen maksimum değişim oranları enzim çözeltilerine göre ve polimer türüne göre oldukça farklılık göstermektedir.



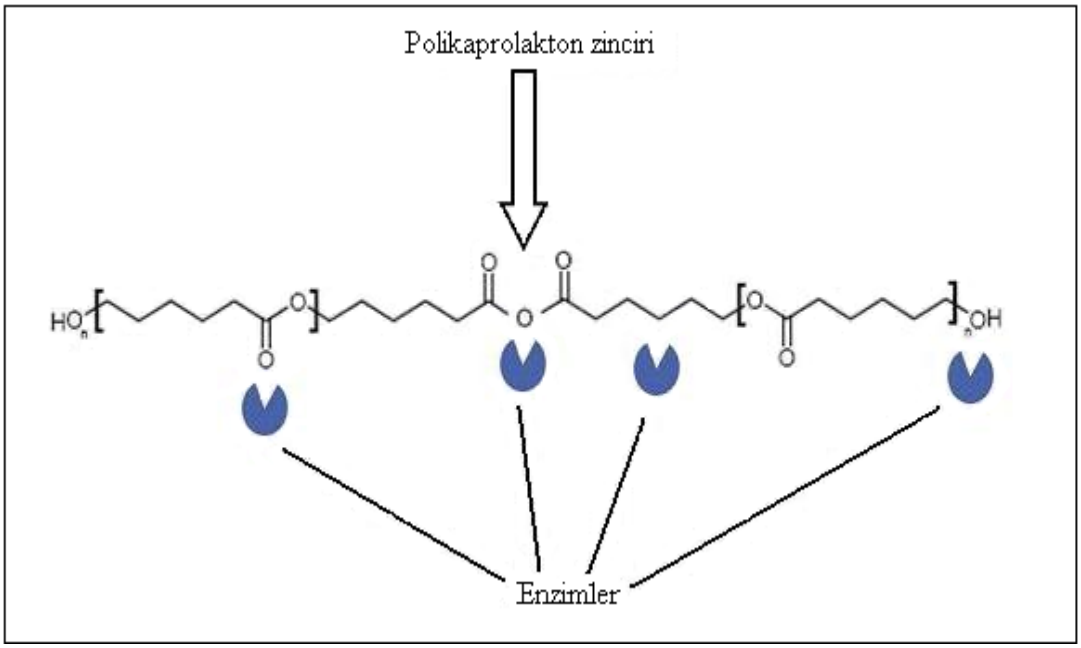
Şekil 5.3: Polimerlere göre C=O bağının absorbans değişimleri
(a) Ticari PCL **(b)** Sentez PCL.

Diğer bağlardaki değişimler ise absorbans değerlerinin azalması bağlar arasındaki kuvvetin azaldığını göstermektedir. Her üç enzim de hidrolaz sınıfı enzimdir ve enzim kokteyllerinin tekli enzim çözeltileri (özellikle de lipaz enzimli çözeltiye göre) bozunma süreleri dahil daha kısa sürmesi beklenirken tam tersi olmuştur. İkili ve üçlü enzim kokteyllerinde tekli enzim çözeltilerine ve birbirlerine kıyasla hem molekül ağırlıklarındaki azalma oranlarının hem de bağların absorbanslarındaki değişimlerin farklı çıkması enzimlerin bağları katalizlemek için birbirleriyle yarıştığını göstermektedir. Bu sebeple bozunma sürelerinin, molekül ağırlıklarındaki azalma miktarlarının ve bağların absorbanslarındaki değişim oranlarının farklılığı enzimlerin birbirlerini engelledeklerini şeklinde yorumlanabilmektedir.

Biyobozunma deneyleri kimyasal bozunmanın bir çeşidi olan enzimatik bozunma yapılarak gerçekleştirilmiştir [65, 69, 89]. Sentez mekanizmasında olduğu gibi bozunma mekanizmasında da enzimin spesifikliği söz konusu olmuştur. Lipaz enzimi ile yapılan deneylerin hepsinde dağılma gerçekleşmiştir. Esteraz enzimi ise tek başına kullanıldığında polimeri tamamen dağıtacak kadar etki yapmamakla birlikte molekül ağırlıklarında ve bağ yapılarında önemli deformasyonlar gerçekleştirebilmiştir. Savinaz enziminin deneylerinde ise GPC analizlerine göre molekül ağırlıklarındaki değişim oranlarını arttırmış ve dağılma süreleri üçlü enzim kokteylinde ikili enzim kokteyline göre daha kısa sürede gerçekleşmiştir. Ayrıca tekli lipaz enzim çözeltili biyobozunma deneyi üçer defa ve lipaz+esteraz ile

lipaz+esteraz+savinaz enzim kokteyllerinin biyobozunma deneyleri ikişer defa tekrarlanmıştır. Yapılan tüm deneylerde aynı süre sonunda polimer numunelerinin dağıldıkları görülmüştür.

Gerek GPC gerekse de FTIR analizleri enzim çözeltilerine göre polimerin farklı bağları daha çok veya daha az etkilenmiştir. Şekil 5.4'te bir polikaprolakton zincirine enzimin saldırıp bağları kırması gösterilmektedir.



Şekil 5.4: Polikaprolakton bağlarına enzimlerin etkisi.

Şekil 5.4'te polimerin enzimlerle sarılması ve bağlarının koparılarak bozunmanın sağlanması örneklenmektedir. Biyobozunma deney sonuçlarına bakıldığında lipolaz ve esteraz enzimlerinin C=O ve C-O-C bağlarında etkili oldukları; savinaz enziminin ise polimerin dağılması süresini kısalttığı için zincirler arasındaki C-O bağlarında etkili oldukları söylenebilmektedir.

Bozunmaların daha net anlaşılabilmesi için son ürünlerin GC-MS analizlerinin yapılarak ortamda oluşan bozunma ürünlerinin analizleri yapılabilir. Böylece polimerin ne kadarının monomer ve oligomerlerine parçalandığının tespiti yapılabilir [69]. Yine yapılabilecek bir diğer analiz bozunma son ürünlerinin termal ve mekanik davranımlarında (DSC ve DMA analizleriyle) ne gibi değişimler ve farklılaşmalar olduğunun analiz edilmesi olabilir [84,90-92]. Çünkü polimerlerin bozunması amorf bölgede daha fazla olduğu için yapılacak DSC analizlerinde T_g ve T_m sıcaklıkları ve yüzdesel kristallikleri değişecektir. Ayrıca biyobozunma deneyleri sonrası polimerin termal mekanik analizlerinin yapılmasıyla bozunma sonrası elastik yapısındaki ve darbe dayanımlarındaki da değişecektir.

Biyobozunma deneylerinden çıkan tüm sonuçlar analiz edildiğinde sentez numunenin daha kolay biyobozunabilir olduğu çok açık bir şekilde görülmüştür. Bu durum polimerin ilaç kapsül maddesi olarak veya ameliyat ipliklerinde kullanılması açısından gayet uygun olduğu sonucunu desteklemektedir. Ayrıca bağ yapısı sentez polikaprolaktonun ticari polikaprolaktona göre daha güçlü olması, erime sıcaklığı (T_m) daha düşük olduğu için kolay şekillenebilir olması gibi avantajlarının yanı sıra biyobozunurluk özelliğinin de daha iyi olması bir başka artısıdır. Polimerlerin doğaya atıldıklarında çevre açısından herhangi bir sorun yaratmadan çok daha düşük molekül ağırlıklı yapılara bozunarak doğaya tekrar karışmaları istenmektedir [93-96]. O yüzden sentez polikaprolakton molekül ağırlığının büyük bir bölümünü biyobozunma ile kaybedebildiği için aynı zamanda çevre dostu bir polimer olma özelliğine de sahiptir.

Ticari polikaprolaktonun bozunması sentez polikaprolaktona göre daha yavaş olmuştur ve hem molekül ağırlıklarındaki değişim oranları daha düşük kalmıştır hem de FTIR analizlerinde de görüldüğü gibi bağ yapılarında önemli ölçüde değişim gözlemlenmemiştir. Bunun başlıca sebebi olarak sentetik polimerde bozunmanın zincir sonlarından başlarken sentez polimerde herhangi bir noktadan başlayabilmesidir. O yüzden sentetik polimerlerin biyolojik bozunmaları daha yavaş gerçekleşmektedir. Ayrıca sentez polikaprolakton numunesinin molekül ağırlığı daha yüksek olmasına rağmen biyobozunma hızı azalacağı yerde daha hızlı gerçekleşmesinin bir diğer sebebi de bu polimerin enzimle sentezlenmesidir. Yani biyolojik yolla sentezlenmesi polimerin biyobozunurluğunda pozitif bir etki yapmıştır.

Reaksiyonlarda katalizör olarak immobilize lipaz enziminin kullanılmasının sebebi metalik katalizörlerin biyouyumlulukta yarattığı sorunu ortadan kaldırmasıdır. İmmobilize enzimler protein temelli olduklarından ve reaksiyon ortamından tamamen çekilebildiğinden son ürünün safsızlığını olumsuz etkileme gibi bir riskleri yoktur. İmmobilize olduklarından birden fazla defa kullanılabilme avantajları da vardır. Ayrıca *Candida antarctica* lipaz enzimi endüstriyel uygulamalar da dahil olmak üzere birçok farklı sıcaklıkta ve farklı organik çözücülerde diğer polimerizasyon işlemlerine kıyasla çok daha yüksek aktivite değerlerine sahiptir [97]. Bu da *Candida antarctica* lipazın bir diğer önemli artısıdır.

Yine sentez reaksiyonları için yapılabilecek bir başka öneri ise literatürde yapılan benzer bir çalışmada enzim/substrat miktarlarının arttırılması reaksiyon sonunda elde edilen polikaprolaktonun molekül ağırlığını da arttırmıştır [2]. Yapılan çalışmalara ek olarak en yüksek M_n ve M_w değerlerinin elde edildiği deney olan 40 ^oC sıcaklıktaki toluen çözücüsünün 72 saatlik süredeki çalışmada literatürdekine benzer olarak endüstriyel ortamdaki üretim miktarlarına yakın miktarların molekül ağırlıklarını ne kadar arttırabileceğine bakılabilir. Böylece büyük çaptaki üretim durumunda oluşan ürünle maliyet değerlendirmesi yapılarak buradan optimum üretim koşullarına geçiş yapılabilir.

Biyobozunma deneyleri için yapılabilecek öneriler ise farklı çalışma ortamları ve farklı enzim türlerinin denenebileceğidir. Yapılan çalışmada biyobozunma deneyleri 37 ^oC ve pH 7.4 iken gerçekleştirilmiştir. Literatürde yapılan araştırmalarda polikaprolaktonun farklı pH ve sıcaklık değerlerinde, organik çözücülerin kullanıldığı ortamda ve farklı enzim çözeltilerinde biyobozunma oranlarına bakıldığı görülmüştür [65-67]. Ayrıca bir diğer önemli biyobozunma deneyi olan polimerin doğal ortamdaki bozunurluğunun araştırıldığı toprak ve gübre karışımlarının içerisinde bozunma mekanizması da araştırılabilir [70, 98, 99]. Farklı pH derecelerinde hazırlanacak çözeltilerle de polimerlerin yapılarında ve molekül ağırlıklarındaki değişimlere bakılabilir. Çünkü özellikle biyolojik uygulamalarda in vivo ortamda polimerler çok farklı pH değerlerine maruz kalabilmektedir. Bu yüzden hem sentez hem de ticari polikaprolaktonun asidik ve bazik ortamlardaki bozunma deneylerinin modellenmesi yapılarak karşılaştırmalı sonuçlar elde edilip değerlendirilebilir [100]. Yine yapılan deneysel çalışmadaki aynı polimerizasyon reaksiyonlarında polikaprolaktonun farklı yapılardaki harmanlarından veya kopolimerlerinden üretilen numunelerin de biyobozunurlukları incelenebilir [64, 65, 68, 71, 101].

KAYNAKLAR

[1] **Bedri, T.E.,** 2006. Synthesis of miktoarm star polymers via combination of controlled polymerızation systems, *Doktora Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[2] **Kumar, A., Gross, R.A.,** 2000. *Candida antartica* lipase B catalyzed polycaprolactone synthesis: effects of organic media and temperature, *Biomacromolecules*, **1**, 133-138.

[3] **Li, Q., Li, G., Yua, S., Zhanga, Z., Maa, F., Feng, Y.**, 2011. Ring-opening polymerization of ε-caprolactone catalyzed by a novel thermophilic lipase from *Fervidobacterium nodosum*, *Process Biochem*, **46**, 253-257.

[4] **Marcilla, R., De Geus M., Mecerreyes, D., Duxbury, C.J., Koning, C.E., Heise, A.**, 2006. Enzymatic polyester synthesis in ionic liquids, *European Polymer Journal*, **42**, 1215-1221.

[5] **Albertsson, A.C., Srivastava, R.K.**, 2008. Recent developments in enzyme-catalyzed ring opening polymerization, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **60**, 1077-1093.

[6] **Joris W. Peeters, J.W., Van Leeuwen, O., Palmans, A.R.A., Meijer, E.W.**, 2005. Lipase-catalyzed ring-opening polymerizations of 4-substituted ε-caprolactones: mechanistic considerations, *Macromolecules*, **38**, 5587-5592.

[7] **Van Natta, F.J., Hill, J.W., Carruthers, W.H.,** 1934. Polymerization and ring formation, ε-caprolactone and its polymers, *Journal of American Chemistry Society*, **56**, 455-459.

[8] **Woodruff, M.A., Hutmacher, D.W.,** 2010. The return of a forgotten polymer-polycaprolactone in the 21st century, *Progress in Polymer Science*, **35**, 1217-1256.

[9] **Chasin, M., Langer, R.,** 1990. *Biodegradable Polymers as Drug Delivery Systems*, Marcel Dekker, New York.

[10] **Ashton, H., Mertz, J.A.M., Harper, J.L., Slepian, M.J., Mills, J.L., McGrath, D.V., Vande Geest, J.P.,** 2011. Polymeric endoaortic paving: Mechanical, thermoforming, and degradation properties of polycaprolactone/polyurethane blends for cardiovascular applications, *Acta Biomaterialia*, **7**, 287-294.

[11] **Sarasam, A., Madihally, S.V.,** 2005. Characterization of chitosan–polycaprolactone blends for tissue engineering applications, *Biomaterials*, **26**, 5500-5508.

[12] **Neves, S.C., Teixeira, L.S.M., Moroni, L., Reis, R.L., Van Blitterswijk, C.A., Alves, N.M., Karperien, M., Mano, J.F.,** 2011.

Chitosan/Poly(ε-caprolactone) blend scaffolds for cartilage repair, *Biomaterials*, **32**, 2068-1079.

[13] **Sahoo, S., Sasmal, A., Nanda, R., Phani, A.R., Nayak, P.L.,** 2010. Synthesis of chitosan–polycaprolactone blend for control delivery of ofloxacin drug, *Carbohydrate Polymers*, **79**, 106-113.

[14] **Pierre Villeneuve, P., Muderhwa, J.M., Graille, J., Haas, M.J.,** 2000. Customizing lipases for biocatalysis: a survey of chemical, physical and molecular biological approaches, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, **9**, 113-148.

[15] **Maruyama, T., Noda, S., Kamiya, N., Goto, M.,** 2003. Ring-opening polymerization of lactones catalyzed by surfactant-coated lipases in organic solvents, *Journal of Chemical Engineering Japan*, **36**, 307-312.

[16] **Contreras, J., Vivas, M.,** 2003. Ring-opening polymerization of e-caprolactone initiated by diphenylzinc, *European Polymer Journal*, **39**, 43-47.

[17] **Kowalski, A., Libiszowski, J., Majerska, K., Duda, A., Penczek, S.,** 2007. Kinetics and mechanism of ε-caprolactone and L,L-lactide polymerization coinitiated with zinc octoate or aluminum acetylacetonate: The next proofs for the general alkoxide mechanism and synthetic applications, *Polymer*, **48**, 3952-3960.

[18] **Dobrzynski, P.,** 2007. Mechanism of ε-caprolactone polymerization and ε-caprolactone/trimethylene carbonate copolymerization carried out with $Zr(Acac)_4$, *Polymer*, **48**, 2263-2279.

[19] **Liu, J., Ling, J., Li, X., Shen, Z.,** 2009. Monomer insertion mechanism of ring-opening polymerization of ε-caprolactone with yttrium alkoxide intermediate: A DFT study, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, **300**, 59-64.

[20] **Piao, L., Deng, M., Chen, X., Jiang, L., Jing, X.,** 2003. Ring-opening polymerization of ε-caprolactone and L-lactide using organic amino calcium catalyst, *Polymer*, **44**, 2331-2336.

[21] **Zhang, L., Niu, Y., Wang, Y., Wang, P., Shen, L.,** 2008. Ring-opening polymerization of ε-caprolactone by lanthanide tris(2,4,6-tri-tert-butylphenolate)s: Characteristics, kinetics and mechanism, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, **287**, 1-4.

[22] **Oh, J.M., Lee, S.H., Son, J.S., Khang, G., Kim, C.H., Chun, H.J., Min, B.H., Kim, J.H., Kim, M.S.,** 2009. Ring-opening polymerization of ε-caprolactone by poly(propyleneglycol) in the presence of a monomer activator, *Polymer*, **50**, 6019-6023.

[23] **Coulembier, O., Degee, P., Hedrick, J.L., Dubois, P.,** 2006. From controlled ring-opening polymerization to biodegradable aliphatic polyester: especially poly(beta-malic acid) derivatives, *Progress in Polymer Science*, **31**, 723-747.

[24] **Schwach, G., Coudane, J., Engel, R., Vert, M.,** 1996. Zn lactate as initiator of DL-lactide ring opening polymerization and comparison with Sn octoate, *Polymer Bulletin*, **37**, 771-776.

[25] **Sha, K., Qin, L., Li, D., Liu, X., Wang, J.,** 2005. Synthesis and characterization of diblock and triblock copolymer by enzymatic ring-opening polymerization of ε-caprolactone and ATRP of styrene, *Polymer Bulletin*, **54**, 1-9.

[26] **Cordova, A., Iversen, T., Hult, K., Matrinelle, M.,** 1998. Lipase-catalyzed formation of macrocycles by ring-opening polymerization of ε-caprolactone, *Polymer*, **39**, 6519-6524.

[27] **Loeker, F.C., Duxbury, C.J., Kumar, R., Gao, W., Gross, R.A., Howdle, S.M.,** 2004. Enzyme-catalyzed ring-opening polymerization of ε-caprolactone in supercritical carbon dioxide, *Macromolecules*, **37**, 2450-2453.

[28] **Kerep, P., Ritter, H.,** 2006. Influence of microwave ırradiation on the lipase-catalyzed ring-opening polymerization of ε-caprolactone, *Macromolecular Rapid Communication*, **27**, 707-710.

[29] **Cordova, A., Iversen, T., Hult, K., Matrinelle, M.,** 1999. Lipase-catalyzed formation of end-functionalized poly(e-caprolactone) by initiation and termination reactions, *Polymer*, **40**, 6709-6721.

[30] **Deng, F., Gross, R.A.,** 1999. Ring-opening bulk polymerization of ε-caprolactone and trimethylene carbonate catalyzed by lipase Novozym 435, *International Journal of Biological Macromolecules*, **25**, 153-159.

[31] **Albertsson, A.C., Varma, I.K.,** 2003. Recent developments in ring opening polymerization of lactones for biomedical applications, *Biomacromolecules*, **4**, 1466-1486.

[32] **Gaucher, G., Dufresne, M.H., Sant, V.P., Kang, N., Maysinger, D., Leroux, J.C.,** 2005. Block copolymer micelles: preparation, characterization and application in drug delivery, *Journal of Controlled Release*, **109**, 169-188.

[33] **Zhang, S., Uludağ, H.,** 2009. Nanoparticulate systems for growth factor delivery, *Pharmaceutical Research*, **26**, 1561-1580.

[34] **Middleton, J.C., Tipton, A.J.,** 2000. Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices, *Biomaterials*, **21**, 2335-2346.

[35] **Alani ,A., Knowles, J.C., Chrzanowski, W., Ling Ng, Y., Gulabivala, K.,** 2009. Ion release characteristics, precipitate formation and sealing ability of a phosphate glass–polycaprolactone-based composite for use as a root canal obturation material, *Dental Materials*, **25**, 400-410.

[36] **Jones, D.S., Djokic, J., McCoy, C.P. , Gorman, S.P.,** 2002. Poly(ε-caprolactone) and poly(ε-caprolactone)-polyvinylpyrrolidoneiodine blends as ureteral biomaterials: characterisation of mechanical and surface properties, degradation and resistance to encrustation in vitro, *Biomaterials*, **23**, 4449-4458.

[37] **Hutmacher, D.W.,** 2001. Scaffold design and fabrication technologies for engineering tissues-state of the art and future perspectives, *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition*, **12**, 107-124.

[38] **Schantz, J.T., Hutmacher, D.W., Lam, C.X.F., Brinkmann, M., Wong, K.M., Lim, T.C., Chou, N., Guldberg, R.E., Teoh, S.H.,** 2003. Repair of Calvarial Defects with Customised Tissue-Engineered Bone Grafts II. Evaluation of Cellular Efficiency and Efficacy in Vivo, *Tissue Engineering*, **9**, 127-139.

[39] **Hutmacher, D.W., Schantz, J.T., Lam, C.X.F., Tan, K.C., Lim, T.C.,** 2007. State of the art and future directions of scaffold-based bone engineering from a biomaterials perspective, *Journal of Tissue Engineering* and *Regenerative Medicine*, **1**, 245-260.

[40] **Lam, C.X.F., Savalani, M.M., Teoh, S.H., Hutmacher, D.W.,** 2008. Dynamics of in vitro polymer degradation of polycaprolactone-based scaffolds: accelerated versus simulated physiological conditions, *Biomedical Materials*, **3**, 034108.

[41] **Jeong, S.I.,Kim, B.S., Kang, S.W., Kwon, J.H., Lee, Y.M., Kim S.H., Kim, Y.H.,** 2004. In vivo biocompatibilty and degradation behavior of elastic poly(L-lactide-co-ε-caprolactone) scaffolds, *Biomaterials*, **25**, 5939-5946.

[42] **Lu, X.L., Sun, Z.J., Cai, W., Gao, Z.Y.,** 2008. Study on the shape memory effects of poly (L-lactide-co-epsilon-caprolactone) biodegradable polymers, *Journal of* Materials *Science*: Materials in *Medicine*, **19**, 395-399.

[43] **Dai, N.T., Williamson, M.R., Khammo, N., Adams E.F., Coombes, A.G.A.,** 2004. Composite cell support membranes based on collagen and polycaprolactone for tissue engineering of skin, *Biomaterials*, **25**, 4263-4271.

[44] **Dunnen, W.F.A., Schakenraad, J.M., Zondervan, G.J., Pennings, A.J., Lei, B., Robinson, P.H.,** 1993. A new PLLA/PCL copolymer for nerve regeneration, Journal Of Materials Science: Materials In Medicine, **4**, 521-525.

[45] **Den Dunnen, W.F., van der Lei, B., Schakenraad, J.M., Stokroos, I., Blaauw, E., Bartels, H., Pennings, A.J., Robinson, P.H.,** 1996. Poly(DL-lactide-epsilon-caprolactone) nerve guides perform better than autologous nerve grafts, *Microsurgery*, **17**, 348-357.

[46] **Meek, M.F., den Dunnen, W.F.A., Schakenraad, J.M., Robinson, P.H.,** 1999. Long-term evaluation of functional nerve recovery after reconstruction with a thin-walled biodegradable poly(dl-lactide-epsilon-caprolactone) nerve guide, using walking track analysis and electrostimulation tests, *Microsurgey*, **19**, 247-253.

[47] **Kim, Y., Pridy, D., Harwood, H.J.,** 2003. Polymerization and copolymerization of dimethyl(1-ethoxycarbonyl) vinyl phosphate, Polymer, **44**, 4165-4170.

[48] **Cambell, D., White, J. R.,** 1989. *Polymer Characterisation: Physical Techniques*, Chapman and Hall, London.

[49] **Omay, D.,** 2009. Yemekhane atıklarından poli (L(+) laktik asit)'in enzimatik polimerizasyonu ve sentezlenen polimerin karakterizasyonu ve

biyobozundurulması, *Doktora Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[50] **Rabek, J. F.,** 1980. *Experimental Methods in Polymer Chemistry*, Wiley-Interscience, New York.

[51] **Davis, F.J.,** 2004. *Polymer Chemistry A Practical Approach*, Oxford University Press Inc., New York.

[52] **Carlblom, L.H., Pappas, S.P.,** 1977. Photoinitiated polymerization of methyl methacrylate and methyl acrylate with ^{14}C-labeled benzoin methyl ethers, *Journal of Polymer Science Polymer Chemistry Edition*, **15**, 1381-1391.

[53] **Walter, R.H.,** 1998. *Polysaccharide association structures in food*, Marcel Dekker, NewYork.

[54] **Lapasin, R., Pricl, S.,** 1995. *Rheology of industrial polysaccharides: Theory and applications*, Chapman & Hall, New York.

[55] **Laba, D.,** 1993. *Rheological properties of cosmetics and toiletries*, Marcel Dekker, New York.

[56] **Casale, A., Porter, R.S.,** 1978. *Polymer stres reactions,* ***Vol. 1: Introduction***, Academic, New York.

[57] **Kreer, T., Müser, M.H.,** 2003. On the tribology and rheology of polymer brushes in good solvent conditions: a molecular dynamics study, *Wear,* **254**, 827-831.

[58] **Pitt, C. G., Chasalow, F.J., Hibionada, Y.M., Klimas, D.M., Schindler, A.,** 1981. Aliphatic polyesters I. The degradation of poly(ε-caprolactone) in vivo, *Journal of Applied Polymer Science,* **26**, 3779-3787.

[59] **Pitt, C. G., Gratzl, M.M., Kimmel, G.L., Surles, J., Schindler, A.,** 1981. Aliphatic polyesters II. The degradation of poly (DL-Iactide), poly (ε-caprolactone), and their copolymers in vivo, *Biomaterials,* **2**, 215-220.

[60] **Schindler, A., Jeffcoat, R., Kimmel, G.L., Pitt, C.G., Wall, M.E., Zweidinger, R.,** 1977. Biodegradable polymers for sustained drug delivery, *Contemporary Topics Polymer Science*, **2**, 251-289.

[61] **Wade, C.W.R., Hegyeli, A.F., Kulkarni, R.K.,** 1977. Standards for in-vitro and in-vivo comparison and qualification of bioabsorbable polymers, *Journal of Testing and Evaluation*, **5**, 397-400.

[62] **Hermann, J.B., Woodward, S.C.,** 1972. An experimental study of wound healing accelerators, *The American Journal of Surgery*, **38**, 26-28.

[63] **Averous, L.,** 2004, Biodegradable multiphase systems based on plasticized starch: A Review, *Journal of Macromolecular Science*, **3**, 231-274.

[64] **Tarvainen, T., Malin, M., Suutari, T., Pollanen, M., Tuominen, J., Seppala, J., Jarvinen, K.,** 2003. Pancreatin enhanced erosion of and macromolecule release from 2,2-bis(2-oxazoline)-linked poly(ε-caprolactone), *Journal of Controlled Release*, **86**, 213-222.

[65] **Calil, M.R., Gaboardi, F., Bardi, M.A.G., Rezende, M.L., Rosa, D.S.,** 2007. Enzymatic degradation of poly (ε-caprolactone) and cellulose acetate blends by lipase and α-amylase, *Polymer Testing*, **26**, 257-261.

[66] **Pastorino, L., Pioli, F., Zilli, M., Converti, A., Nicolini, C.,** 2004. Lipase-catalyzed degradation of poly(ε-caprolactone), *Enzyme and Microbial Technology*, **35**, 321-326.

[67] **Sivalingam, G., Chattopadhyay, S., Madras, G.,** 2003. Solvent effects on the lipase catalyzed biodegradation of poly (ε-caprolactone) in solution, *Polymer Degradation and Stability*, **79**, 413-418.

[68] **Pulkkinena, M., Malin, M., Tarvainena ,T., Saarimaki, T., Seppala, J., Jarvinen, K.,** 2007. Effects of block length on the enzymatic degradation and erosion of oxazoline linked poly-ε-caprolactone, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **31**, 119-128.

[69] **Peng, H., Ling, J., Liu, J., Zhu, N., Ni, X., Shen, Z.,** 2010. Controlled enzymatic degradation of poly(ε-caprolactone)-based copolymers in the presence of porcine pancreatic lipase, *Polymer Degradation and Stability*, **95**, 643-650.

[70] **Zhao, Q., Tao, J., Yam, R.C.M., Mok, A.C.K., Li, R.K.Y., Song, C.,** 2008. Biodegradation behavior of polycaprolactone/rice husk ecocomposites in simulated soil medium, *Polymer Degradation and Stability*, **93**, 1571-1576.

[71] **Gan, Z., Fung, J.T., Jing, X., Wu, C., Kuliche, W.K.,** 1999. A novel laser light-scattering study of enzymatic biodegradation of poly(ε-caprolactone) nanoparticles, *Polymer*, **40**, 1961-1967.

[72] **Rutkowska, M., Jastrzebska, M., Janik, H.,** 1998. Biodegradation of polycaprolactone in sea water, *Reactive & Functional Polymers*, **38**, 27-30.

[73] **Elzein, T., Nasser-Eddine, M., Delaite, C., Bistac, S., Dumas, P.,** 2004. FTIR study of polycaprolactone chain organization at interfaces, *Journal of Colloid and Interface Science*, **273**, 381-387.

[74] **Schiel, J.E., Hage, D.S.,** 2005. Density measurements of potassium phosphate buffer from 4 to 45^{o}C, *Talanta*, **65**, 495-500.

[75] **Friebolin, H.,** 1998. *Basic One- and Two- Dimensional NMR Spectroscopy*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.

[76] **Wawer, I., Diehl, B.,** 2008. NMR Spectroscopy in Pharmaceutical Analysis, Elsevier B.V., United Kingdom.

[77] **Harrison, K.L., Jenkins, M.J.,** 2004. The effect of crystallinity and water absorption on the dynamic mechanical relaxation behaviour of polycaprolacton, *Polymer International*, **53**, 1298-1304.

[78] **Fernandez-Lafuente, R., Armisen, P., Sabuquillo, P., Fernandez-Lorente, G., Guisan, J.M.,** 1998. Immobilization of lipases by selective adsorption on hydrophobic supports, *Chemistry and Physics of Lipids*, **93**, 185-197.

[79] **Demirtas, M.U., Singh, D., Pagilla, K.,** 2007. Laboratory investigation of biodegradability of a polyurethane foam under anaerobic conditions, *Polymer Degradation and Stability*, **92**, 1599-1610.

[80] **Hsieh, I.P., Huang, C. H., Lee, H.M., Kou, P.C., Huang, J.H., Lee, H.I., Cheng, J.T., Lee, G.H.,** 2006. Indium complexes incorporating bidentate substituted pyrrole ligand: Synthesis, characterization, and ring-opening polymerization of ε-caprolactone, *Inorganica Chimica Acta*, **359**, 497-504.

[81] **Mitchell, T.N., Costisella, B.,** 2007. *NMR – From Spectra to Structure*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.

[82] **Srivastava, R.K., Albertsson, A.C.,** 2005. High-molecular-weight poly(1,5-dioxepan-2-one) via enzyme-catalyzed ring-opening polymerization, *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, **43**, 4206-4216.

[83] **Shieh, Y.T., Yang, H.S.,** 2005. Morphological changes of polycaprolactone with high-pressure CO_2 treatment, *Journal of Supercritical Fluids*, **33**, 183-192.

[84] **Umare, S.S., Chandure, A.S.,** 2008. Synthesis, characterization and biodegradation studies of poly(ester urethane)s, *Chemical Engineering Journal*, **142**, 65-77.

[85] **Kloss, J.R., Pedrozo, T.H., Follmann, H.D.M.,Peralta-Zamora, P., Dionísio, J.A., Akcelrud, L., Zawadzki, S.F., Ramos, L.P.,** 2009. Application of the principal component analysis method in the biodegradation polyurethanes evaluation, *Materials Science and Engineering C*, **29**, 470-473.

[86] **Sarkar, D., Lopina, S.T.,** 2007. Oxidative and enzymatic degradations of L-tyrosine based polyurethanes, *Polymer Degradation and Stability*, **92**, 1994-2004.

[87] **Christensona,E.M., Patel, S., Anderson, J.M., Hiltner, A.,** 2006. Enzymatic degradation of poly(ether urethane) and poly(carbonate urethane) by cholesterol esterase, *Biomaterials*, **27**, 3920-3926.

[88] **Grande ,D., Grigoryeva, O., Fainleib, A., Gusakova, K., Lorthioir, C.**, 2008. Porous thermosets via hydrolytic degradation of poly(ε-caprolactone) fragments in cyanurate-based hybrid networks, *European Polymer Journal*, **44**, 3588-3598.

[89] **Saçak, M.,** 2005. *Polimer Teknolojisi*, Gazi Kitabevi, Ankara.

[90] **Alibeik, S., Rizkalla, A.S., Mequanint, K.,** 2007. The effect of thiolation on the mechanical and protein adsorption properties of polyurethanes, *European Polymer Journal*, **43**, 1415-1427.

[91] **Guelcher, S.A., Srinivasan, A., Dumas, J.E., Didier, J.E., McBride, S., Hollinger, J.O.,** 2008. Synthesis, mechanical properties, biocompatibility, and biodegradation of polyurethane networks from lysine polyisocyanates, *Biomaterials*, **29**, 1762-1775.

[92] **Dupret, I., David, C., Daro, A.,** 2000. Biodegradation of polyester-amides using a pure strain of micro-organisms or papain II. Polymer, *Polymer Degradation and Stability*, **67**, 505-513.

[93] **Wang, Y., Liu, L., Guo, S.,** 2010. Characterization of biodegradable and cytocompatible nano-hydroxyapatite/ polycaprolactone porous scaffolds in degradation in vitro, *Polymer Degradation and Stability*, **95**, 207-213.

[94] **Prabhakar, R.L., Brocchini, S., Knowles, J.C.,** 2005. Effect of glass composition on the degradation properties and ion release characteristics of phosphate glass-polycaprolactone composites, *Biomaterials*, **26**, 2209-2218.

[95] **Ito, M., Nagai, K.,** 2008. Degradation issues of polymer materials used in railway field, *Polymer Degradation and Stability*, **93**, 1723-1735.

[96] **Mohamed, A., Gordon, S.H., Biresaw, G.,** 2007. Polycaprolactone/polystyrene bioblends characterized by thermogravimetry, modulated differential scanning calorimetry and infrared photoacoustic spectroscopy, *Polymer Degradation and Stability*, **92**, 1177-1185.

[97] **Dubois, P., Coulembier, O., Raquez, J.M.,** 2009. *Handbook of Ring Openning Polymerization,* WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.

[98] **Fukushima, K., Tabuani, D., Abbate, C., Arena, M., Ferreri, L.,** 2010. Effect of sepiolite on the biodegradation of poly(lactic acid) and polycaprolactone, *Polymer Degradation and Stability*, **95**, 2049-2056.

[99] **Yagi, H., Ninomiya, F., Funabashi, M., Kunioka, M.,** 2009. Anaerobic biodegradation tests of poly(lactic acid) and polycaprolactone using new evaluation system for methane fermentation in anaerobic sludge, *Polymer Degradation and Stability*, **94**, 1397-1404.

[100] **Chen, D.R., J.Z. Bei, J.Z., S.G. Wang,** S.G., 2000. Polycaprolactone microparticles and their biodegradation, *Polymer Degradation and Stability*, **67**, 455-459.

[101] **Abdel-Rehim, H.A., Yoshii, F., Kume, T.,** 2004. Modification of polycaprolactone in the presence of polyfunctional monomers by irradiation and its biodegradability, *Polymer Degradation and Stability*, **85**, 689-695.

ÖZGEÇMİŞ



Ad Soyad: Erhan ÖZSAĞIROĞLU

Doğum Yeri ve Tarihi: Seyhan – 10.09.1987

Lisans Üniversite: İstanbul Teknik Üniversitesi**,** Kimya-Metalurji Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü.

Yayın Listesi:

▪ **Özsağıroğlu, E.**, İyisan, B., Avcıbaşı Güvenilir, Y., 2011. Synthesis and characterization by lipase-catalyzed ring-opening polymerization of poly(ε-caprolactone) with different reaction mediums, *European Polymer Congress*, Granada, İspanya, 26 Haziran-1 Temmuz (Sözlü sunum).

▪ İyisan, B., **Özsağıroğlu, E.**, Deveci Aksoy, N., Avcıbaşı Güvenilir, Y., 2011. Chitin-immobilized lipase catalyst for ring opening polymerization of ε-caprolactone, *European Polymer Congress*, Granada, İspanya, 26 Haziran-1 Temmuz.