İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ENZİMATİK POLİKAPROLAKTON-POLİETİLENGLİKOL KOPOLİMERİZASYONU ve REAKSİYON PARAMETRELERİNİN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tuğçe TUĞLU

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Kimya Mühendisliği Programı

HAZİRAN 2013

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ENZİMATİK POLİKAPROLAKTON-POLİETİLENGLİKOL KOPOLİMERİZASYONU ve REAKSİYON PARAMETRELERİNİN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tuğçe TUĞLU
(506101041)

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Kimya Mühendisliği Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Yüksel AVCIBAŞI GÜVENİLİR

HAZİRAN 2013

İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 506101041numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **Tuğçe TUĞLU**, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı **"Enzimatik Polikaprolakton-Polietilen glikol Kopolimerizasyonu ve Reaksiyon Parametrelerinin Etkisinin İncelenmesi"** başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Yüksel AVCIBAŞI GÜVENİLİR**.....
İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Nuran DEVECİ AKSOY**.....
İstanbul Teknik Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Didem OMAY.....
Yalova Üniversitesi

Teslim Tarihi : **03 Mayıs 2013**
Savunma Tarihi : **04 Haziran 2013**

Aileme,

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tez çalışmalarım süresince tecrübesi ve birikimiyle yol gösteren değerli hocam Sayın Prof. Dr. Yüksel AVCIBAŞI GÜVENİLİR'e desteği ve ilgisi için teşekkür ederim. Deneysel çalışmalarımda yardımını ve tecrübelerini hiç esirgemeyen Araş. Gör. Erhan ÖZSAĞIROĞLU'na ve Araş. Gör. Andelip AYDIN'a da teşekkürü bir borç bilirim. Uzun çalışma süreci boyunca yanımda olan ve yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Gamze ÇETİN, Zeynep TACAR, Araş. Gör. Ayşe KILIÇ, Pelin UZUN ve Ahmet Halil AVCI'ya da teşekkürlerimi iletirim. Hem malzeme tedariği konusunda hem de manevi anlamda desteğini esirgemeyen müdürüm Burcu AVCI TAFLIOĞLU'na ve çalışma arkadaşlarıma da göstermiş oldukları anlayıştan dolayı teşekkür ederim. Bu güne dek ilgilerini ve sevgilerini her daim hissettiğim en büyük destekçim olan annem, babam, ağabeyim ve dayıma sonsuz şükranlarımı sunarım.

Mayıs 2013

Tuğçe Tuğlu
(Kimya Mühendisi)

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ ..... **vii**
İÇİNDEKİLER ..... **ix**
KISALTMALAR ..... **xi**
ÇİZELGE LİSTESİ ..... **xiii**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **xv**
ÖZET ..... **xvii**
SUMMARY ..... **xix**
1. GİRİŞ **23**
2. TEORİK BİLGİLER **25**
2.1 Polikaprolakton 28
2.2 Polietilen glikol 30
2.3 *Candida antarctica* Lipaz B Enzimi 30
2.4 Enzimatik Polikaprolakton-Polietilen glikol Kopolimerizasyonu 31
2.5 Kopolimerlerin Karakterizasyonu 34
2.5.1 Molekül yapısının belirlenmesi 34
2.5.2 Molekül ağırlığının belirlenmesi 35
2.5.3 Termal özelliklerinin belirlenmesi 35
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR **37**
3.1 Malzemeler 37
3.1.1 ε-kaprolakton 37
3.1.2 Polietilen glikol 37
3.1.3 *Candida anratctica* lipaz B - Novozyme 435 37
3.1.4 Toluen 37
3.1.5 Etilen glikol 37
3.1.6 n-Bütanol 38
3.1.7 Kloroform 38
3.1.8 Metanol 38
3.2 Ekipmanlar 38
3.2.1 Jel geçirgenlik kromatografisi (GPC) 38
3.2.2 Nükleer manyetik rezonans (NMR) 38
3.2.3 Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) 39
3.2.4 Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometresi (FTIR) 39
3.2.5 Diğer ekipmanlar 39
3.3 Metotlar 39
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA **43**
4.1 Polikaprolakton-Polietilen Glikol Kopolimerine Polietilen Glikol Miktarının Etkisi 43
4.2 % 10 Polietilen Glikol İçeren Kopolimerlere Reaksiyon Parametrelerinin Etkisi 43
4.2.1.1 Kopolimerizasyon reaksiyonuna başlatıcı etkisi 43
4.2.1.2 Kopolimerizasyona sıcaklığın etkisi 53
4.2.1.3 Kopolimerizasyona enzim miktarının etkisi 56
4.3 % 20 Polietilen Glikol İçeren Kopolimerlere Reaksiyon Parametrelerinin Etkisi 58
4.3.1.1 Kopolimerizasyon reaksiyonuna başlatıcı etkisi 59

4.3.1.2 Kopolimerizasyona sıcaklığın etkisi 64
4.3.1.3 Kopolimerizasyona enzim miktarının etkisi 65
5. VARGILAR 67
KAYNAKLAR 70
ÖZGEÇMİŞ 74

KISALTMALAR

PCL **:** Polikaprolakton
PEG **:** Polietilen glikol
GPC **:** Gas Permeability Chromatograpgy
FTIR **:** Fourier Transform Infrared Spectroscopy
^{1}HNMR **:** Nuclear Magnetic Resonance
DSC **:** Differetial Scanning Calorimetry
DP **:** Polimerizasyon derecesi

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 4.1: Farklı başlatıcı miktarlarıyla yapılan deneylerin GPC analiz sonuçları 22
Çizelge 4.2: Başlatıcı olmadan, bütanol ile ve etilen glikol ile sentezlenen PCL-PEG kopolimerlerinin GPC analizi sonuçları. 23
Çizelge 4.3: Başlatıcı olmadan sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin ^{1}H-NMR spektrumundan hesaplanan % PEG, DP ve Mn değerleri..... 26
Çizelge 4.4: Etilen glikol ile sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin ^{1}H-NMR spektrumundan hesapnan % PEG, DP ve Mn değerleri 30
Çizelge 4.5: Farklı sıcaklıklarda sentezlenen % 10 PEG içeren PCL-PEG kopolimerlerinin GPC analizi sonuçları..... 34
Çizelge 4.6: Farklı enzim miktarlarıyla sentezlenen PCL-PEG kopolimerlerinin GPC analizi sonuçları 37
Çizelge 4.7: Başlatıcı olmadan, bütanol ile ve etilen glikol ile sentezlenen PCL-PEG kopolimerlerinin GPC analizi sonuçları. 38
Çizelge 4.8: Başlatıcı olmadan sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin ^{1}H-NMR spektrumundan hesaplanan % PEG, DP ve Mn değerleri…….40
Çizelge 4.9: Bütanolle sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin ^{1}H-NMR spektrumundan hesaplanan % PEG, DP ve Mn değerleri…….42
Çizelge 4.10: Farklı sıcaklıklarda sentezlenen % 20 PEG içeren PCL-PEG kopolimerlerinin GPC analizi sonuçları……...43
Çizelge 4.11: Farklı enzim miktarlarıyla sentezlenen PCL-PEG kopolimerlerinin GPC analizi sonuçları..... 45
Çizelge 4.12: Farklı başlatıcı türleri ve reaksiyon parametreleri ile sentezlenmiş PCL-PEG kopolimerlerinin DSC analiz sonuçları..... 46

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Kopolimer çeşitleri. 26
Şekil 2.2 : Laktonların A) katyonik, B) anyonik, C) koordinasyon mekanizmaları ile halka açılması polimerizasyonu. 29
Şekil 2.3 : Laktonların enzim katalizli halka açılması polimerizasyonu 31
Şekil 2.4 : Karboksilik asit ve esterlerinin alkolle polikondenzasyonu 31
Şekil 2.5 : Oksiasit ve esterlerinin polikondenzasyonu 31
Şekil 2.6 : Laktonların enzimatik polimerizasyonu [17] 32
Şekil 3.1 : Deney düzeneği 41
Şekil 4.1 : Başlatıcı miktarının kopolimerin molekül ağırlığı üzerine etkisi. 44
Şekil 4.2 : Başlatıcının kopolimer üzerindeki etkisi 45
Şekil 4.3 : Başlatıcı olmadan sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin FTIR spektrumu 46
Şekil 4.4 : Başlatıcı olmadan sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin ^{1}H-NMR spektrumu 47
Şekil 4.5 : Başlatıcı olmadan 6 saatlik reaksiyon süresinde sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin DSC analizi 48
Şekil 4.6 : Başlatıcı olmadan 8 saatlik reaksiyon süresinde sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin DSC analizi 49
Şekil 4.7 : Bütanol ile sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin FTIR spektrumu 49
Şekil 4.8 : Bütanolle 6 saatlik reaksiyon süresinde sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin DSC analizi 50
Şekil 4.9 : Etilen glikol ile sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin FTIR spektrumu 51
Şekil 4.10 : Etilen glikol ile sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin ^{1}H-NMR spektrumu 52
Şekil 4.11 : Etilen glikolle 6 saatlik reaksiyon süresinde sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin DSC analizi 53
Şekil 4.12 : 65^{o}C'de 4 saatte sentezlenmiş Polikaprolakton-Polietilen glikol kopolimerinin FTIR spektrumu 54
Şekil 4.13 : 70^{o}C'de 4 saatte sentezlenmiş Polikaprolakton-Polietilen glikol kopolimerinin FTIR spektrumu 54
Şekil 4.14 : 75^{o}C'de 4 saatte sentezlenmiş Polikaprolakton-Polietilen glikol kopolimerinin FTIR spektrumu 55
Şekil 4.15 : 80^{o}C'de 4 saatte sentezlenmiş Polikaprolakton-Polietilen glikol kopolimerinin FTIR spektrumu 55
Şekil 4.16 : Sıcaklığın PCL-PEG kopolimeri üzerindeki etkisi. 56
Şekil 4.17 : 75^{o}C'de 4 saatte % 5 enzimle sentezlenmiş Polikaprolakton-Polietilen glikol kopolimerinin FTIR spektrumu 57
Şekil 4.18 : 75^{o}C'de 4 saatte % 10 enzimle sentezlenmiş Polikaprolakton-Polietilen glikol kopolimerinin FTIR spektrumu 57
Şekil 4.19 : 75^{o}C'de 4 saatte % 15 enzimle sentezlenmiş Polikaprolakton-Polietilen glikol kopolimerinin FTIR spektrumu 57

Şekil 4.20 : Enzim miktarının kopolimerizasyona etkisi 58
Şekil 4.21 : Başlatıcı türünün PCL-PEG kopolimeri üzerindeki etkisi. 59
Şekil 4.22 : Başlatıcı olmadan sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin ^{1}H-NMR spektrumu 61
Şekil 4.23 : Başlatıcı olmadan 6 saatlik reaksiyon süresinde sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin DSC analizi 62
Şekil 4.24 : Bütanolle sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin ^{1}H-NMR spektrumu .. 63
Şekil 4.25 : Sıcaklığın kopolimerizasyona etkisi 64
Şekil 4.26 : Enzim miktarının kopolimerizasyona etkisi 65

ENZİMATİK POLİKAPROLAKTON-POLİETİLENGLİKOL KOPOLİMERİZASYONU ve REAKSİYON PARAMETRELERİNİN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

ÖZET

Son yıllarda biyobozunur polimerler oldukça önem kazanmıştır. Özellikle nanoteknoloji, yeni ilaç teknolojileri, medikal uygulamalar ve doku mühendisliği alanlarında önemli bir yer tutmaktadırlar. Son yıllarda önem kazanan bir diğer araştırma konusu ise kopolimerlerdir. Kopolimer birden fazla polimeri barındıran yapıya verilen addır. Bu kompleks yapılar bünyesindeki polimerlerin özelliklerini taşımaktadır. Farklı özelliklerdeki polimerlerin farklı miktarlarda kullanılması ya da farklı bağlanma şekilleriyle bir araya getirilmeleri ortaya çıkan yapının özelliklerini değiştirme imkanı sunmaktadır. Böylece istenen özelliklere sahip malzeme elde etme şansı doğmaktadır. Biyobozunur bir polister olan Polikaprolakton ile biyolojik açıdan üstünlüklere sahip bir polieter olan Polietilen glikolün bir araya getirildiği kopolimer yapı, her iki polimerin de avantajlı özelliklerini göstermektedir.

Bir diğer önem kazanan konu ise polimerizasyon reaksiyonlarının metal katalizör yerine enzimlerle katalizlenmesidir. Metal katalizörlerle gerçekleştirilen sentezler yüksek sıcaklık ve basınç değerlerinde gerçekleşirken, enzimatik polimerizasyonlar düşük sıcaklıklarda gerçekleşmektedir. Böylece ciddi bir enerji tasarrufu gerçekleşmekte hem de oluşan polimerde kalan metal katalizörün toksik etkisinden korunmuş olunmaktadır.

Yapılan çalışmada *Candida antarctica* lipaz B enzimi ile polikaprolakton-polietilen glikol kopolimeri sentezlenmiştir. Polietilen glikol miktarının, oluşan kopolimerin özellikleri üzerindeki etkisini incelemek amacıyla tüm kopolimerizasyon reaksiyonları iki farklı polietilen glikol miktarıyla gerçekleştirilmiştir. Ayrıca başlatıcı türünün, sıcaklığın ve enzim miktarının oluşan kopolimerin özellikleri ve reaksiyon verimleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Elde edilen kopolimerlerin karakterizasyonu FTIR spektrumu ile yapılmış, molekül ağırlıkları GPC analizi ile belirlenmiştir. GPC analizine göre en yüksek molekül ağırlığına sahip kopolimerlerin ^{1}H-NMR spektrumları yapılarak molekül ağırlığı ve içerdikleri polietilen glikol miktarı hesaplanmıştır. Kopolimerlerin termal özellikleri DSC analizi ile belirlenmiş, tüm sonuçlar karşılaştırılmıştır.

ENZYMATİC COPOLYMERIZATION OF POLYCAPROLACTONE-POLYETHYLENE GLYCOL AND INVESTIGATION OF EFFECTS OF REACTION PARAMETERS

SUMMARY

Biodegradable polymers become more important in recent years. They take an important place especially in the fields of nanotechnology, new drug technologies, medical applications and tissue engineering. Another research topic which gains importance in recent years is the copolymers. In the recent years, to produce materials which have desired and the best properties depend on their application area. In case of desired properties could not be achived with a homopolymer, it is possible to enhance them by copolymerization. Copolymer is the structure containing more than one type of polymer. These complex structure involves the properties of the polymers within it. Using different amounts of polymers having different properties or being combined with different forms of binding offers the possibility of changing the properties of the resulting structure. Thus, the chance of obtaining a material with the desired properties arises. Some properties of polycaprolactone like being crystalline and hydrophobic and its long degradation time restrict its usage in the especially medical applications. Polyethylene glycol is one of the most preferable polymers because of the being biocompatible, nontoxic, nonantigenic and hydrophilic.. The copolymer structure combined with polycaprolactone, a biodegradable polyester, and polyethylene glycol, a polyether having biologically advantages, shows the advantageous properties of each polymer. It is possible to get an amphiphilic structure by coming together hydrophilic polymer polyethylene glycol and hydrophobic polymer polycaprolactone. Amphiphilic copolymers are mostly used in drug delivery systems.

One other important issue is the polymerization reactions catalysed by enzymes instead of metal catalysts. The polycaprolactone- polyethylene glycol copolymers are synthesized successfully by using $SnCl_2$, SnO, SnO_2, GeO_2 and Sb_2O_3 as catalysts. As a result of rising green chemistry awareness, enzymes are used instead of organo-metallic catalysts. The synthesis performed with metal catalysts occur at high temperature and pressure values. Enzymes catalyzes reactions at the mild conditions with high chiral and regioselectivity thus substantional amount of energy can be saved. Another advantage of the using enzyme as a catalyst is being easy to remove the catalyst from reaction media. Especially in medical application, purification processes may be very complicated because of avoiding metallic impurity. Enzymes are removed from reaction media only by filtration without leaving any impurity.
It is possible to synthesize polyesters by using different methods. One of them is polycondensation and the other one is ring opening polymerization. In this study, copolymers were synthesized via enzyme catalyzed ring opening polymerization. The mechanism of the polymerization has two steps which can be counted as initiation and propagation. As a result of the interaction between lipase and lactone, ring structure of the lactone opens and leads to formation of acyl-enzyme

intermediate (enzyme-activated monomer). The water which enzyme has in its structure attacks to the acyl carbon of the enzyme-activated monomer and produce ω-hydroxy carboxylic acid. By nucleophilic attack on the terminal hydroxyl group of ω-hydroxy carboxylic acid on the enzyme-activated monomer leads to polymer chain growth in the propagation step.

In this study, polycaprolactone - polyethylene glycol copolymer was synthesized by using *Candida antarctica* lipase B enzyme as a catalyst. All copolymerization reactions were performed with two different polyethlyene glycol amount to investigate the effect of amount of polyethylene glycol on the properties of resulting copolymer. Also the effects of the type of initiator, the temperature and the amount of enzyme on the properties of copolymer that was obtained were investigated. To investigate the effect of initiator type, copolymers were synthesized by using butanol which has one hydroxyl end group, ethylene glycol which has two hydroxyl end groups and without initiator to understand the initiator effect. To investigate the effect of reaction temperature on properties of the copolymers, copolymers were synthesized at 65, 70, 75 and 80^{o}C. The amount of enzyme was changed to investigate how the amount of enzyme is effective on copolymerization. The ratio of enzyme to the reactant was choosen as 5, 10 and 15 % (w/w).

All the reactions were taken place in toluen. ε-caprolactone was dried with molecular sieve before use. *Candida antarctica* lipase B (Novozyme-435) was used as catalyst for ring opening copolymerization of PCL and polyethylene glycol. After ε-caprolactone, polyethylene glycol, toluen and Novozyme 435 were weighed into the glass reactor, it is put into the oil bath that had allready heated up to the reaction temperature. Reaction was ended with chloroform and filtrated to remove the enzyme. After chloroform was evaporated, excess amount of methanol was added to precipitate the copolymer. The product was dried in oven at 35^{o}C. The obtained copolymers were characterized by FTIR analysis. All the characteristic peaks belong to polycaprolactone-polyethylene glycol copolymer were observed clearly. The molecular weights were determined by GPC analysis. GPC was calibrated with styrene standards. Tetrahydrafuran was used as a mobile phase and the flow rate of it was choosen as 0.5 ml/min. All the peaks were given by GPC analysis, were unique and uniform. That shows any side or degradation reactions did not take place and copolymers were synthesized successfully. By doing ^{1}H-NMR analyses of copolymers which have the highest molecular weight according to the GPC analyses, either structure of the copolymers were characterized, molecular weights of these copolymers were calculated and the percentage of polyethylene glycol that copolymers include was calculated. The thermal properties of the copolymers were determined by DSC analyses.

As a result of the all the analysis, it was realised that the molecular weights of the copolymers that were synthesized with initiator were lower than the copolymers' synthesized without initiator. Using initiator causes to get copolymers have lower molecular weight and lower polydispersity. That shows us butanol and ethylene glycol works as initiator but there is no significant difference between the copolymer that were synthesized with butanol and ethylene glycol. The copolymers which include 10 % PEG have higher molecular weight than the copolymers include 20 % PEG. Because, the molecular weight of the polycaprolactone is higher than the polyethylene glycol. When the copolymers synthesized at different temperatures

were compared, it is realized it is not possible to generalize the relation between temperature and molecular weight of the copolymers. Other reaction parameters are more effective on molecular weight of the copolymers than the reaction temperature. The molecular weights of polycaprolactone-polyethyelene glycol copolymers were compared, it is seen that molecular weight of the copolymers decrease when the amount of enzyme increases. This situation can be explained with enzyme kinetic of polisubstrate and it is thought that excess amount of enzyme may cause to inhibition.

1. GİRİŞ

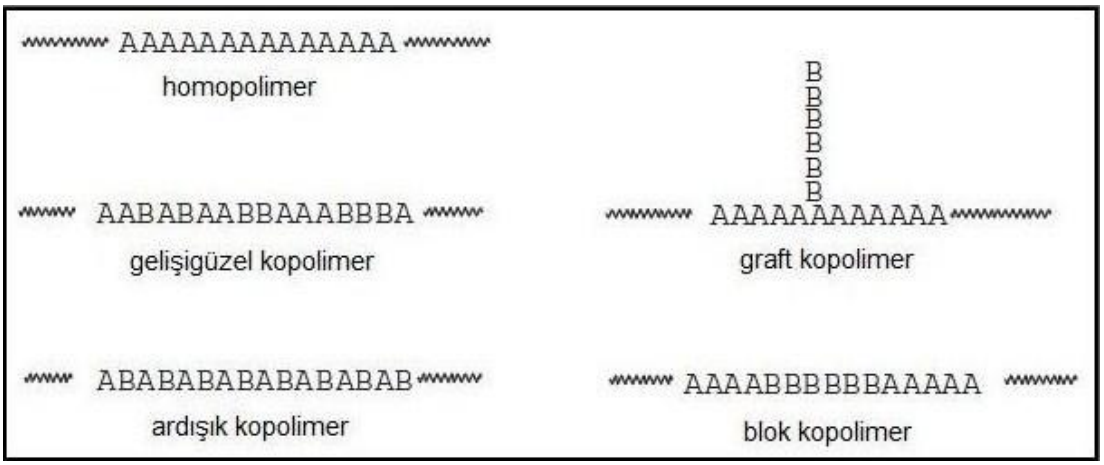
Son yıllarda doğaya zarar vermeyen, kendi kendine bozunabilen, geri dönüşümü mümkün malzemeler üretmek önemli bir amaç haline gelmiştir. Ayrıca gelişen teknoloji ile kullanım amacına uygun olacak en iyi özellikleri taşıyan malzemeleri üretmek amaçlanmaktadır. Kopolimerler, bir polimerin beklenen özellikleri karşılamadığı noktada, yapıya başka bir polimer daha katılarak yapının özelliklerini değiştirmeye imkan veren yapılardır. Kopolimerizasyon reaksiyonlarında önemli olan tekrar eden birim sırasının zincir boyunca dağılımının düzenlenmesidir [1]. Polikaprolaktonun yüksek kristalin özellikte olması, biyobozunurluğunun yavaş olması ve hidrofobik olması doku mühendisliği, ilaç salım sistemleri, yara örtüsü yapımı gibi medikal uygulamalarını kısıtlamaktadır. Polietilen glikol ise özellikle biyomedikal ve biyoteknolojik alanlarda hidrofilisite kaynağı olarak görülmektedir. Ayrıca, polietilen glikolün suda ve organik çözücülerde çözünürlüğünün yüksek olması, antijenesite ve immunojenesite göstermeme özelliklerine sahip olması çok tercih edilmesinin sebeplerindendir [2]. Son yıllarda oluşan 'yeşil kimya' (green chemistry) algısıyla, organo-metalik katalizörler yerine enzimlerin kullanımı gündemdedir. Enzimatik reaksiyonlar yüksek dönüşüm sayısına imkan tanırken, düşük sıcaklık ve basınçta çalışarak önemli bir enerji kazancı sağlar. Ayrıca kimyasal, bölgesel ve kiral seçicilikleri sayesinde yapısal kontrollü ürünler elde etmeyi mümkün kılar [3]. Poliester sentezinde kullanılan enzimler arasında *Candida antarctica* lipaz B'nin etkili enzim olduğu sonucuna varılmıştır [4]. Lipazlar, laktonların, halkasal diesterlerin ve halkasal karbonatların polimerizasyonunu katalizlemektedir. Lipaz katalizörlüğünde gerçekleşen halka açılması polimerizasyon mekanizması başlama ve büyüme olarak iki bölümde gerçekleşir. Başlama adımında açil-enzim ara ürünü oluşmaktadır. Enzim bünyesinde bulunan suyun nükleofilik atağıyla ara ürün deaçillenir ve başlama adımı son bulur. Büyüme aşamasında ise deaçillenmiş ara ürün hidroksil son gruplara katılır ve zincir uzamaya başlar.

Yapılan bu çalışmada *Candida antarctica* lipaz B katalizörlüğünde polikaprolakton-polietilen glikol kopolimeri sentezlemek, başlatıcı türünün ve reaksiyon

parametrelerinin elde edilen kopolimer üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Kopolimerdeki poletilen glikol miktarının etkisini araştırmak amacıyla tüm sentezler iki farklı polietilen glikol / polikaprolakton oranında gerçekleştirilmiştir. Kopolimerizasyonu başlatıcı ile gerçekleştirmenin elde edilen kopolimerin özellikleri üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla da başlatıcı olarak n-bütanol ve etilen glikol kullanılmıştır. Başlatıcı etkisini gözlemlemek amacıyla deneyler başlatıcı kullanmadan da gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonları etkileyen parametrelerden biri olan sıcaklığın etkisini araştırmak için kopolimerizasyonlar 65, 70, 75 ve 80^{o}C'de gerçekleştirilmiştir. Enzim miktarı, reaksiyon kinetiği üzerinde etkisi olan bir parametredir ve bu sebeple kopolimerler üç farklı enzim miktarıyla sentezlenip, elde edilen kopolimerlerin özellikleri kıyaslanmıştır. Sonuçları kıyaslamak için reaksiyonlar en az üç farklı sürede gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kopolimerlerin bağ yapıları incelenerek karakterizasyonu yapılmış, molekül ağırlığı ve polidispersiteleri tespit edilip, termal davranışları incelenmiştir.

2. TEORİK BİLGİLER

Kullanım amacına uygun, istenilen özelliklerde polimer elde etmek için başvurulan yöntem, polimerlerin modifikasyonudur. Modifikasyon fiziksel ve kimyasal olarak ikiye ayrılır. Polimer omurgasını değiştirmeden gerçekleştirilen fiziksel modifikasyon, polimeri farklı polimer veya polimerlerle blend etme veya kompozit oluşturma işlemlerine dayanır. Polimer omurgasının değiştiği kimyasal modifikasyonda ise, polimerin farklı polimer ya da polimerlerle kopolimerizasyonu gerçekleştirilir veya polimere fonksiyonel grup eklenir [5]. Kopolimer, iki veya daha fazla monomer tipi içeren zincirlerden oluşan polimerlere verilen addır. Sadece iki monomer grubundan oluşan kopolimerlerin bile birden fazla farklı çeşit kopolimer oluşturma ihtimali vardır [6]. Her bir monomerin reaktivitesine ve reaksiyon koşullarına bağlı olarak kopolimerler gelişigüzel, ardışık, graft ve blok olabilir [7]. En sık karşılaşılan tip ise gelişgüzel kopolimer tipidir. Gelişigüzel kopolimerlerde monomerler polimer zincirinde gelişigüzel sıralanırlar. Monomer tiplerini A ve B olarak isimlendirirsek, gelişigüzel kopolimer –ABBABAAABBBAAB- gibi bir zincirden oluşabilir. Monomerler belirli bir sıra ile dizilirse ardışık kopolimer oluşur ve bu kopolimer zinciri -ABABABABABABA- yapıdadır. Blok kopolimerler ise uzun bir monomer dizisinin diğer bir uzun monomer dizisine bağlanmasıyla oluşur ve –AAAAAAAABBBBBBBB- şeklinde gösterilebilir. Graft kopolimer ise bir monomer zincirinin, başka bir monomerin ana zincirine bağlanmasıyla oluşan kopolimer tipidir ve Şekil 2.1'deki gibi gösterilebilir [6].



Şekil 2.1 : Kopolimer çeşitleri.

Gelişigüzel kopolimerler kendini oluşturan monomer tiplerinin ortalama özelliklerini gösterirken, blok kopolimerler ise kendini oluşturan monomer A'ca ve diğer monomer B'ce zengin fazlara ayrılma eğilimindedir ve bu fazlar zengin olduğu monomerin homopolimer yapısının özelliklerini gösterir [7].

Hidrofobik bir polimer olan Polikaprolakton (PCL) ve hidrofilik bir polimer olan Polietilen glikolün (PEG) kopolimerizasyonu fiziksel ve kimyasal özelliklerini modifiye etme imkanı tanıdığı için özellikle biyomedikal alanda pek çok uygulamada kullanılabilmektedir ve bu yüzden önem kazanmıştır. İlk PCL-PEG blok kopolimeri 1972'de Perret ve Skoulios tarafından anyonik polimerizasyonla naftalen-sodyum kompleksi katalizörlüğünde sentezlenmiştir. 1989'da ise Cerrai ve grubu bu kopolimeri katalizör olmadan sentezlemeyi başarmıştır. PCL-PEG kopolimeri özellikle biyobozunur, amfifilik ve (self assembly) geçirgen olduğu için ayrıca kontrollü biyobozunmaya da imkan tanıdığı için son yıllarda üzerinde çok durulmaktadır. [8]

PCL-PEG kopolimerleri yapılarına göre AB tip diblok, ABA ve BAB olarak triblok, multiblok, yıldız şeklinde (star-shaped), gelişigüzel ve graft kopolimerler olarak sınıflandırılır.

PCL-PEG kopolimer sentezinde şimdiye kadar katalizör olarak $SnCl_2$, GeO_2, SnO_2, Sb_2O_3, SnO ve n-bütil titanat kullanılmıştır. Ancak organik çözücülerin pek çoğunda ve siklik ester monomerlerde çözünmesinde ve birçok ülkede gıda katkı maddesi olarak kullanılabilmesi sebebiyle en çok kullanılan katalizör kalay oktoattır [9].

Polikaprolaktonun blok ve gelişigüzel kopolimerleri etilenoksit, polivinilklorit, kloropren, polietilen glikol, polistiren, diizosiyanatlar (üretanlar), tetrahidrofuran,

diglikolit, dilaktit, s-valerlakton, sübstitüye kaprolaktonlar, 4-vinil anizol, stiren, metil metakrilat ve vinil asetat gibi pek çok monomer kullanılarak gerçekleştirilebilir [10].

Polimerlerin son grup yapısı özellikle fonksiyonel polimer sentezinde kullanılan makromonomer ve telekelik yapıları elde etmede önemlidir. Metakril tip poliester makromonomerleri elde etmek için başlatıcı ve sonlandırıcı metotlar geliştirilmiştir. *Candida antarctica* tarafından katalizlenen laktonların polimerizasyonunda alkol başlatıcı kullanılarak polimerin sonuna alkol kısım eklemek mümkündür [11].

PCL-PEG kopolimerleri biyouyumludur. Hücre ve dokuların malzemelere olan tepkisi olarak adlandırılan biyouyumluluk özellikle biyomedikal alanda kullanılacak malzemelerin tasarımında çok önemli yer tutar. Hücre kültüründe yapılan çalışmalarda PCL-PEG kopolimerlerinin PCL homopolimerlerinden daha iyi performans gösterdiği görülmüştür [9].

PCL-PEG kopolimerlerinin bozunması, pasif olarak hidrolizle ve aktif olarak enzimatik reaksiyonlarla gerçekleşmektedir. Polimerin erozyona uğrama hızını ve tipini polimer yapısındaki bağın türü belirler. PCL-PEG kopolimerindeki ester bağları bozunmada hidroliz mekanimasını önemli kılar [9]. Polimerlerin in-vivo bozunma kinetiğini belirleyen etkenler; mekanik stres, sıcaklık, pH, ortamda iyon bulunması ve enzim aktivitesini modifiye eden iyonlar olarak sayılabilir [12]. PCL-PEG kopolimerlerinin in-vivo bozunmasını incelemek için fare ince bağırsaklarına yerleştirildiği ve in-vitro bozunmasını incelemek için de çeşitli pH ve sıcaklık değerlerinde, enzimli veya enzimsiz ortamlarda bekletilerek yapılan incelemelerde, kopolimerin bozunma hızının PEG oranı, sıcaklık, asidite ve alkalinite arttıkça arttığı gözlemlenmiştir. Ortamda enzim bulunması da bozunma hızını artıran bir diğer unsurdur [13].

PCL-PEG triblok kopolimerlerinin jelleşebilme özelliğinden yararlanılarak biyobozunur termojel malzeme geliştirilmiştir. [14] Yerinde jelleşen polimerler özellikle minimal invaziv tedavilerde kullanılabildikleri için önem kazanmıştır. Bu polimerler hedef bölgeye enjekte edildiğinde hücrelere veya ilaç ajanlarına bir depo hali almaları ve kontrollü ilaç salım sistemi veya hücre büyüme matrisi gibi davranma olanağı sağlar [15]. Özellikle çözünürlüğü düşük ilaç etken maddeler, amfifilik polimer nanopartiküllere hapsedilerek, nanopartiküllerin suda iyi dağılması

salanmış olur bu da ilacı damar içi enjeksiyonda kullanılabilir hale getirir. PCL-PEG-PCL blok kopolimeri damar içi enjeksiyon için uygun bir kopolimer adayıdır [16].

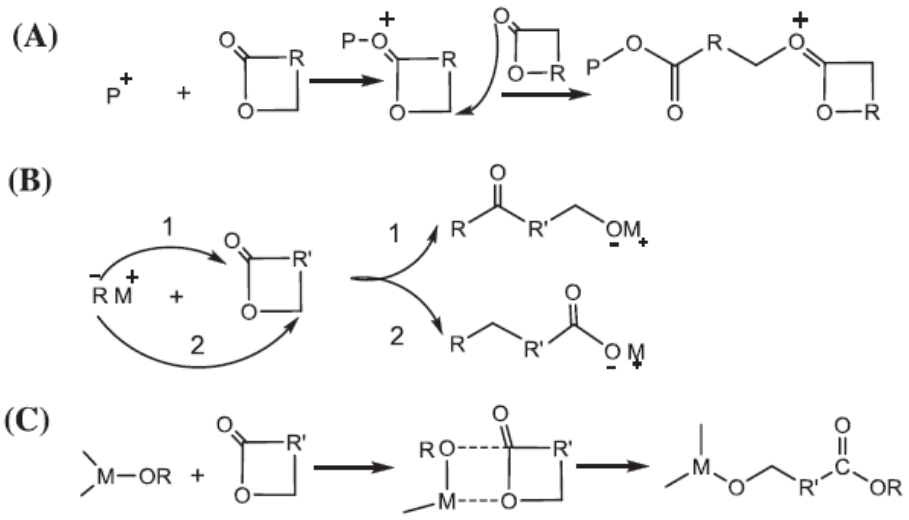
Amfifilik blok kopolimerlerin kimyasal yapısı pek çok ilaç taşıyıcı sistem tasarlanmasına imkan sunmuştur. Çünkü, hidrofilik ve hidrofobik kısmın değiştirilmesi ile polimerlerin hidrofilik-lipofilik dengesini değiştirmek, polimerlerin hidrofilik-lipofilik dengesini sabit tutarak geniş bir aralıkta değişen molekül ağırlıklı polimer elde etmek ve hem hidrofilik hem de hidrofobik kısmı fonksiyonel hale getirmek mümkündür [17].

Amfifilik blok kopolimer, çözünürlüğü düşük ilaçlarn çözündürülmesi için ve nano ölçekli salım sistemlerinde çekirdek ve kabuğu birleştirmek için kullanılan düşük molekül ağırlıklı yüzey aktif maddelerin yerine de kullanılabilmektedir [18].

2.1 Polikaprolakton

Polikaprolakton hidrofobik ve yarı kristal yapıda bir polimerdir. Çözünürlüğünün yüksek olması, erime noktasının düşük olması ve çeşitli maddelerle blend edilebilir olması özellikle biyomedikal alanda önemli bir araştırma konusu olmasını sağlamaktadır [19].

Polikaprolakton, ε-kaprolakton'un halka açılma polimerizasyonuyla sentezlenmektedir. Genellikle polikaprolakton sentezinde kalay oktoat gibi metal katalizörler ve elde edilen polimerin molekül ağırlığını kontrol etmek için de düşük molekül ağırlıklı alkoller kullanılmaktadır. Polikaprolakton, Şekil 2.2'de gösterildiği gibi anyonik, katyonik, koordinasyon ve radikal polimerizasyon metotlarıyla sentezlenebilmektedir. Bu metotlar elde edilen polimerin molekül ağırlığını, polidispersitesini, son grup kompozisyonunu ve polimerin kimyasal yapısını etkilemektedir.



Şekil 2.2 : Laktonların A) katyonik, B) anyonik, C) koordinasyon mekanizmaları ile halka açılması polimerizasyonu.

Polikaprolakton göstermiş olduğu bozunma kinetiği, mekanik özellikler, kolay şekil alabilir olması, dokunun büyümesine elverişli por büyüklüğünde üretilebilir olması ve matrislerine hapsedilen ilacı kontrollü olarak salabilmesi sebebiyle dikkat çeken bir polimerdir. PCL erime noktası 59-64^{o}C arasında, camsı geçiş sıcaklığı ise -60^{o}C olan yarı kristal yapıda bir polimerdir [10]. PCL, kloroform, diklorometan, karbontetraklorid, benzen, toluen, siklohekzanon ve 2-nitropropan gibi çözücülerde tamamen çözünür, aseton, 2-bütenon, etil asetat, dimetilformamit ve asetonitrilde az çözünür. Ayrıca alkol, petrol eteri ve dietil eterde çözünmemektedir [20].

Polikaprolakton, poliglikolid, poli D,L laktik asit ve kopolimerlerinden daha yavaş bozunduğu için bir yılı aşkın süre aktif kalabilen ilaç salım cihazlarında ve yavaş bozunan sütur malzemelerinde kullanılır (Maxon^{TM}). PCL'nin bozunması başlangıç molekül ağırlığına bağlı olarak 2-4 yıl sürebilmektedir. Bu hidroliz süresi PCL'nin lakton, laktit veya glikolitlerle kopolimerizasyonuyla değiştirilebilmektedir [10].

PCL'nin tekrar eden biriminde bir kısmen polar ester grubu ve beş tane polar olmayan metilen grubu bulunur. Yüksek olefin içeriği PCL'ye poliolefinimsi özellikler katar. Ancak yüksek kristal ve hidrofobik özellik göstermesi, hem yavaş bozunmasına sebep olur hem de özellikle yumuşak dokuyla biyouyumluluğunu azaltır. Bu durum da kullanım alanını kısıtlamaktadır [9].

2.2 Polietilen glikol

Polietilen glikol (PEG), oksijen ve etilen birimlerinin birbirine sıra ile bağlandığı halkasal yapıda olmayan bir polimerdir [21]. PEG, hidrofilik olması, toksik olmaması, antijenesite ve immunojenesite göstermemesi sebebiyle özellikle medikal kullanımlarda tercih edilen bir polimerdir. Hidrofilisitesi, biyobozunurluğu ve mekanik özellikleri geliştirilebildiğinden geniş bir kullanım alanına sahiptir.

Polietilen glikol özellikle ilaç alanında ve biyomedikal alanda kullanılan bir polimerdir. Toksik değildir ve insan vücudunda kullanılabileceğine dair US Food and Drug Administration tarafından onaylıdır [22]. PEG kimyasal modifikasyona, başka bir moleküle ve yüzeye bağlanmaya eğilimlidir. Bağlandığı molekülün büyüklüğünü artırır ve çözünürlüğünü değiştirir. PEG' in uygulama alanları şöyle sıralanabilir: (I) Protein ve nükleik asitlerin saflaştırılması, (II) İki fazlı sulu polimer sistemlerinin oluşumuna bağlı olarak biyolojik maddelerin saflaştırılması, (III) İmmunojenesitenin ve antijenisitenin düşmesine aynı zamanda serum yarı ömrünün artmasına neden olduğu için proteinlere bağlanmada, (IV) Protein adsorpsiyonunu, trombosit adhezyonunu ve trombojenisitesini geciktirmek için yüzey modifikasyonu, (V) İlaca bağlanma ve ilaç salımı [23].

2.3 *Candida antarctica* Lipaz B Enzimi

Lipazlar, bitkiler veya hayvanlar aleminde ve mikrobiyal organizmalarda hemen her yerde bulunabilen enzimlerdir. Trigliserid veya esterleri hidrolize uğratabilen esterazların alt grubudur. Bu enzim, doğada en çok yiyeceklerin ve yağların bozunmasında rol oynamaktadır. Ayrıca sindirim bozukluğu ve pankreas rahatsızlıklarını tedavi ilaçlarında, yağ sökücü olarak deterjanlarda katkı maddesi olarak ve katalizör olarak kullanılmaktadır [24]. Lipazlar, organik madde sentezinde kullanılan katalizörlerin en çok yönlü sınıfıdır. Çünkü, hem bölgesel ve kiral seçicilik gösterirler hem de pek çok sentetik substrat çeşidiyle uyum göstermektedirler. Sulu ortamda hidroliz reaksiyonlarını katalizleyen lipazlar, susuz ortamda ise ters yönde ester sentezi ve transesterifikasyon reaksiyonlarını katalizlerler [25]. *Candida antarctica* lipaz B (CALB), organik sentezlerde hem laboratuvar hem de ticari ölçekte en çok kullanılan biyokatalizörlerden biridir. Suda hidroliz, organik çözücülerde ise transesterifikasyon reaksiyonları için etkili bir katalizördür. Yüksek

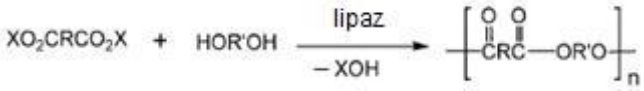
enantioselektiviteleri, pek çok substratla uyumlu olmaları, termal stabiliteleri ve organik çözücülerdeki stabiliteleri nedeniyle pek çok endüstriyel uygulamada kullanılmaktadır [26]. Polimerizasyon, alkol ve aminlerin ayrılması, şekerlerin ve şeker bağlı bileşenlerin modifikasyonu, kompleks ilaç ara ürünlerinin desimetrizasyonu ve β-laktamların halka açılması olarak sayılabilecek geniş bir kullanım alanı vardır [27]. CALB enziminin immobilize formu ısıya dayanıklıdır ve özellikle susuz ortamda, yüksek reaktan konsantrasyonlarına ve güçlü karıştırma hızlarına rağmen uzun bir süre boyunca aktif kalabilmektedir. Sulu çözeltilerde 40^{o}C gibi düşük sıcaklıklarda bile denature olmaktadır [28].

2.4 Enzimatik Polikaprolakton-Polietilen glikol Kopolimerizasyonu

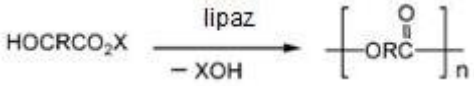
Poliesterlerin lipaz katalizli sentezi iki mekanizma ile gerçekleşir. Bunlar; halka açılması polimerizasyonu ve polikondenzasyondur [29]. Poliesterlerin sentez yöntemleri Şekil 2.3-5'te gösterilmektedir.



Şekil 2.3 : Laktonların enzim katalizli halka açılması polimerizasyonu



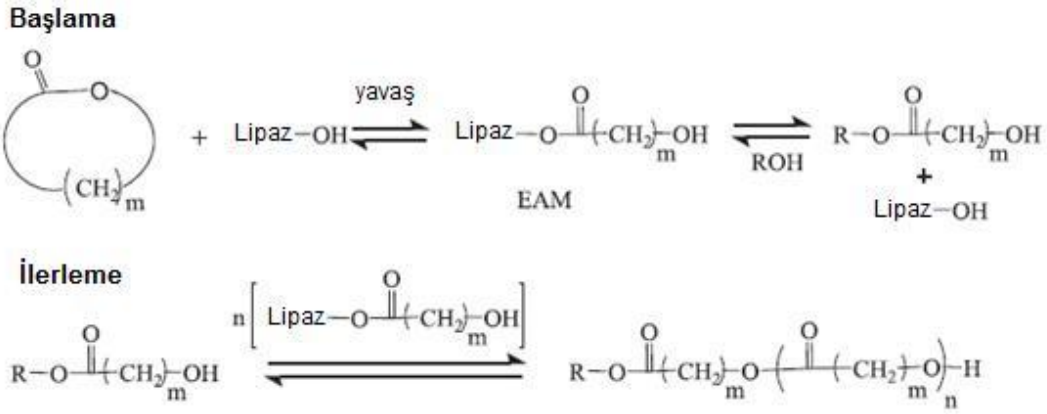
Şekil 2.4 : Karboksilik asit ve esterlerinin alkolle polikondenzasyonu



Şekil 2.5 : Oksiasit ve esterlerinin polikondenzasyonu

Laktonların lipaz katalizli polimerizasyonu için öngörülen mekanizma, reaksiyonun açil-enzim arasında (enzim tarafından aktifleştirilmiş monomer) enzimin katalitik bölgesindeki serin amino asidinde yürümektedir. Reaksiyonun anahtar adımı, lakton halkasının açılması ve açil-enzim yapısını (EAM) oluşturmasıdır. Başlama adımı, enzimin içerdiği suyun enzim tarafından aktifleştirilmiş monomerin açil karbonuna nükleofilik atağıyla gerçekleşir ve ω-hidrokarboksilik asit oluşur ki ω-hidrokarboksilik asit oluşacak polimer zincirinin büyümesini sağlar. Büyüme adımında, EAM büyüme esnasındaki polimerin sonundaki hidroksil grubunun nükleofilik atağıyla polimer zincirinin bir birim büyümesini sağlar. Lipaz katalizli

polimerizasyon, aktifleştirilmiş monomer mekanizması üzerinden yürümektedir. Tüm reaksiyonda hızı belirleyen adam EAM'nin dönüşüm adımıdır [30]. Laktonların enzim katalizli halka açılması polimerizasyon mekanizması Şekil 2.6'da gösterilmektedir.



Şekil 2.6 : Laktonların enzimatik polimerizasyonu [17]

Biyokatalizörlerin hassas yapısı nedeniyle biyokatalitik reaksiyonların çalıştığı sıcaklık aralığı dardır. Sıcaklıklardaki artış enzim aktivitesini artırmakta ancak enzim stabilitesinin düşmesine neden olmaktadır [31]. Laktonların lipaz katalizli halka açılma polimerizasyonları genelde 40-120^{o}C arasında gerçekleştirilir. 80^{o}C'den yüksek reaksiyon sıcaklıkları klasik enzim katalizli reaksiyonlarda tercih edilen sıcaklıklarının üstünde kabul edilebilir. Ancak lipaz, esteraz ve proteaz gibi enzimlerin 90 ve 120^{o}C'ler arasında katalitik olarak aktif olduğu bilinmektedir [30].

Enzimlerin çoğu sulu ortamda çalışmaktadır. 1980'lerin başında Prof. Klibanov ve arkadaşları, enzimlerin organik çözücü içinde çevrelerinde bir su tabakası oluşturduklarını ve böylece katalitik aktivitelerini sürdürdüklerini göstermişlerdir. Bu durum lipazlar gibi hidrolitik enzimlerin organik çözücülerde hidrofobik substratların polikondenzasyon reaksiyonlarını katalizlemesine olanak tanır. Tamamen enzimatik veya kemoenzimatik yaklaşımlar, su tutucu adsorban, hidrojel, biyobozunur malzeme, kiral çözünen matris (chiral resolving matrices), sıvı kristal ve permselektif membran olarak kullanılmaları için pek çok bilinen polimerin sentezlerinde kullanılmıştır. Organik çözücüde gerçekleştirilen enzim katalizli reaksiyonlarda çözücü, enzim aktivitesinin ve stabilitesinin değişimi açısından çok önemli bir rol üstlenir. Politransesterifikasyon reaksiyonlarında bu etkilerin yanı sıra büyüyen

polimer zincirinin organik çözücüde çözünürlüğü ve reaksiyonun ileri yönde gerçekleşmesini sağlayabilmesi çözücü seçimiyle belirlenir [31].

Uzun reaksiyon sürelerinde enzimlerin aktivitelerini kaybetme riski, polimerizasyonu sınırlayan bir unsurdur [30].

Polimer biliminde biyokatalizörlerin kullanılmasıyla polimer maddelerin çeşitliliğinin artması beklenmektedir. Enzimatik polimerizasyon in-vitro kimyasal sentezlerin izole bir enzim tarafından biyosentetik olmayan yollardan katalizlenmesidir [32]. Enzimlerin polimer sentezinde ve dönüşümünde kullanılması yüksek enantio ve regioselektivite göstermelerine ve ılıman koşullar altında çalışabilmelerine bağlıdır. Ayrıca özellikle medikal uygulamalar için sentezlenen kopolimerlerden metal katalizörlerin tamamen uzaklaştırılması gerekliliği, enzimatik kopolimerizasyonu daha avantajlı kılmaktadır [33].

Enzim katalizörler, klasik sentez yöntemlerine göre daha seçicidirler. Seçicilik, konumsal (regioselectivity) olabildiği gibi kiral (stereoselectivity) de olabilmektedir. Katalizörlerin yüksek seçiciliği yan reaksiyonları azaltmakta böylece reaksiyon sonucu oluşan polimeri elde etmek için başvurulan ayırma işlemini kolaylaştırmaktadır. Ayrıca enzimler ılımlı koşullarda çalıştıkları için özellikle ticari uygulamalarda cazip hale gelmektedir [31]. Ayrıca enzimler yenilenebilir kaynaklardan elde edildiklerinden çevre dostu maddelerdir. Ayrıca fonksiyonel polimerik malzeme sentezlemek için petrokimyasal olmayan, yenilenebilir kaynaklardan elde edilen substratlar kullanılarak da global sürdürülebilirliğe büyük bir katkı sağlanabilir [25]. Hemen hemen her organik sentezi katalizleyebilecek bir enzim vardır. Doğada 25000 enzim türü olduğu düşünülmektedir ancak Uluslararası Biyokimya Birliği (International Union of Biochemistry) tarafından şimdiye kadar 3000 enzim tanınmıştır. Var olduğu düşünülen enzimlerin % 90'ı keşfedilmeyi ve kullanılmayı beklemektedir [31].

Lipazlar, farklı polimerizasyon çeşitleriyle poliester ve polikarbonat üretiminde kullanılabilmektedirler. Lipazlar, laktonların (hem küçük hem de büyük halkalı yapılar), halkalı diesterler (laktitler) ve halkalı karbonatların halka açılması polimerizasyonunu katalizleyerek alifatik poliesterler veya polikarbonatlar elde edilmesini sağlarlar [25]. Ayrıca enzimatik halka açılması polimerizasyonuyla,

poli(ester-co-karbonat), kopolikarbonat ve polietilen glikol–poliester blok kopolimerleri gibi biyobozunur polimerler üretilebilmektedir [30].

Candida antarctica lipaz ile PCL-PEG ve PCL-PEG-PCL blok kopolimerleri elde edilebilmektedir. Blok kopolimerlerin yarı kristal yapıda olduğu kristallerin yapısının polikaprolakton tipinde olduğu görülmüştür [30].

Bilindiği gibi enzimler reaksiyonların aktivasyon enerjisini düşürerek reaksiyon hızını artırırlar. Yapılan bir çalışmada, toluende lipaz B katalizörlüğünde gerçekleştirilen ε-CL polimerizasyonunda aktivasyon enerjisinin 2,88 kcal/mol olduğu, toluende alüminyum alkoksid katalizörlüğünde gerçekleştirilen ε-CL polimerizasyonunda ise aktivasyon enerjisinin 10,3 kcal/mol olduğu görülmüştür [30].

ε-CL farklı kaynaklardan elde edilen çeşitli lipazlarla katalizlenerek kolayca polimer hale getirilebilmektedir. ε-CL'un polimerizasyonunda en etkili lipazın *Candida antarctica* olduğu görülmüştür. Uygun koşullarda gerçekleştirilen polimerizasyon sonucunda molekül ağırlığı 89000' den fazla polikaprolakton elde edilebilmiştir. ε-CL'un polimerizasyonu sırasında, polimerizasyon ve bozunma reaksiyonları eş zamanlı gerçekleşir. Ayrıca, zincir transferi ve sonlanması gerçekleşmez. Polikaprolaktonun molekül ağırlığı monomer başlatıcı oranının fonksiyonudur. Yapılmış kinetik çalışmalarda, monomer tüketiminin birinci derece hız kanununa uyduğu görülmüştür [33].

2.5 Kopolimerlerin Karakterizasyonu

Kopolimerler yapıların oluşup oluşmadığını anlamak ve oluşan kopolimerlerin özelliklerini tespit etmek için çeşitli analizler yapılmaktadır.

2.5.1 Molekül yapısının belirlenmesi

Nükleer manyetik rezonans spektroskopi (NMR), hem katı halde hem de bir çözücüde çözünmüş halde bulunan polimerlerin yapısını anlamaya yarayan oldukça etkili bir metottur [6]. Kızılötesi Spektroskopisi (IR) de polimerlerin karakterizasyonu için kullanılan bir yöntemdir.

2.5.2 Molekül ağırlığının belirlenmesi

Molekül ağırlığı tayini Jel Geçirgenlik Kromotografisi (Gel Permeation Chromotography GPC) ile yapılır. Sentetik polimerler, zincir uzunlukları ve molekül ağırlıkları birbirinden farklı moleküllerden oluşan bir karışım halindedirler. Bu karışım polidispers olarak nitelendirilir. Polimerlerin molekül ağırlıkları sayıca ortalama molekül ağırlığı ve ağırlıkça ortalama molekül ağırlığı olarak iki şekilde tanımlanır. Sayıca ortalama molekül ağırlığı (*Mn*), zincirleri uzunluklarına göre aralıklara ayırma ve her aralıktaki zincir fraksiyonunu belirleme esasına dayanır.

$$\overline{Mn} = \sum(Xi \times Mi) \quad (1)$$

M_i, i boyut aralığındaki ortalama molekül ağırlığını, x_i ise aralıktaki toplam zincir sayısının fraksiyonunu belirtir. Ağırlıkça ortalama molekül ağırlığı (*Mw*) ise, farklı boyutt arlıklarındaki moleküllerin ağırlık fraksiyonları olarak tanımlanır.

$$\overline{Mw} = \sum(Wi \times Mi) \quad (2)$$

M_i i boyut aralığındaki ortalama molekül ağırlığını, w_i ise aralıktaki moleküllerin ağırlık fraksiyonunu belirtir.

Monodispers polimerler, tüm molekülleri eşit molekül ağırlığına sahip polimerlere denir (Mn=Mw). Monodispers olmayan polimerler için ise ağırlıkça ortalama molekül ağırlığı, sayıca ortalama molekül ağırlığından büyüktür (Mw>Mn). Bu polimerler için polidispersite indeksinden bahsedilir. Bu indeks, ağırlıkça ortalama molekül ağırlığının, sayıca ortalama molekül ağırlığına oranı olarak tanımlanır [6].

$$PDI = \frac{\overline{Mw}}{\overline{Mn}} \quad (3)$$

PDI, molekül ağırlığı dağılımının genişliğinin bir ölçüsüdür. Ticari polimerler 1,5 ile 50 arasında değişen polidispersite indeksine sahiptir. Polidispersite indeksi 1,1 den daha küçük olan polimerler ancak özel yöntemlerle sentezlenebilmektedir [7].

2.5.3 Termal özelliklerinin belirlenmesi

Diferansiyel taramalı kalorimetrik analiz (DSC), malzemelerin termal özelliklerini belirlemek için kullanılan bir yöntemdir. Kopolimerler eğer gelişigüzel sıralıysa, kendini oluşturan iki homopolimerin yapıdaki ağırlıkça oranlarına uygun şekilde ortalama bir Tg değeri verir. Kopolimer blok yapıda ise birden fazla Tg değeri verir. Bunlar, kendini oluşturan homopolimerlerin spesifik Tg değerleridir [6].

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1 Malzemeler

Deneylerde kullanılan malzemeler ve özellikleri aşağıda sıralanmıştır.

3.1.1 ε-kaprolakton (Aldrich)

ε-kaprolakton % 99 saflıkta olup, kullanılmadan önce moleküler elekte bekletilerek içerdiği sudan uzaklaştırılması sağlanmıştır.

3.1.2 Polietilen glikol (Clariant)

Molekül ağırlığı 6000 olan toz haldeki polietilen glikol bir ön işleme tabii tutulmadan kullanılmıştır.

3.1.3 *Candida anratctica* lipaz B - Novozyme 435 (Aldrich)

Ticari adı Novozyme 435 olan, *Candida anratctica* lipaz B enzimi, 700 unit/g aktiviteye sahiptir ve kopolimerizasyon reaksiyonlarında katalizör olarak kullanılmıştır.

3.1.4 Toluen (Merck)

Toluen, yoğunluğu 0,867 g/cm^3, kaynama noktası 111°C, erime noktası -93°C olan yanıcı, keskin bir kokusu olan, renksiz, güçlü ışık kırıcı organik bir sıvıdır. Reaksiyonlarda çözücü olarak kullanılmıştır.

3.1.5 Etilen glikol (Carlo Erba)

Yoğunluğu 1,113 g/cm^3 olan, kaynama noktası 197,3^{o}C olan renksiz bir sıvıdır. İki ucunda da hidroksil grup bulundurması sebebi ile kopolimerizasyon reaksiyonunda başlatıcı olarak kullanılmıştır.

3.1.6 n-Bütanol (LabKim)

Yoğunluğu 0,81 g/cm^3 olan, kaynama noktası 118^{o}C olan 4 karbonlu bir alkoldür. Yapısının bir ucunda hidroksil grubu bulundurması sebebi ile kopolimerizasyon reaksiyonunda başlatıcı olarak kullanılmıştır.

3.1.7 Kloroform (Aldrich)

Yoğunluğu 1,48 g/cm^3 olan, kaynama noktası 61^{o}C, renksiz bir sıvıdır. Reaksiyonu sonlandırma amacıyla, ön işlem uygulamadan kullanılmıştır.

3.1.8 Metanol (Merck)

Yoğunluğu 0,792 g/cm^3 olan, kaynama noktası 64,7^{o}C olan en basit yapılı alkoldür.

Reaksiyon sonunda oluşan kopolimeri çöktürmek için kullanılmıştır.

3.2 Ekipmanlar

3.2.1 Jel geçirgenlik kromatografisi (GPC)

Kopolimerlerin molekül ağırlıkları, Agilent 1100 model GPC cihazı ve Zorbax PSM kolonlar (1000-S, 300-S, 60-S) kullanılarak ölçülmüştür. Kopolimerleri çözmede kullanılan ve kolonlarda kopolimerin taşınmasını sağlayan mobil faz tetrahidrafurandır. Tetrahidrafuranın kolonlardaki akış hızı 0,5 ml/dak, sıcaklık ise 25^{o}C olarak ayarlanmıştır. GPC'nin kalibrasyonu molekül ağırlıkları 580 g/mol ile 504,500 g/mol arasında değişen polistiren standartlarına göre yapılmıştır.

3.2.2 Nükleer manyetik rezonans (NMR)

Kopolimer yapının oluştuğu ^{1}H-NMR spektrumuyla tespit edilmiştir. Ayrıca kopolimerlerin sayıca ortalama molekül ağırlığı ve kopolimerdeki polietilen glikol yüzdesi piklerin alanlarından yola çıkılarak hesaplanmıştır. Kullanılan cihaz tetrametilsilan standardı ile kalibre edilmiş Bruker Ultrashield 300 MHz sıvı NMR spektrometresidir. Çözücü olarak $CDCl_3$ kullanılmıştır.

^{1}H-NMR spektrumundaki kaprolakton ve etilen oksit piklerinin alanları kullanılarak kopolimerin polimerizasyon derecesini ve ortalama sayıca molekül ağırlığını hesaplamak mümkündür. Molekül ağırlığı ve polimerizasyon derecesi (DP) aşağıdaki formüllere göre hesaplanır.

$$DP(PCL) = \left(\frac{Mn(PEG)}{44}\right)\left(\frac{[CL]}{[EO]}\right) \quad (4)$$

$$Mn = Mn(PEG) + 114 \times DP(PCL) \quad (5)$$

3.2.3 Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC)

Kopolimerlerin termal özellikleri Perkin Elmer Diamond model DSC ile analiz yapılarak belirlenmiştir. Analiz, kopolimer numuneleri inert azot atmosferinde, -60^{o}C'den 220^{o}C'ye kadar 10^{o}C/dak hızla ısıtılıp soğutularak yapılmıştır.

3.2.4 Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometresi (FTIR)

Elde edilen kopolimerlerin FTIR spektrumları ile spesifik bağların oluşup oluşmadığını böylece de kopolimerin oluşup oluşmadığı kontrol etmek amacıyla başvurulan bir yöntemdir. Nicolet 380 model FTIR cihazı kullanılmıştır.

3.2.5 Diğer ekipmanlar

-Hassas terazi, And, Gr-200

-Yağ banyosu, Ikamag RCT Classic

-Manyetik karıştırıcı, Ikamag RH

-Etüv, Binder

3.3 Metotlar

Sentezlenecek kopolimerlerdeki bileşim farklılığının elde edilen kopolimerin özellikleri üzerindeki etkisini incelemek amacıyla tüm deneyler hem ağırlıkça %10 hem de % 20 polietilen glikol içerecek şekilde yapılmıştır. Başlatıcı kullanmanın ve başlatıcı türünün elde edilen kopolimer üzerindeki etkisini incelemek amacıyla deneyler hem başlatıcı olarak etilen glikol ve bütanolle hem de başlatıcı kullanılmadan yapılmıştır. Başlatıcı miktarı toplam monomer miktarının % 2'si olacak şekilde ayarlanmıştır. Bu bölümde yapılan sentezler 70^{o}C'de ve toplam ε-CL ve PEG miktarının ağırlıkça % 10'u kadar enzim kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Bir sonraki aşamada sıcaklığın etkisi gözlemlenmek üzere kopolimerler 65, 70, 75 ve 80^{o}C'de sentezlenmiştir. Başlatıcısız sentezlerde elde edilen kopolimerlerin molekül ağırlıkları daha yüksek olduğu için sıcaklık etkisinin araştırılmak üzere yapılan

deneyler başlatıcı olmadan ve reaksiyona sokulan toplam ε-CL ve PEG miktarının ağırlıkça % 10'u kadar enzim kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Son aşamada ise enzim miktarının elde edilen kopolimer ve reaksiyon verimi üzerindeki etkisini görmek için deneyler reaksiyona sokulan toplam ε-CL ve PEG miktarının ağırlıkça % 5, 10 ve 15'i olacak şekilde bir önceki aşamada daha yüksek molekül ağırlığı elde edildiği görülen 75^{o}C'de yapılmıştır.

Tüm deneyler sürenin etkisini gözlemlemek amacıyla 2, 4, 6 saat ayrıca molekül ağırlığının arttığı durumda 8 ve 12 saat reaksiyon sürelerinde yapılmıştır.

Kopolimerizasyon 50 ml hacme sahip cam reaktörlerde gerçekleştirilmiştir. ε-CL kullanılmadan önce moleküler elekte bekletilerek içerdiği suyun uzaklaşması sağlanmıştır. Öncelikle belirlenen ε-CL ve PEG daha sonra çözücü olan toluen hassas terazide tartılarak reaktöre konmuştur. Toluen, toplam monomer miktarının ağırlıkça iki katıdır. En son, belirlenen miktarda ticari adı Novozyme 435 olan lipaz enzimi tartılarak reaksiyon ortamına konmuş ve inert bir ortam oluşması için azot gazı beslenerek reaktör kapatılmıştır. Reaksiyonlar önceden belirlenen sıcaklığa getirilmiş yağ banyosunda manyetik karıştırıcı ile 140 rpm'de karıştırılarak gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon süresi dolduğunda yağ banyosundan alınan reaktöre kloroform katılarak reaksiyon sonlandırılmış ve filtre kağıdıyla süzülerek enzimin ayrılması sağlanmıştır. Kloroform uçurulduktan sonra metanol katılarak oluşan kopolimer çöktürülmüş ve elde edilen kopolimerler 35^{o}C etüvde kurutularak GPC, FTIR, ^{1}H-NMR ve DSC analizleri yapılmıştır. Reaksiyon sonucu elde edilen kopolimer kuruduktan sonra tartılarak reaksiyon verimi hesaplanmıştır. Kopolimerizasyon reaksiyonlarının gerçekleştirildiği deney düzeneği Şekil 3.1'de görülmektedir.



Şekil 3.1 : Deney düzeneği

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Candida antarctica lipaz B enzimi katalizörlüğünde, toluen çözücüsü ile polikaprolakton-polietilen glikol (PCL-PEG) kopolimeri sentezlenmiştir.

4.1 Polikaprolakton-Polietilen Glikol Kopolimerine Polietilen Glikol Miktarının Etkisi

Polietilen glikol miktarının elde edilen kopolimerin özellikleri üzerindeki etkisini incelemek amacıyla tüm deneyler hem % 10 hem de % 20 polietilen gikol içerecek şekilde yapılmıştır.

4.2 % 10 Polietilen Glikol İçeren Kopolimerlere Reaksiyon Parametrelerinin Etkisi

Kopolimerizasyon reaksiyonuna etki eden faktörler; başlatıcı türü, sıcaklık ve enzim miktarıdır.

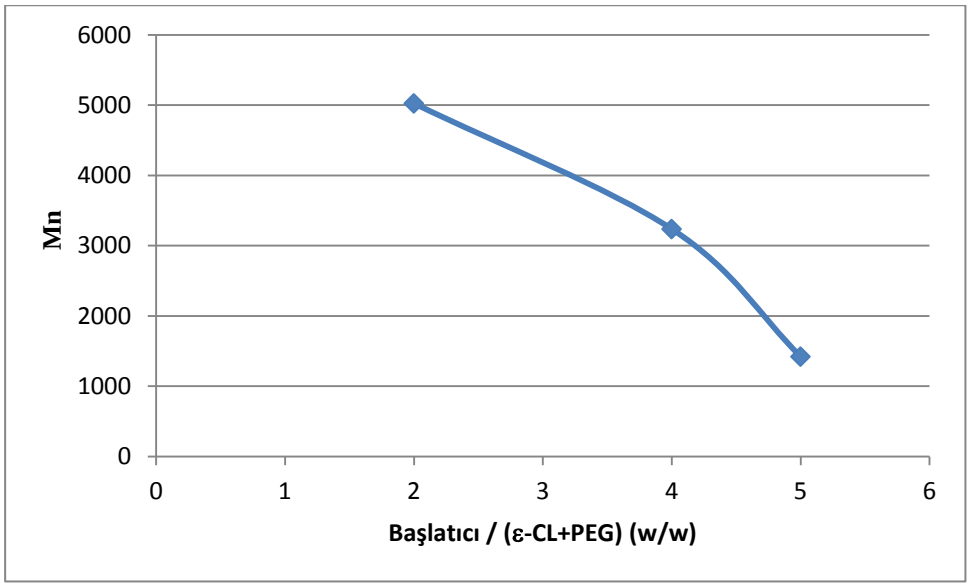
4.2.1.1 Kopolimerizasyon reaksiyonuna başlatıcı etkisi

Başlatıcı türünün elde edilen kopolimerler üzerindeki etkisini incelemek amacıyla kopolimerizasyon reaksiyonları yapısında bir ucunda tek hidroksil bulunduran n-bütanol ve iki ucunda birer hidroksil bulunduran etilen glikol ile gerçekleştirilmiştir. Başlatıcı miktarını belirlemek için, reaksiyona sokulan toplam PEG ve ε-CL miktarının % 2'si, % 4'ü ve %5'i kadar etilen glikol ile 70^{o}C'de % 10 enzim miktarıyla reaksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Çizelge 4.1'de elde edilen kopolimerlerin GPC ile ölçümü yapılan molekül ağırlıkları ve polidispersite değerleri görülmektedir.

Çizelge 4.1 : Farklı başlatıcı miktarlarıyla yapılan deneylerin GPC analiz sonuçları.

Başlatıcı/ (ε-CL+PEG)	Mn	D
2 %	5025	1.20
4 %	3237	1.24
5 %	1422	1.91

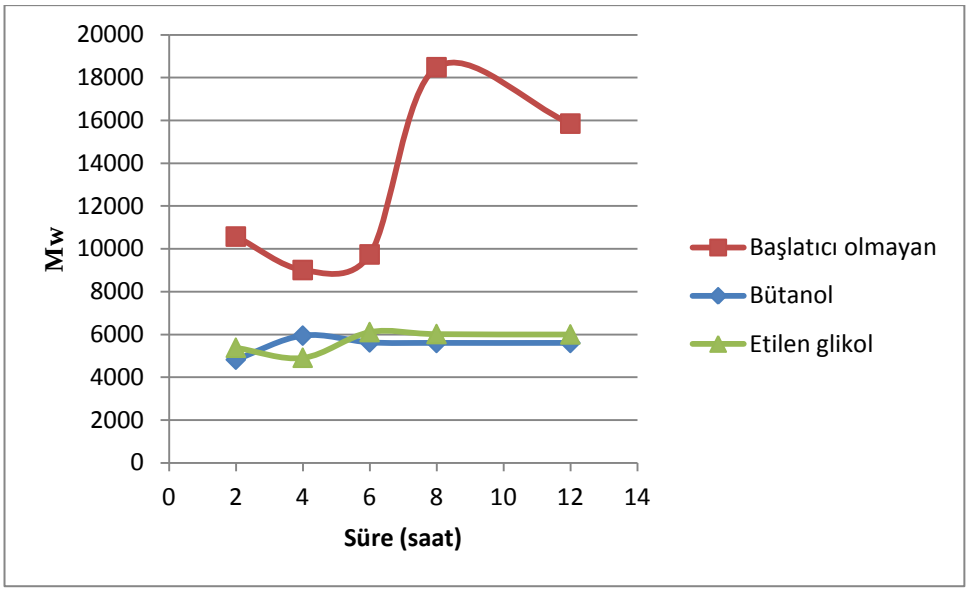
Kullanılan başlatıcı miktarı arttıkça kopolimerin polidispersitesi artmaktadır. Şekil 4.1'de polikaprolakton-polietilen glikol kopolimerlerinin ortalama sayıca molekül ağırlığının başlatıcı miktarı ile değişimi görülmektedir.



Şekil 4.1 : Başlatıcı miktarının kopolimerin molekül ağırlığı üzerine etkisi.

Şekil 4.1'de görüldüğü gibi başlatıcı miktarı arttıkça molekül ağırlığı düşmektedir. Bu sebeple reaksiyonlar, başlatıcı miktarı reaksiyona sokulan toplam PEG+ε-CL miktarının % 2'si olacak şekilde, 70^{o}C'de ve % 10 enzim miktarıyla gerçekleştirilmiştir. Kopolimerizasyon reaksiyonlarını başlatıcı ile gerçekleştirmenin etkisini gözlemlemek için reaksiyonlar aynı koşullar ve eşit miktarlarda reaktanlarla başlatıcı olmaksızın da gerçekleştirilmiştir.

Şekil 4.2'de başlatıcı olarak bütanol ve etilen glikol kullanılarak ayrıca başlatıcı olmadan elde edilen kopolimerlerin ortalama ağırlıkça molekül ağırlıklarının reaksiyon süresi ile değişimi görülmektedir.



Şekil 4.2 : Başlatıcının kopolimer üzerindeki etkisi

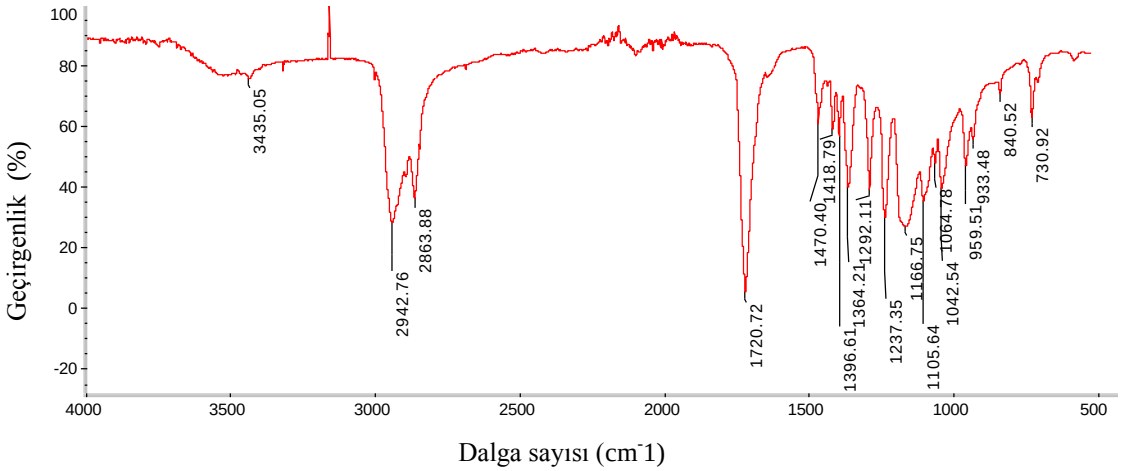
Başlatıcı kullanmanın ve türünün elde edilen kopolimerlerin molekül ağırlığı üzerindeki etkisi incelendiğinde başlatıcı kullanılarak sentezlenen kopolimerlerin molekül ağırlığının başlatıcı kullanılmadan sentezlenen kopolimerlerinkinden daha düşük olduğu görülmektedir. Başlatıcı olarak bütanol ve etilen glikolün kullanıldığı reaksiyonlarda elde edilen kopolimerlerin molekül ağırlıklarının birbirine çok yakın olduğu görülmektedir. En yüksek molekül ağırlıklı kopolimer başlatıcısız olarak gerçekleştirilen 8 saatlik reaksiyonda elde edilmiştir. Çizelge 4.2'de sentezlenen en yüksek molekül ağırlıklı polikaprolakton-polietilen glikol kopolimerlerinin GPC ile tespsit edilen molekül ağırlıkları, polidispersite değerleri ve ayrıca kopolimerlerin ağırlığından yola çıkılarak hesaplanan reaksiyon verimleri görülmektedir.

Çizelge 4.2 : Başlatıcı olmadan, bütanol ile ve etilen glikol ile sentezlenen PCL-PEG kopolimerlerinin GPC analizi sonuçları.

Başlatıcı türü	Mw	Polidispersite	Verim
Başlatıcısız	18480	1.66	71
Bütanol	5940	1.37	54
Etilen glikol	6110	1.24	24

Başlatıcı olmadan gerçekleştirilen reaksiyonlarda elde edilen kopolimerlerin molekül ağırlıklarının, polidispersitelerinin ve reaksiyon verimlerinin başlatıcı ile gerçekleştirilen reaksiyonlarda elde edilen kopolimerlerinkinden daha yüksek olduğu gözlemlenmektedir.

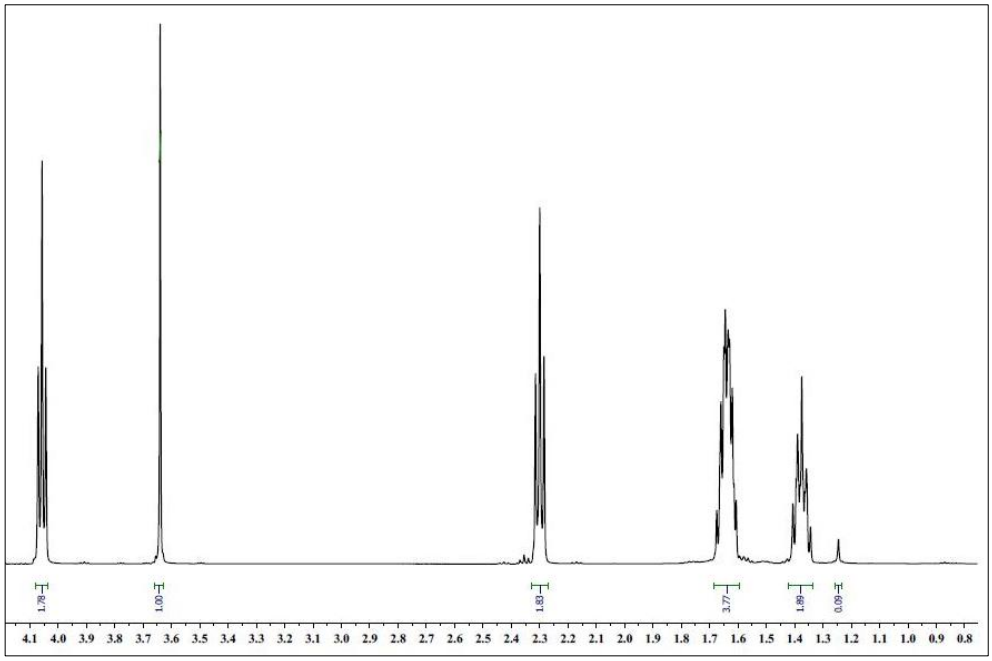
Şekil 4.3'de başlatıcısız, 70°C'de, 4 saatlik reaksiyon süresi sonucu elde elde edilen polikaprolakton-polietilen glikol kopolimerinin FTIR spektrumu görülmektedir.



Şekil 4.3 : Başlatıcı olmadan sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin FTIR spektrumu

FTIR spektrumunda görülen, 1720 cm^{-1} dalga sayısındaki pik C=O ester karbonil grubuna, 1166 cm^{-1} ve 1237 cm^{-1} dalga sayılı pikler PEG'in tekrar eden –OCH2CH2 birimindeki C-O-C bağlarına ve –COO- bağlarına işaret eder. 3435 cm^{-1} dalga sayılı küçük pik ise PEG homopolimerinden ayrılan hidroksil grubuna aittir. 2942 cm^{-1} ve 2863 cm^{-1} dalga sayılı pikler C-H bağlarından kaynaklanmaktadır. FTIR spektrumunun, literatürde daha önce yapılmış çalışmalarla karşılaştırıldığında uygunluk gösterdiği görülmektedir [21].

Şekil 4.4'de başlatıcı olmadan, 70°C'de gerçekleştirilen reaksiyonlar sonucu elde edilen kopolimerler arasından en yüksek molekül ağırlığına sahip olan, 8 saatlik reaksiyon süresinde elde edilmiş kopolimerin ^{1}H-NMR spektrumu görülmektedir.



Şekil 4.4 : Başlatıcı olmadan sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin ^{1}H-NMR spektrumu

Daha önce bu konuda yapılan çalışmalar incelendiğinde, 1.42, 1.62, 2.34 ve 4.09 ppm spektrumlarının sırasıyla PCL'nin -$(CH_2)_3$-, -$OCCH_2$- ve –CH_2OOC- metilen protonlarını gösterdiği ve 3.66 ppm'deki keskin pikin ise PEG'in oksietilen birimindeki metilen protonunundan kaynaklandığı görülmektedir [4]. 70^{o}C'de 8 saatte başlatıcı olmadan gerçekleştirilen reaksiyon sonucu elde edilen kopolimerin ^{1}H-NMR sonucu bu verilerle örtüşmektedir. ^{1}H-NMR spektrumunda görülen 3,66 ppm'deki PEG metilen piki alanının, 4,09 ppm'deki PCL metilen piki alanına oranlanmasıyla kopolimerdeki PEG oranı hesaplanabilmektedir. Çizelge 4.3'te sentezlenen kopolimerin ^{1}H-NMR spektrumundan hesaplanan PEG miktarı ve (4) ve (5) numaralı formüllerle hesaplanan polimerizasyon derecesi ve ortalama sayıca molekül ağırlığı görülmektedir.

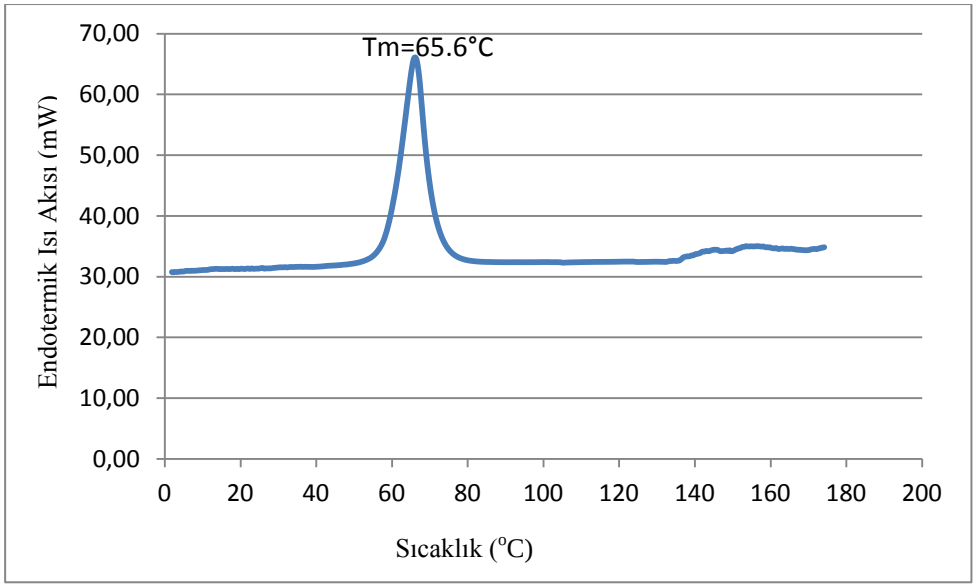
Çizelge 4.3 : Başlatıcı olmadan sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin ^{1}H-NMR spektrumundan hesaplanan % PEG, DP ve Mn değerleri

Ağırlıkça PEG % reaktan	Ağırlıkça PEG % ürün	DP	Mn
10	17.8	19.64	2725

Reaksiyona sokulan reaktanların % 10'u PEG iken, reaksiyon sonunda elde edilen kopolimerdeki PEG oranı ^{1}H-NMR sonucuna göre % 17.8'dir. Bu durumun

sebebinin ε-CL'un tamamının reaksiyona girmemesi ve sonuç olarak da kopolimerdeki PEG miktarının kopolimerin toplam miktarına oranının başlangıçtan daha yüksek olduğu düşünülmektedir.

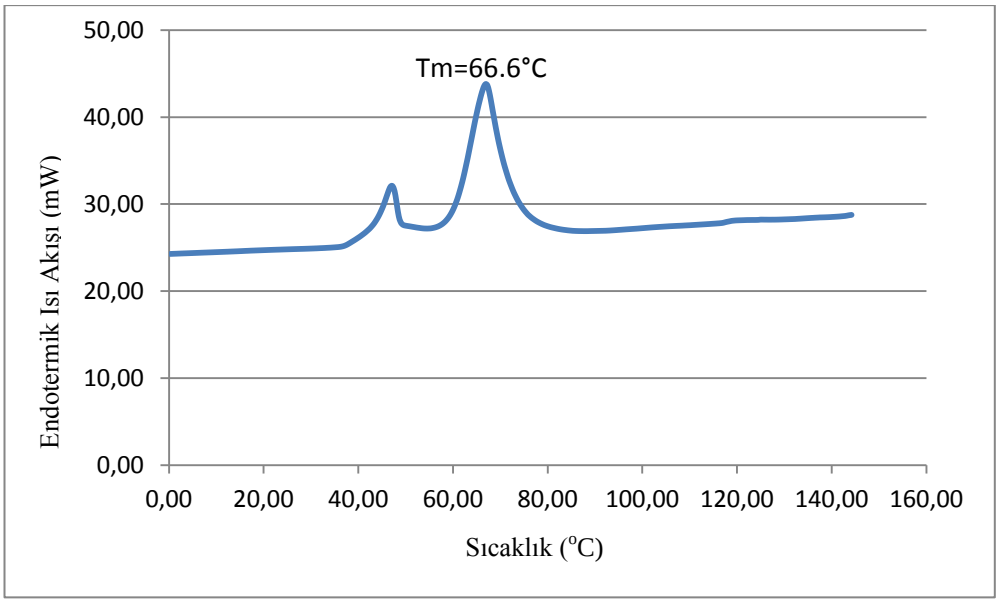
%10 PEG içeren, başlatıcı olmadan 70°C'de 6 saatlik reaksiyon sonucu elde edilen kopolimerin termal özellikleri DSC analizi yapılarak incelenmiş ve Şekil 4.5'te verilmiştir.



Şekil 4.5 : Başlatıcı olmadan 6 saatlik reaksiyon süresinde sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin DSC analizi

Grafikte de görüldüğü gibi PCL-PEG kopolimerinin tek bir erime noktası vardır. Kopolimerin erime noktası, polikaprolaktonun erime noktasına (60°C) yakındır. Yapıya polietilen glikol katılmasının, polikaprolaktonun termal özelliğini çok fazla değiştirmediği görülmektedir [34].

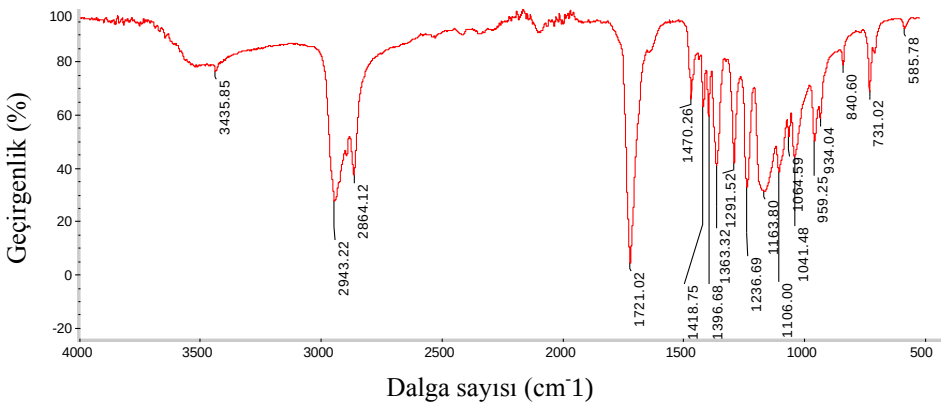
Şekil 4.6'da %10 PEG içeren, başlatıcı olmadan 70°C'de 8 saatlik reaksiyon süresinde elde edilen kopolimerin DSC analiz sonucu göülmektedir.



Şekil 4.6 : Başlatıcı olmadan 8 saatlik reaksiyon süresinde sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin DSC analizi

8 saatlik reaksiyon sonucu elde edilen kopolimerin DSC analizinde iki erime noktası olduğu görülmektedir. Bunlardan 65°C cıvarı çıkan polikaprolakton kristal fazından, 45°C cıvarı çıkan ise polietilen glikol kristal fazından kaynaklandığı bilinmektedir [22]. Polietilen glikol-polikaprolakton kopolimerlerinin sentezlendiği bir çalışmada DSC analizi yapılarak termal davranımı incelenen kopolimerlerin bazılarının çift, bazılarının ise tek erime noktasına sahip olduğu görülmüş ve kopolimerler geniş açılı x ışını dağılımı (wide angle x-ray scattering-WAXD) analizi yapılarak polikaprolakton ve polietilen glikol bileşenlerinin iki farklı mikro alanda olduğu tespit edilmiştir [35].

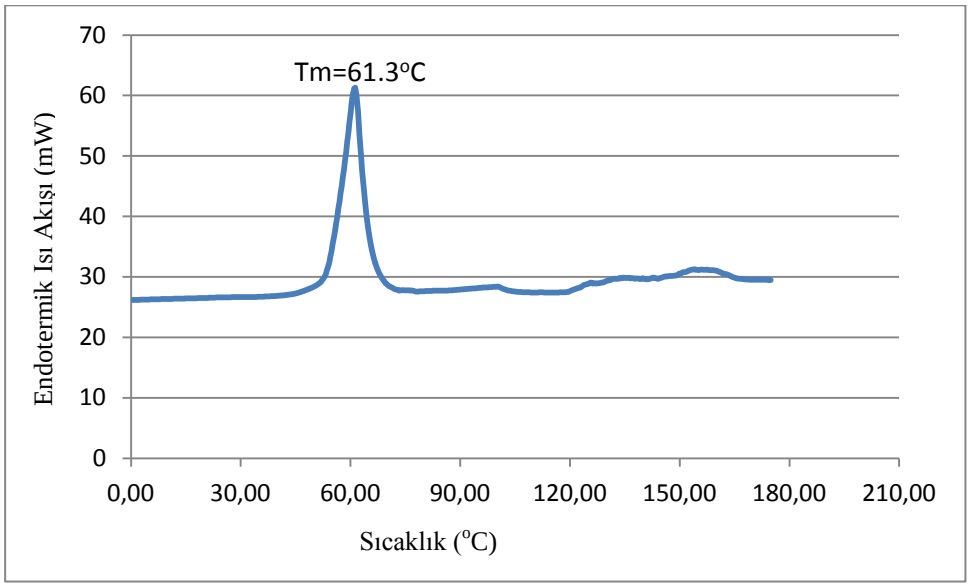
Şekil 4.7'te bütanol ile 70°C'de, 4 saatlik reaksiyon süresi sonucu elde elde edilen polikaprolakton-polietilen glikol kopolimerinin FTIR spektrumu görülmektedir.



Şekil 4.7 : Bütanol ile sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin FTIR spektrumu

1721 cm^{-1} dalga sayısındaki pik C=O ester karbonil grubuna, 1163 cm^{-1} ve 1236 cm^{-1} dalga sayılı pikler PEG'in tekrar eden –OCH2CH2 birimindeki C-O-C bağlarına ve COO bağlarına işaret eder. 3435 cm^{-1} dalga sayılı küçük pik ise PEG homopolimerinden ayrılan hidroksil grubuna aittir, bütanol kullanılan bu deneyde hidroksil grubu piki daha belirgindir. C-H bağlarından kaynaklanan 2943 cm^{-1} ve 2884 cm^{-1} dalga sayılı pikler görülmektedir. Karakteristik tüm pikler FTIR spektrumunda görüldüğünden kopolimer yapının oluştuğu sonucuna varılmaktadır.

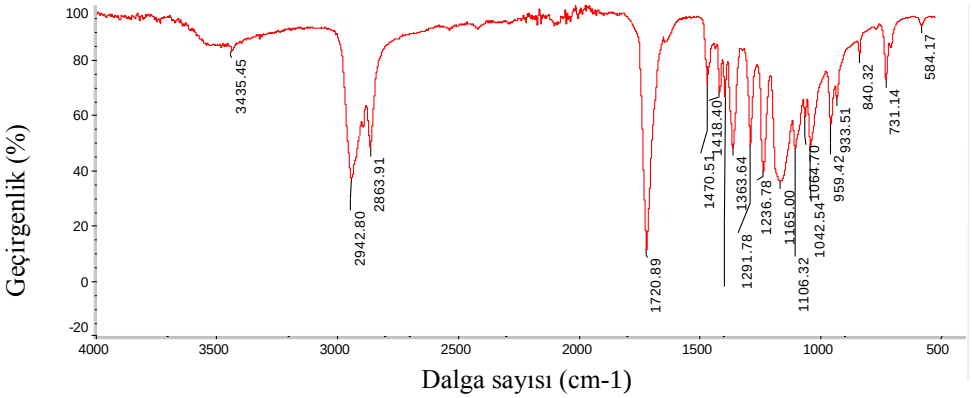
% 10 PEG içeren, başlatıcı olarak bütanol kullanılarak 70°C'de 6 saatlik reaksiyon süresinde sentezlenmiş PCL-PEG kopolimerinin termal davranımı DSC ile incelenmiş, analiz sonucu Şekil 4.8'de verilmiştir.



Şekil 4.8 : Bütanolle 6 saatlik reaksiyon süresinde sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin DSC analizi

Grafikte görüldüğü gibi bütanolle gerçekleştirilen sentez sonucu elde edilen PCL-PEG kopolimerinin erime noktası 61.3°C'dir ve bu sıcaklık polikaprolakton homopolimerinin erime sıcaklığına yakın bir değerdir.

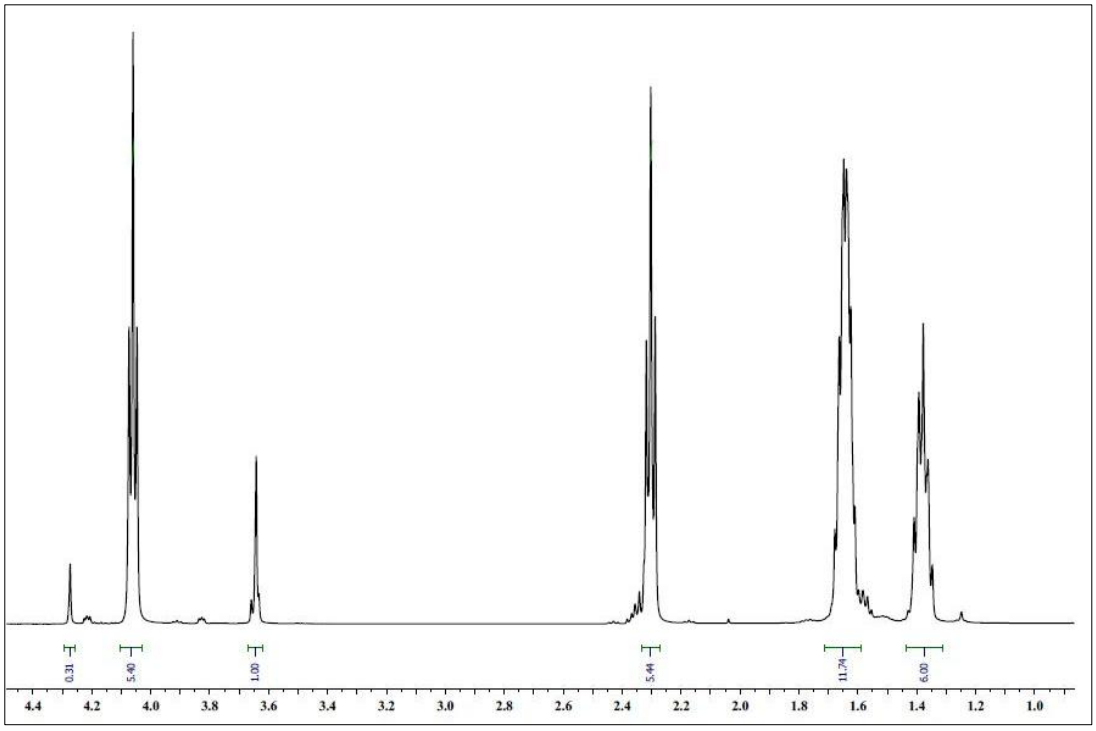
Etilen glikolün başlatıcı olarak kullanıldığı, 70°C'de, 4 saatte sentezlenen kopolimerin FTIR spektrumu Şekil4.9'da görülmektedir.



Şekil 4.9 : Etilen glikol ile sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin FTIR spektrumu

FTIR spektrumu incelendiğinde, 1720 cm^{-1} dalga sayısınaki pik C=O ester karbonil grubuna, 1166 cm^{-1} ve 1236 cm^{-1} dalga sayılı pikler PEG'in tekrar eden –OCH2CH2 birimindeki C-O-C bağlarına ve –COO- bağlarına işaret eder. 3435 cm^{-1} dalga sayılı küçük pik ise PEG homopolimerinden ayrılan hidroksil grubuna aittir. Bu pik bütanolle yapılan deneydekine benzer şekilde başlatıcısız deneydekinden daha belirgindir. 2942 cm^{-1} ve 2863 cm^{-1} dalga sayılı pikler C-H bağlarından kaynaklanmaktadır. FTIR sonucu, literatürde daha önce yapılmış çalışmalarla karşılaştırıldığında literatüre uygunluk gösterdiği görülmektedir [4].

Başlatıcı olarak etilen glikolün kullanıldığı, 70^{o}C'de gerçekleştirilen deneyler arasında en yüksek molekül ağırlığına sahip 8 saatlik reaksiyon süresinde elde edilen kopolimerin ^{1}H-NMR sonucu Şekil 4.10'da görülmektedir.



Şekil 4.10 : Etilen glikol ile sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin ^{1}H-NMR spektrumu

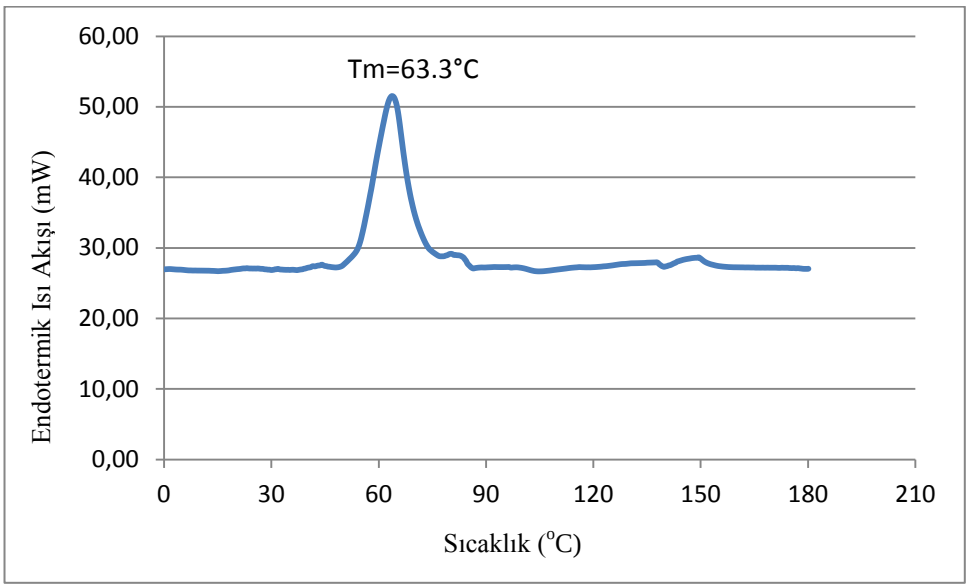
Literatürdeki bilgiler; 1.42, 1.62, 2.34 ve 4.09 ppm spektrumlarının sırasıyla PCL'nin metilen protonlarını gösterdiği ve 3.66 ppm'deki keskin pikin ise PEG'in oksietilen birimindeki metilen protonununu gösterdiği yönündedir [4]. Analiz sonucu bu verilere uygunluk göstermektedir. ^{1}H-NMR grafiğinde görülen 3,66 ppm' deki PEG metilen piki alanının, 4,09 ppm'deki PCL metilen piki alanına oranlanmasıyla kopolimerdeki PEG miktarı oranı bulunmuş ve bu oran Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4 : Etilen glikol ile sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin ^{1}H-NMR spektrumundan hesapnan % PEG, DP ve Mn değerleri

Kopolimer	Ağırlıkça PEG % reaktan	Ağırlıkça PEG % ürün	DP	Mn
70^{o}C 8saat	10	6.67	59.59	7278

Reaksiyona sokulan toplam ε-CL ve PEG miktarının % 10'u PEG iken, analiz sonucunda elde edilen kopolimerin % 6.67'sinin PEG olduğu hesaplanmıştır. Kopolimerdeki PEG oranının başlangıçta reaksiyona sokulan PEG oranından düşük çıkma sebebi, reaksiyonun % 20.68 verimle gerçekleşmiş olması ve polietilen glikolün tamamının reaksiyona girmemiş olmasıdır.

% 10 PEG içeren, etilen glikolle 6 saatlik reaksiyon süresinde 70°C'de sentezlenmiş kopolimerin termal özellikleri DSC ile incelenerek sonuçlar Şekil 4.11'de verilmiştir.

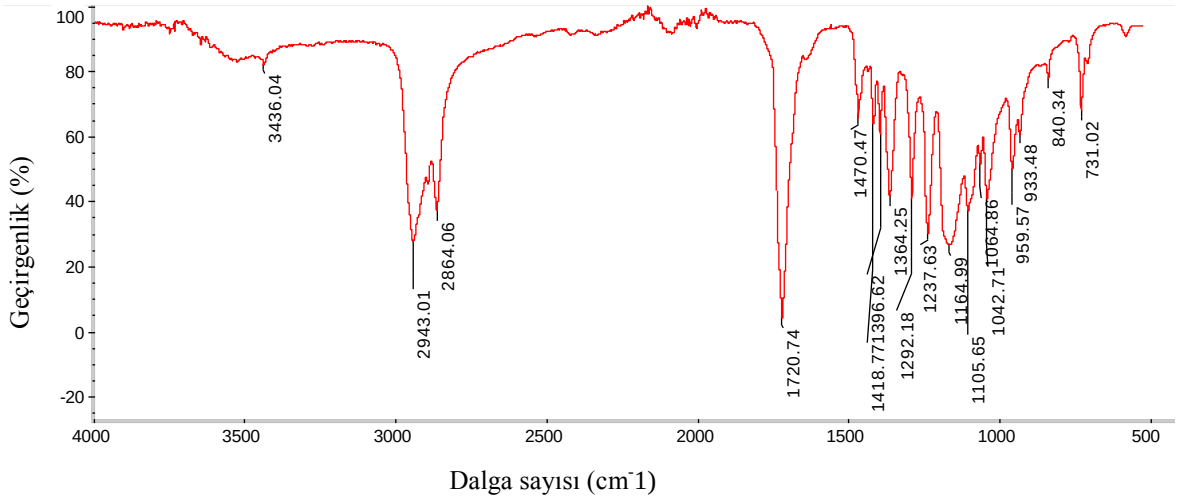


Şekil 4.11 : Etilen glikolle 6 saatlik reaksiyon süresinde sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin DSC analizi

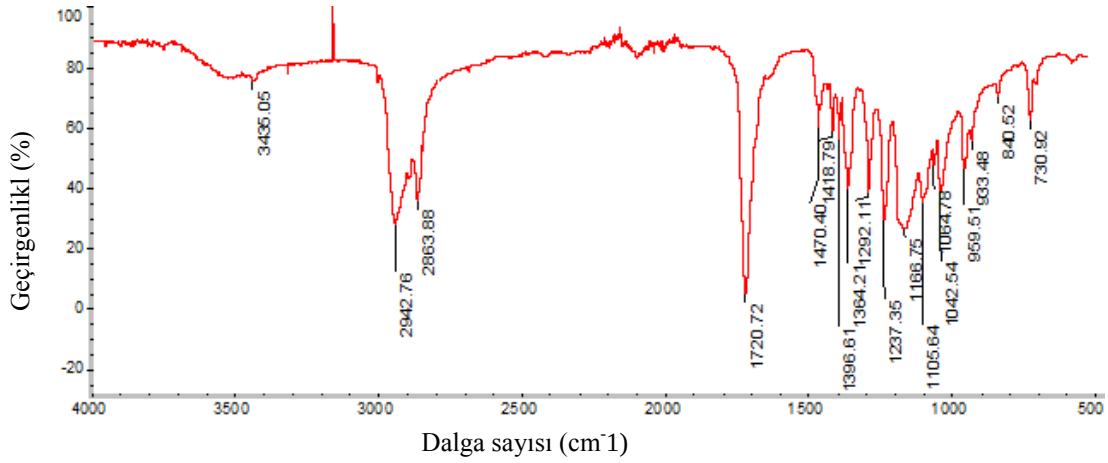
Etilen glikolle sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin de DSC analizinde tek bir erime noktası olduğu belirlenmiştir. Bu değer 63.3°C olup, polikaprolaktonun erime noktasına yakın bir değerdir (65°C).

4.2.1.2 Kopolimerizasyona sıcaklığın etkisi

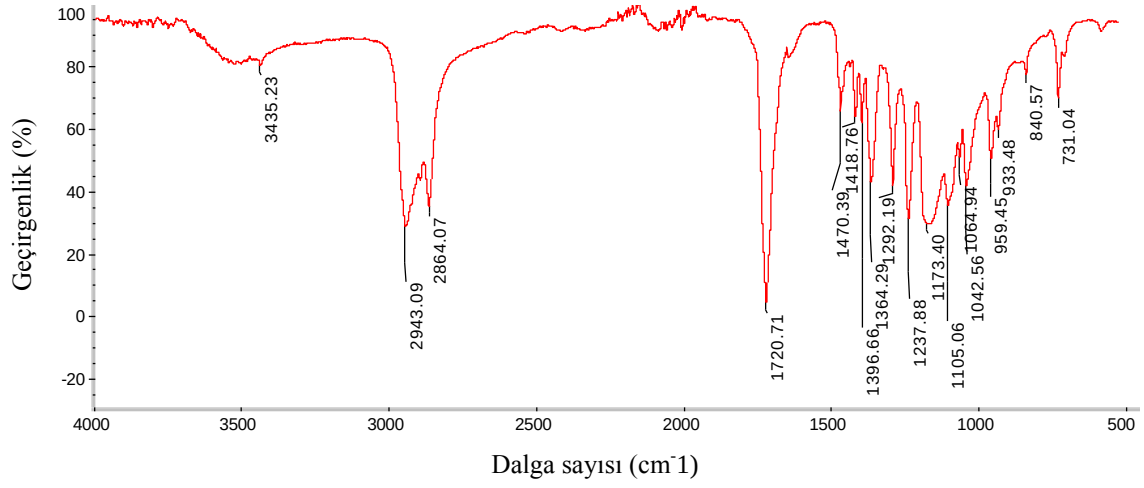
Sıcaklığın kopolimerizasyon üzerindeki etkisini görmek için PCL-PEG kopolimerleri 65, 70, 75 ve 80°C'de, enzim miktarı reaksiyona sokulan toplam ε-CL ve PEG miktarının % 10'u ve en yüksek molekül ağırlığı başlatıcısız deneylerde elde edildiği için başlatıcısız olarak farklı reaksiyon sürelerinde sentezlenmiştir. Elde edilen kopolimerlerin karakterizasyonu FTIR spektrumu ile yapılmıştır. 4 saat reaksiyon süresinde, % 10 PEG içeren farklı sıcaklıklarda sentezlenmiş kopolimerlerin spektrumları Şekil 4.12- 4.15'de görülmektedir.



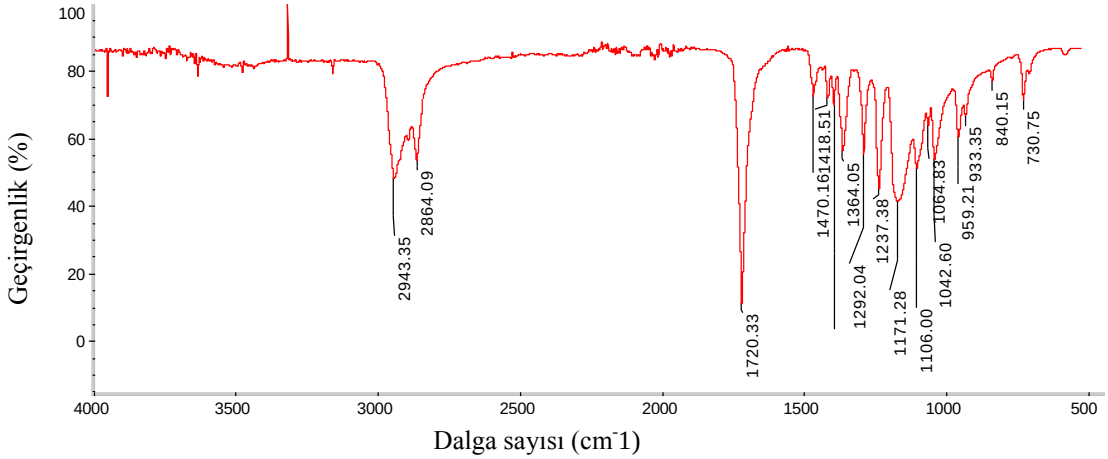
Şekil 4.12 : 65°C'de 4 saat reaksiyon süresinde sentezlenmiş Polikaprolakton-Polietilen glikol kopolimerinin FTIR spektrumu



Şekil 4.13 : 70°C'de 4 saat reaksiyon süresinde sentezlenmiş Polikaprolakton-Polietilen glikol kopolimerinin FTIR spektrumu



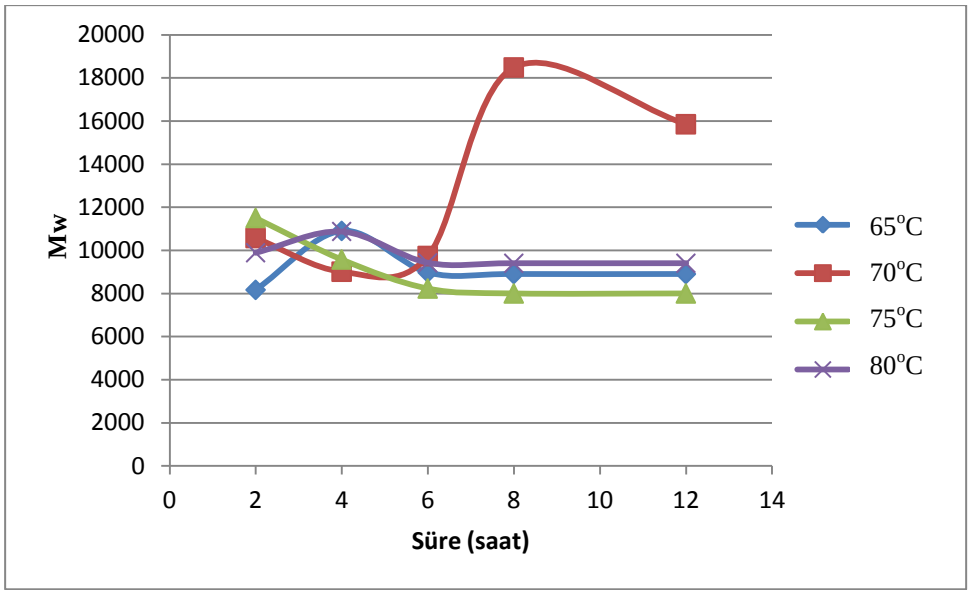
Şekil 4.14 : 75°C'de 4 saat reaksiyon süresinde sentezlenmiş Polikaprolakton-Polietilen glikol kopolimerinin FTIR spektrumu



Şekil 4.15 : 80°C'de 4 saat reaksiyon süresinde sentezlenmiş Polikaprolakton-Polietilen glikol kopolimerinin FTIR spektrumu

Literatüre göre, 1720 cm^{-1} dalga sayısındaki pik C=O polikaprolaktonun yapısında bulunan ester karbonil grubuna, 1166 cm^{-1} ve 1236 cm^{-1} dalga sayılı pikler PEG'in tekrar eden –OCH2CH2 birimindeki C-O-C bağlarına ve –COO- bağlarına işaret eder. 3435 cm^{-1} dalga sayılı küçük pik ise PEG homopolimerinden ayrılan hidroksil grubuna aittir. 2942 cm^{-1} ve 2863 cm^{-1} dalga sayılı pikler C-H bağlarından kaynaklanmaktadır [4]. Bu bilgilerin ışığında oluşan yapıların PCL-PEG kopolimeri olduğu söylenebilir.

Şekil 4.16'da 65, 70, 75 ve 80°C sıcaklıklarda farklı sürelerde sentezlenmiş PCL-PEG kopolimerlerinin molekül ağırlığının süreyle değişimini veren grafik görülmektedir.



Şekil 4.16 : Sıcaklığın PCL-PEG kopolimeri üzerindeki etkisi.

Sıcaklığın elde edilen kopolimerlerin molekül ağırlıkları üzerindeki etkisi incelendiğinde 70°C'de sentezlenen kopolimerin molekül ağırlığının diğerlerinden daha yüksek olduğu, 65, 75 ve 80°C'lerde sentezlenen kopolimerlerin molekül ağırlıkları arasında belirgin bir fark olmadığı görülmektedir.

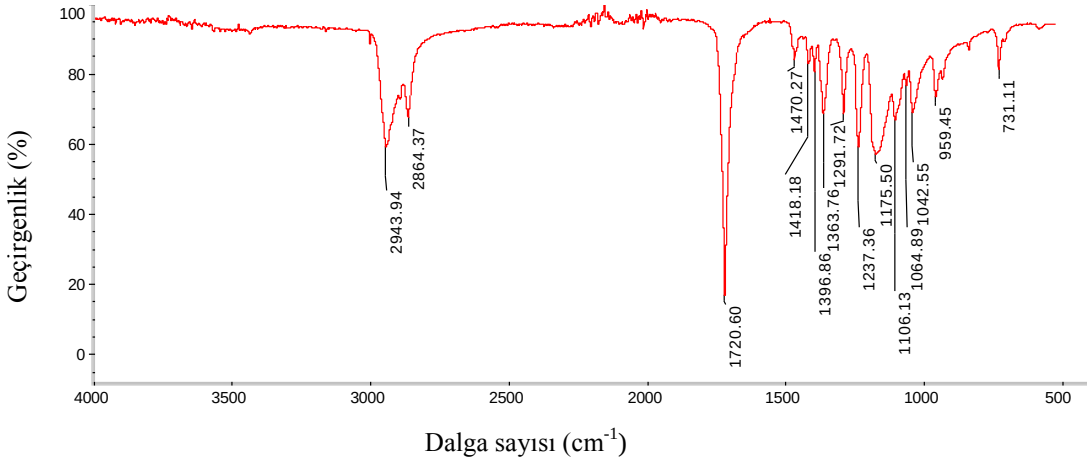
Farklı sıcaklıklarda sentezlenen PCL-PEG kopolimerlerinden en yüksek molekül ağırlığına sahip olanların GPC ile tespit edilen molekül ağırlığı ve polidispersite değerleri ve ayrıca kopolimerlerin ağırlıklarından yola çıkılarak hesaplanan reaksiyon verimleri Çizelge 4.5'te sunulmuştur.

Çizelge 4.5 : Farklı sıcaklıklarda sentezlenen PCL-PEG kopolimerlerinin GPC analizi sonuçları.

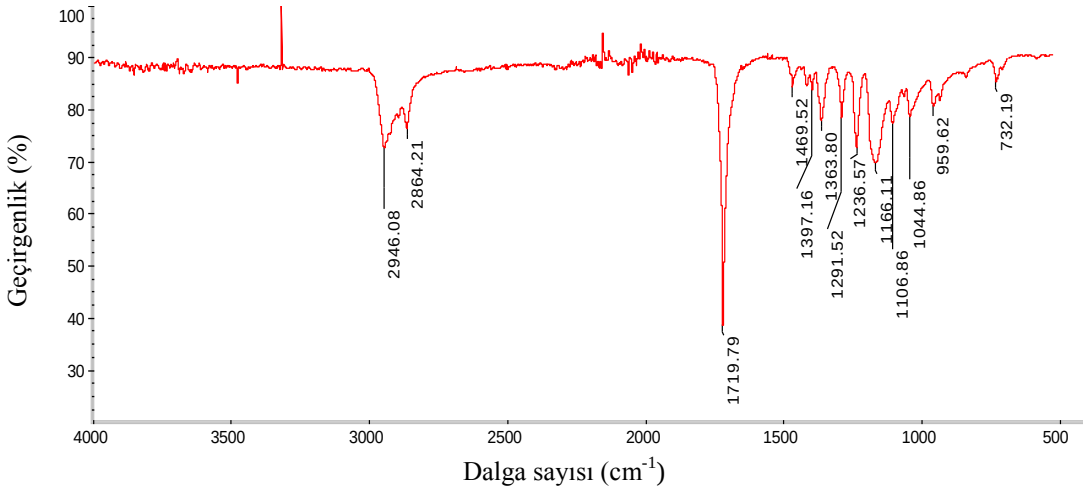
Sıcaklık	Mw	Polidispersite	Verim
65°C	10900	1.55	71
70°C	18482	1.66	71
75°C	11502	1.51	77
80°C	10875	1.38	61

4.2.1.3 Kopolimerizasyona enzim miktarının etkisi

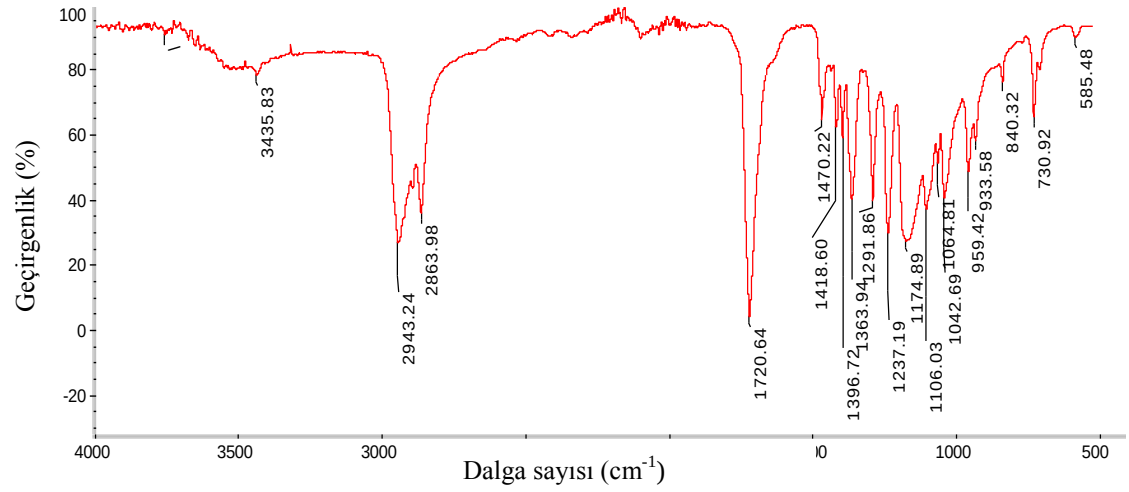
Reaksiyonu katalizleyen *Candida antarctica* lipaz B, farklı miktarlarda kullanılarak elde edilen PCL-PEG kopolimerinin molekül ağırlığı ve reaksiyon verimi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Kopolimerizasyon, enzim / (ε-CL ve PEG) oranı % 5, 10 ve 15 (w/w) olacak şekilde 75°C'de gerçekleştirilmiştir. Oluşan kopolimerlerin karakterizasyonu FTIR spektrumu ile yapılmış, Şekil 4.17-.19'da sunulmuştur.



Şekil 4.17 : 75°C'de 4 saatte % 5 enzimle sentezlenmiş Polikaprolakton-Polietilen glikol kopolimerinin FTIR spektrumu

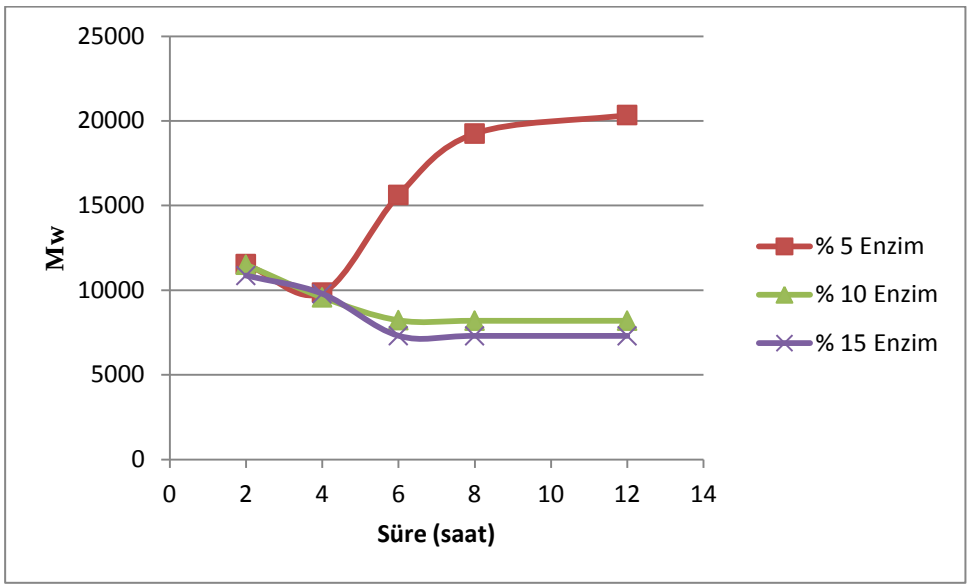


Şekil 4.18 : 75°C'de 4 saatte % 10 enzimle sentezlenmiş Polikaprolakton-Polietilen glikol kopolimerinin FTIR spektrumu



Şekil 4.19 : 75°C'de 4 saatte % 15 enzimle sentezlenmiş Polikaprolakton-Polietilen glikol kopolimerinin FTIR spektrumu

Şekil 4.20'de farklı enzim miktarlarıyla sentezlenen PCL-PEG kopolimerlerinin süre ile değişimi gösterilmektedir.



Şekil 4.20 : Enzim miktarının kopolimerizasyona etkisi

Enzim miktarının kopolimerlerin molekül ağırlığı üzerindeki etkisini incelemek için gerçekleştirilen reaksiyonlarda % 5 enzim miktarıyla sentezlenen kopolimerlerin en molekül ağırlıklarının daha yüksek olduğu, % 10 ve % 15 enzim miktarıyla sentezlenen kopolimerlerin benzer molekül ağırlıklara sahip olduğu görülmektedir.

Kopolimerizasyon sonucu elde edilen en yüksek molekül ağırlıklı kopolimerlerin GPC ile tespit edilen molekül ağırlıkları ve polidispersiteleri, kopolimerlerin ağırlıklarından yola çıkılarak hesaplanmış verimleri Çizelge 4.6'da sunulmuştur.

Çizelge 4.6 : Farklı enzim miktarı ile sentezlenen PCL-PEG kopolimerlerinin GPC analizi sonuçları.

Enzim/Reaktan	Mw	Polidispersite	Verim
5 %	20340	2.10	82
10 %	11500	1.51	77
15 %	10860	1.20	30

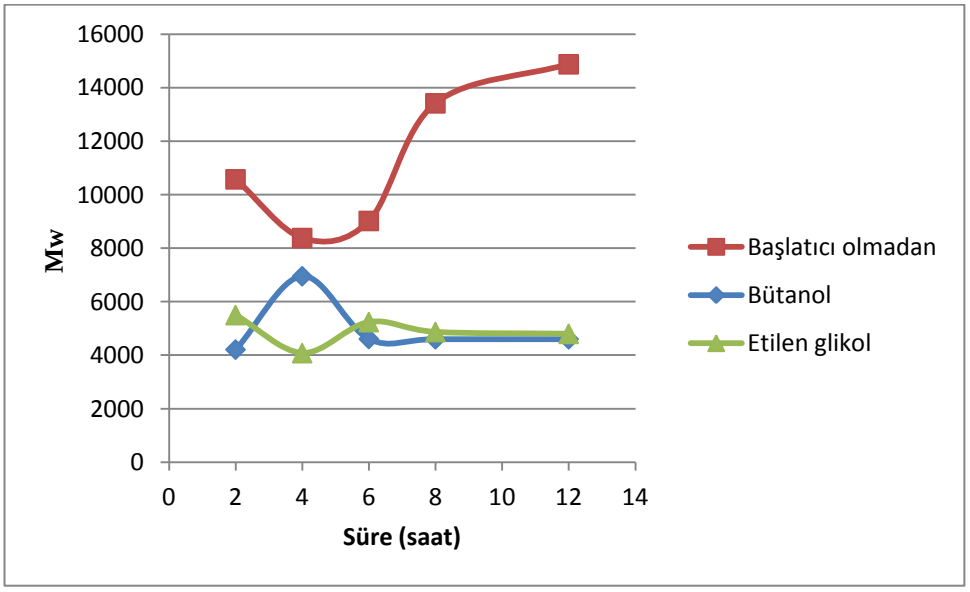
Kopolimerlerin polidispersiteleri karşılaştırıldığında ise enzim miktarı arttıkça polidispersitenin azaldığı ve reaksiyon veriminin düştüğü görülmektedir.

4.3 % 20 Polietilen Glikol İçeren Kopolimerlere Reaksiyon Parametrelerinin Etkisi

Polietilen glikol miktarının elde edilen kopolimerin özellikleri üzerindeki etkisini incelemek amacıyla PEG/ (ε-CL+PEG) oranı % 20 (w/w) olacak şekilde reaksiyonlar gerçekleştirilmiş, başlatıcı türü ve reaksiyon parametreleri değiştirilerek elde edilen kopolimerlerin özellikleri karşılaştırılmıştır.

4.3.1.1 Kopolimerizasyon reaksiyonuna başlatıcı etkisi

Bölüm 3.1.2.1'e paralel olarak reaksiyonlar 70°C'de, enzim miktarı reaktan miktarının % 10' u olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.21'de başlatıcı türünün etkisini gözlemlemek amacıyla başlatıcı olmadan, etilen glikol ve bütanol ile sentezlenen PCL-PEG kopolimerlerinin ortalama ağırlıkça molekül ağırlığının süre ile değişimini gösteren grafik verilmiştir.



Şekil 4.21 : Başlatıcı türünün PCL-PEG kopolimeri üzerindeki etkisi.

Başlatıcı olmadan ve başlatıcı ile sentezlenen kopolimerlerin molekül ağırlıkları süre ile dalgalı bir eğilimde değişmektedir.

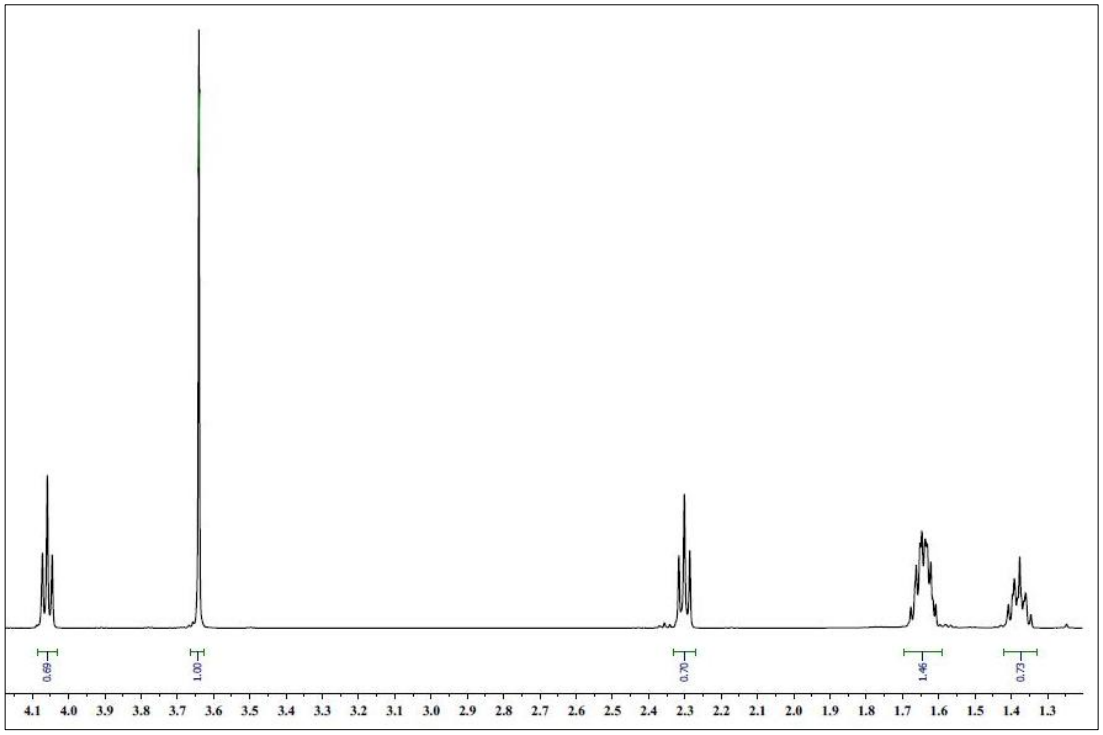
Elde edilen kopolimerlerden en yüksek molekül ağırlığına sahip olanların GPC ile ölçülen molekül ağırlıkları ve kopolimerlerin ağırlıklarından yola çıkarak hesaplanan reaksiyon verimleri aşağıda Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7 : Başlatıcı olmadan, bütanol ile ve etilen glikol ile sentezlenen PCL-PEG kopolimerlerinin GPC analizi sonuçları.

Başlatıcı türü	Mw	Polidispersite	Verim
Başlatıcısız	14877	1.85	81
Bütanol	6955	1.28	18
Etilen glikol	5502	1.49	20

Başlatıcı türünün etkisini gözlemlemek amacıyla başlatıcı kullanmadan, başlatıcı olarak bütanol ve etilen glikol kullanarak sentezlenen kopolimerler karşılaştırıldığında en yüksek molekül ağırlığının başlatıcı olmadan gerçekleştirilen reaksiyonlarda elde edilen kopolimerlere ait olduğu görülür. Bu kopolimerlerin ortalama ağırlıkça molekül ağırlıkları özellikle 8 ve 12. saatlerde yüksektir ancak polidispersite değerleri de süre ilerledikçe artmaktadır. Etilen glikol ve bütanolle gerçekleştirilen reaksiyonlardan elde edilen kopolimerlerin molekül ağırlıkları ve reaksiyon verimleri arasında belirgin bir farklılık görülmemektedir. Başlatıcı olmadan gerçekleştirilen kopolimerizasyon verimi başlatıcı ile gerçekleştirilenlerden çok daha yüksektir.

Şekil 4.22'de, % 20 PEG oranı ile başlatıcı olmadan sentezlenen kopolimerler arasında en yüksek molekül ağırlığına sahip 8 saatlik reaksiyon süresinde sentezlenmiş kopolimerin ^{1}H-NMR spektrumu görülmektedir.



Şekil 4.22 : Başlatıcı olmadan sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin ^{1}H-NMR spektrumu

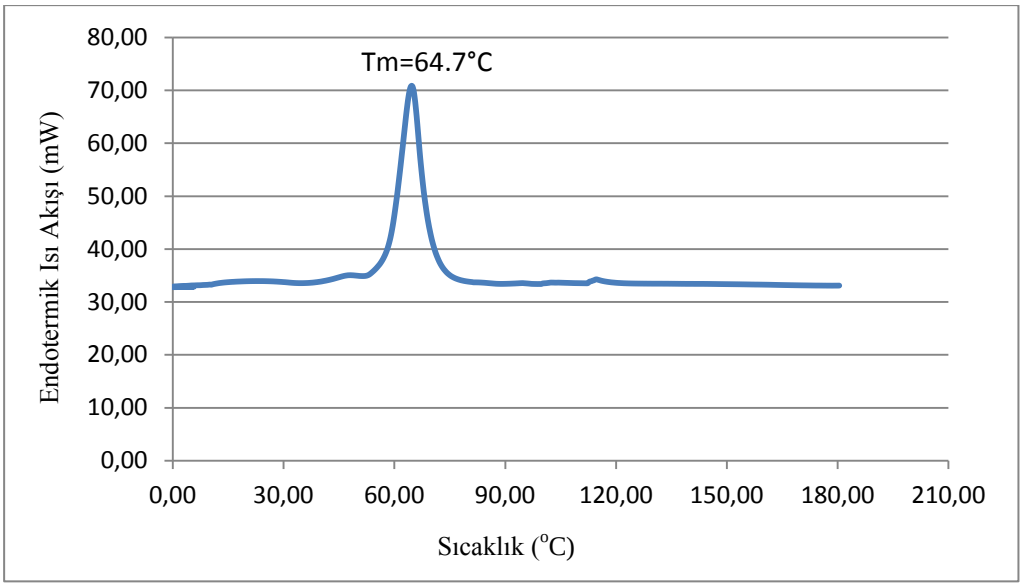
^{1}H-NMR spektrumunda görülen pikler PCL-PEG kopolimeri spesifik piklerini göstermekte, kopolimer yapının sentezlenebildiğini kanıtlamaktadır. ^{1}H-NMR grafiğinde görülen 3,66 ppm'deki PEG metilen spektrumu alanının, 4,09 ppm'deki PCL metilen spektrumu alanına oranlanmasıyla hesaplanan kopolimerdeki PEG miktarı oranı, polimerizasyon derecesi ve sayıca ortalama molekül ağırlığı Çizelge 4.8'de görülmektedir.

Çizelge 4.8 : Başlatıcı olmadan sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin ^{1}H-NMR spektrumundan hesaplanan % PEG, DP ve Mn değerleri

Kopolimer	*Ağırlıkça PEG % reaktan*	*Ağırlıkça PEG % ürün*	DP	Mn
70^{o}C 8saat	20	35.8	7.61	1353

Reaksiyona sokulan PEG miktarı, toplam PEG ve ε-CL miktarının % 20'si iken, reaksiyondan elde edilen kopolimerdeki PEG oranının % 35.8 olması, bir miktar ε-CL'nin reaksiyona girmediğini göstermektedir. Çünkü, toplam reaktan miktarı azaldığında PEG oranı yükselecektir.

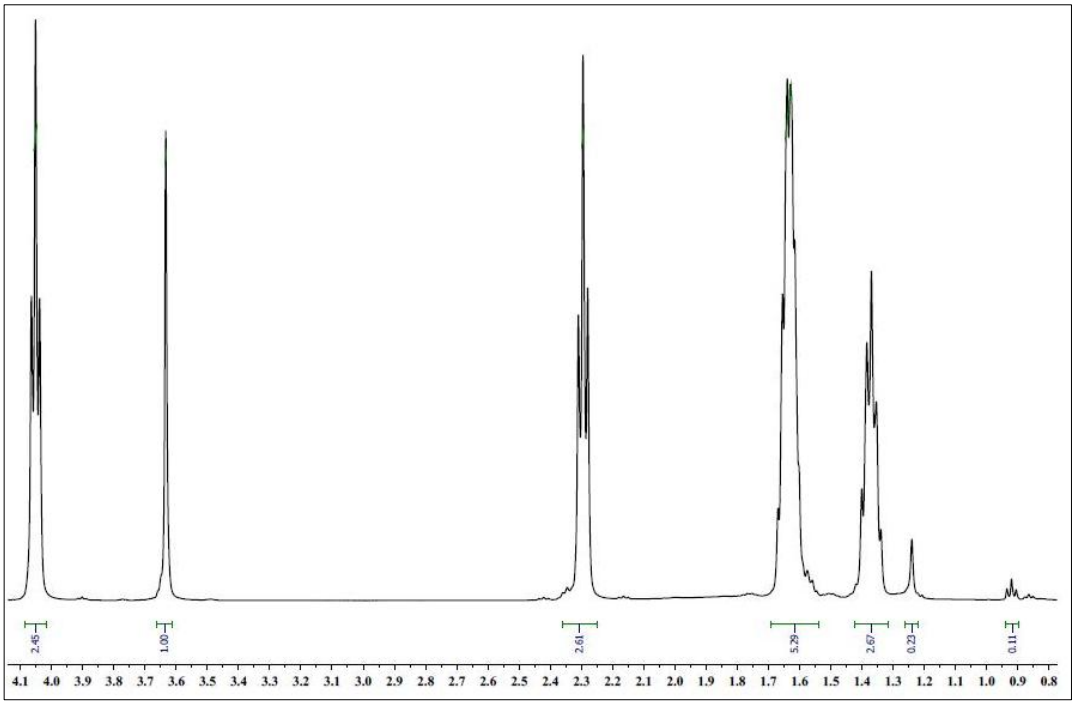
% 20 PEG içeren başlatıcı olmadan 6 saatlik reaksiyon süresinde sentezlenmiş PCL-PEG kopolimerinin termal davranımı DSC ile incelenerek Şekil 4.23'te verilmiştir.



Şekil 4.23 : Başlatıcı olmadan 6 saatlik reaksiyon süresinde sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin DSC analizi

Grafikte görüldüğü gibi DSC analizinde başlatıcı olmadan sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin erime noktası 64.7°C olarak belirlenmiştir. Bu değer, polikaprolaktonun erime noktasına yakındır.

Şekil 4.24'de bütanolle sentezlenen en yüksek molekül ağırlıklı kopolimer olan ve kopolimerizasyonu 70°C'de, 4 saatlik reaksiyon süresinde gerçekleştirilen kopolimerin ^{1}H-NMR spektrumu görülmektedir.



Şekil 4.24 : Bütanolle sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin ^{1}H-NMR spektrumu

PCL'nin metilen protonlarını gösteren 1.42, 1.62, 2.34 ve 4.09 pmm spektrumları ve PEG'in oksietilen birimindeki metilen protonununu gösteren 3.66 ppm spektrumları yapının PCL-PEG kopolimeri olduğunu doğrulamaktadır. 0,9 ppm'deki küçük pik ise bütil grubun metilen protonlarını göstermektedir. Çizelge 4.9'da PEG metilen spektrumu alanının PCL metilen spektrumu alanına oranından kopolimerdeki PEG oranları ve hesaplanan molekül ağırlığı değerleri görülmektedir.

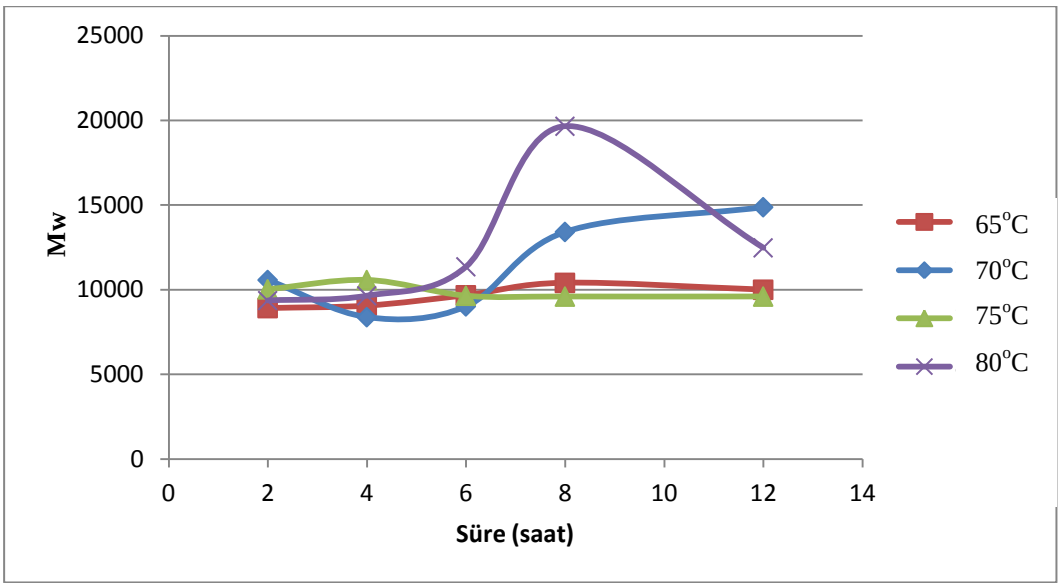
Çizelge 4.9 : Bütanolle sentezlenen PCL-PEG kopolimerinin ^{1}H-NMR spektrumundan hesaplanan % PEG, DP ve Mn değerleri

Kopolimer	Ağırlıkça PEG % reaktan	Ağırlıkça PEG % ürün	DP	Mn
70^{o}C 4saat	20	13.6	27.03	3567

^{1}H-NMR analizindeki PEG ve PCL'ye ait metilen piklerinin alanlarından yapılan hesaplamalarla, reaksiyona giren reaktan miktarının ağırlıkça % 20'si PEG iken reaksiyon sonucu elde edilen kopolimerin ağırlıkça % 13.6'sının PEG olduğu sonucuna varılmıştır. Reaksiyonun tam verimle gerçekleşmemiş olması bunun sebebi iken kopolimer ağırlığından yola çıkılarak hesaplanan reaksiyon verimleri de bunu göstermektedir.

4.3.1.2 Kopolimerizasyona sıcaklığın etkisi

Bölüm 3.1.1.2'ye paralel olarak PCL-PEG kopolimerleri, enzim miktarı reaktan miktarının ağırlıkça % 10'u olacak şekilde 65, 70, 75 ve 80°C'lerde sentezlenmiştir. Elde edilen kopolimerlerin molekül ağırlıklarının süre ile değişimini gösteren grafik Şekil 4.25'te görülmektedir.



Şekil 4.25 : Sıcaklığın kopolimerizasyona etkisi

Sentezlenen PCL-PEG kopolimerlerinden en yüksek molekül ağırlığına sahip olanların GPC ile tespit edilen molekül ağırlığı, polidispersite değerleri ve kopolimerlerin ağırlığından hesaplanan reaksiyon verimleri Çizelge 4.10'da gösterilmektedir.

Çizelge 4.10 : Farklı sıcaklıklarda sentezlenen PCL-PEG kopolimerlerinin GPC analizi sonuçları.

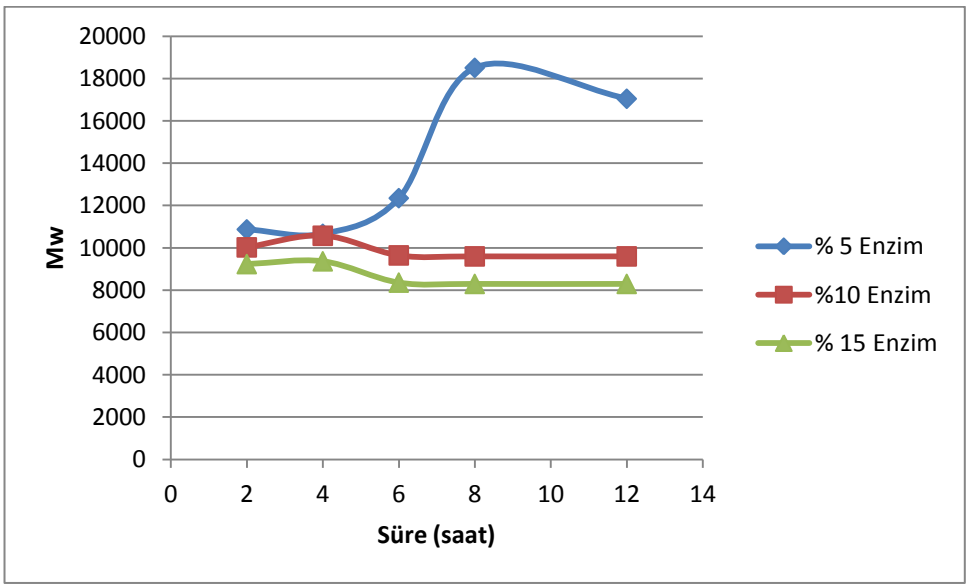
Sıcaklık	Mw	Polidispersite	Verim
65°C	10404	1.53	79
70°C	14877	1.85	81
75°C	10575	1.35	37
80°C	19656	1.69	82

70 ve 80°C sıcaklıklarda gerçekleştirilen reaksiyonlarda elde edilen kopolimerlerin molekül ağırlıkları 8 ve 12 saatlik reaksiyon sürelerinde çok yükselmiştir. Ancak GPC analizinde kopolimerler tek ve düzgün bir pik verirken 12 saatlik reaksiyon sonucu elde edilen kopolimerin GPC analiz piki boyunludur. Bu durum oluşan kopolimer yapıların bozularak PEG'in ayrılmaya başlamış olabileceğini

düşündürmektedir. Yüksek oranda PCL'den oluşan yapının molekül ağırlığının yüksek olması olağandır.

4.3.1.3 Kopolimerizasyona enzim miktarının etkisi

Bölüm 3.1.1.3'e paralel olarak katalizör olan *Candida antarctica* lipaz B, farklı miktarlarda kullanılarak elde edilen PCL-PEG kopolimerinin molekül ağırlığı ve reaksiyon verimi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Reaksiyonlar, enzim/(ε-CL ve PEG) oranı % 5, 10 ve 15 (w/w) olacak şekilde 75°C'de gerçekleştirilmiştir. Farklı enzim miktarlarıyla sentezlenen kopolimerlerin süre ile değişimini veren grafik Şekil 4.26'da görülmektedir.



Şekil 4.26 : Enzim miktarının kopolimerizasyona etkisi

Çizelge 4.11'de elde edilen en yüksek molekül ağırlığına sahip kopolimerlerin GPC ile tespit edilmiş molekül ağırlıkları ve kopolimerlerin ağırlıkları esas alınarak hesaplanan reaksiyon verimleri görülmektedir.

Çizelge 4.11 : Farklı enzim miktarlarıyla sentezlenen PCL-PEG kopolimerlerinin GPC analizi sonuçları

Enzim/Reaktan	Mw	Polidispersite	Verim
5 %	18511	1.82	83
10 %	10575	1.35	37
15 %	9368	1.29	35

Enzim miktarının kopolimerlerin molekül ağırlığı üzerindeki etkisini incelemek için yapılan deneylerde % 5 enzim miktarıyla sentezlenen kopolimerlerin en yüksek

sayıca molekül ağırlığına sahip olduğu, %10 ve % 15 enzim miktarı kullanılarak gerçekleştirilen sentezlerde elde edilen kopolimerlerin molekül ağırlıkları arasında büyük bir fark olmadığı gözlemlenmektedir. Ayrıca enzim miktarı arttıkça kopolimerlerin polidispersitelerinin azaldığı ve reaksiyon verimlerinin düştüğü görülmektedir.

Reaksiyon parametreleri ve başlatıcı türünün PCL-PEG kopolimerleri üzerindeki termal etkisini incelemek amacıyla elde edilen kopolimerler DSC ile analiz edilmiştir. DSC analiziyle tespit edilen, kopolimerlerin erime noktası değeri olan Tm, Çizelge 4.12'de görülmektedir.

Çizelge 4.12 : Farklı başlatıcı türleri ve reaksiyon parametreleri ile sentezlenmiş PCL-PEG kopolimerlerinin DSC analiz sonuçları.

Kopolimer PEG %'si	Süre (saat)	Başlatıcı	Tm (^{o}C)
10	6	Bütanol	61.3
10	6	Etilen glikol	63.3
10	6	yok	65.6
20	6	yok	64.7
10	8	yok	66.6

Kopolimerlerin erime noktaları karşılaştırıldığında başlatıcı ile sentezlenen kopolimerlerin erime noktalarının başlatıcı olmadan sentezlenenlerinkinden daha düşük olduğu görülmektedir. 6 saatte, başlatıcı olmadan sentezlenen % 10 ve 20 PEG içerikli kopolimerler kıyaslandığında, literatürde daha önce yapılmış çalışmadaki sonuca paralel şekilde kopolimerdeki PEG miktarı arttıkça erime noktasının düştüğü gözlemlenmektedir [22]. Başlatıcı olmadan %10 PEG içeriğiyle 6 ve 8 saatlik reaksiyon sürelerinde sentezlenen kopolimerlerin molekül ağırlıkları arasında ciddi bir fark bulunmaktadır. 6 saatte sentezlenen kopolimerin sayıca ortalama molekül ağırlığı (Mn) 6320 iken, 8 saatte sentezleneninki 11120'dir. Kopolimerin molekül ağırlığı arttıkça Tm değeri de literatürdekine benzer şekilde artmaktadır [22].

5. VARGILAR

Başlatıcı olmadan sentezlenen kopolimerlerin molekül ağırlıklarının başlatıcı ile sentezlenen kopolimerlerin molekül ağırlığından daha yüksek, polidispersitelerinin ise başlatıcı ile sentezlenenkilerden daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum başlatıcının kopolimerizasyon başladığında çok sayıda zincir oluşturmaya başlaması böylelikle daha kısa ama uzunlukları birbirine yakın kopolimer zincirleri oluşturması ile açıklanmaktadır. Uyama ve çalışma arkadaşları *Candida antarctica* lipaz B katalizörlüğünde başlatıcı olarak 1-oktanol kullanarak PCL sentezlemiş, sonuç olarak 1-oktanolün başlatıcı görevi gördüğünü ve başlatıcı kullanıldığında molekül ağırlığının düştüğünü gözlemlemiştir [36].

Bütanol ve etilen glikol ile sentezlenen kopolimerlerin molekül ağırlıkları ve polidispersiteleri arasında belirgin bir fark gözlemlenmemiştir. Bu durum, hidroksil içeren bütanol ve etilen glikol yapısının başlatıcı görevi gördüğü ama işleyen kopolimerizasyon mekanizması üzerinde temel etken olmadığıdır. Mekanizma daha çok monomerlerin polimerleşme eğilimi ve enzim ile uyumuna bağlıdır.

Başlatıcısız, etilengliol ve bütanolle gerçekleştirilen reaksiyonlarda elde edilen kopolimerlerin tamamı göz önüne bulundurulup, içerdikleri PEG miktarına göre incelendiğinde genel olarak % 10 PEG içeren kopolimerlerin molekül ağırlıklarının % 20 PEG içeren kopolimerlerinkinden daha yüksek olduğu görülmektedir. Bunun sebebi bir birim polikaprolaktonun, bir birim polietilen glikolden daha yüksek moleküler ağırlığa sahip olmasıdır.

Sıcaklığın elde edilen kopolimerlerin molekül ağırlıkları üzerindeki etkisi incelendiğinde bileşiminde % 10 PEG içeren kopolimerlerin molekül ağırlığı yüksekten düşüğe sırasıyla 70, 80, 75 ve 65^{o}C'lerde gerçekleştirilen deneylerde elde edilmiştir. Bileşiminde % 20 PEG içeren kopolimerlerin ortalama molekül ağırlıkları yüksekten düşüğe sıralandığında ise reaksiyon sıcaklarının 80, 75, 70 ve 65^{o}C olduğu görülmektedir. Yapılan bir çalışmada polikaprolakton, toluende Novozyme-435 katalizörlüğünde sentezlenmiş ve elde edilen polimerin molekül ağırlığına reaksiyon

ortamındaki su miktarının, reaksiyon sıcaklığından daha çok etkilediği ortaya çıkarılmıştır [37].

Enzim miktarının kopolimerlerin molekül ağırlığı üzerindeki etkisini incelemek için yapılan deneylerde % 5 enzim miktarıyla sentezlenen kopolimerlerin en yüksek ağırlıkça ortalama molekül ağırlığına sahip olduğu, % 10 ve % 15 enzim miktarıyla gerçekleştirilen reaksiyonlarda elde edilen kopolimerlerin molekül ağırlıkları arasında belirgin bir fark olmadığı gözlemlenmiştir. Enzim miktarı artırıldığında kopolimerin molekül ağırlığının düşmesinin sebebi, enzimlerin bünyelerinde az miktarda su bulundurması, ancak enzim miktarının artmasıyla toplam su miktarının da artması ve bunun hidrolize neden olabilmesidir [38]. Kopolimerlerin dispersiteleri karşılaştırıldığında ise enzim miktarı arttıkça polidispersitenin azaldığı ve reaksiyon veriminin düştüğü görülmektedir. Bu durumun bir diğer açıklaması ise enzim miktarı gerekenden fazla olduğu zaman inhibitor etkisi yaparak reaksiyona negatif etkide bulunmasıdır. Ayrıca, enzimin hem ε-kaprolakton halkalı yapısını açmada hem de yapıya polietilen glikol katılmasını sağlamada görev alması, enzimin çok substratlı enzim kinetiği göstermesine neden olduğu düşünülmektedir.

Reaksiyon verimlerinin düşük çıkmasının bir sebebi, reaksiyon sonunda bir miktar polimerin filtre edilen enzimde kalmasıdır. Lassalle ve çalışma arkadaşları yaptıkları çalışmada, reaksiyon sonunda filtre edilen enzim ve polimer miktarlarını tespit ederek, reaksiyon veriminin düşük olmasına karşılık geri kazanılan enzim miktarının başlangıçta konulan enzim miktarından fazla olduğu gözlemlemişlerdir [39].

^{1}H-NMR analizi sonuçları değerlendirildiğinde, piklerden hesaplanan kopolimerdeki PEG/PCL oranının, başlatıcı olmadan gerçekleştirilen sentezlerde başlangıçta reaksiyona sokulan PEG'in toplam ε-CL ve PEG oranından fazla çıkması ε-CL'un tamamının reaksiyona girmediğini göstermektedir. Bu sonuç kopolimerlerin tartılması yoluyla hesaplanan başlatıcı olmadan gerçekleştirilen reaksiyonların veriminin başlatıcı ile gerçekleştirilen reaksiyonlardan düşük olduğu sonucunu destekler niteliktedir.

KAYNAKLAR

[1] **Ceccorulli, G. ve Scandola, M.** (2005). Cocrystallization of Random Copolymers of w-Pentadecalactone and e Caprolactone Synthesized by Lipase Catalysis. *Biomacromolecules*, **6**, 902-907

[2] **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

[3] **Kobayashi, S. ve Makino, A.** (2009). Enzymatic Polymer Synthesis: An Opportunity for Green Polymer Chemistry. Chem. Rev. **109**, 5288–5353

[4] **Sahoo, B., Bhattacharya, A., Fu, H., Gao, W. ve Gross R. A.** (2006) Influence of PEG Endgroup and Molecular Weight on Its Reactivity for Lipase-Catalyzed Polyester Synthesis. Biomacromolecules, **7**, 1042-1048

[5] **Dash, T. K., Konkimalla, V. B.** (2012) Polymeric Modification and Its Implication in Drug Delivery: Poly-ε-caprolactone (PCL) as a Model Polymer. Mol. Pharmaceutics, **9**, 2365-2379

[6] **Barbara Stuart** (2003) Polymer Anaylsis, University of Technology, Sydney, Australia

[7] **Ratner, B., Hoffman, A. S., Schoen, F., Lemons, J. E.** (2004) Biomaterials Science An Introduction to Materials in Medicine. 2. Basım, sf. 70

[8] **He, C., Sun, J., Ma, J., Chen, X., State, J. X.** (2006) Composition Dependence of the Crystallization Behavior and Morphology of the Poly(ethylene oxide)-poly(ε-caprolactone) Diblock Copolymer, Biomacromolecules, **7**, 3482-3489

[9] **Wei, X., Gong, C. Y., Gou, M., Fu, S., G, Q., Shi, S., Luo, F., Gang, G., Qiu, L., Qian, Z.** (2009) Biodegradable poly(ε-caprolactone)-poly(ethylene glycol) copolymers as drug delivery system. *International Journey of Pharmaceutics* ***381*** 1-18

[10] **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

[11] **Kobayashi, S.** (1999) Enzymatic Polymerization: A New Method of Polymer Synthesis. C, J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem., **37**

[12] **He, F., Li, S., Garreau, H., Vert, M., Zhuo, R.** (2005) Enzyme-catalyzed polymerization and degradation of copolyesters of e-caprolactone and γ–butyrlactone. *Polymer* ***46***, 12682-12688

[13] **Bei, J. Z., Li, J. M., Wang, Z. F., Le, J. C., Wang, S. G.** Polycaprolactone–Poly(ethylene-glycol) Block Copolymer. IV: Biodegradation

Behavior in vitro and in vivo. *Polymers for Advanced Technologies*, ***8***, 693–696

[14] **Bae, S. J., Suh, J. M., Sohn, Y. S., Bae, Y. H., Kim, S. W., Jeong, B.** (2005) Thermogelling poly(caprolactone-b-ethylene glycol-b-caprolactone) aqueous solutions, *Macromolecules, **38***, 5260-5265

[15] **Bae, S. J., Joo, M. K., Jeong, Y., Kim, S. W., Lee, W. K., Sohn, Y. S., Jeong, B.** (2006) Gelation Behavior of Poly(ethylene glycol) and Polycaprolactone Triblock and Multiblock Copolymer Aqueous Solutions, *Macromolecules, **39***, 4873-4879

[16] **Gou, M. L., Zheng, L., Peng, X. Y., Men, K., Zheng, X. L., Zeng, S., Guo, G., Luo, F., Zhao, X., Chen, L. J., Wei, Y. Q, Qian, Z. Y.** (2009) Poly(ϵ-caprolactone)-Poly(ethylene glycol) -Poly(ϵ-caprolactone) (PCL-PEG-PCL) Nanoparticles for Honokiol Delivery In vitro. *Int. J. Pharm., **375*** (1−2), 170−176.

[17] **Xiong, X. B., Binkhathlan, Z., Molavi, O., Lavasanifar, A.** (2012) Amphiphilic block co-polymers: Preparation and application in nanodrug and gene delivery. *Acta Biomaterialia **8*** 2017–2033

[18] **Sutton, D., Nasongkla, N., Blanco, E., Gao, J.** (2007) Functionalized micellar systems for cancer targeted drug delivery. *Pharm Res **24*** 1029–46.

[19] **Nair, L.S., Laurencin, C.T.** (2007) Biodegradable polymers as biomaterials. *Progr Polym Sci, **32*** 762–98.

[20] **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. *Progr Polym Sci **31*** 723–47

[21] **Chen, J**. (2008) Molecular Recognition in Terms of a Dimensionless Index. 2. Thermodinamic Patterns of Intromolecular Interactions of PEG and Its Alcohol Substrates. *Journal of Physical Chemistry, **112***, 1706-1711

[22] **Zhou, S.** (2003) Biodegradable poly(e-caprolactone)-poly(ethylene glycol) block copolymers: characterization and their use as drug carriers for a controlled delivery system. *Biomaterials **24*** 3563-3570

[23] **Li, J. ve Kao, W. J.** (2003) Synthesis of Polyethylene Glycol (PEG) Derivatives and PEGylated-Peptide Biopolymer Conjugates. *Biomacromolecules, **4***, 1055-1067

[24] **Schmid, R. D ve Verger, R., Angew.** (1998) Lipases: Interfacial Enzymes with Attractive Applications *Chem. Int. Ed., **37***, 1608-1633

[25] **Albertsson, A. C. Ve Srivastava, R. K.** (2008) Recent developments in enzyme-catalyzed ring opening polymerization, *Advanced drug delivery reviews **60*** 1077-1093

[26] **Trodler, P. ve Pleiss, J**. (2008) Modeling structure and flexibility of lipase B in organic solvents *BMC Structural Biology*, 8-9 Alındığı adres: http://www.biomedcentral.com/ 1472-6807/8/9 (23.04.2013)

[27] **Suen, W. C., Zhang, N., Xiao, L., Madison, V., Zaks, A.** (2004) Improved activity and thermostability of *Candida antarctica* lipase B by DNA family shuffling, Protein Engineering, Design & Selection 17 numara:2 133 -140

[28] **Zhang, N., Suen, W. C., Windsor, W., Xiao, Li, Madison, V., Zaks, A.,** (2003) Improving tolerance of *Candida antarctica* lipase B towards irreversible thermal inactivation through directed evolution, Protein Engineering, **16** numara: 8 599-605

[29] **Kobayashi, S.,** (2009) Recent Developments in Lipase-Catalyzed Synthesis of Polyesters, *Macromol. Rapid Commun.*, ***30***, 237–266

[30**] Kaplan, D. L., Kobayashi, S., Matsumura, S.** Enzyme-Catalyzed Synthesis of Polymers, *Advances in Polymer Science* 103-115

[31] **Gross, R. A., Kaplan, D. L., Swift, G.** (1996) Enzymes in Polymer Synthesis, *American Chemical Society*, ACS Semposium Series, 684

[32] **He, F., Li, S., Vert, M., Zhuo, R.** (2003) Enzyme catalyzed polymerization and degradation of copolymers prepared from ε-caprolactone and poly(ethylene glycol), *Polymer **44*** 5145-5151

[33] **Cheng, H. N., Gross, R. A.** Polymer Bioctalaysis and Biomaterials II, *American Chemical Society*

[34] **Huang, M. H., Li, S., Coudane, J., Vert, M.** (2003) Synthesis and Characterization of Block Copolymers of ϵ-caprolactone and DL-Lactide Initiated by Ethylene Glycol or Poly(ethylene glycol), Macromolecular Chemistry and Physics, **204**, 1994-2001

[35] **He, C., Sun, J., Deng, C., Zhao, T., Deng, M., Chen, X., Jing, X.** (2004) Study of Synthesis , Crystallization and Morphology of Poly(ethylene glycol)- Poly(ϵ-caprolactone) Diblock Copolymers, Biomacromolecules, **5**, 2042-2047

[36] **Uyama, H., Suda, S., Kobayashi, S.** (1998) Enzymatic synthesis of terminal-functionalized polyesters by initiator method *Acta Polym.*, ***49***, 700 – 703

[37] **Yang, Y., Yu, Y., Zhang, Y., Liu, C., Shi, W., Li, Q.** (2011) Lipase/esterase-catalyzed ring-opening polymerization: A green polyester synthesis technique, *Process Biochemistry **46*** 1900–1908

[38] **Uyama, H., Yaguchı, S., Kobayashi, S.** (1999) Lipase-Catalyzed Polycondensation of Dicarboxylic Acid– Divinyl Esters and Glycols to Aliphatic Polyesters, *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry, **37***, 2737–2745

[39] **Lassalle, V., Galland, G. B., Ferreira, M. L.** (2008) Lipase-catalyzed copolymerization of lactic and glycolic acid with potential as drug delivery devices. *Bioprocess Biosyst Eng **31*** 499–508

ÖZGEÇMİŞ



Ad Soyad: Tuğçe Tuğlu

Doğum Yeri ve Tarihi: Fatih, 12.10.1988

E-Posta: tgctuglu@gmail.com

Lisans: Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü (2006-2011)

University of Trieste, Chemical Engineering Department (2009-2010, Erasmus)

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR/SUNUMLAR

- **Tugçe Tuglu**, Erhan Ozsagiroglu, Yuksel Avcibasi Guvenilir (2013) Investigation of Reaction Parameters Effect on Molecular Weight of the PCL-PEG Copolymers, European Polymer Congress, June 16-21, 2013 Pisa, Italy

- **Tugçe Tuglu**, Erhan Ozsagiroglu, Yuksel Avcibasi Guvenilir (2013) Effect of Temperature on Copolymerization of PCL and PEG, European Polymer Congress, June 16-21, 2013 Pisa, Italy