ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ IV: ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ

Εργαστήριο Τεχνολογίας Πολυμερών
Διευθυντής: Κωνσταντίνος Δ. Παπασπυρίδης, *Καθηγητής ΕΜΠ*

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΕΝΖΥΜΙΚΟΥ ΠΟΛΥΜΕΡΙΣΜΟΥ ΓΙΑ ΣΥΝΘΕΣΗ ΠΟΛΥ(ΗΛΕΚΤΡΙΚΟΥ ΒΟΥΤΥΛΕΣΤΕΡΑ) ΣΕ ΣΥΣΤΗΜΑ ΘΕΡΜΟΒΑΡΥΜΕΤΡΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ (TGA)

Χριστίνα Παπουτσάνη

Επιβλέπουσα: Σταματίνα Βουγιούκα (Επίκουρος Καθηγήτρια ΕΜΠ)

Αθήνα 2015

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Το παρόν σύγγραμμα αποτελεί τη διπλωματική μου εργασία που καθίσταται αναγκαία προς ολοκλήρωση του κύκλου σπουδών μου στη σχολή Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου. Η διπλωματική εργασία έλαβε χώρα στο Εργαστήριο Τεχνολογίας Πολυμερών της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω την υπεύθυνο της διπλωματικής εργασίας, κα. Σταματίνα Βουγιούκα (Επίκουρο Καθηγήτρια ΕΜΠ) για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και την αμέριστη βοήθεια και καθοδήγησή της καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας και των πειραμάτων που ήταν απαραίτητα για την ολοκλήρωσή της.

Επίσης, ευχαριστώ ιδιαίτερα τον Καθηγητή ΕΜΠ κ. Κωνσταντίνο Παπασπυρίδη για την καθοδήγησή και τις προτάσεις του κατά τη διάρκεια της πειραματικής εργασίας, όπως επίσης και το Διδάκτορα Μηχανικό ΕΜΠ κ. Δημήτριο Κορρέ για την τεχνική υποστήριξη κατά την πραγματοποίηση των πειραμάτων μου.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Ευάγγελο Τόπακα για τις συμβουλές και τις παρατηρήσεις του, όπως επίσης και το Εργαστήριο της Βιοτεχνολογίας της Σχολής Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ για τη συνεργασία με το Εργαστήριο Τεχνολογίας Πολυμερών κατά την εκπόνηση της εργασίας μου.

Κλείνοντας θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαιτέρως την υποψήφια διδάκτωρ Αλίκη Δούκα για την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε σε όλη τη διάρκεια της διπλωματικής μου εργασίας αλλά και για τις γνώσεις που τόσο απλόχερα μου μεταβίβασε οι οποίες αποδείχτηκαν αναγκαίες για την εκπόνηση της συγκεκριμένης εργασίας.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τη μητέρα μου Λεμονιά, τον πατέρα μου Χαρίλαο, την αδερφή μου Αγγελική και τους φίλους μου Αλέξανδρο, Γεωργία, Ήλια, Κωνσταντίνα, Θανάση και Παναγιώτη για την στήριξή τους καθ' όλη τη διάρκεια της διπλωματικής μου εργασίας αλλά και όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Τεχνολογίας Πολυμερών για την αποδοχή τους, τη φιλικότητα και το ομαδικό πνεύμα τους και τη βοήθεια που μου προσέφεραν για να βγάλω εις πέρας την παρούσα εργασία.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Θεωρητικό μέρος

1. Βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή……...**σελ.1-12**
   1.1 Εισαγωγή…….....**σελ. 1**
   1.2 Βιοαποικοδομήσιμοι πολυεστέρες……...**σελ.1-3**
      1.2.1 Πολυεστέρες……....**σελ. 2-3**
   1.3 Ηλεκτρικό οξύ……..**σελ. 3-7**
      1.3.1 Εισαγωγή……..**σελ. 3-4**
      1.3.2 Ιδιότητες ηλεκτρικού οξέος και εφαρμογές αυτού……...**σελ. 4-7**
   1.4 Πολυ(ηλεκτρικός βουτυλεστέρας)-PBS……...**σελ. 7-11**
      1.4.1 Εισαγωγή……..**σελ. 7-8**
      1.4.2 Τρόποι παραγωγής πολυ(ηλεκτρικού βουτυλεστέρα)…..**σελ. 9-11**
         1.4.2.1 Απευθείας πολυμερισμός για σύνθεση PBS……...**σελ. 9**
         1.4.2.2 Δύο στάδια μετεστεροποίησης/εστεροποίησης για τη σύνθεση PBS……**σελ. 9-10**
         1.4.2.3 Πολυσυμπύκνωση που ακολουθείται από επέκταση αλυσίδας για τον πολυ(ηλεκτρικό βουτυλεστέρα)……**σελ. 10**
         1.4.2.4 Άμεση πολυεστεροποίηση υπό την ακτινοβολία μικροκυμάτων……**σελ. 11**
         1.4.2.5 Ενζυμικός πολυμερισμός – σύνθεση του πολυ(ηλεκτρικού βουτυλεστέρα), PBS ……**σελ. 11**
   1.5 Βιβλιογραφία 1ου κεφαλαίου……....**σελ. 12**
2. Ενζυμικός πολυμερισμός……...**σελ. 13- 26**
   2.1 Εισαγωγή……**σελ. 13**
   2.2 Δομή βιοκαταλύτων……**σελ. 14**
   2.3 Τρόπος δράσης των ενζύμων……...**σελ. 14-16**
   2.4 Ενζυμικός πολυμερισμός για την παραγωγή πολυεστέρων……**σελ. 17-19**
   2.5 Τεχνικές διεξαγωγής του ενζυμικού πολυμερισμού……**σελ. 20-21**
      2.5.1 Πολυμερισμός μάζας……...**σελ. 20**
      2.5.2 Πολυμερισμός διαλύματος……..**σελ. 20-21**
      2.5.3 Πολυμερισμός αιωρήματος……**σελ. 21**
   2.6 Παράμετροι που επηρεάζουν τον ενζυμικό πολυμερισμό κατά την παραγωγή αλειφατικών πολυεστέρων……**σελ. 21-24**
      2.6.1 Τύπος ενζύμου……**σελ. 21-23**
      2.6.2 Συγκέντρωση ενζύμου……**σελ. 23-24**
      2.6.3 Θερμοκρασία της αντίδρασης……..**σελ. 24**
   2.7 Βιβλιογραφία 2ου κεφαλαίου……**σελ. 25-26**
3. Θερμοβαρυμετρική ανάλυση- TGA……...**σελ. 27-39**
   3.1 Εισαγωγή……..**σελ. 27**
   3.2 Περιγραφή οργάνου TGA……**σελ. 27-29**
   3.3 Παράγοντες που επηρεάζουν τη θερμοβαρυμετρία……**σελ. 29-36**
      3.3.1 Κρίσιμοι παράγοντες……**σελ. 30-31**
         3.3.1.1 Μάζα……..**σελ. 30**
         3.3.1.2 Θερμοκρασία……..**σελ. 31**
      3.3.2 Άλλοι παράγοντες που πρέπει να ληφθούν υπόψιν κατά τη χρήση του TGA……...**σελ. 32-36**

3.3.2.1 Η ισορροπία……..**σελ. 32-33**
3.3.2.2 Η θέρμανση του δείγματος……...**σελ. 33-34**
3.3.2.3 Η ατμόσφαιρα……...**σελ. 34**
3.3.2.4 Το δείγμα …….…**σελ. 35**
3.3.2.5 Η βαθμονόμηση……**σελ. 35-36**
3.4 Ερμηνεία των TG και DTG καμπυλών……...**σελ. 37-38**
3.5 Βιβλιογραφία 3ου κεφαλαίου……...**σελ. 39**

Πειραματικό μέρος

4. Μέθοδοι ανάλυσης πολυεστέρων……**σελ. 40-47**
4.1 Σκοπός……**σελ. 40**
4.2 Ταυτοποίηση μέσω φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR)……**σελ. 40-43**
4.2.1 Περιγραφή μεθόδου……**σελ. 40-42**
4.2.2 Προσδιορισμός μέσου-αριθμού μοριακού βάρους…….**σελ. 42-43**
4.3 Προσδιορισμός θερμικών μεταπτώσεων μέσω διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC)……..**σελ. 43-46**
4.4 Βιβλιογραφία 4ου κεφαλαίου……..**σελ. 47**
5. Πειραματικές διατάξεις και πρώτες ύλες……**σελ. 48-52**
5.1 Σκοπός……**σελ. 48**
5.2 Αντιδραστήρια……...**σελ. 48**
5.3 Πειραματική διάταξη TGA……**σελ. 48-49**
5.4 Πειραματική διάταξη σε μεγάλη κλίμακα (2 g) - διάταξη με “ομπρέλα” αζώτου……**σελ. 49-51**
5.5 Βιβλιογραφία 5ου κεφαλαίου……..**σελ. 52**
6. Ενζυμική σύνθεση PBS με μετεστεροποίηση δι-αιθυλεστέρα ηλεκτρικού οξέος σε TGA με λιπάση……**σελ. 53-60**
6.1 Σκοπός……**σελ. 53**
6.2 Ενζυμική αντίδραση δι-αιθυλεστέρα και 1,4 –βουτανοδιόλης σε μικροκλίμακα με καταλύτη το N435 ……..……..**σελ. 53-54**
6.3 Σχολιασμός πειραμάτων ενζυμικού πολυμερισμού στο TGA....**σελ.55-59**
6.4 Βιβλιογραφία 6ου κεφαλαίου…….…..**σελ. 60**
7. Διερεύνηση παραμέτρων που επηρέασαν τον πολυμερισμό και αξιολόγηση TGA ως όργανο παρακολούθησης της ενζυμικής σύνθεσης……...**σελ. 61-70**
7.1 Σκοπός……**σελ. 61**
7.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την διεξαγωγή της μετεστεροποίησης δι-αιθυλεστέρα σε TGA με λιπάση ……**σελ. 61-68**
7.2.1 Θερμοκρασία αντίδρασης……...**σελ. 63-65**
7.2.2 Ροή αδρανούς αερίου ……**σελ. 65-66**
7.2.3 Επίδραση της ομοιογένειας του ενζύμου……**σελ. 66-68**
7.3 Αξιολόγηση συστήματος TGA ως προς την ικανότητά του να παρακολουθεί τον ενζυμικό πολυμερισμό……**σελ. 68-69**
7.4 Βιβλιογραφία 7ου κεφαλαίου…….……..**σελ. 70**
8. Εξέταση διαφορετικών μεθόδων και πειραματικών διαδικασιών για την ενζυμική σύνθεση του PBS……..……**σελ. 71-82**

8.1 Σκοπός…….**σελ. 71**
8.2 Ενζυμικός πολυμερισμός 1,4- βουτανοδιόλης με δι-μεθυλεστέρα με καταλύτη N435 σε μικροκλίμακα……...**σελ. 71-73**
8.3 Ενζυμικός πολυμερισμός 1,4- βουτανοδιόλης με δι-μεθυλεστέρα σε μικροκλίμακα με χρήση κουτινάσης…….**σελ. 74-77**
8.4 Ενζυμικός πολυμερισμός 1,4- βουτανοδιόλης με δι-αιθυλεστέρα σε μεγάλη κλίμακα παραγωγής (2 g) με χρήση του N435 ……**σελ. 77-81**
8.5 Βιβλιογραφία 8^{ου} κεφαλαίου…….…….**σελ. 82**

Συμπεράσματα

9. Συμπεράσματα-Προτάσεις……...**σελ. 83- 86**
9.1 Παρακολούθηση ενζυμικής σύνθεσης του PBS σε μικροκλίμακα μέσω συστήματος TGA……...**σελ. 83-84**
9.2 Ενζυμική σύνθεση PBS με μετεστεροποίηση δι-μεθυλεστέρα……..**σελ. 84-85**
9.3 Εναλλακτική ενζυμική σύνθεση PBS με χρήση του ενζύμου κουτινάση……..**σελ. 85**
9.4 Ενζυμική σύνθεση PBS σε μεγάλη κλίμακα (~2 g)……..**σελ. 85-86**

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στόχος της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η αξιολόγηση της ενζυμικής σύνθεσης του αλειφατικού βιοαποικοδομήσιμου πολυ(ηλεκτρικού βουτυλεστέρα) (PBS) σε σύστημα θερμοβαρυμετρικής ανάλυσης (TGA). Ως αρχικά μονομερή χρησιμοποιήθηκαν η 1,4-βουτανοδιόλη και ο δι-αιθυλεστέρας του ηλεκτρικού οξέος.

Για τον ενζυμικό πολυμερισμό ακολουθήθηκε τεχνική μάζας. Ως βιοκαταλύτης χρησιμοποιήθηκε η ακινητοποιημένη λιπάση Novozyme 435 (N435, *Candida antartica* Lipase B, CALB 2 % w/w) σε ποσότητα 20 % w/w ως προς τη μάζα των μονομερών. Κατόπιν εξέτασης διαφόρων παραμέτρων πολυμερισμού, διαπιστώθηκε ότι η αντίδραση στους 80˚C για 90 λεπτά χωρίς παροχή αδρανούς αερίου οδήγησε σε ικανοποιητική επαναληψιμότητα και σε αποδεκτά διαγράμματα απώλειας μάζας. Ωστόσο, το παραγόμενο PBS βρέθηκε να είναι χαμηλού μοριακού βάρους. Πιο αναλυτικά, οι παράμετροι οι οποίες μελετήθηκαν ήταν: θερμοκρασία, ροή αζώτου και ομοιογένεια ενζύμου και τα αποτελέσματα στηρίχθηκαν σε διαγράμματα θερμοβαρυμετρικής ανάλυσης (TGA). Τα λαμβανόμενα γραφήματα απέδιδαν την απώλεια μάζας και την κλίση των καμπυλών αντίδρασης ώστε να ελεγχθεί η επιτυχία ενός πολυμερισμού, η δυνατότητα επίτευξης αντιδράσεων χρησιμοποιώντας μικρές ποσότητες αντιδρώντων, η πορεία μιας αντίδρασης, η επίδραση κρίσιμων παραμέτρων και η καταλυτική συμπεριφορά οποιουδήποτε ενζύμου. Τα δείγματα PBS που συντέθηκαν υποβλήθηκαν σε ταυτοποίηση της χημικής δομής και υπολογισμό του μέσου-αριθμού μοριακού βάρους ($\overline{M_n}$) μέσω Φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (^{1}H-NMR), καθώς και ανάλυση των θερμικών ιδιοτήτων μέσω διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC) για τον προσδιορισμό του σημείου τήξης και της αντίστοιχης ενθαλπίας.

Ακόμα, αξιολογήθηκε η δυνατότητα παραγωγής PBS παρουσία κουτινάσης ως βιοκαταλύτη σε ποσότητα 3 και 5 % w/w ως προς τη μάζα των μονομερών. Η ενζυμική σύνθεση διεξήχθη στους 50 και 55˚C και χωρίς παροχή αδρανούς αερίου για 240 λεπτά. Οι προαναφερόμενες συνθήκες διαπιστώθηκε πως δεν οδήγησαν σε πολυεστέρα και απέδειξαν τη χρησιμότητα του TGA ως εργαλείο παρακολούθησης της πορείας μιας αντίδρασης και ως μέθοδο ελέγχου της δραστικότητας οποιουδήποτε βιοκαταλύτη.

Επιπρόσθετα, ελέγχθηκε η δυνατότητα μετάβασης της παραγωγής PBS σε εργαστηριακή κλίμακα (~ 2 g). Ο ενζυμικός πολυμερισμός διεξήχθη σε σύστημα ανάλογο του περιβάλλοντος TGA και στις βέλτιστες προσδιοριζόμενες συνθήκες με καταλύτη το N435. Η αντίδραση διήρκησε 90 λεπτά στους 80˚C και με χαμηλή παροχή αδρανούς αερίου. Οι προαναφερόμενες συνθήκες διαπιστώθηκε πως οδήγησαν σε ολιγομερή πολύ χαμηλού μοριακού βάρους, ενώ προσδιορίστηκαν και το σημείο τήξης και η αντίστοιχη ενθαλπία μέσω διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC).

ABSTRACT

The aim of this thesis is to evaluate the enzymatic synthesis of biodegradable aliphatic poly(butylene succinate) (PBS) in a thermogravimetric analysis chamber (TGA). As monomers 1, 4-butanediol and di-ethyl succinate were used.

Enzymatic polymerization took place in bulk. As biocatalyst, immobilized lipase Novozyme 435 (N435, *Candida antartica* Lipase B, CALB 2% w / w) was used in an amount of 20% w / w relative to the mass of the monomers. After examining various polymerization parameters, it was found that the reaction at 80˚C for 90 minutes without providing inert gas, led to satisfactory reproducibility and acceptable mass loss charts. However, the produced PBS was found to have a low molecular weight. In particular, the examined variables were: temperature, nitrogen flow and enzyme homogeneity; the results were based on thermogravimetric analysis charts (TGA). The received charts attributed the mass loss and the slope of the reaction curves to check the success of an enzymatic polymerization using small quantities of reactants and biocatalysts, the course of a reaction vs time and the influence of critical parameters on polymerization performance. The chemical structure of synthesized PBS samples was identified via nuclear magnetic resonance spectroscopy (^{1}H-NMR), with parallel calculation of the average-number molecular weight ($\overline{M_n}$). The products thermal properties (melting point, enthalpy of fusion) were also analyzed by differential scanning calorimetry (DSC).

In the same system, the possibility of producing PBS at the presence of Cutinase as biocatalyst was evaluated, in an amount of 3 and 5% w / w relative to the mass of the monomers. The enzymatic synthesis was carried out at 50 and 55˚C without inert gas flow for 240 minutes. These applied conditions did not result in polyester synthesis, demonstrating however the value of the TGA as a tool for monitoring the progress/feasibility of a reaction as a method of controlling the activity/performance of any biocatalyst.

Additionally, an investigation on the possibility of scaling up production PBS at 2 g scale was examined. The enzymatic polymerization was conducted under similar with TGA conditions, using N435 as biocatalyst: the reaction lasted 90 min at 80˚C under low nitrogen flow (5 ml/min). The above conditions resulted in oligomers of very low molecular weight, and were characterized by differential scanning calorimetry (DSC).

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΒΙΟΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΙΜΑ ΠΟΛΥΜΕΡΗ

1.1ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή χρησιμοποιούνται ευρέως σε βιοϊατρικές εφαρμογές, για παράδειγμα, ως βιοϋλικά για την κατασκευή απορροφήσιμων οστεϊκών πλακών, χειρουργικών συσκευών στερέωσης, χειρουργικών ραμμάτων καθώς και φορέων για την ελεγχόμενη απελευθέρωση της φαρμακευτικής ουσίας. Η βιοσυμβατότητα και η τοξικότητα των πολυμερών παίζουν σημαντικό ρόλο σε αυτές τις εφαρμογές. Άλλοι παράγοντες που συμβάλλουν στο σημαντικό αυτό ρόλο των πολυμερών είναι ο προβλέψιμος ρυθμός βιοαποικοδόμησης καθώς και οι επιθυμητές μηχανικές ιδιότητες που διαθέτουν.

Οι αλειφατικοί πολυεστέρες είναι μία αξιοσημείωτη ομάδα βιοαποδομήσιμων πολυμερών που μπορούν να επεξεργαστούν σε διάφορες μορφές, όπως ίνες, φιλμ, σε συστήματα έγχυσης ή σε καλούπια. Οι εστέρες αυτοί είναι κατάλληλοι για να αντικαταστήσουν πολλά συμβατικά θερμοπλαστικά πολυμερή, λόγω της καλής μηχανικής αντοχής τους και της μεταβλητής θερμοκρασίας τήξεως τους. Οι εμπορικοί αλειφατικοί πολυεστέρες παράγονται κυρίως μέσω πολυμερισμού συμπύκνωσης αλειφατικών δικαρβοξυλικών οξέων με διόλες, μέσω αντίδρασης μετεστεροποίησης διεστέρεων με διόλες, μέσω πολυμερισμού των υδρόξυ-οξέων καθώς και μέσω πολυμερισμού που οφείλεται το άνοιγμα του δακτυλίου.

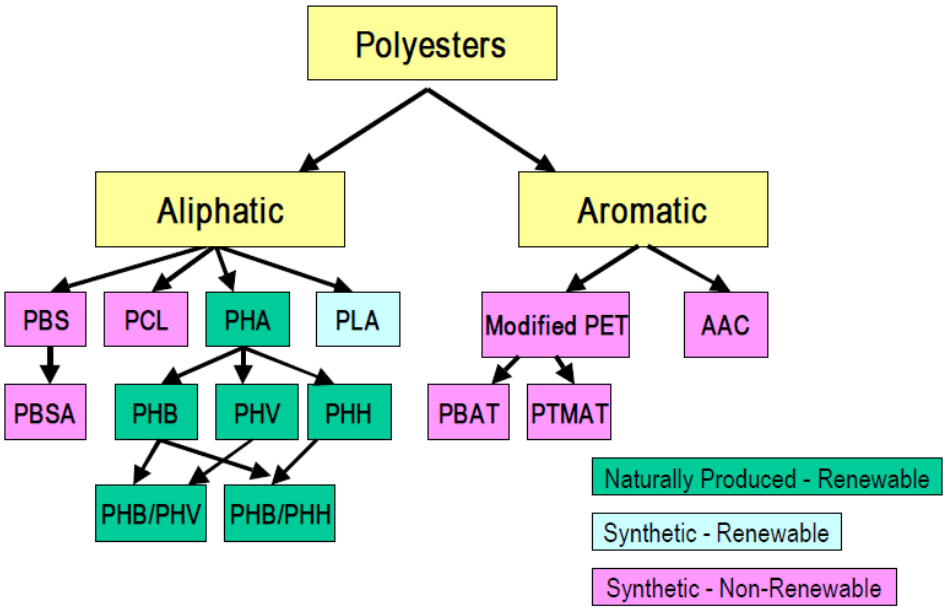
1.2ΒΙΟΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΙΜΟΙ ΠΟΛΥΕΣΤΕΡΕΣ

Η «βιοαποικοδομησιμότητα» των πλαστικών εξαρτάται από τη χημική δομή του υλικού και από τη σύσταση του τελικού προϊόντος, όχι μόνο από τις πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή του. Ως εκ τούτου, τα βιοδιασπώμενα πλαστικά μπορεί να βασίζονται σε φυσικές ακόμα και συνθετικές ρητίνες. Το φυσικά βιοδιασπώμενο πολυμερές βασίζεται πρωτίστως σε ανανεώσιμους πόρους (όπως άμυλο) και μπορεί να παράγεται είτε φυσικά είτε να συντίθεται από ανανεώσιμες πηγές. Μη ανανεώσιμα συνθετικά βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή είναι αυτά που βασίζονται στο πετρέλαιο. Όπως κάθε εμπορεύσιμο πλαστικό προϊόν πρέπει να πληρεί τις απαιτήσεις απόδοσης των προβλεπόμενων λειτουργιών του, έτσι πολλά φυσικά βιοδιασπώμενα πλαστικά αναμιγνύονται με συνθετικά για την παραγωγή πλαστικών που να πληρούν αυτές τις απαιτήσεις [6].

1.2.1 ΠΟΛΥΕΣΤΕΡΕΣ

Οι πολυεστέρες αποτελούν τα πιο διαδεδομένα βιοαποικοδομήσιμα πλαστικά, γεγονός που οφείλεται στους δυνητικά υδρολυόμενους εστερικούς δεσμούς. Όπως φαίνεται στην Εικόνα 1.1 παρακάτω, η οικογένεια των πολυεστέρων αποτελείται από δύο μεγάλες ομάδες, αλειφατικών (γραμμικοί) πολυεστέρων και αρωματικών (με αρωματικούς δακτύλιους) πολυεστέρων. Οι βιοδιασπώμενοι πολυεστέρες βρίσκονται σε εμπορική ανάπτυξη με κυριότερους τους ακόλουθους:

- PHA – Πόλυ-υδρόξυ-αλκανοϊκά παράγωγα
- PHB – Πόλυ-υδρόξυ-βουτυρικός εστέρας
- PHH - Πόλυ-υδρόξυ-εξανικός εστέρας
- PHV – Πόλυ-υδρόξυ-βαλερικός εστέρας
- PLA - Πολυγαλακτικό οξύ
- PCL - Πολυκαπρολακτόνη
- PBS – Πολύ(ηλεκτρικός) βουτυλεστέρας
- PBSA – Πολύ(ηλεκτρικός) αδιπικός βουτυλεστέρας
- AAC – Αλειφατικοί -Αρωματικοί συμπολυεστέρες
- PET – Πολυτερεφθαλικός αιθυλεστέρας
- PBAT αντίθετα - πολυβουτυλένιο αδιπική / τερεφθαλικό
- PTMAT- πολυμεδυλενο αδιπικό / τερεφθαλικό



Εικόνα 1.1 :Οικογένεια Βιοδιασπώμενων Πολυεστέρων [6]

Ενώ οι αρωματικοί πολυεστέρες όπως ο PET, παρουσιάζουν εξαιρετικές ιδιότητες σαν υλικά, μπορούν επίσης να αποδειχθούν σχεδόν εντελώς ανθεκτικοί ακόμα και σε μικροβιακή προσβολή. Οι αλειφατικοί πολυεστέρες από την άλλη πλευρά είναι εύκολα βιοαποικοδομήσιμοι αλλά στερούνται καλές μηχανικές ιδιότητες που είναι κρίσιμες για τις περισσότερες εφαρμογές. Όλοι οι πολυεστέρες τελικά, αποδομούνται με υδρόλυση (αποδόμηση που προκαλείται από νερό) που είναι ο και ο κυρίαρχος μηχανισμός. Οι συνθετικοί αλειφατικοί πολυεστέρες συντίθενται από διόλες και δικαρβοξυλικά οξέα μέσω πολυμερισμού συμπύκνωσης, και είναι γνωστό ότι είναι πλήρως βιοδιασπώμενοι στο έδαφος και στο νερό. Αυτοί οι αλειφατικοί πολυεστέρες είναι, ωστόσο πολύ ακριβότεροι και στερούνται μηχανικής αντοχής συγκρινόμενοι με άλλα συμβατικά πλαστικά όπως το πολυαιθυλένιο [6].

Ένας αλειφατικός πολυεστέρας που παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τα χαρακτηριστικά του και τις ιδιότητες του είναι ο πολύ(ηλεκτρικός) βουτυλεστέρας ο οποίος προέρχεται είτε από την πολυσυμπύκνωση του ηλεκτρικού οξέος, είτε από την αντίδραση διεστέρα με διόλη. Στην επόμενη παράγραφο παρατίθενται τα χαρακτηριστικά του ηλεκτρικού οξέος και η σημασία αυτού που μας οδήγησε περαιτέρω στον πολυμερισμό του.

1.3ΗΛΕΚΤΡΙΚΟ ΟΞΥ (Succinic Acid)

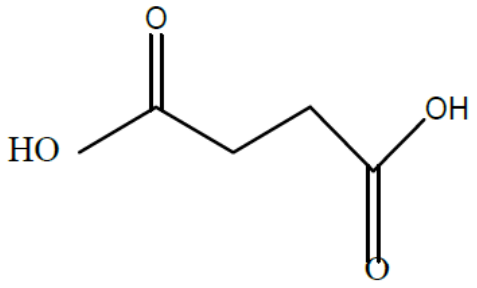
1.3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το 2004, το U.S. Department of Energy (DOE) [1,2] δημοσίευσε μια αναφορά προσδιορίζοντας 12 χημικά είδη τα οποία μπορούσαν να παραχθούν από σάκχαρα, μέσω μικροβιακής ζύμωσης. Αυτά τα δομικά στοιχεία είναι υψηλού ενδιαφέροντος λόγω του ότι μπορούν να μετασχηματιστούν σε ποικίλα, υψηλής αξίας, βιοβασιζόμενα χημικά και υλικά. Τα βασικά κριτήρια για τα 12 χημικά είναι τα ακόλουθα:

- Πολλαπλές λειτουργίες κατάλληλες για περαιτέρω μετατροπή, όπως παράγωγα ή μοριακές οικογένειες.
- Ένα πλαίσιο κατάταξης αριθμού ανθράκων από μία έως και έξι ενώσεις άνθρακα (C1-C6 μονομερή).
- Δεν προέρχονται αρωματικές ενώσεις από λιγνίνη.
- Δεν αποτελούν, ακόμα, χημικά υψηλής εμπορικής αξίας.
- Η αξία της δομικής μονάδας και των παραγώγων της το καθιστούν ιδανικό ως αντικαταστάτη αλλά και ως καινοτόμο χημικό.
- Η τεχνική πολυπλοκότητα σε κάθε σημείο της μετασχηματιστικής οδού (από σάκχαρα σε δομικές μονάδες και από δομικές μονάδες σε παράγωγα).

- Η δυνατότητα των δομικών μονάδων να παράγουν οικογένειες ή ομάδες από παρόμοια παράγωγα.

Στην κορυφή της λίστας των 12 χημικών βρισκόταν το ηλεκτρικό οξύ. Το ηλεκτρικό οξύ είναι ένα σημαντικό, θεμελιώδες, μόριο από πετροχημικές ή βιολογικής προέλευσης πρώτες ύλες, το οποίο μπορεί να μετατραπεί σ' ένα ευρύ φάσμα χημικών και πολυμερών. Το πετρελαϊκό ή το ανθρακικό ηλεκτρικό οξύ είναι οικονομικότερο από το βιολογικής προέλευσης, αλλά με περαιτέρω ανάπτυξη στο μέλλον μπορεί να γίνει ανταγωνιστικό. Ο μοριακός τύπος του ηλεκτρικού οξέος καθώς και οι πραγματικές και δυνητικές οδοί προέλευσής του από τη ζάχαρη παρουσιάζονται στην Εικόνα 1.2 και στον Πίνακα 1.1.



Εικόνα 1.2 : Μοριακός Τύπος Ηλεκτρικού Οξέος

Πίνακας 1.1 : Πραγματικές και Δυνητικές οδοί προέλευσης ηλεκτρικού οξέος από σάκχαρα [2]

Δομική Μονάδα	**Ζυμο-μύκητες**	**Βακτήρια**	**Ζυμο-μύκητες**	**Βακτήρια**	**Χημικές και Καταλυτικές Διεργασιές**	**Βιο-μετασχηματισμοί**
Ηλεκτρικό Οξύ	Αερόβια Ζύμωση		Αναερόβια Ζύμωση		Χημικοί – ενζυμικοί μετασχηματισμοί	
	x	x	x			x

1.3.2. ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΗΛΕΚΤΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΑΥΤΟΥ

Το ηλεκτρικό οξύ ή αλλιώς βουτανοδιϊκό οξύ ανήκει στα δικαρβοξυλικά οξέα. Ο γενικός μοριακός τύπος τους είναι $HOOC(CH_2)_nCOOH$. Τα καρβοξυλικά οξέα έχουν βιομηχανικές εφαρμογές άμεσα ή έμμεσα μέσω των παραγώγων τους, όπως οξέα αλογονιδίων, εστέρων, αλάτων κτλ. Τα δικαρβοξυλικά οξέα είναι χρήσιμα σε μία ποικιλία βιομηχανικών εφαρμογών συμπεριλαμβάνοντας:

- Πλαστικοποιητές για πολυμερή
- Βιοδιασπώμενους διαλύτες

- Μηχανικά πλαστικά
- Εποξικό παράγοντα σκλήρυνσης
- Κόλλες και σκόνες επίστρωσης
- Αναστολείς διάβρωσης
- Αρωματοποιία και φαρμακευτική
- Ηλεκτρολύτες

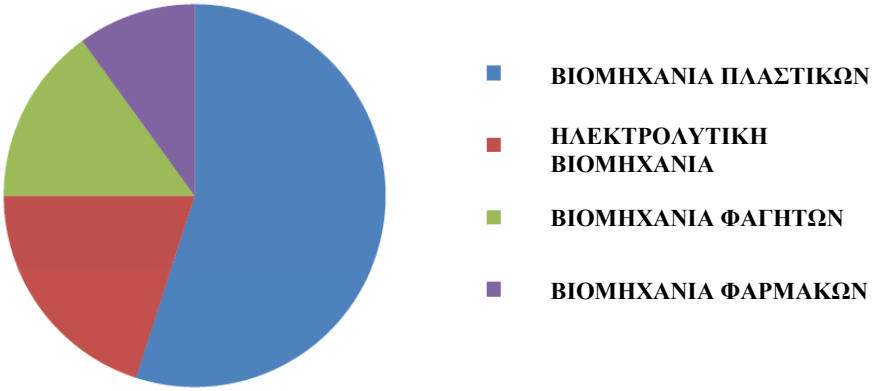
Υπάρχουν σχεδόν αναρίθμητοι εστέρες που αποκτούνται από καρβοξυλικά οξέα. Οι εστέρες αυτοί σχηματίζονται μέσω αντίδρασης συμπύκνωσης μεταξύ ενός οξέος και μιας αλκοόλης. Μικρής αλυσίδας εστέρες χρησιμοποιούνται ως πλαστικοποιητές, διαλύτες και παράγοντες σύζευξης. Μεγάλης αλυσίδας εστέρες χρησιμοποιούνται ως συστατικά σε υγρά επεξεργασίας μετάλλων, σε δραστικές επιφανειακές ουσίες, σε λιπαντικά, σε απορρυπαντικά, σε γαλακτωματοποιητές, σε μαλακτικά και σε παράγοντες διαβροχής στην κλωστοϋφαντουργία. Οι εστέρες παρέχουν μία διευρυμένη ποικιλία ιξώδους, ειδικού βάρους, πίεσης ατμών, σημείων βρασμού, καθώς και άλλων φυσικών και χημικών ιδιοτήτων για σωστές επιλογές κατά την εφαρμογή. Εστιάζοντας στο ηλεκτρικό οξύ, αναφέρονται οι εξής φυσικές ιδιότητες αυτού στον παρακάτω πίνακα (Πιν. 1.2), [3,4].

Πίνακας 1.2 : Φυσικές ιδιότητες ηλεκτρικού οξέος [4]

Εμφάνιση	Λευκό κρυσταλλικό προϊόν
Μοριακός Τύπος	$(CH_2COOH)_2$
Φυσική Κατάσταση	Άοσμοι άσπροι κρύσταλλοι
Μοριακό Βάρος	118,09 g/mole
Σημείο Βρασμού	188˚C
Σημείο Βρασμού Αποσύνθεσης	235 ˚C
Ειδικό Βάρος	1,56 25 ˚C/4C
Δοκιμασία Ξηρού	99,5% w/w
Διαλυτότητα	100g/100ml σε 100 ˚C σε νερό 7,69g/100ml σε 25 ˚C
Υπόλειμμα σε ανάφλεξη	0,025% w/w
Περιεκτικότητα σε μόλυβδο	2 mg/kg
Περιεκτικότητα σε αρσενικό	3 mg/kg
Περιεκτικότητα σε υγρασία	0,5% w/w
pKA1	4,21
pKA2	5,64

Το ηλεκτρικό οξύ βρίσκει εφαρμογή κυρίως σε τέσσερις περιοχές (Εικ.3) [5]. Η μεγαλύτερη απ' αυτές αναφέρεται σε παράγοντες αραίωσης, αφρισμού και δραστικής επιφάνειας. Στην δεύτερη περιοχή, το ηλεκτρικό οξύ δρα ως παράγοντας ο οποίος

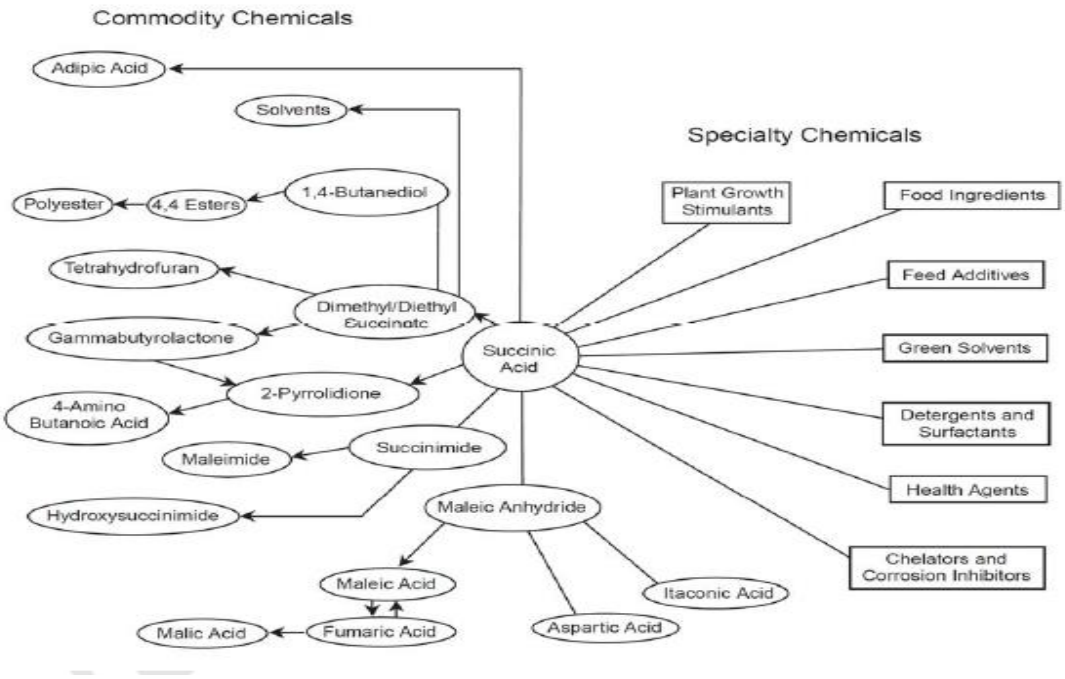
προλαβαίνει τη διάβρωση των μετάλλων σε μία ηλεκτρολυτική βιομηχανία. Στην τρίτη κατηγορία, υπάρχει ως οξινιστικός παράγοντας, ως ρυθμιστής pH και ως αρωματικός παράγοντας στη βιομηχανία τροφίμων και ποτών και στην τέταρτη χρησιμοποιείται για την παραγωγή φαρμακευτικών προϊόντων, συμπεριλαμβανομένων αντιβιοτικών, βιταμινών και αμινοξέων.



Εικόνα 1.3 : Περιοχές εφαρμογής ηλεκτρικού οξέος (βάσει ποσοστών) [5]

Επίσης, το ηλεκτρικό οξύ αποτελεί σημαντική δομική μονάδα στην παγκόσμια αγορά εξαιτίας των παραγώγων της των οποίων η αγοραστική τους δύναμη εντοπίζεται στους 270.000 τόνους/ χρόνο [5,6]. Λαμβάνοντας υπόψιν τις πρόσφατες βελτιώσεις στην μικροβιολογική παραγωγή ηλεκτρικού οξέος, η οποία θα οδηγήσει σε ανταγωνιστική τιμή, γραμμή παραγωγής παραγώγων ηλεκτρικού οξέος θα γίνει οικονομικά πιο βιώσιμη και πιο σημαντική [7].

Μια μεγάλη ομάδα από πιθανά παράγωγα ηλεκτρικού οξέος παρουσιάζεται στην Εικόνα 1.4.

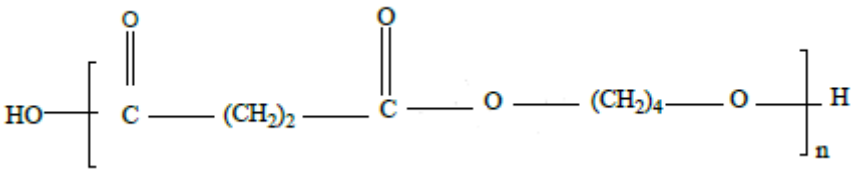


Εικόνα 1.4 : Παράγωγα ηλεκτρικού οξέος [5]

1.4ΠΟΛΥ(ΗΛΕΚΤΡΙΚΟΣ) ΒΟΥΤΥΛΕΣΤΕΡΑΣ, (Poly(butylene succinate), PBS)

1.4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο πολύ(ηλεκτρικός) βουτυλεστέρας (PBS) και τα συμπολυμερή του, είναι οικογένεια βιοδιασπώμενων πολυεστέρων που έχουν συντεθεί από ηλεκτρικό οξύ, βουτανοδιόλη, ή από άλλα δικαρβοξυλικά οξέα και διόλες. Το PBS είναι ένα άσπρο κρυσταλλικό θερμοπλαστικό πολυμερές, πυκνότητας 1,25 g/cm^3, σημείο τήξεως (T_m) στην περιοχή των 90 ˚C- 120 ˚C και σημείο υαλώδους μετάπτωσης (T_g) στην περιοχή -45 ˚C με -10 ˚C. Έχει γενικά εξαιρετικές μηχανικές ιδιότητες και ευκολία στην επεξεργασία. Όπως άλλοι αλειφατικοί πολυεστέρες, είναι θερμικά σταθερό μέχρι τους 200 ˚C και λόγω της καλής βιοδιάσπασής του, έχει προσελκύσει έντονα το ενδιαφέρον και από ακαδημαϊκής πλευράς και από βιομηχανικής. Η επαναλαμβανόμενη δομική μονάδα του PBS είναι η εξής:



Το PBS μέχρι και σήμερα παράγεται με πολυμερισμό συμπύκνωσης από πετροχημικό ηλεκτρικό οξύ και βουτανοδιόλη, τα οποία και τα δύο προέρχονται από μαλεϊκό ανυδρίτη. Στις μέρες μας, ο πολύ(ηλεκτρικός) βουτυλεστέρας είναι ένας εξαιρετικά σημαντικός, τεχνικά παραγόμενος βιοδιασπώμενος πολυεστέρας για τρεις λόγους. Πρώτον, το ηλεκτρικό οξύ είναι ένα πολυμερές που βασίζεται σε ανανεώσιμες πηγές. Δεύτερον, οι ρυθμοί υδρόλυσης των πολύ-ηλεκτρικών είναι υψηλότεροι απ' αυτούς τους πολυεστέρες που προέρχονται από υψηλότερα δικαρβοξυλικά οξέα και τρίτον, η θερμοκρασία τήξεως, καθώς και η θερμοκρασία θερμικής παραμόρφωσης του PBS είναι η υψηλότατη απ' όλα τα παράγωγα του πολυ(ηλεκτρικού).

Εξαιτίας των εξαιρετικών μηχανικών ιδιοτήτων του, μπορεί να εφαρμοστεί σε διεργασίες επεξεργασίας τήγματος όπως έγχυση, εξώθηση και εμφύσηση. Νέες ποιότητες συμπολυμερών PBS έχουν επίσης παραχθεί με υψηλό ρυθμό κρυστάλλωσης και υψηλή τάση τήγματος, κατάλληλες για την παρασκευή μεμβρανών και ιδιαίτερα διογκωμένων αφρωδών υλικών.

Οι εφαρμογές του PBS (Εικ. 1.5) συμπεριλαμβάνουν γενικά, μεμβράνες συσκευασίας, σακούλες και προϊόντα υγιεινής. Κατακτώντας σταθερή ανάπτυξη στην αγορά των βιοδιασπώμενων πλαστικών, η ζήτηση αναμένεται να αυξηθεί ραγδαίως. Μπορεί, επίσης, να αποτελέσει αντικαταστάτη του πολυ-τερεφθαλικού αιθυλεστέρα (PET), του πολυπροπυλενίου (PP), πολύ-ολεφινών και του πολυστυρενίου σε κάποιες εφαρμογές καθώς και να αντικαταστήσει το πολύ-γαλακτικό οξύ (PLA) [1].

Εικόνα 1.5 : Εφαρμογές πολυ(ηλεκτρικού) βουτυλεστέρα [1]

1.4.2 ΤΡΟΠΟΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΠΟΛΥ(ΗΛΕΚΤΡΙΚΟΥ) ΒΟΥΤΥΛΕΣΤΕΡΑ

1.4.2.1 Απευθείας πολυμερισμός για σύνθεση PBS

Η άμεση πολυσυμπύκνωση είναι μία μέθοδος που βασίζεται στις στοιχειομετρικές ποσότητες διοξέων και διόλων παρουσία καταλύτη. Πολυμερισμός μπορεί να διεξαχθεί απευθείας με δύο τρόπους: 1) με άμεσο πολυμερισμό τήγματος μεταξύ ηλεκτρικού οξέος και βουτανοδιόλης και 2) με πολυμερισμό διαλύματος με τα ίδια αντιδρώντα. Και οι δύο μέθοδοι έχουν εξεταστεί εντατικά τα τελευταία χρόνια, μελετώντας την αποτελεσματικότητα διαφορετικών θερμοκρασιών και καταλυτών.

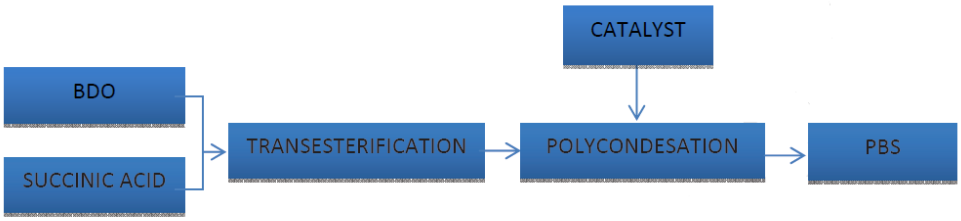
Ο άμεσος πολυμερισμός τήγματος για παραγωγή PBS είναι μία μέθοδος πολυμερισμού που χρησιμοποιεί δικαρβοξυλικό οξύ και διόλη για την παραγωγή υψηλού μοριακού βάρους PBS. Αντιθέτως, ο πολυμερισμός διαλύματος είναι μία τροποποιημένη μέθοδος πολυμερισμού τήγματος στην οποία τα μονομερή και οι εκκινητές του πολυμερισμού διαλύονται σε έναν υγρό διαλύτη, όπως ξυλόλιο ή δεκαϋδροναφθαλένιο κατά την έναρξη της αντίδρασης πολυμερισμού.

Απαραίτητα για την απόκτηση υψηλού μοριακού βάρους PBS είναι:

- Το νερό που σχηματίζεται κατά τη διάρκεια της εστεροποίησης θα πρέπει να αφαιρείται από το σύστημα.
- Η εστεροποίηση πρέπει να πραγματοποιείται στην κατάλληλη θερμοκρασία.
- Ένα επαρκώς υψηλό κενό απαιτείται για να απομακρυνθεί η βουτανοδιόλη και η μικρή ποσότητα νερού που σχηματίζεται στο στάδιο της πολυσυμπύκνωσης. Το Τεχνολογικό Ινστιτούτο της Φυσικής και της Χημείας, της Κινέζικης Ακαδημίας Επιστημών, εφάρμοσε την τεχνική ψυχρής παγίδας στη γραμμή ροής ενός παρασκευάσματος PBS. Ανέφεραν ότι η ψυχρή παγίδα μπορεί να φθάσει τους -120 ° C και έτσι να προκαλέσει το μικρό μοριακό υλικό που σχηματίζεται στο στάδιο της συμπύκνωσης να συμπυκνωθεί και να κρατήσει ένα σταθερό υψηλό κενό και να βελτιώσει την απομάκρυνση των μικρών μοριακών ενώσεων. Κατά συνέπεια, PBS με υψηλό Mw μπορεί να παρασκευαστεί μέσω αυτής της τεχνολογίας.
- Καταλύτες με υψηλή δραστικότητα και οι οποίοι είναι ανθεκτικοί στην υδρόλυση, πρέπει να επιλεγούν για να βελτιωθεί το μοριακό βάρος του PBS και να μειωθεί ο χρόνος αντίδρασης [1].

1.4.2.2 Δύο στάδια μετεστεροποίησης/ εστεροποίησης για τη σύνθεση PBS

Η μετεστεροποίηση συμπεριλαμβάνει την αντίδραση του διμεθυλεστέρα με βουτανοδιόλη παρουσία καταλύτη και είναι το πρώτο βήμα για τη συνθετική παραγωγή που ακολουθείται από πολυσυμπύκνωση σε τήγμα ή διάλυμα (Εικ.1.6).

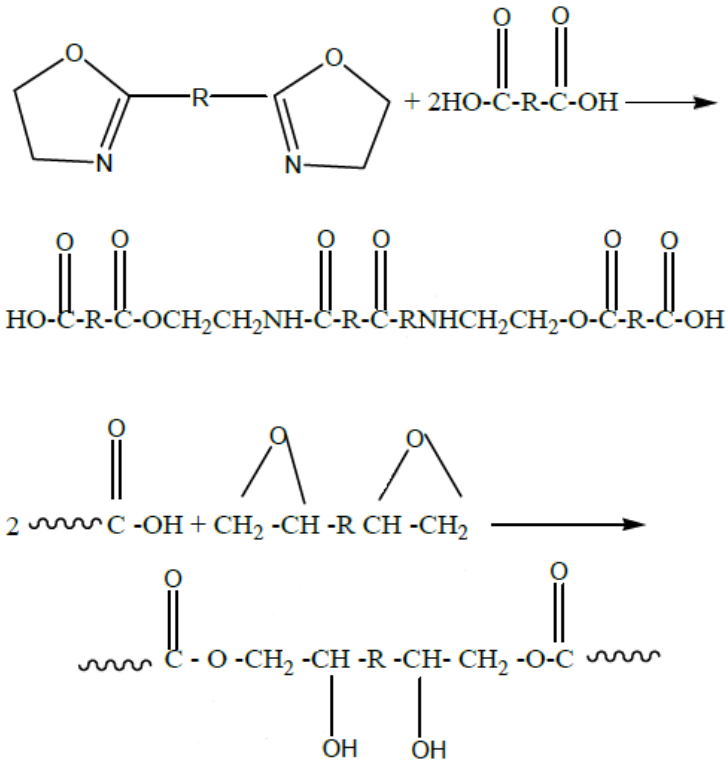


Εικόνα 1.6 :Παραγωγή PBS μέσω διαδικασίας πολυμερισμού μετεστεροποίησης [1]

Βουτανοδιόλη και δικαρβοξυλικός εστέρας προστίθενται σε αναλογία 1:1 καθώς και καταλύτης τιτανίου σε αναλογία mol περίπου 0,05% των μονομερών. Η αντίδραση λαμβάνει χώρα σε θερμοκρασία 180˚C και δίνει προϊόν (PBS) με Μοριακό Βάρος Μέσου Αριθμού M_n=59.500 και Μοριακό Βάρος Μέσου Βάρους M_w=104.100 [8,9].

1.4.2.3 Πολυσυμπύκνωση που ακολουθείται από επέκταση αλυσίδας για τον πολυ(ηλεκτρικό βουτυλεστέρα)

Η διαδικασία επέκτασης της αλυσίδας είναι μία ήδη αναπτυγμένη μεθοδολογία παραγωγής. Συγκρίνοντάς την με τη μέθοδο του άμεσου πολυμερισμού συμπύκνωσης, ένα επιπρόσθετο στάδιο λαμβάνει χώρα για περαιτέρω βελτιστοποίηση του μοριακού βάρους του PBS. Ένα επεκτατικό τμήμα αλυσίδας με δύο λειτουργικές ομάδες μπορεί να αντιδράσει με το τερματικό –OH ή –COOH του PBS. Στην ιδανική περίπτωση το επεκτατικό τμήμα θα ενωθεί με δύο αλυσίδες PBS. Μία ποικιλία από επεκτατικά τμήματα διερευνώνται εδώ και αρκετά χρόνια για τη βελτίωση του μοριακού βάρους του PBS. Ένα τέτοιο επεκτατικό αλυσίδας εκτιμάται ότι είναι και η Bisoxazoline με δράση στους 180˚C-240˚C [10].



Εικόνα 1.7 : Επέκταση αλυσίδας PBS με Bisoxazoline ως επεκτατικό παράγοντα

1.4.2.4 Άμεση πολυεστεροποίηση υπό την ακτινοβολία μικροκυμάτων

Μία φιλική προς το περιβάλλον μέθοδος σύνθεσης PBS έχει μελετηθεί από τον Velmathi [12]. PBS έχει παραχθεί μέσω άμεσης εστεροποίησης ενός δικαρβοξυλικού οξέος και μίας διόλης με χρήση καταλύτη δικασσιτερονοξάνιο υπό την επίδραση μικροκυμάτων. Το PBS που συντέθηκε ελήφθη σε απόδοση 81,3% με MB 23.500. Η αντίδραση έλαβε χώρα σε ατμόσφαιρα αζώτου με μέγιστη ισχύ μικροκυμάτων τα 200W.

1.4.2.5 Ενζυμικός Πολυμερισμός – Σύνθεση του πολύ(ηλεκτρικού βουτυλεστέρα) (PBS)

Η καταλυόμενη σύνθεση PBS από λιπάση, είναι μια πρόσφατα ανεπτυγμένη μέθοδος, η οποία πληρείται σε ήπιες συνθήκες. Οι λιπάσες είναι ανανεώσιμοι καταλύτες με υψηλή καταλυτική δραστηριότητα τόσο σε πολυμερισμούς συμπύκνωσης όσο και πολυμερισμούς ανοίγματος δακτυλίου των λακτονών υπό ήπιες συνθήκες αντίδρασης. Η λιπάση που καταλύει έναν πολυμερισμό θεωρείται μία νέα στρατηγική βάση για την «πράσινη» παραγωγή βιοπολυμερών [11]. Ο ενζυμικός πολυμερισμός είναι ένα θέμα που θα αναλυθεί εκτενέστερα στο επόμενο κεφάλαιο.

1.5 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 1ΟΥ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ

1. E. Adamopoulou, S. Vougiouka, K. Papaspyrides, Poly(butylene succinate): A Promising Biopolymer, Athens 2012
2. U.S. Department of Energy (DOE), Top Value Added Chemicals from Biomass Volume I—Results of Screening for Potential Candidates from Sugars and Synthesis Gas, 2004
3. Baker Mallinckrodt "Succinic Acid", Inc., Material Safety Data Sheet, 2006
4. Gadiv LTD: http://www.gadiv.com/
5. Zeikus J.G., Jain M. K., Elankovan P., Appl. Microbiological Biotechnology ,51: 545-552, 1999
6. Nolan – IT, Biodegradable Plastics – Developments and Environmental Impacts, Australia 2002
7. McKinlay JB, Vieille C., Zeikus JG., Prospects for a bio-based succinate industry. Appl. Microbiol Biotechnol 76:727-740, 2007
8. Tserki V., Matzinos P., Pavlidou E., Vachliotis D., Panayiotou C., Biodegradable aliphatic polyesters Part I. Properties and biodegradation of poly(butylene succinate-co-butylene adipate), Polymer Degradation and Stability 91, 367-376, 2006
9. Tserki V., Matzinos P.,Pavlidou E., Panayiotou C., Biodegradable aliphatic polyesters. Part II. Synthesis and characterization of chain extended poly(butylene succinate-co-butylene adipate), Polymer Degradation and Stability :91 377-384, 2006
10. Xu J., Guo B.H., Microbial Succinic Acid, Its Polymer Poly(butylene succinate), and Applications, G.-Q. Chen (ed.), Plastics from Bacteria: Natural Functions and Applications, Microbiology Monographs, Vol. 14, DOI 10.1007/978-3-642-03287_5_14, 2010
11. Sugihara S., Toshima K.,Matsumura S.,New Strategy for Enzymatic Synthesis of High-Molecular- Weight Poly(butylene succinate) via Cyclic Oligomers, Macromolecular Rapid Communication, Volume 27, Issue 3, pages 203–207, 2006
12. Velmathi S., Nagahata R., Sugiyama J., Takeuchi K., A Rapid Eco-Friendly Synthesis of Poly(butylene succinate) by a Direct Polyesterification under Microwave Irradiation, Macromol. Rapid Commun. 26, 1163–1167, 2005

2. ΕΝΖΥΜΙΚΟΣ ΠΟΛΥΜΕΡΙΣΜΟΣ

2.1ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Βιοκατάλυση είναι η χρήση βιολογικών συστημάτων ως καταλύτες για την μετατροπή ενός απλού υλικού (ουσίας) σε ένα καθορισμένο προϊόν. Τα βιολογικά συστήματα που χρησιμοποιούνται στην βιοκατάλυση, κυρίως βακτήρια, μύκητες και ζύμες πετυχαίνουν την γρηγορότερη πραγματοποίηση των αντιδράσεων χάρη στα ένζυμα που παράγουν. Τα ένζυμα μπορούν να ελαττώσουν την ενέργεια ενεργοποίησης των αντιδράσεων και να επιταχύνουν έτσι την ταχύτητα τους μέχρι και 100 εκατομμύρια φορές. Η βιοκατάλυση είναι ένα πολυτιμότατο εργαλείο για την πραγματοποίηση πολλών αντιδράσεων με έναν πιο φιλικό προς το περιβάλλον τρόπο. Αυτό οφείλεται στην ικανότητα των ενζύμων να δρουν σε μέτριες τιμές pH (4-9), σε σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες (συνήθως 10-50°C) και χωρίς να απαιτούνται υψηλές πιέσεις ή μεταλλικοί καταλύτες. Έτσι είναι δυνατή η διεξαγωγή αντιδράσεων που, απουσία των ενζύμων, θα απαιτούσαν για την πραγματοποίηση τους είτε ιδιαίτερα όξινα ή αλκαλικά περιβάλλοντα, είτε υψηλή κατανάλωση ενέργειας για θέρμανση είτε την παρουσία τοξικών μεταλλικών καταλυτών. Επιπλέον καθώς τα ένζυμα χαρακτηρίζονται από ιδιαίτερα μεγάλη εξειδίκευση η βιοκατάλυση οδηγεί συνήθως στην παραγωγή ενός συγκεκριμένου προϊόντος απλουστεύοντας έτσι τις διαδικασίες παραλαβής του τελικού προϊόντος [1].

Μια από τις σημαντικές εφαρμογές της βιοκατάλυσης είναι και οι διεργασίες πολυμερισμού. Σε πολλές περιπτώσεις ο ενζυμικός πολυμερισμός διευκολύνει/επιτρέπει τη σύνθεση πολυμερών, τα οποία διαφορετικά είναι δύσκολο να παρασκευαστούν.

Τα τελευταία χρόνια πραγματοποιείται εντατική έρευνα σχετικά με τον ενζυμικό πολυμερισμό, που πλέον αναγνωρίζεται ως ένας νέος τομέας πολυμερικής σύνθεσης. Στόχος είναι η σύνθεση με ενζυμικό πολυμερισμό μακρομορίων, όπως οι πολυσακχαρίτες, τα πολυ(αμινο οξέα), οι πολυεστέρες, βινυλικά πολυμερή, οι πολυ(ανθρακικές ενώσεις) και οι πολυ(αρωματικές ενώσεις). Ο ενζυμικός πολυμερισμός ορίζεται ως η «in vitro χημική σύνθεση πολυμερών μέσω μη βιοσυνθετικών (μη μεταβολικών) μονοπατιών, η οποία καταλύεται από ένα απομονωμένο ένζυμο». Ο ενζυμικός πολυμερισμός ουσιαστικά αξιοποιεί τα πλεονεκτήματα των βιοκαταλυτών που παρατίθενται στην παράγραφο, μπορεί να πραγματοποιηθεί με τεχνική μάζας, διαλύματος ή αιωρήματος και αποτελεί μια φιλική προς το περιβάλλον συνθετική διαδικασία πολυμερών, παρέχοντας ένα καλό παράδειγμα που συμβάλλει στην «πράσινη χημεία πολυμερών». Η κατάλυση είναι ζωτικής σημασίας στις βιοχημικές και βιομηχανικές διαδικασίες, γιατί μπορούν να αυξήσουν την αποδοτικότητα του χημικού συστήματος ίσως μέχρι εκατό φορές [2].

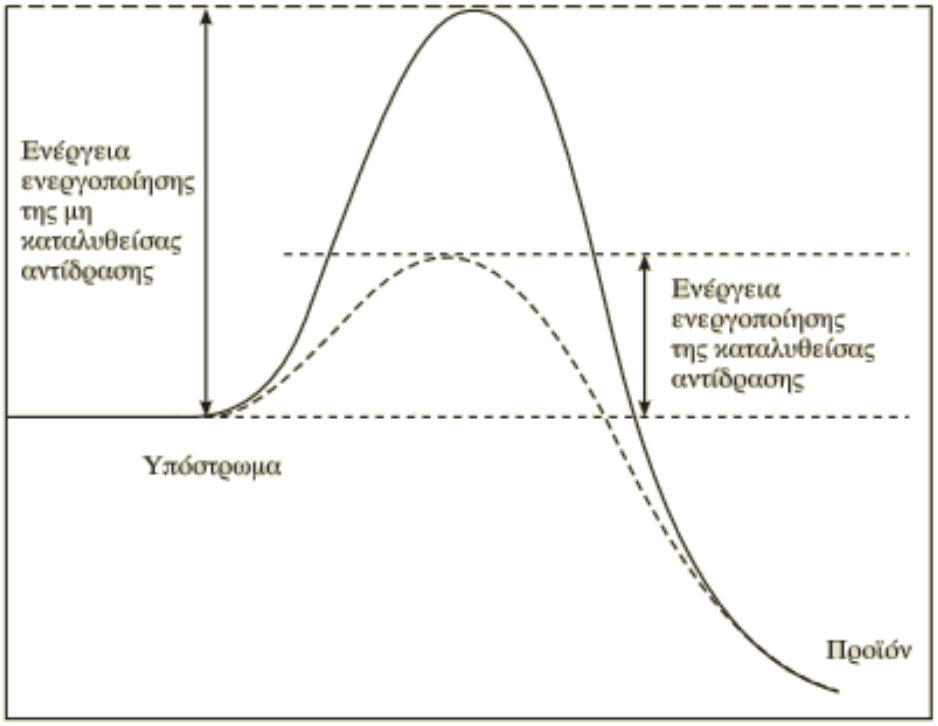
2.2ΔΟΜΗ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΩΝ

Ως προς τη σύσταση τους, τα ένζυμα είναι μεγαλομοριακές ενώσεις πρωτεϊνικής φύσεως (π.χ. πολυπεπτίδια) με περίπλοκη τρισδιάστατη δομή και με μοριακά βάρη από μερικές χιλιάδες έως μερικά εκατομμύρια g/mol. Η ενεργότητα τους εξαρτάται από τη δομική διαμόρφωσή τους, βάσει της οποίας δημιουργούνται συγκεκριμένες περιοχές στην επιφάνεια του ενζύμου που αποτελούν το ενεργό κέντρο του ενζύμου. Η αντίδραση μεταξύ του ενζύμου και ενός υποστρώματος (αντιδρών σύστημα) συμβαίνει στο ενεργό κέντρο του ενζύμου δίνοντας συγκεκριμένα προϊόντα και παρουσιάζοντας σε πολλές περιπτώσεις τη σχέση «κλειδιού-κλειδαριάς» [3] (Εικ. 2.1).

Εικόνα 2.1 : Σχηματική απεικόνιση δράσης ενζύμων ως βιοκαταλυτές. Σχέση «κλειδιού-κλειδαριάς». [4]

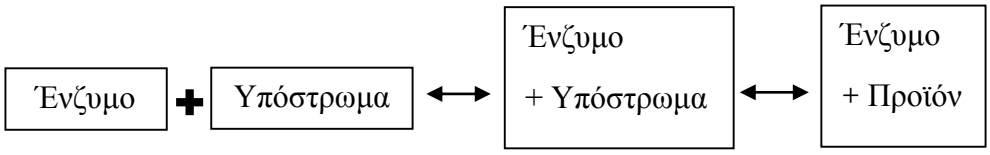
2.3ΤΡΟΠΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ

Για να λάβει χώρα μία χημική αντίδραση, τα προς αντίδραση μόρια πρέπει να περάσουν στην ενεργοποιημένη μεταβατική κατάστασή τους απορροφώντας μία ποσότητα ενέργειας που ονομάζεται ενέργεια ενεργοποίησης. Στην αέριο κατάσταση ή σ' ένα διάλυμα, η ενέργεια των μορίων μπορεί να αυξηθεί με την παροχή μιας εξωτερικής πηγής ενέργειας (π.χ. θερμότητας), οπότε ενεργοποιούνται περισσότερα μόρια και η αντίδραση επιταχύνεται. Επειδή όμως στον ζωικό οργανισμό δεν μπορεί να αυξηθεί η θερμότητα, επιδιώκεται η μείωση της απαιτούμενης ενέργειας ενεργοποίησης με την παρουσία των ενζύμων, οπότε οι θερμοδυναμικά δυνατές αντιδράσεις του κυττάρου επιταχύνονται στις ήπιες συνθήκες του κυττάρου, ξεπερνώντας το ενεργειακό φράγμα της ενέργειας ενεργοποίησης.



Εικόνα 2.2: Μηχανισμός καταλυτικής δράσης ενζύμου[4].

Με τη δράση του ενζύμου σχηματίζεται ένα σύνθετο μόριο (σύμπλοκο) μεταξύ ενζύμου και υποστρώματος ή υποστρωμάτων. Το σύνθετο αυτό μόριο στη συνέχεια διασπάται και παράγεται το προϊόν της αντίδρασης και το αμετάβλητο ένζυμο κατά το σχήμα [4]:

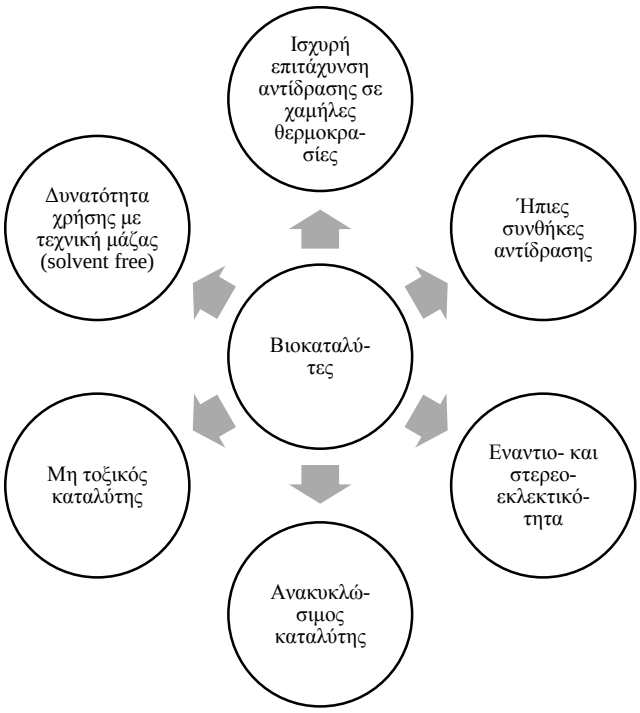


Τα ένζυμα καταλύουν όλες τις *in vivo* βιοσυνθετικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στα κύτταρα των έμβιων οργανισμών και που συμβάλλουν στη διατήρηση της ζωής. Συνιστούν δηλαδή τους βιοκαταλύτες της φύσης. Ωστόσο μπορούν να καταλύσουν και αντιδράσεις in vitro σε φυσικό ή τεχνητό υπόστρωμα υπό καθορισμένες συνθήκες.

Ως βιοκαταλύτες διακρίνονται για τις εξής ιδιότητες [3]:

- επιταχύνουν με πολύ μεγάλο ρυθμό (108-1020) αντιδράσεις οι οποίες δεν πραγματοποιούνται ή πραγματοποιούνται με πολύ χαμηλό ρυθμό σε ένα συγκεκριμένο περιβάλλον,
- δρουν σε πολύ μικρές ποσότητες,

- δρουν σε ήπιες συνθήκες,
- παρουσιάζουν υψηλή εκλεκτικότητα ως προς το είδος των αντιδράσεων που καταλύουν σε σύγκριση με τους χημικούς καταλύτες,
- μετά το πέρας της αντίδρασης διατηρούν τις ενζυμικές τους ιδιότητες, συνεπώς μπορούν να χρησιμοποιηθούν εκ νέου
- στο τέλος της αντίδρασης έχουν ακέραια τη χημική και φυσική δομή τους.



Εικόνα 2.3: Πλεονεκτήματα βιοκαταλυτών/ενζύμων ως καταλύτες [3]

Στη φύση τα ένζυμα κατατάσσονται στις εξής κατηγορίες:

i. Οξειδο-αναγωγάσες: Καταλύουν οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις με μεταφορά ηλεκτρονίων.
ii. Τρανσφεράσες: Καταλύουν τη μεταφορά μιας λειτουργικής ομάδας.
iii. Υδρολάσες: Καταλύουν την υδρόλυση διαφόρων δεσμών προκειμένου να μεταφέρει λειτουργικές ομάδες στο νερό.
iv. Λυάσες: Καταλύουν την διάσπαση του CC, CO, CN.
v. Ισομεράσες: Καταλύουν είτε ρακεμοποίηση είτε επιμερισμό των χειρόμορφων κέντρων. Υποδιαιρούνται σύμφωνα με τα υποστρώματά τους.
vi. Λιγάσες: Καταλύουν τη σύζευξη δύο μορίων με ταυτόχρονη υδρόλυση του διφωσφορικού δεσμού σε ATP ή ένα παρόμοιο τριφωσφορικό [23].

2.4ΕΝΖΥΜΙΚΟΣ ΠΟΛΥΜΕΡΙΣΜΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΠΟΛΥΕΣΤΕΡΩΝ

Η σύνθεση αλειφατικών πολυεστέρων μέσω χημικής ή ενζυμικής κατάλυσης παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον και μελετάται επισταμένως, καθώς οι αλειφατικοί πολυεστέρες διαθέτουν την ιδιότητα να βιοαποικοδομούνται.

Γενικά τα πολυμερή συντίθενται μέσω χημικά καταλυόμενων αντιδράσεων πολυμερισμού με μία μεγάλη ποικιλία καταλυτών, όπως είναι οι οξικοί εστέρες μαγγανίου, ψευδαργύρου, ασβεστίου και μαγνησίου, τα οξείδια αντιμονίου και τιτανίου. Ωστόσο η χημική κατάλυση αλειφατικών πολυεστέρων παρουσιάζει τα εξής μειονεκτήματα [5]:

-Υψηλές θερμοκρασίες
-Χρήση βαρέων μετάλλων ως καταλύτες, που δεν απομακρύνονται από το τελικό πολυμερές
-Πιθανή θερμική καταπόνηση του προϊόντος
-Δεν επιτρέπεται η χρήση θερμοευαίσθητων μονομερών
-Μπορεί να επιταχυνθούν παράπλευρες αντιδράσεις
Από την άλλη πλευρά, η βιοκατάλυση αποτελεί μία αποτελεσματική και πολλά υποσχόμενη εναλλακτική της χημικής κατάλυσης του πολυμερισμού. Η καταλυτική δράση των ενζύμων κατά τον πολυμερισμό έγκειται στο ότι οι ενζυμικές αντιδράσεις είναι αντιστρεπτές, οπότε η χημική ισορροπία μπορεί να ελεγχθεί επιλέγοντας τις συνθήκες της αντίδρασης.

Οι υδρολάσες είναι ένζυμα που καταλύουν στη φύση την υδρόλυση δεσμών και μπορούν να χρησιμοποιηθούν αντίστροφα οδηγώντας στη σύνθεση πολυμερικών μορίων απουσία ύδατος. Χρησιμοποιώντας δηλαδή υδρολυτικά ένζυμα σε οργανικούς διαλύτες είναι δυνατό να ελεγχθεί η συγκέντρωση του νερού ή η απουσία του, εξασφαλίζοντας τη μετατόπιση της θερμοδυναμικής ισορροπίας προς τη συνθετική πλευρά έναντι της υδρολυτικής, με αποτέλεσμα τη σύνθεση εστέρων, πεπτιδίων, αμιδίων κτλ. Οι υδρολάσες είναι η κατηγορία των ενζύμων που έχει διερευνηθεί περισσότερο για την in vitro σύνθεση πολυμερών. Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται οι γλυκοσιδάσες, οι οποίες χρησιμοποιούνται στην υδρόλυση γλυκοζιτικών δεσμών, οι πρωτεάσες, οι οποίες καταλύουν την υδρόλυση πεπτιδικών δεσμών και σε ορισμένες περιπτώσεις την υδρόλυση εστερικών δεσμών και οι λιπάσες, οι οποίες χρησιμοποιούνται για την υδρόλυση εστέρων των λιπαρών οξέων στη φύση.

Ειδικότερα, οι λιπάσες είναι κατάλληλες και σε οργανικούς διαλύτες και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως καταλύτες, καθώς παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τη σύνθεση πολυμερών. Ειδικότερα μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε αντιδράσεις πολυσυμπύκνωσης, πολυμερισμούς ανοίγματος δακτυλίου και σε μετεστεροποιήσεις.
Τα περισσότερα παραδείγματα ενζυμικού πολυμερισμού στη διεθνή βιβλιογραφία εστιάζουν ιδιαίτερα στην εστεροποίηση καταλυόμενη από λιπάσες σε μη υδατικά μέσα, παρέχοντας μια φιλική προς το περιβάλλον μεθοδολογία για σύνθεση

πολυεστέρων, καθώς η αντίδραση πολυσυμπύκνωσης με χρήση ως καταλύτη κάποιας λιπάσης δεν περιλαμβάνει χρήση μετάλλων, μπορεί να πραγματοποιηθεί σε χαμηλές θερμοκρασίες και μπορεί να πραγματοποιηθεί υπό ελεγχόμενες συνθήκες, λόγω της εκλεκτικότητας του ενζύμου [6,7].

Πίνακας 2.1: Παραδείγματα μελετών ενζυμικού πολυμερισμού για την παραγωγή πολυεστέρων [6,7]

	Αντιδρώντα	**Ένζυμο**	**Συνθήκες Αντίδρασης**	**MB (g mol^{-1})**
Vouyiouka et al. 2012	Διοξέα μακράς αλυσίδας και οκτανοδιόλη	Novozyme 435 (10%wt)	75˚C, 48h	6000
Yang et al. 2010	Ακόρεστα διοξέα και διόλες	Novozyme 435 (10%wt)	90˚C, 48h	25000-57000
Li et al. 2008	Συμπολυμερές από μαλεϊκό οξύ, αδιπικό οξύ και οκτανοδιόλη	Novozyme 435 (10%wt)	70-90˚C	10000
Mahapatro et al. 2004	Αδιπικό οξύ και οκτανοδιόλη	Novozyme 435 (10%wt)	65-90˚C, 48h	25000
Mahapatro et al. 2003	Διάφορα διοξέα και διόλες	Novozyme 435 (10%wt)	70˚C, 3d	42400
Uyama et al. 2000	Διάφορα διοξέα και διόλες	Novozyme 435 (17%wt)	50-70˚C, 48h	14000
Chaudharry et al. 1997	Διβυνυλοεστέρας του αδιπικού οξέος και οκτανοδιόλη	Novozyme 435 (CALB 0,2-5%wt)		23200
Binns et al. 1998	Αδιπικό οξύ και βουτανοδιόλη	Novozyme 435	40,60˚C, 4-10h	2200
Linko et al. 1998	Σεβακικό οξύ, ισοφθαλικό οξύ και εξανοδιόλη	Novozyme 435 (8,1%)	70˚C, 7d	55000
Linko et al. 1995	Σεβακικό οξύ και εστέρες του, βουτανοδιόλη	Mucor miehei (36, 5%)	37˚C, 7d	42000

Ο ενζυμικός πολυμερισμός ακολουθεί το μοντέλο του σταδιακού πολυμερισμού. Κατά το σταδιακό πολυμερισμό μπορούν μονομερή με πολύ διαφορετικές δραστικές ομάδες να αντιδράσουν κατά διαφορετικό τρόπο μεταξύ τους. Πέραν από τις θερμοδυναμικές και κινητικές προϋποθέσεις που πρέπει να ικανοποιούνται για τη διεξαγωγή αυτών των αντιδράσεων σημασία έχει και ο οργανικο – χημικός μηχανισμός τους. Ο τελευταίος σε σχέση με τα αντιδρώντα συστατικά μπορεί να είναι φύσεως πολικής, ιοντικής, αλλά ακόμη και ριζικής (ελευθέρων ριζών). Οι αντιδράσεις σταδιακού πολυμερισμού διακρίνονται σε αντιδράσεις πολυσυμπυκνώσεως και πολυπροσθήκης, ανάλογα εάν η σύνθεση των δραστικών

ομάδων προς σχηματισμό του μακρομορίου γίνεται με (ή χωρίς) απόσπαση μιας μικρου μοριακού βάρους ενώσεως π.χ. νερού ή αλκοόλης.

Βασικές κατηγορίες προϊόντων πολυσυμπυκνώσεως με τεχνολογικό ενδιαφέρον είναι:

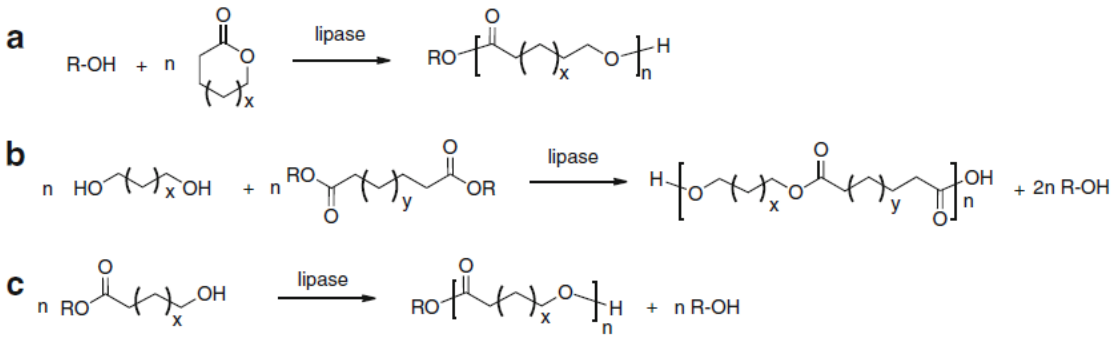
i. Ρητίνες φορμαλδεΰδης (κυρίως ρητίνες φαινόλης και ρητίνες ουρίας)
ii. Πολυαμίδια
iii. Πολυϊμίδια
iv. Πολυεστέρες (πολύ(τερεφθαλικό αιθυλένιο), ακόρεστοι πολυεστέρες, αλκυδικές ρητίνες, πολυανθρακικά)
v. Πολυσουλφίδια και λοιπά ανόργανα πολυμερή (πολυσιλοξάνες, πολυμερή φωσφόρου κλπ.) [11]

Ωστόσο, οι ενζυμικοί πολυμερισμοί δε θεωρούνται ακόμη τουλάχιστον αρκετά ανταγωνιστικοί σε σύγκριση με τους χημικά καταλυόμενους, εξαιτίας του κόστους των ενζύμων, της απαίτησης για υψηλούς χρόνους αντίδρασης και τις αυστηρές απαιτήσεις για συνεχή απομάκρυνση των παραγόμενων παραπροϊόντων.

Στο σχήμα 2.4 παρουσιάζονται οι 3 βασικοί τύποι αντιδράσεων ενζυμικού πολυμερισμού που οδηγούν στην παραγωγή πολυεστέρων και οι οποίοι είναι [8]:

- ο πολυμερισμός συμπύκνωσης
- ο συμπολυμερισμός
- ο πολυμερισμός διάνοιξης δακτυλίου.

Ένζυμα που έχουν χρησιμοποιηθεί για το σκοπό αυτό, όπως αναφέρονται στη βιβλιοφραφία είναι τα ακόλουθα: *Rhizomucor miehei, Candida rugosa, Aspergillus niger, Porcine pancreas, Pseudomonas sp.* και *Candida antarctica* [9].



Εικόνα 2.4: Μηχανισμοί ενζυμικού πολυμερισμού [10]

2.5 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΔΙΕΞΑΓΩΓΗΣ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΙΚΟΥ ΠΟΛΥΜΕΡΙΣΜΟΥ

2.5.1 ΠΟΛΥΜΕΡΙΣΜΟΣ ΜΑΖΑΣ

Ο πολυμερισμός μάζας είναι η απλούστερη τεχνική πολυμερισμού με ελάχιστο ποσοστό ακαθαρσιών στα προϊόντα. Στον αντιδραστήρα πολυμερισμού προστίθενται μόνο τα μονομερή και το ένζυμο, τα οποία μετασχηματίζονται σε πολυμερές. Ωστόσο, είναι η τεχνική που παρουσιάζει τις μεγαλύτερες δυσκολίες ως προς τον έλεγχο του ιξώδους και της θερμοκρασίας και για το λόγο αυτό εφαρμόζεται σε αντιδράσεις οι οποίες:

- Παρουσιάζουν χαμηλό θερμοτονισμό
- Παρουσιάζουν υψηλή μετατροπή ενώ το αντιδρών σύστημα έχει ακόμα χαμηλό ιξώδες
- Έχουν δυνατότητα για μορφοποίηση του αντιδρώντος μίγματος του πολυμερισμού σε τελικά προϊόντα.

2.5.2 ΠΟΛΥΜΕΡΙΣΜΟΣ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ

Ο πολυμερισμός διαλύματος δεν παρουσιάζει τις δυσκολίες της τεχνικής μάζας ως προς τον έλεγχο του ιξώδους και της θερμοκρασίας, ωστόσο είναι απαραίτητα η απομόνωση και ο καθαρισμός του τελικού πολυμερούς, καθώς και η ανάκτηση και η ανακύκλωση του διαλύτη. Στην τεχνική αυτή, το ή τα μονομερή διαλύονται σε κατάλληλο διαλύτη, όπου προστίθενται και όλα τα απαραίτητα μέσα για την αντίδραση (π.χ. ένζυμο). Το τελικό πολυμερές μπορεί να είναι διαλυτό ή αδιάλυτο στο διαλύτη. Με αυτό το κριτήριο της δημιουργίας ή όχι ετερογένειας μπορεί να διακριθεί σε:

i. Τυπικούς πολυμερισμούς διαλύματος (ομοιογενής πολυμερισμός)
ii. Πολυμερισμούς με καταβύθιση (ετερογενής πολυμερισμός)

Στους τυπικούς πολυμερισμούς διαλύματος, το πολυμερές είναι διαλυτό στο διαλύτη του μονομερούς, γεγονός που προσδίδει το πλεονέκτημα της ευκολότερης ανάδευσης μέχρι την πλήρη μετατροπή του μονομερούς και επομένως και τον ευκολότερο θερμοκρασιακό έλεγχο. Ωστόσο, το τελικό προϊόν είναι διάλυμα πολυμερούς και είναι απαραίτητη η απομόνωσή του από το διαλύτη, η οποία επιβαρύνει τα πάγια και λειτουργικά κόστη της αντίστοιχης βιομηχανίας.

Στους πολυμερισμούς με καταβύθιση, το πολυμερές είναι αδιάλυτο στο διαλύτη του μονομερούς και αποβάλλεται κατά τη διάρκεια του πολυμερισμού, διαχωρίζεται δηλαδή από το διαλύτη. Το τελικό προϊόν είναι διφασικό και μπορεί να είναι αιώρημα λεπτόκοκκου πολυμερούς σε διαλύτη ή συσσωματωμένη μάζα. Για να αποφευχθεί η

συσσωμάτωση, γίνεται πολυμερισμός διασποράς σε οργανική φάση: στο διαλύτη προστίθενται επιπλέον κατάλληλα μέσα διασποράς, τα οποία εμποδίζουν τη συσσωμάτωση του σχηματιζόμενου πολυμερούς. Τα παραγόμενα προϊόντα απευθύνονται κυρίως στη βιομηχανία επικαλυπτικών και είναι κατά κανόνα διασπορές σε οργανική φάση.

2.5.3 ΠΟΛΥΜΕΡΙΣΜΟΣ ΑΙΩΡΗΜΑΤΟΣ

Κατά την τεχνική αυτή ο πολυμερισμός διεξάγεται σε ένα διφασικό σύστημα υγρών, στο οποίο το μονομερές (οργανική φάση) φέρεται σε διάσπαρτη φάση με τη μορφή σταγονιδίων. Η φάση διασποράς δεν πρέπει να είναι διαλύτης ούτε του μονομερούς ούτε του πολυμερούς. Κατά κανόνα, η φάση διασποράς είναι το νερό (υδατική φάση) και καθίσταται το μέσο μεταφοράς θερμότητας, ενώ το ιξώδες του όλου συστήματος αλλάζει ελάχιστα με την πρόοδο της αντίδρασης. Το μέγεθος των αιωρούμενων σταγόνων είναι της τάξης 10 – 1000 μm σε διάμετρο και μπορούμε να θεωρήσουμε ότι πρόκειται για «μικροαντιδραστήρες», στο εσωτερικό των οποίων πραγματοποιείται κατά βάση πολυμερισμός μάζας. Για να αποφευχθεί η συσσωμάτωση των σταγόνων κατά τη διεργασία είναι απαραίτητη η χρήση μέσων αιωρηματοποίησης και η προσεκτική ανάδευση. Τα μέσα αιωρηματοποίησης μπορεί να είναι υδατοδιαλυτά οργανικά πολυμερή, π.χ. ζελατίνη, η κυτταρίνη, η πολυ(βινυλική αλκοόλη), ή ηλεκτρολύτες, ή μη υδατοδιαλυτά ανόργανα συστατικά όπως ο καολίνης και το πυριτικό μαγνήσιο. Στις περισσότερες περιπτώσεις, ο πολυμερισμός οδηγείται μέχρι υψηλές μετατροπές, οπότε παραλαμβάνεται το πολυμερές σε συμπαγείς κόκκους ή μικρά «μαργαριτάρια», ειδικότερα όταν το πολυμερές είναι άμορφο και κάτω του σημείου υαλώδους μεταπτώσεως. Ο πολυμερισμός αιωρήματος οδηγεί σε πορώδες πολυμερές, το οποίο είναι ιδανικό για την απορρόφηση πρόσθετων κατά διεργασίες ξηρής ανάμειξης.

2.6 ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟΝ ΕΝΖΥΜΙΚΟ ΠΟΛΥΜΕΡΙΣΜΟ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΑΛΕΙΦΑΤΙΚΩΝ ΠΟΛΥΕΣΤΕΡΩΝ

Οι παράμετροι του ενζυμικού πολυμερισμού που έχουν μελετηθεί είναι ο τύπος του ενζύμου, η συγκέντρωση του ενζύμου (συνήθως ορίζεται 1 % wt για το CALB), η θερμοκρασία της αντίδρασης και ο τύπος του διαλύτη.

2.6.1 ΤΥΠΟΣ ΕΝΖΥΜΟΥ

Τα ένζυμα που έχουν μελετηθεί και χρησιμοποιηθεί για τη σύνθεση πολυεστέρων απεικονίζονται στον Πίνακα 2.2.

Πίνακας 2.2: Προέλευση των λιπάσεων που χρησιμοποιούνται για την in vitro παρασκευή πολυεστέρων

Lipase Origin	**Abbreviation**
Candida cylindracea	Lipase CC
Pseudomonas fluorescens	Lipase PF
Porcine pancreas lipase	PPL
Aspergillus niger	Lipase A
Candida rugosa	Lipase CR
Penicillium roqueforti	Lipase PR
Pseudomonas cepasia	Lipase PC
Rhizopus japonicus	Lipase RJ
Rhijomucor meihei	Lipase RM
Mucor meihei	Lipase MM
Candida antarctica	Lipase CA
Candida antarctica lipase B	CALB (Novozyme 435)*
Yarrowia lipolytica	Lipase YL

*η CALB ακινητοποιημένη σε ακρυλική βάση έχει εμπορική ονομασία σαν Novozyme 435

Οι Okumura et al. μελέτησαν τη λιπάση *Asperigillus niger* η οποία καταλύει εστεροποίηση μέσω πολυσυμπύκνωσης διολών και δικαρβοξυλικών οξέων. Αποτέλεσμα της έρευνας αυτής ήταν μόνο η παραγωγή κάποιων ολιγομερών [5].

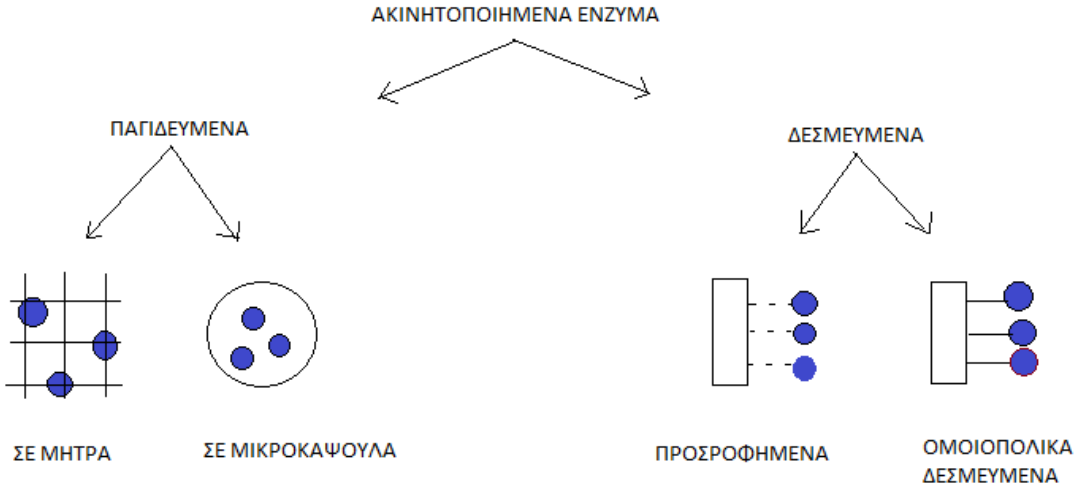
Οι Liu et al. χρησιμοποίησαν την *Candida* sp.99-125 σε περιεκτικότητα 30% wt. ως προς τα μονομερή με αποτέλεσμα την επίτευξη ενός ΜΒ>10000 [9].

Οι Sugihara et al. [13] καθώς επίσης και οι Ragupathy et al. [14], Juais et al. [15], Kobayashi et al. [16] βασίστηκαν στη λιπάση *Candida antarctica* Lipase B ενσωματωμένη σε μακροπορώδη ρητίνη (Novozyme 435, N435), η οποία και εξασφάλισε αυξημένο ΜΒ περισσότερο από κάθε άλλη χρησιμοποιούμενη λιπάση (M_w ~ 77000 g/mol) [16].

Οι έρευνες στρέφονται στη χρήση ακινητοποιημένων ενζύμων. Ακινητοποιημένο ονομάζεται ένα ένζυμο του οποίου η ελεύθερη κίνηση στον χώρο είτε έχει αποτραπεί εντελώς είτε έχει περιοριστεί. Το αποτέλεσμα της ακινητοποίησης είναι φυσικά μία μορφή αδιάλυτη σε υδατικά διαλύματα. Η ακινητοποίηση των ενζύμων γίνεται για τέσσερις βασικούς λόγους. Ο πρώτος και κυριότερος είναι ότι διευκολύνει την ανακύκλωση του ενζύμου χωρίς την ανάγκη διαχωρισμού από το διάλυμα της αντίδρασης. Ο δεύτερος είναι ότι χρησιμεύει στο βιοχημικό σαν πρότυπο για ένζυμα που στη φυσική τους μορφή βρίσκονται προσκολλημένα σε μεμβράνες. Ο τρίτος λόγος είναι ότι σε ορισμένες περιπτώσεις η ευστάθεια και η ενεργότητα του ενζύμου

επαυξάνεται με την ακινητοποίηση. Τέλος, ο τέταρτος λόγος είναι ότι με την ακινητοποίηση του ενζύμου διευκολύνεται και ο διαχωρισμός του προϊόντος.

Ένα σύστημα ακινητοποιημένου ενζύμου ορίζεται από το ένζυμο, το υλικό στήριξης και τον τρόπο που αυτά συνδέονται μεταξύ τους. Το υλικό στήριξης εν γένει πρέπει να έχει μεγάλη ειδική επιφάνεια, διαπερατότητα, υδρόφιλο χαρακτήρα, αδιαλυτότητα, χημική, μηχανική και θερμική ευστάθεια, κατάλληλο σχήμα και μέγεθος σωματιδίων, αντίσταση σε μικροβιακές επιθέσεις και δυνατότητα αναγέννησης [12].



Εικόνα 2.5: Μέθοδοι Ακινητοποίησης

2.6.2 ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ

Γενικά με αύξηση της συγκέντρωσης του ενζύμου αυξάνεται η μετατροπή της αντίδρασης μέχρι μία οριακή τιμή συγκέντρωσης. Σε πολλά σημεία της βιβλιογραφίας πολλές ερευνητικές ομάδες χρησιμοποιούν το N435 σε ποσότητα ίση με το 10 % επί της συνολικής μάζας των μονομερών (το 10 % αντιστοιχεί σε 1 % του ενζύμου χωρίς το υπόστρωμα πάνω στο οποίο ακινητοποιείται). Οι Lassalle και Ferreira [17] κατά τη μελέτη της καταλυτικής σύνθεσης του PLA συμπέραναν πως υπάρχει μία σχεδόν γραμμική σχέση ανάμεσα στη μετατροπή της αντίδρασης και τη συγκέντρωση του βιοκαταλύτη, ενώ ισχύει το αντίθετο όσον αφορά το μοριακό βάρος του προκύπτοντος πολυμερούς.

Συμπληρωματικά η έρευνα που διεξήχθει από τους Chaudhary et al. [18] όσον αφορά τον ενζυμικό πολυμερισμό προς παραγωγή πολυεστέρων οδήγησε στα εξής συμπεράσματα: η αύξηση της συγκέντρωσης του ενζύμου οδηγεί σε πιο ταχεία σύνθεση πολυεστέρων με υψηλό μοριακό βάρος σε μικρότερους χρόνους. Ωστόσο, οι πολυστέρες που συντέθηκαν σε σύστημα όπου ο λόγος ήταν μεγάλος παρουσιάζουν υψηλότερο όξινο περιεχόμενο (καρβοξυλομάδες) από αυτούς που συντέθηκαν σε σύστημα με χαμηλότερο τον αντίστοιχο λόγο.

Από την άλλη οι Mahapatro et al. [19] κατά την αντίδραση μεταξύ αδιπικού οξέος και οκτανοδιόλης στους 70oC, απουσία διαλύτη, με καταλύτη τη λιπάση *Candida antartica* Lipase B (CALB), για χρόνο αντίδρασης 24 και 48 ώρες, συμπέραναν πως μείωση της συγκέντρωσης του καταλύτη οδήγησε σε χαμηλότερου μοριακού βάρους πολυεστέρες. Στις 48 ώρες, για συγκεντρώσεις 10, 1, 0,5, και 0,1 wt % τα μοριακά βάρη προέκυψαν 22600, 19570, 9870 και 5480 g/mol αντίστοιχα. Γίνεται φανερό πως η μείωση της συγκέντρωσης από 10 σε 1 wt % δεν προκάλεσε δραματική μείωση του μοριακού βάρους [20].

2.6.3 ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΤΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ

Η θερμοκρασία μπορεί να επηρεάσει την αντίδραση πολυμερισμού ποικιλοτρόπως. Με αύξηση της θερμοκρασίας το ιξώδες του αντιδρώντος συστήματος μειώνεται με αποτέλεσμα να καθίσταται ευκολότερη η διάχυση των αντιδρώντων στο ενεργό κέντρο του ενζύμου. Συνεπώς αυξάνεται ο ρυθμός διάχυσης των μονομερών με αύξηση της θερμοκρασίας. Ωστόσο, σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες η λιπάση που είναι πρωτεϊνικής φύσης μπορεί να μετουσιωθεί (denaturated) και να χάσει μερικώς ή ολοσχερώς την ενεργότητα της ως καταλύτης [20].

Οι Liu et al. μελέτησαν τον ενζυμικό πολυμερισμό μεταξύ ηλεκτρικός δι-αιθυλεστέρας και 1,4-βουτανοδιόλη χρησιμοποιώντας το ένζυμο *Candida sp*. 99-125 σε αναλογία 30% ως προς τα μονομερή. Οι θερμοκρασίες που ερευνήθηκαν ήταν οι 50-60-65-70-75-80˚C. Παρατηρήθηκε ότι στους 50 ˚C δημιουργήθηκαν κάποια ολιγομερή ενώ ως βέλτιστη χαρακτηρίστηκε η θερμοκρασία των 70 ˚C. Το MB αυξανόταν με αύξηση της θερμοκρασίας. Στους 75 ˚C και μετέπειτα στους 80 ˚C δεν σχηματίστηκε τίποτα καθώς το ένζυμο απενεργοποιήθηκε [9].

2.7ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 2ΟΥ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ

1. http://www.livepedia.gr/index.php/%CE%92%CE%B9%CE%BF%CE%BA%CE%B1%CF%84%CE%AC%CE%BB%CF%85%CF%83%CE%B7
2. Kobayashi S, Uyama H. Enzymatic polymerization. Encyclopedia of Polymer Science and Technology, 2011
3. Βουγιούκα Σ, Μηχανική Πολυμερών, Εκδόσεις ΕΜΠ, Αθήνα, 2012, σελ. 88-104
4. http://books.eudoxus.gr/publishers/CID_821/cid_00821-0398-ABS.pdf
5. Yu Y, Wu D, Liu C, Zhao Z, Yang Y, Li Q. Lipase/esterase-catalyzed synthesis of aliphatic polyesters via polycondensation: A review. Process Biochemistry, 2012
6. Gross R, Ganesh M, Lu W. Enzyme-catalysis breathes new life into polyester condensation polymerizations. Trends in Biotechnology, 2010
7. Kobayahsi S. Recent Developments in Lipase-Catalyzed Synthesis of Polyesters. Macromolecular Rapid Communications, 2009
8. Gross R, Kumar A, Kalra B. Polymer Synthesis by In Vitro Enzyme Catalysis. Chemical Reviews, 2001
9. Lui W, Chen B, Wang F, Tan T, Deng L. Lipase-catalyzed synthesis of aliphatic polyesters and properties chatacterization. Process Biochemistry, 2011
10. Martijn A.J. Veld and Anja R.A. Palmans, Hydrolases Part I: Enzyme Mechanism, Selectivity and Control in the Synthesis of Well-Defined Polymers, 2010
11. Σιμιτζής Ι. , Πολυμερή, Εκδόσεις ΕΜΠ, Αθήνα 1994, σελ.140-141
12. Λυμπεράτος Γ, Παύλου Σ, Εισαγωγή στη Βιοχημική Μηχανική, Εκδόσεις Τζιόλα, Θεσσαλονίκη 2011, σελ.127-128
13. Asato Kondo, Satoko Sugihara, Maiko Kuwahara, Kazunobu Toshima, Shuichi Matsumura, Lipase-Catalyzed Ring-Opening Polymerization of Molecularly Pure Cyclic Oligomers for Use in Synthesis and Chemical Recycling of Aliphatic Polyesters, 2008
14. Lakshminarayanan Ragupathy, Ulrich Ziener, Rainer Dyllick-Brenzinger, Bernhard von Vacano, Katharina Landfester, Enzyme-catalyzed polymerizations at higher temperatures: Synthetic methods to produce polyamides and new poly(amide-co-ester)s, 2012
15. Danielle Juais, Alliny F. Naves, Chong Li, Richard A. Gross, and Luiz H. Catalani, Isosorbide Polyesters from Enzymatic Catalysis, 2010
16. Shiro Kobayashi, Lipase-catalyzed polyester synthesis { A green polymer chemistry, 2010
17. Lassalle V L, Ferreira M L. Lipase-catalyzed synthesis of polylactic acid: an overview of the experimental aspects. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 2008
18. Chaudharry AK, Lopez J, Beckman EJ, Russel AJ, Biocatalytic Solvent-Free Polymerization To Produce Molecular Weight Polyesters, Biotechnology Progress, 1997
19. Mahapatro A, Kumar A, Kalra B, Gross R. Solvent-Free Adipic Acid/1,8-Octanediol Condensation polymerizations Catalyzed by *Candida Antarctica* Lipase B. Macromolecules, 2004
20. Κανελλή Μαρία, Ενζυμική Σύνθεση Αλιφατικών Πολυεστέρων, Αθήνα 2012

21. Yao D, Li G, Kuila T, Li P, Kim NH, Kim SI, Lee JH. Lipase-Catalyzed Synthesis and Characterization of Biodegradable Polyester Containing L-Malic Acid Unit in Solvent System. Journal of Applied Polymer Science, 2011
22. Yang Y, Lu W, Zhang X, Xie W, Cai M, Gross R. Two-Step Biocatalytic Route to Biobased Functional Polyesters from ω-Carboxy Fatty Acids and Diols. Biomacromolecules, 2010
23. M. Geus, Enzymatic Catalysis in the Synthesis of New Polymer Architectures and Materials, 2007

3. ΘΕΡΜΟΒΑΡΥΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ - TGA

3.1ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι όροι Θερμοβαρυμετρία (Thermogravimetry, TG) και Θερμοβαρυμετρική Ανάλυση (Thermogravimetric Analysis, TGA) είναι συνώνυμοι. Αυτό συμβαίνει λόγω της πρώιμης χρήσης και δημοτικότητας του όρου TGA, καθώς και για την αποφυγή της λεκτικής σύγχυσης με την θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης (Tg).

Η Θερμοστατική Ανάλυση περιλαμβάνει τη συνεχή καταγραφή της μάζας συναρτήσει της θερμοκρασίας ή του χρόνου καθώς ένα δείγμα θερμαίνεται σε έναν κλίβανο κάτω από ελεγχόμενο περιβάλλον. Το δείγμα μπορεί να θερμαίνεται με σταθερό ρυθμό ή να διατηρείται σε σταθερή θερμοκρασία [1].

Η θερμοσταθμική ανάλυση χρησιμοποιείται κυρίως για τη μελέτη της θερμικής διάσπασης και της θερμικής σταθερότητας υλικών, όταν αυτά θερμαίνονται κάτω από διάφορες συνθήκες. Επίσης, χρησιμοποιείται για τη μελέτη της κινητικής των φυσικοχημικών δράσεων, που εμφανίζονται κατά τη θερμική καταπόνηση ενός δείγματος.

Κατά την TG ανάλυση το υπό εξέταση δείγμα θερμαίνεται σε ελεγχόμενες συνθήκες (περιβάλλον αερίου, ρυθμός αύξησης θερμοκρασίας, τελική θερμοκρασία και λοιπά) και καταγράφεται συνεχώς το βάρος του, η θερμοκρασία και ο χρόνος. Από τα αποτελέσματα είναι δυνατό να εξαχθούν συμπεράσματα σχετικά με τη θερμοκρασία που πραγματοποιήθηκε μια αντίδραση (για δυναμική καταπόνηση), το χρόνο που πραγματοποιήθηκε μια αντίδραση (για ισοθερμοκρασιακή καταπόνηση), την κινητική των αντιδράσεων διάσπασης και τις ποσότητες των σωμάτων που αντέδρασαν. Από τις δύο προαναφερθείσες παρατηρήσεις είναι δυνατόν να εξαχθούν ποιοτικά κυρίως συμπεράσματα, ενώ από τις τελευταίες μπορούν να γίνουν ποσοτικοί υπολογισμοί.

3.2ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΟΡΓΑΝΟΥ TGA

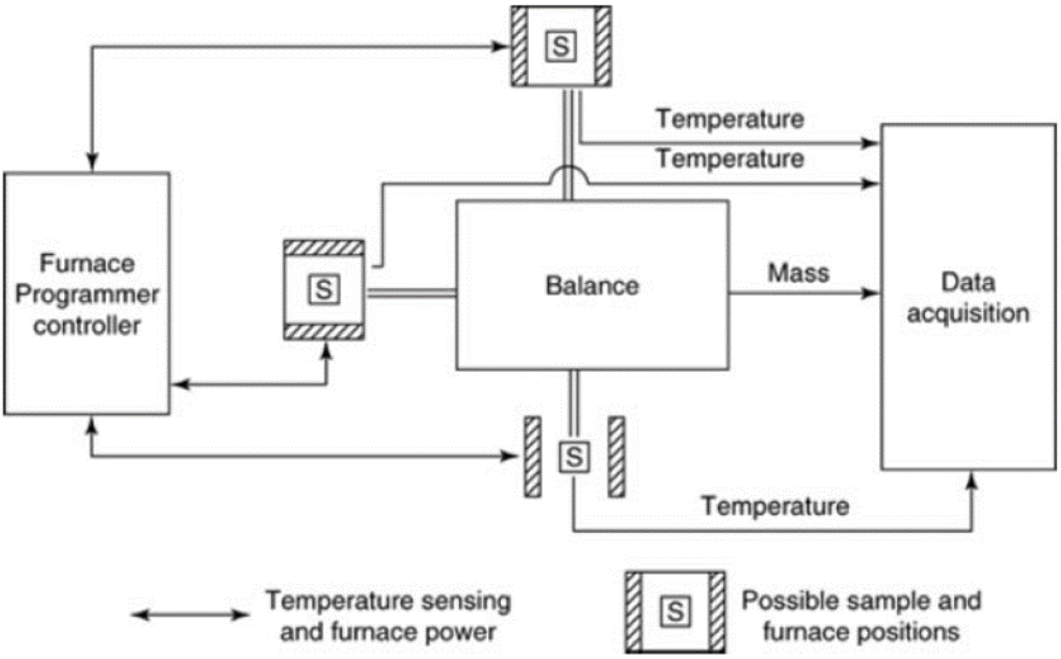
Τα κύρια μέρη ενός σύγχρονου TG αναλυτή είναι ο ζυγός, ο φούρνος και το σύστημα ελέγχου των λειτουργικών παραμέτρων επεξεργασίας δεδομένων (data handling). Τα συμπεράσματα από τις TG αναλύσεις βασίζονται στη μελέτη των TG θερμογραφημάτων. Στα γραφήματα αυτά απεικονίζεται η μεταβολή βάρους του δείγματος σε συνάρτηση με τη θερμοκρασία του δείγματος ή το χρόνο ανάλυσής του. Ένα σημαντικό εργαλείο για την ερμηνεία των TG γραφημάτων είναι η πρώτη παράγωγος της καμπύλης βάρους του θερμοζυγού DTG. Η φυσική σημασία της πρώτης παραγώγου, είναι ο ρυθμός μεταβολής βάρους ενός δείγματος κατά τη θέρμανσή του. Η καμπύλη αυτή βοηθά σημαντικά την ερμηνεία των καμπυλών TG,

λύνοντας προβλήματα υπερκαλυπτόμενων θερμικών αντιδράσεων. Από τη μελέτη των γραφημάτων προκύπτουν βασικές πληροφορίες σχετικά με τη θερμική συμπεριφορά ενός υλικού. Τέτοιες πληροφορίες είναι η θερμοκρασία έναρξης, λήξης και μέγιστου ρυθμού μεταβολής βάρους. Για τον υπολογισμό των θερμοκρασιών έναρξης και λήξης της αντίδρασης που προκαλεί τη μεταβολή βάρους, ακολουθείται μια ειδική διαδικασία που περιγράφεται κατά ASTM ως εξής:

1. Προσδιορίζεται το σημείο μέγιστου ρυθμού της αντίδρασης από την DTG καμπύλη.
2. Χαράσσεται εφαπτόμενη γραμμή στην καμπύλη βάρους σε σημείο πριν την έναρξη της αντίδρασης.
3. Χαράσσεται η εφαπτόμενη γραμμή στη καμπύλη βάρους σε σημείο μετά το πέρας της αντίδρασης.
4. Χαράσσεται εφαπτόμενη γραμμή στην καμπύλη βάρους στο σημείο μέγιστου ρυθμού.

Η τομή των εφαπτόμενων γραμμών από τα βήματα 2 και 4 ορίζουν το σημείο έναρξης της αντίδρασης, και η τομή των εφαπτόμενων γραμμών από τα βήματα 3 και 4 ορίζουν το πέρας της αντίδρασης.

Η απώλεια βάρους που συνοδεύει ένα στάδιο μεταβολής βάρους. Η μέθοδος υπολογισμού της απώλειας βάρους περιγράφεται στις αντίστοιχες ASTM και ISO προδιαγραφές. Για τον υπολογισμό πρέπει να βρεθούν το σημείο έναρξης, λήξης και μέγιστου ρυθμού αντίδρασης όπως παραπάνω. Η απώλεια ή η αύξηση βάρους υπολογίζεται με αφαίρεση του βάρους του δείγματος, που αντιστοιχεί στο σημείο έναρξης, από το βάρος που αντιστοιχεί στο σημείο λήξης της αντίδρασης. Με βάση την απώλεια βάρους γίνεται η ποσοτική ανάλυση στη μέθοδο TG [2].



Εικόνα 3.1: Τυπική διάταξη ενός οργάνου TGA[1]

3.3ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗ ΘΕΡΜΟΒΑΡΥΜΕΤΡΙΑ

Η μάζα και η θερμοκρασία είναι οι δύο σημαντικότεροι παραμέτροι που πρέπει να προσδιορίζονται με ακρίβεια για τον ορθό χαρακτηρισμό ενός υλικού με τη μέθοδο TGA. Ο παρακάτω Πίνακας δείχνει όλους τους παράγοντες που πρέπει να ληφθούν υπόψη για τον ακριβή προσδιορισμό είτε της μάζας (αριστερή πλευρά) είτε της θερμοκρασίας (δεξιά πλευρά). Εντούτοις, είναι ευκολότερο να ασχοληθούμε με διορθώσεις για τη μάζα απ' ότι για τη θερμοκρασία. Παρακάτω συνοψίζονται οι εξής παράγοντες.

Πίνακας 3.1: Κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν τη Θερμοβαρυμετρία [1]

Μάζα	Θερμοκρασία
Άνωση	Ρυθμός Θέρμανσης
Ατμοσφαιρικές Αναταράξεις	Θερμική Αγωγιμότητα
Συμπύκνωση και Αντίδραση	Ενθαλπία της διαδικασίας
Ηλεκτροστατικές και Μαγνητικές Δυνάμεις	Δείγμα, Κλίβανος και διάταξη αισθητήρων

3.3.1 ΚΡΙΣΙΜΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

3.3.1.1 ΜΑΖΑ

Οι παράγοντες που μπορεί να επηρεάσουν τον προσδιορισμό της μάζας είναι η άνωση, οι ατμοσφαιρικές αναταράξεις, η συμπύκνωση και η αντίδραση και οι ηλεκτροστατικές και μαγνητικές δυνάμεις.

- Διορθώσεις ως προς την άνωση προκύπτουν επειδή το δείγμα βρίσκεται ολοένα και σε ελαφρύτερο αέριο περιβάλλον καθώς η θερμοκρασία του περιβάλλοντος αυξάνεται. Για το λόγο αυτό το δείγμα φαίνεται βαρύτερο. Η διόρθωση για αυτή τη συνέπεια είναι ελάχιστη και, αν δεν είναι αναγκαία για την ακρίβεια της μελέτης, μπορεί να αγνοηθεί. Εάν όμως χρειάζεται, υπάρχουν προτεινόμενες εφαρμογές – ρυθμίσεις - που θα αναλάβουν τη διόρθωση αυτή.

- Οι ατμοσφαιρικές αναταράξεις εξαρτώνται από το συγκεκριμένο αέριο που ρέει μέσα στο όργανο, το ρυθμό ροής αυτού καθώς και την πίεση του.

- Τα πτητικά προϊόντα που προκύπτουν απ’ την αντίδραση είναι πιθανό να συμπυκνωθούν στα ψυχρότερα μέρη του δείγματος, αλλάζοντας έτσι τη μετρούμενη απώλεια μάζας. Η κατεύθυνση της ροής των αερίων που παράγονται πρέπει να ελέγχεται και να ρυθμίζεται ώστε να προστατεύει τα ευάλωτα τμήματα του μηχανισμού διατήρησης της ισορροπίας, του αισθητήρα της θερμοκρασίας και των περιελίξεων του φούρνου, από την «επίθεση» χημικών ουσιών. Στην περίπτωση που το TGA μολυνθεί από προϊόντα αποσύνθεσης σε υψηλή θερμοκρασία, είναι πιθανό να επηρεαστεί η ακρίβεια της ανάλυσης σε μετέπειτα πειράματα. Η αποφυγή αυτού έγκειται στη θέρμανση του συστήματος στους 600˚C και σε οξειδωτική ατμόσφαιρα. Με τον τρόπο αυτό θα εξαλειφθούν τα περισσότερα οργανικά προϊόντα συμπύκνωσης.

- Η καταλυτική αντίδραση του δείγματος μέσα στο καψίδιο με το περιβάλλον μπορεί επίσης να επηρεάσει το περιβάλλον. Υπάρχει δυνατότητα αντίδρασης υλικών όπως αλκαλίων και αλκαλικών γαιών με τα κεραμικά ή μεταλλικά τμήματα του καψιδίου.

- Η μορφή και η συσκευασία του δείγματος είναι ένας άλλος παράγοντας που μπορεί να καθορίσει το βαθμό επαφής του με το αέριο περιβάλλον και το ρυθμό διαφυγής των πτητικών προϊόντων.

- Η χαμηλή υγρασία του περιβάλλοντα χώρου και των αερίων καθαρισμού μπορεί να δημιουργήσει ηλεκτροστατικές δυνάμεις που μπορούν να προκαλέσουν την έλξη του καψιδίου στο πλησιέστερο τοίχωμα, διαταράσσοντας έτσι τη μάζα του συστήματος [1].

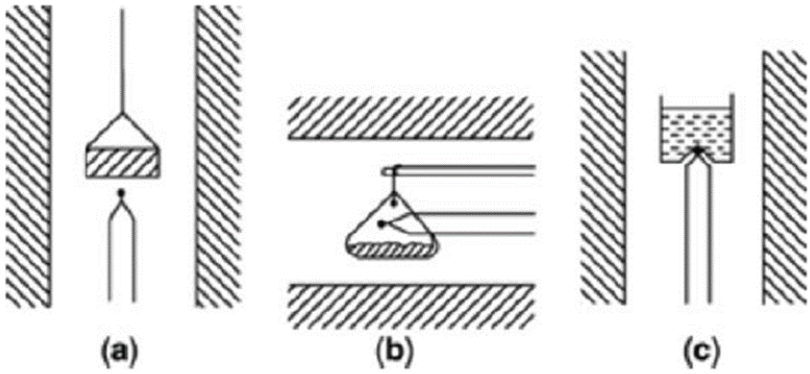
3.3.1.2 ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, ο ακριβής έλεγχος της θερμοκρασίας είναι μεγαλύτερο πρόβλημα στο TGA απ' ότι η ακριβής ζύγιση της μάζας. Αναφερόμενοι πάλι στους τέσσερις παράγοντες που επηρεάζουν την ακριβή μέτρηση της θερμοκρασίας, όπως απαριθμούνται στον παραπάνω πίνακα:

- Η γεωμετρική τοποθέτηση του αισθητήρα, του δείγματος και του κλιβάνου είναι ιδιαίτερα σημαντική. Το δείγμα θα πρέπει να είναι όσο δυνατόν πιο κοντά στο θερμοστοιχείο, προκειμένου να ανιχνεύει με ακρίβεια τη θερμοκρασία του δείγματος χωρίς όμως να επηρεάζει τη μέτρηση του βάρους. Επίσης, ο αποτελεσματικός έλεγχος του προγραμματισμένου ρυθμού θέρμανσης ή ψύξης δεν θα πρέπει να επηρεάζεται από οποιαδήποτε εξωθερμική ή ενδοθερμική αντίδραση λαμβάνει χώρα εντός του οργάνου.

- Τα προϊόντα διάσπασης που παράγονται μπορεί να έχουν διαβρωτική επίδραση στο θερμοστοιχείο και στα μέρη του ζυγού. Τα πτητικά αυτά στοιχεία, δεν πρέπει να έρχονται σε επαφή με τα διάφορα μέρη του συστήματος.

- Οι πιο πιθανές τοποθετήσεις δείγματος και θερμοστοιχείου δίνονται στην παρακάτω εικόνα (Εικ. 3.2). Οι τοποθετήσεις αυτές, υπογραμμίζουν τις αντιφάσεις στις παραπάνω απαιτήσεις και στην αβεβαιότητα της μέτρησης της πραγματικής θερμοκρασίας του δείγματος. Πολύ συχνά, οι θερμικές αντιδράσεις που προκαλούνται από υψηλά εξώθερμες διαδικασίες (π.χ. οξειδωτική αποσύνθεση των πολυμερών) δίνουν αναδιπλούμενες καμπύλες (% απώλεια μάζας συναρτήσει της θερμοκρασίας) όπου η θερμοκρασία αυξάνεται και στη συνέχεια μειώνεται καθώς η θερμότητα απελευθερώνεται. Χρησιμοποιώντας ατμόσφαιρα με υψηλή θερμική αγωγιμότητα (π.χ. ήλιο) μειώνεται ο χρόνος απόκρισης για τον έλεγχο της θερμοκρασίας και επιτρέπεται η καλύτερη διάχυση της θερμότητας ή η απορρόφηση από το δείγμα, χωρίς όμως να αντιμετωπίζει πλήρως το πρόβλημα. Επίσης, σε υψηλό ρυθμό ροής, η υψηλή θερμική αγωγιμότητα του αερίου θα αυξήσει την απώλεια θερμότητας από τον κλίβανο προκαλώντας έτσι μια αύξηση της ισχύς που είναι απαραίτητα για τη διατήρηση της θερμοκρασίας [1].



Εικόνα 3.2: Πιθανές τοποθετήσεις θερμοστοιχείου και δείγματος στο TGA [1]

3.3.2 ΑΛΛΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΛΗΦΘΟΥΝ ΥΠΟΨΙΝ ΚΑΤΑ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ TGA [3]

3.3.2.1 Η ΙΣΟΡΡΟΠΙΑ

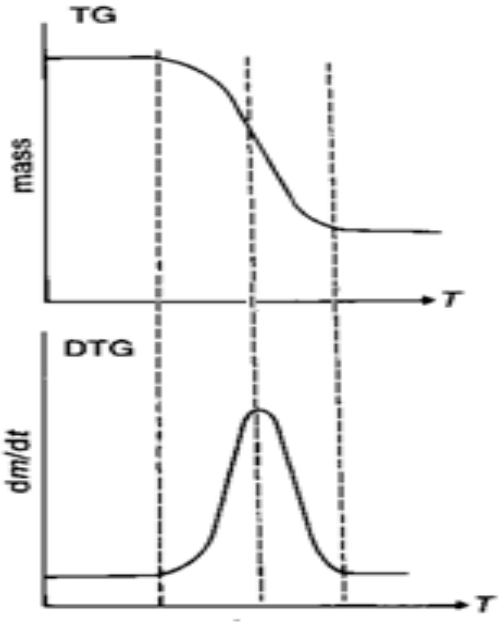
Διάφοροι τύποι μηχανισμού ισορροπίας είναι δυνατοί. Αυτοί περιλαμβάνουν δοκό, την ελατήριο, πρόβολο και συστροφή. Μερικοί λειτουργούν μετρώντας την παραμόρφωση, ενώ άλλες λειτουργούν σε κατάσταση μηδενική. Μηδενικό σημείο σε μηχανισμούς ζύγισης TG σημαίνει η εξασφάλιση της θέσεως του δείγματος στην ίδια ζώνη του κλιβάνου, ανεξάρτητα από τις αλλαγές στη μάζα.

Διάφοροι αισθητήρες χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση αποκλίσεων της δοκού ισορροπίας από τη μηδενική θέση. Κάποιοι από αυτούς χρησιμοποιούν την ηλεκτρονική οπτική συσκευή με ένα κλείστρο που επισυνάπτεται στη δοκό ισορροπίας. Το κλείστρο φράζει εν μέρει το μονοπάτι φωτός ανάμεσα σε ένα λαμπτήρα και ένα φωτοκύτταρο. Η κίνηση της δέσμης μεταβάλλει την ένταση του φωτός πάνω στο φωτοκύτταρο και η ενισχυμένη ένταση κατά την έξοδο από το φωτοκύτταρο χρησιμοποιείται για να αποκατασταθεί η ισορροπία στο μηδενικό σημείο και, συγχρόνως, είναι ένα μέτρο της αλλαγής μάζας. Ο μηχανισμός αποκατάστασης είναι ηλεκτρομαγνητική. Η δέσμη έχει ένα εναιώρημα κορδέλα και ένα μικρό πηνίο στο υπομόχλιο, που βρίσκεται μέσα στο πεδίο ενός μόνιμου μαγνήτη.

Το σήμα εξόδου μπορεί να διαφοροποιείται ηλεκτρονικά για να δώσει την παράγωγο της θερμοσταθμική (DTG) καμπύλης η οποία και αντιπροσωπεύει το ποσοστό μεταβολής της μάζας.

$$DTG = dm / dt$$

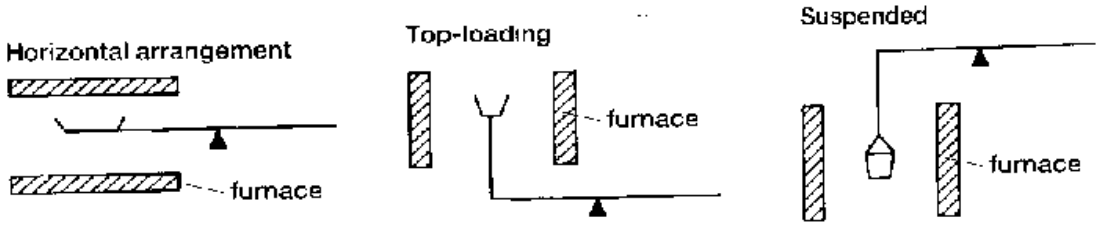
Όταν η καμπύλη TG είναι σταθερή η καμπύλη DTG τοποθετείται στην γραμμή μηδέν. Η μέγιστη κορυφή θερμοκρασία αντιστοιχεί στο σημείο καμπής της καμπύλης TG.



Εικόνα 3.3: TG καμπύλη καθώς και αυτή της παραγώγου της DTG [3]

3.3.2.2 Η ΘΕΡΜΑΝΣΗ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Στις περισσότερες συμβατικές θερμοβαρυμετρίες, υπάρχουν τρεις βασικές παραλλαγές στη θέση του δείγματος σε σχέση με αυτή του κλιβάνου, όπως απεικονίζονται στην Εικ.3.4. Ο φούρνος είναι κανονικά ένας ηλεκτρικός θερμαντήρας αντίστασης και μπορεί επίσης, όπως φαίνεται και στην Εικ.3.4, να είναι εντός του περιβλήματος ισορροπίας, μέρος του περιβλήματος, ή εξωτερικά από το περίβλημα. Θα πρέπει να υπάρχει ενιαία θερμή ζώνη για τέτοιο λογικό χρονικό διάστημα που δεν θα επηρεάζει το μηχανισμό ισορροπίας μέσω ακτινοβολίας ή συναγωγής. Η μεταφορά θερμότητας στο μηχανισμό ισορροπίας θα πρέπει να ελαχιστοποιηθεί με χρήση ασπίδων ακτινοβολίας και διαφραγμάτων συναγωγής. Η θέρμανση με ακτινοβολία γίνεται σημαντική μόνο σε υψηλές θερμοκρασίες, όπου χρησιμοποιούνται άλλα εναλλακτικά συστήματα θέρμανσης, όπως υπέρυθρες ακτίνες ή ακτινοβολία μικροκυμάτων. Για υπέρυθρη θέρμανση το φως από διάφορες λάμπες αλογόνου εστιάζεται επί του δείγματος με τη βοήθεια ελλειπτικών ή παραβολικών ανακλαστήρων.



Εικόνα 3.4: Εναλλακτικές ρυθμίσεις του φούρνου [3]

3.3.2.3 Η ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑ

Οι θερμοβαρυμετρίες λαμβάνουν χώρα συνήθως σε γυάλινα ή κεραμικά συστήματα, για να καταστεί δυνατή η λειτουργία σε ένα εύρος πίεσης που κυμαίνεται από υψηλό κενό (<10-4 Pa) έως υψηλή πίεση (> 3000 kPa), αδρανή, οξειδωτικά και διαβρωτικά αέρια. Θα πρέπει να γίνεται μια διόρθωση ως προς την άνωση που προκύπτει από την έλλειψη συμμετρίας ΔV στο σύστημα ζύγισης. Η μάζα των εκτοπισμένων αερίων είναι m = PMΔV / RT (όπου P είναι η πίεση και M η γραμμομοριακή κατ' όγκο μάζα). Η άνωση εξαρτάται συνεπώς όχι μόνο το ΔV, αλλά επίσης και από την πίεση, τη θερμοκρασία και τη φύση του αερίου. Προσπάθειες μπορούν να γίνουν είτε για να μειωθεί το ΔV, είτε για να εφαρμόζεται μια διόρθωση μέσω θέρμανσης ενός αδρανούς δείγματος κάτω από παρόμοιες συνθήκες με εκείνες που πρόκειται να χρησιμοποιηθούν στη μελέτη του δείγματος που μας ενδιαφέρει.

Υπό ατμοσφαιρική πίεση, η ατμόσφαιρα μπορεί να είναι στατική ή ακόμα και να ρέει.

Μία ατμόσφαιρα που ρέει έχει τα πλεονεκτήματα ότι:

i. Μειώνει την συμπύκνωση των προϊόντων αντίδρασης σε ψυχρότερα τμήματα του μηχανισμού ζύγισης
ii. Αφαιρεί τα διαβρωτικά προϊόντα
iii. Εμποδίζει δευτερεύουσες αντιδράσεις
iv. Δρα ως ψυκτικό για τον μηχανισμό ισορροπίας.

Ο μηχανισμός ισορροπίας θα πρέπει, ωστόσο, να μην διαταράσσεται από τη ροή του αερίου.

Η ατμόσφαιρα επηρεάζεται επίσης και από το επίπεδο θορύβου των TG ιχνών. Η χρήση πυκνών αερίων ως φορείς υψηλών πιέσεων σε θερμές ζώνες με μεγάλες βαθμίδες θερμοκρασίας δίνει τον περισσότερο θόρυβο. Ο θόρυβος αυτός μπορεί να μειωθεί με την εισαγωγή ενός αερίου χαμηλής πυκνότητας, όπως το ήλιο.

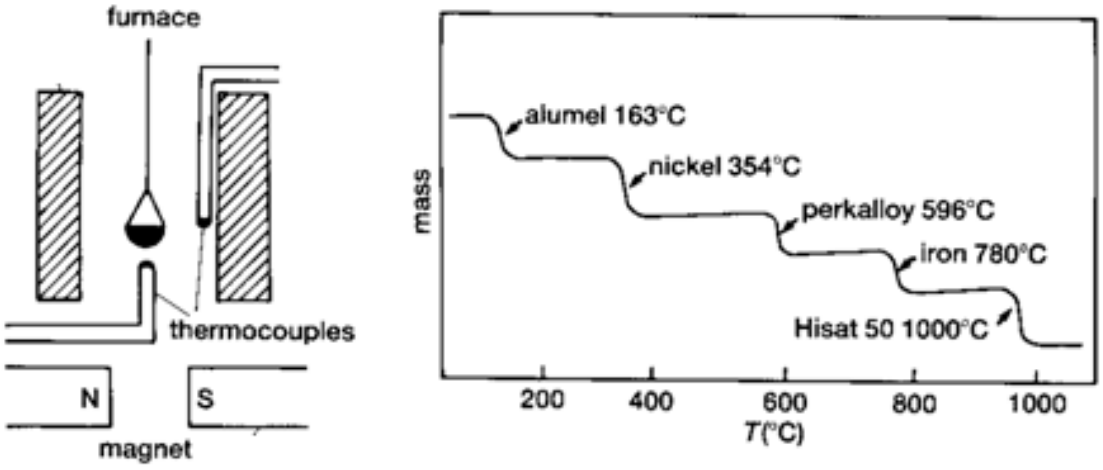
3.3.2.4 ΤΟ ΔΕΙΓΜΑ

Στερεά με παρόμοια χημική σύνθεση, έχουν δομικές διαφορές, όπως η περιεκτικότητα, το πορώδες και οι επιφανειακές ιδιότητες, οι οποίες εξαρτώνται από τον τρόπο με τον οποίο το δείγμα παρασκευάζεται και υποβάλλεται σε επεξεργασία μετά την παρασκευή του. Έτσι, τα δείγματα μπορούν να έχουν σημαντικές διαφορές στη συμπεριφορά τους κατά τη θέρμανση. Για παράδειγμα, μια σημαντική διαφορά στη συμπεριφορά θα παρατηρείται μεταξύ ενιαίων κρυστάλλων και λεπτόκοκκων σκονών της ίδιας ένωσης.
Καθώς η ποσότητα του δείγματος που χρησιμοποιείται αυξάνεται, διάφορα προβλήματα προκύπτουν. Η θερμοκρασία του δείγματος γίνεται ανομοιόμορφη λόγω της αργής μεταφοράς θερμότητας. Επίσης η ανταλλαγή αερίου εντός της περιβάλλουσας ατμόσφαιρας μειώνεται. Αυτοί οι παράγοντες μπορεί να οδηγήσουν σε μη επαναληψιμότητα. Μικρές μάζες δειγμάτων προστατεύουν επίσης την συσκευή σε περίπτωση έκρηξης ή ανάφλεξης. Το δείγμα θα πρέπει να κονιορτοποιηθεί, όπου το καθιστά επίσης δυνατό και να απλωθεί ομοιόμορφα στο καψίδιο.

3.3.2.5 Η ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗ

Η θερμοκρασία δείγματος, T_s, είναι συνήθως μικρότερη από τη θερμοκρασία του κλιβάνου, TF, και δεν μπορεί να μετρηθεί πολύ εύκολα χωρίς να παρεμβαίνει η διαδικασία ζύγισης. Η χρονική υστέρηση, μπορεί να φτάσει και τους 30°C, ανάλογα με τις συνθήκες λειτουργίας. Η θερμοκρασία μετριέται συνήθως με θερμοστοιχείο και είναι αναγκαίο να υπάρχουν ξεχωριστά θερμοστοιχεία για τη μέτρηση της T_s και για τη ρύθμιση του κλιβάνου.

Μία μέθοδος βαθμονόμησης θερμοκρασίας που χρησιμοποιείται είναι τα σημεία Κιουρί. Ενα σιδηρομαγνητικό υλικό χάνει σιδηρομαγνητισμό του σε μια χαρακτηριστική θερμοκρασία γνωστή ως σημείο Κιουρί. Εάν ένας μαγνήτης είναι τοποθετημένος κάτω από το σιδηρομαγνητικό υλικό (Εικ. 3.5), σε θερμοκρασίες κάτω από το σημείο Κιουρί, η συνολική προς τα κάτω δύναμη επί του δείγματος είναι το άθροισμα του βάρους του δείγματος και της μαγνητικής δύναμης. Στο σημείο Κιουρί η μαγνητική δύναμη είναι μηδέν και μια φαινομενική μείωση μάζας παρατηρείται. Χρησιμοποιώντας διάφορα σιδηρομαγνητικά υλικά, μπορεί να ληφθεί μία βαθμονόμηση θερμοκρασίας πολλαπλών σημείων.



Εικόνα 3.5: Βαθμονόμηση Θερμοκρασίας βάσει σημείου Κιουρί [3]

Η βαθμονόμηση θερμοκρασίας στο TGA συνήθως επιτυγχάνεται χρησιμοποιώντας το σημείο τήξης ή τον μετασχηματισμό φάσης των προτύπων υλικών (Πίν. 3.2).

Η βαθμονόμηση βάρους στο TGA είναι πολύ απλή. Στο λογισμικό του οργάνου, υπάρχει μια αντίστοιχη διαδικασία βαθμονόμησης με τη χρήση τυποποιημένων βαρών.

Πίνακας 3.2: Υλικά Βαθμονόμησης και Θερμοκρασίες Βαθμονόμησης [3]

Υλικό	**Θερμοκρασία (˚C)**	**Υλικό**	**Θερμοκρασία (˚C)**
Διφαινύλιο	69,3	**Hg**	-38,8
Βενζίλιο	94,5	**Ga**	29,8
Βενζοϊκό οξύ	122,4	**In**	156,6
Διφαινυλοξικό οξύ	147,3	**Sn**	231,9
Ανισικό οξύ	183,3	**Bi**	271,4
2- χλωροανθρακινόνη	209,6	**Pb**	327,5
		Zn	419,6
		CsCl	476,0
		Al	660,3
		Ag	961,9

3.4ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ TG ΚΑΙ DTG ΚΑΜΠΥΛΩΝ [3]

Οι πραγματικές καμπύλες TG που λαμβάνονται μπορούν να ταξινομηθούν σε διάφορους τύπους, όπως απεικονίζεται στην Εικ.3.6. Πιθανές ερμηνείες έχουν ως εξής:

Καμπύλη Τύπου (i): Το δείγμα βάρους είναι σταθερό σε όλο το εύρος της θερμοκρασίας που εξετάζεται. Δεν λαμβάνονται πληροφορίες, ωστόσο, από το αν έχουν συμβεί μεταπτώσεις στερεάς φάσης, όπως τήξη, πολυμερισμός ή άλλες αντιδράσεις που δεν περιλαμβάνουν πτητικά προϊόντα.

Καμπύλη Τύπου (ii): Η ταχεία αρχική απώλεια μάζας που παρατηρείται, είναι χαρακτηριστικό της εκρόφησης ή της ξήρανσης. Παρατηρείται το φαινόμενο της άνωσης.

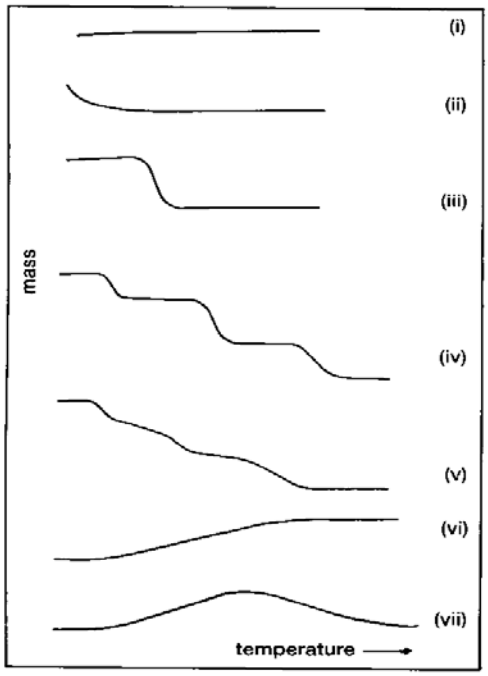
Καμπύλη Τύπου (iii): Αντιπροσωπεύει την αποσύνθεση του δείγματος σε ένα μόνο στάδιο. Η καμπύλη μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να καθοριστεί η στοιχειομετρία της αντίδρασης, καθώς και για τη διερεύνηση της κινητικής της αντίδρασης.

Καμπύλη Τύπου (iv): Δείχνει πολλαπλά στάδια αποσύνθεσης με σχετικά σταθερά ενδιάμεσα. Η καμπύλη μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να καθοριστεί η στοιχειομετρία και να διερευνηθεί η κινητική της αντίδρασης, σε όλα τα στάδια.

Καμπύλη Τύπου (v): Αντιπροσωπεύει επίσης πολλαπλά στάδια αποσύνθεσης, αλλά σε αυτό το παράδειγμα σταθερά ενδιάμεσα δεν σχηματίζονται και λίγες πληροφορίες για τα στάδια μπορούν να ληφθούν. Σε χαμηλότερους ρυθμούς θέρμανσης, καμπύλες τύπου (v) μπορεί να τείνουν να μοιάζουν με τον τύπο (iv), ενώ σε υψηλούς ρυθμούς θέρμανσης και οι δύο τύπου (iv) και (v) μπορεί να μοιάζουν με καμπύλες τύπου (iii) καμπύλες και ως εκ τούτου, οι λεπτομερείς πληροφορίες για τα στάδια χάνονται.

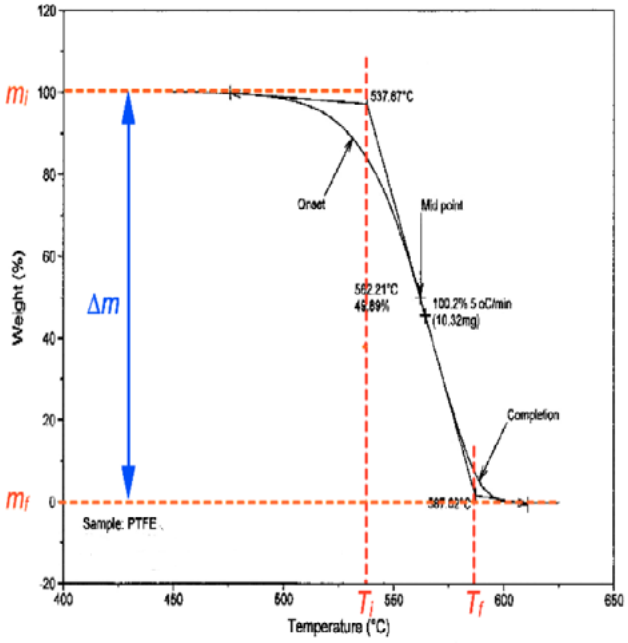
Καμπύλη Τύπου (vi): Το δείγμα βάρους αυξάνεται ως αποτέλεσμα της αντίδρασης του δείγματος με την περιβάλλουσα ατμόσφαιρα. Ένα τυπικό παράδειγμα θα ήταν η οξείδωση ενός δείγματος μετάλλου.

Καμπύλη Τύπου (vii): Πρόκειται για μία χαρακτηριστική καμπύλη TG που αντιπροσωπεύει την αντίδραση οξειδώσεως η οποία αποσυντίθεται και πάλι σε υψηλότερες θερμοκρασίες (π.χ. $2\ Ag + ½\ O_2 \rightarrow Ag_2O \rightarrow 2\ Ag + ½\ O_2$)·



Εικόνα 3.6: Κύριοι τύποι θερμοβαρυμετρικών (TG) καμπυλών [3]

Η αξιολόγηση μιας ενιαίας καμπύλη TG απεικονίζεται στην Εικ.3.7. Οι αντιδράσεις που αντιστοιχούν στις απώλειες μάζας μπορούν να προσδιοριστούν καλύτερα, ή να επιβεβαιωθούν, με ταυτόχρονη εξέλιξη ανάλυσης αερίων (Evolved Gas Analysis – EGA).



Εικόνα 3.7: Η αξιολόγηση μιας ενιαίας καμπύλης TG [3]

3.5ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 3ΟΥ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ

1. John Wiley & Sons, Thermal Analysis Of Polymers, Encyclopedia of Polymer Science and Technology 2005
2. Mc Murry J, Οργανική χημεία Τόμος Ι, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης 2005, σελ. 560-587
3. Tiverios C. Vaimakis, Thermogravimetry (TG) or Thermogravimetric Analysis (TGA), Chemistry Department, University of Ioannina, Greece

<u>ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</u>

4. ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΠΟΛΥΕΣΤΕΡΩΝ

4.1ΣΚΟΠΟΣ

Στο κεφάλαιο αυτό γίνεται αναφορά στις αναλυτικές μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν για το χαρακτηρισμό και τη μελέτη των θερμικών ιδιοτήτων των διάφορων πολυεστέρων που παράχθηκαν από τον ενζυμικό πολυμερισμό, αλλά και από τις διεργασίες μεταπολυμερισμού μάζας (στερεάς κατάστασης και τήγματος).

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν είναι οι εξής:

- Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (Nuclear Magnetic Resonance, NMR), με την οποία λαμβάνεται το φάσμα κάθε υλικού και ταυτοποιείται βάσει των χαρακτηριστικών κορυφών του. Από τις απορροφήσεις των χαρακτηριστικών κορυφών του φάσματος υπολογίζεται και το μοριακό βάρος της ένωσης.
- Διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης (Differential Scanning Calorimentry, DSC) για τον καθορισμό των σημείων τήξης και κρυστάλλωσης (T_m και T_c) και των ενθαλπιών τήξης και κρυστάλλωσης (ΔH_m και ΔH_c) των πολυεστέρων.

4.2ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕΣΩ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ (NMR)

4.2.1 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Ο πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός (Nuclear Magnetic Resonance: NMR) είναι ένα φαινόμενο απορρόφησης ενέργειας που λαμβάνει χώρα όταν πυρήνες συγκεκριμένων ατόμων, οι οποίοι βρίσκονται σε στατικό μαγνητικό πεδίο, εκτεθούν σε δεύτερο μεταβαλλόμενο μαγνητικό πεδίο. Αυτή η απορρόφηση ενέργειας είναι χαρακτηριστική για κάθε άτομο συζευγμένο ή ελεύθερο και χρησιμοποιείται στον χαρακτηρισμό του μορίου [1].

Πολλά είδη πυρήνων, θετικά φορτισμένων, περιστρέφονται γύρω από κάποιον άξονα και λειτουργούν ως μικροσκοπικοί μαγνήτες αλληλεπιδρώντας συνεπώς με ένα εξωτερικό μαγνητικό πεδίο, με αποτέλεσμα να αποκτούν συγκεκριμένους προσανατολισμούς. Ενδεικτικά ένας περιστρεφόμενος πυρήνας 1H ή 13C (και κάθε πυρήνας με περιττό αριθμό πρωτονίων και κάθε πυρήνας με περιττό αριθμό νετρονίων) όταν τοποθετηθεί ανάμεσα στους πόλους ενός ισχυρού μαγνήτη, μπορεί να αποκτήσει τέτοιο προσανατολισμό ώστε το δικό του μικρό μαγνητικό πεδίο να διαταχθεί είτε παράλληλα προς το εξωτερικό πεδίο είτε αντιπαράλληλα. Ο παράλληλος προσανατολισμός είναι χαμηλότερης ενέργειας, ευνοώντας σχετικά αυτή την κατάσταση του spin έναντι του αντιπαράλληλου προσανατολισμού. Αν οι προσανατολισμένοι πυρήνες ακτινοβοληθούν με κατάλληλης συχνότητας ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, λαμβάνει χώρα απορρόφηση ενέργειας και η κατάσταση χαμηλότερης ενέργειας αλλάζει φορά προς την κατάσταση υψηλότερης ενέργειας (αναστροφή spin). Όταν πραγματοποιηθεί αυτή η αναστροφή, οι πυρήνες

έχουν συντονιστεί με την εφαρμοζόμενη ακτινοβολία και εξαιτίας αυτού προκύπτει ο όρος «πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός».

Επίσης οι πυρήνες περιβάλλονται από ηλεκτρόνια και, όταν ασκηθεί ένα εξωτερικό μαγνητικό πεδίο σε κάποιο μόριο, τα ηλεκτρόνια δημιουργούν τα δικά τους μικροσκοπικά τοπικά μαγνητικά πεδία. Αυτά δρουν αντίθετα προς το εφαρμοζόμενο πεδίο, έτσι ώστε το πραγματικό πεδίο στον πυρήνα να είναι λίγο μικρότερο από το εξωτερικό. Συνεπώς, οι πυρήνες προστατεύονται από την πλήρη επίδραση του εφαρμοζόμενου πεδίου λόγω των ηλεκτρονίων που τους περιβάλλουν. Επειδή κάθε πυρήνας ενός μορίου βρίσκεται σε διαφορετικό ηλεκτρονικό περιβάλλον, προστατεύεται και σε κάπως διαφορετική έκταση, με αποτέλεσμα το πραγματικό εφαρμοζόμενο μαγνητικό πεδίο να μην είναι ίδιο για κάθε πυρήνα. Έτσι λαμβάνουμε διαφορετικό σήμα NMR για κάθε διακριτό πυρήνα άνθρακα ή υδρογόνου κάποιου μορίου.

Σε ένα φάσμα ^{1}H-NMR (Εικόνα 4.2), ο οριζόντιος άξονας καταγράφει το πραγματικά εφαρμοζόμενο μαγνητικό πεδίο που υφίστανται οι πυρήνες, ενώ ο κατακόρυφος άξονας δείχνει την ένταση απορρόφησης της ενέργειας. Κάθε κορυφή στο φάσμα αντιστοιχεί σε έναν χημικά διακριτό πυρήνα του μορίου [2].

Σε ένα φάσμα ^{1}H-NMR η ισχύς του εφαρμοζόμενου πεδίου αυξάνεται από αριστερά προς τα δεξιά. Έτσι, το αριστερό τμήμα του γραφήματος είναι η πλευρά χαμηλού πεδίου και το δεξιό η πλευρά υψηλού πεδίου. Γενικά τα υδρογόνα δίπλα σε κορεσμένα κέντρα εμφανίζονται σε μικρές τιμές (δεξιά πλευρά φάσματος), λόγω της μεγαλύτερης προστασίας τους από τα περιβάλλοντα ηλεκτρόνια. Για το συντονισμό αυτών των υδρογόνων απαιτείται ισχυρότερο μαγνητικό πεδίο. Αντίθετα, τα πρωτόνια που είναι συνδεδεμένα με άνθρακες που έχουν δίπλα τους ηλεκτραρνητικά άτομα (π.χ. N, O) προστατεύονται λιγότερο αποτελεσματικά και χρειάζονται ασθενέστερο εφαρμοζόμενο πεδίο για να συντονισθούν και απορροφούν στην αριστερή πλευρά του φάσματος [3].

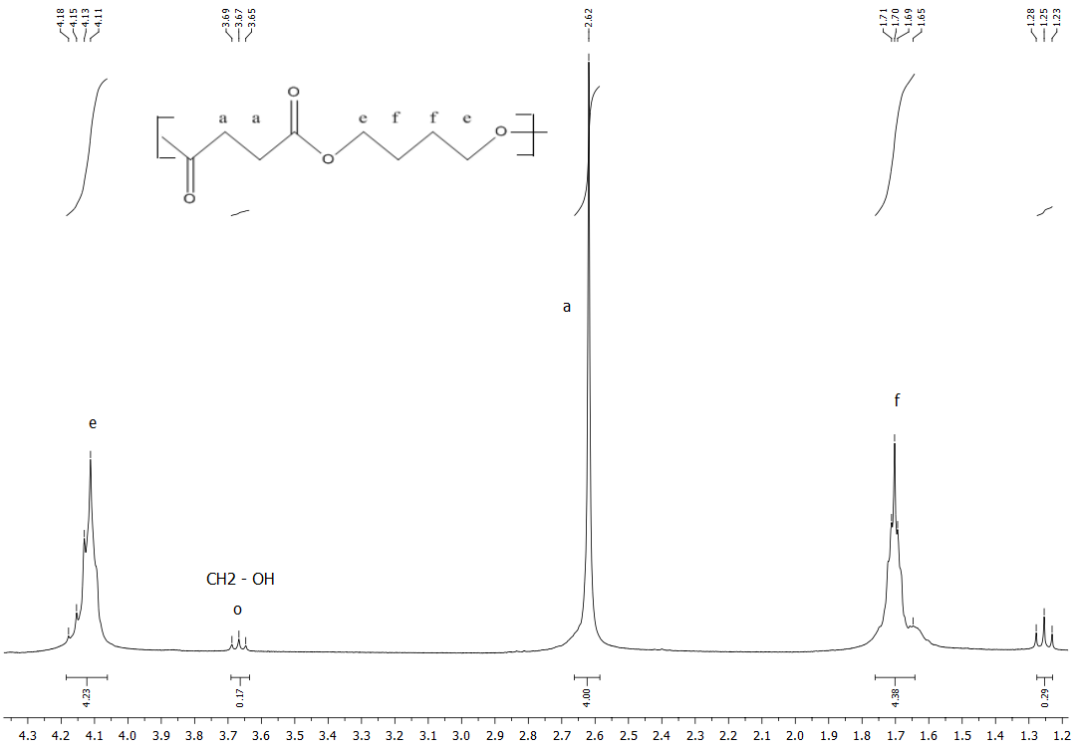
Το εμβαδόν που περικλείει κάθε κορυφή είναι ανάλογο προς τον αριθμό των πρωτονίων που προκαλούν την κορυφή. Μετρώντας ηλεκτρονικά, δηλαδή ολοκληρώνοντας το εμβαδόν κάθε κορυφής, είναι δυνατό να μετρήσουμε τον σχετικό αριθμό των κάθε είδους πρωτονίων σε ένα μόριο.
Συχνό φαινόμενο αποτελεί, ωστόσο, η απορρόφηση ενός πρωτονίου (μια κορυφή ενός πυρήνα) να διασπάται σε πολλές στενές κορυφές. Το φαινόμενο αυτό αποκαλείται σχάση spin-spin και προκαλείται από την αλληλεπίδραση ή σύζευξη των πυρηνικών spin γειτονικών χημικά ισοδύναμων ατόμων [3].

Τα φάσματα ^{1}H-NMR των πολυμερών λήφθηκαν σε φασματόμετρο συχνότητας 600 MHz (Εικόνα 4.1). Ως διαλύτης χρησιμοποιήθηκε το δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl3).

Εικόνα 4.1: Φασματόμετρο NMR 600 MHz για τη λήψη των φασμάτων

4.2.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΜΕΣΟΥ-ΑΡΙΘΜΟΥ ΜΟΡΙΑΚΟΥ ΒΑΡΟΥΣ

Στο παρακάτω σχήμα (Σχήμα 4.2) παρουσιάζεται ενδεικτικά το φάσμα ^{1}H-NMR του πολυεστέρα PBS (πολυ(ηλεκτρικός βουτυλεστέρας). Για ευκολία στην απόδοση των κορυφών, ονοματίζουμε τα άτομα άνθρακα των πολυεστέρων ανάλογα με τη θέση τους στην πολυανθρακική αλυσίδα.



Εικόνα 4.2: Φάσμα ^{1}H-NMR του PBS

Πάνω αριστερά στο φάσμα φαίνεται η δομή της επαναλαμβανόμενης δομικής μονάδας του πολυεστέρα. Κάθε κορυφή του φάσματος ^{1}H-NMR αντιστοιχεί σε μία τριπλέτα CH_2. Όπως διαφαίνεται στο φάσμα του PBS, τα υδρογόνα (H) που βρίσκονται στη θέση e και παρουσιάζουν απορρόφηση στα 4,11-4,18 ppm, με ένταση απορρόφησης 4,23 αντιστοιχούν στο άτομο του άνθρακα (C) που βρίσκεται δίπλα από τον εστερικό δεσμό εντός της επαναλαμβανόμενης δομικής μονάδας. Τα υδρογόνα (H) που βρίσκονται στη θέση o στα 3,67 ppm και παρουσιάζουν ένταση απορρόφησης 0,17 αντιστοιχούν στο άτομο του άνθρακα (C) που βρίσκεται δίπλα από την ακραία υδροξυλομάδα. Τα υδρογόνα των θέσεων a πρέπει να εμφανίζουν ένταση απορρόφησης 4 και τα υδρογόνα των θέσεων f εμφανίζουν ένταση απορρόφησης 4,38.

Για τον υπολογισμό του μοριακού βάρους χρησιμοποιείται ο τύπος:

$$M_n = m_o * [I_{-COO-}/I_{end\ groups}] + M_{end\ group} \quad (g/mol), \qquad (4.1)$$

Όπου

- m_o= μοριακό βάρος επαναλαβανόμενης δομικής μονάδας: 172 g/mol
- I_{-COO-}= η ένταση απορρόφησης που αντιστοιχεί στην τριπλέτα του υδρογόνου c εντός της επαναλαμβανόμενης δομικής ομάδας
- $I_{end\ groups}$= η ένταση απορρόφησης που αντιστοιχεί στην τριπλέτα του υδρογόνου e στη θέση δίπλα από την ακραία υδοξυλομάδα
- $M_{end\ group}$= μοριακό βάρος των τμημάτων εκτός της επαναλαμβανόμενης δομικής ομάδας= 218

Ο προαναφερόμενος τύπος της σχέσης 4.1 έχει χρησιμοποιηθεί από τους Ragupathy et al., για τον υπολογισμό του μέσου-αριθμού μοριακού βάρους πολυ(εστεραμιδίων) [4].

4.3ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΘΕΡΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΠΤΩΣΕΩΝ ΜΕΣΩ ΔΙΑΦΟΡΙΚΗΣ ΘΕΡΜΙΔΟΜΕΤΡΙΑΣ ΣΑΡΩΣΗΣ (DSC)

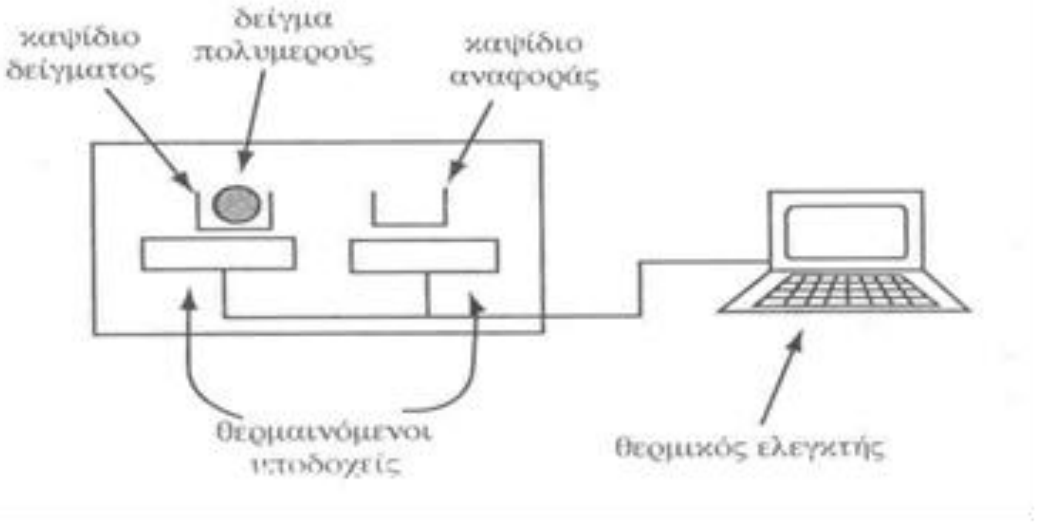
Η διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης (DSC) αποτελεί μία σημαντική θερμική μέθοδο ανάλυσης που χρησιμοποιείται ευρέως για τον προσδιορισμό των θερμικών μεταπτώσεων των πολυμερών. Επιπλέον, μέσω αυτής της μεθόδου είναι δυνατός ο προσδιορισμός του ποσοστού των άμορφων και των κρυσταλλικών περιοχών σε ένα πολυμερούς.

Η αρχή της DSC βασίζεται στη μέτρηση των διαφορών ροής θερμότητας μεταξύ ενός δείγματος πολυμερούς και ενός δείγματος αναφοράς σε συνάρτηση με το χρόνο ή τη θερμοκρασία, για τη διατήρηση της ίδιας θερμοκρασίας, καθώς τα δύο δείγματα θερμαίνονται ή ψύχονται με τον ίδιο ρυθμό [5].

Αρχικά προετοιμάζονται δύο δείγματα σε μικρά καψίδια αλουμινίου που σφραγίζονται με καπάκι (με τρύπα εξαερισμού): ένα δείγμα πολυμερούς και ένα δείγμα αναφοράς, το οποίο είναι κενό. Τα καψίδιο τοποθετούνται σε ειδικούς

θερμαινόμενους υποδοχείς της συσκευής DSC που περικλείονται από φούρνο κατασκευασμένο από μέταλλο υψηλής θερμικής αγωγιμότητας για να εξασφαλισθεί η όσο το δυνατόν πιο ομοιόμορφη θέρμανση των δειγμάτων. Το λειτουργικό θερμοκρασιακό εύρος είναι μεταξύ -140 ˚C και 700 ˚C. Οι χαμηλές θερμοκρασίες επιτυγχάνονται με τη χρήση συστήματος υγρού αζώτου.

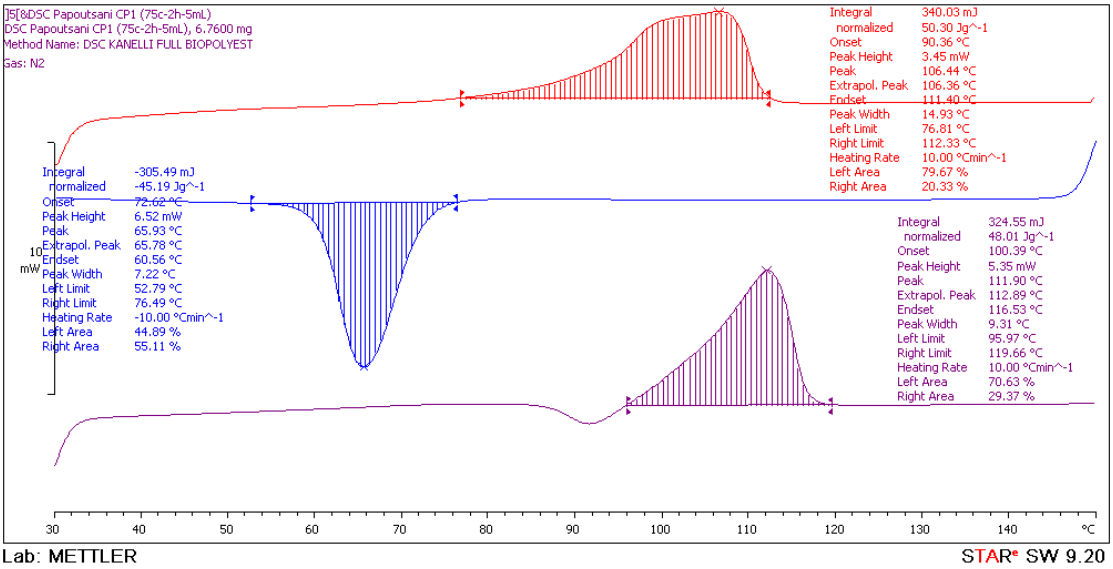
Οι μετρήσεις DSC γενικά πραγματοποιούνται σε δείγματα μάζας 5-15 mg και λόγω του μικρού αυτού μεγέθους πρέπει να λαμβάνεται μέριμνα ώστε το δείγμα να είναι αντιπροσωπευτικό της κύριας μάζας του πολυμερούς. Στο περιβάλλον των υποδοχέων δημιουργείται αδρανής ατμόσφαιρα με τη ροή αζώτου και ο θερμικός ελεγκτής αρχίζει να θερμαίνει τους υποδοχείς με σταθερό ρυθμό θέρμανσης (10 ˚C/min). Η θερμοκρασία στους δυο υποδοχείς προσδιορίζεται με μεγάλη ακρίβεια μέσω θερμοστοιχείων.



Εικόνα 4.3: Απλοποιημένη διάταξη DSC

Η διαφορά στην ενέργεια που απαιτείται για τη διατήρηση της ίδιας θερμοκρασίας μεταξύ του προς εξέταση δείγματος και του δείγματος αναφοράς είανι ανάλογη με τη θερμική ενέργεια που απορροφάται ή εκλύεται κατά τη διάρκεια μας διεργασίας-μετασχηματισμού. Ενδεικτικά, η τήξη είναι μετάπτωση πρώτης τάξης, είναι ενδόθερμη διεργασία και επομένως ο υποδοχέας του πολυμερούς απορροφάει περισσότερη εξωτερική θερμότητα απ' ότι ο υποδοχέας αναφοράς. Η διαφορά αυτή ανιχνεύεται από αισθητήρα, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η ροή του ρεύματος μέσω των θερμαντικών στοιχείων του δείγματος του πολυμερούς, ώστε να διατηρηθεί η προγραμματισμένη θερμοκρασία σε σχέση με το δείγμα αναφοράς. Η αλλαγή αυτή στο ηλεκτρικό ρεύμα θα καταγραφεί σαν θετική κορυφή στο θερμογράφημα ροής θερμότητας συναρτήσει της θερμοκρασίας. Αντίστοιχα, μια εξώθερμη αντίδραση (π.χ. κρυστάλλωση) θα καταγραφεί σαν αρνητική κορυφή στο διάγραμμα ενέργειας θερμοκρασίας [1,6, 7]. Στην Εικόνα 4.4 παρατίθεται ο κύκλος τήξης (ενδόθερμη

θετική κορυφή), κρυστάλλωσης (εξώθερμη αρνητική κορυφή) και δεύτερης τήξης (ενδόθερμη θετική κορυφή), του πολυεστέρα PBS.



Εικόνα 4.4: DSC θερμογράφημα του PBS

Το εμβαδόν κάτω από την κορυφή σχετίζεται με τις μεταβολές της ενθαλπίας (ΔΗ) που λαμβάνουν χώρα. Κατά την τήξη παρατηρείται ενδόθερμη κορυφή, η οποία αποτελεί ένα ποσοτικό μέτρο της ποσότητας κρυσταλλικού υλικού στο πολυμερές.

Η συσκευή DSC που χρησιμοποιήθηκε στις συγκεκριμένες αναλύσεις είναι το Mettler DSC 1 STARe System (Εικόνα 4.5). Το βάρος των δειγμάτων κυμαινόταν από 5-15 mg και σε κάθε περίπτωση η τυπική απόκλιση προκύπτει από τις διπλές μετρήσεις που έγιναν.

Εικόνα 4.5: Συσκευή Mettler DSC 1 STARe System

Για τη μελέτη των πολυεστέρων που παρήχθησαν εφαρμόστηκε ένας κύκλος θέρμανσης – ψύξης – θέρμανσης, με φέρον άζωτο 10 mL/min και ρυθμούς θέρμανσης/ψύξης 10 ^{o}C/min, ως ακολούθως:

- 30 $\longrightarrow$ 150 ˚C
- παραμονή στους 150 ˚C για 1 min
- 150 $\longrightarrow$ 30 ˚C
- παραμονή στους 30 ˚C για 1 min
- 30 $\longrightarrow$ 150 ˚C

καθώς επίσης και ένας κύκλος θέρμανσης από τους -70 $\longrightarrow$ 180 ˚C.

Με τον κύκλο αυτό προσδιορίστηκαν και παρουσιάστηκαν στο τελικό θερμογράφημα τα σημεία τήξης της πρώτης θέρμανσης, κρυστάλλωσης και τήξης της δεύτερης θέρμανσης και οι αντίστοιχες ενθαλπίες. Τα σημεία κρυστάλλωσης και τήξης της δεύτερης θέρμανσης αποτελούν εγγενή χαρακτηριστικά του πολυμερούς, καθώς έχει «σβηστεί» η θερμική ιστορία του υλικού.

4.4ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 4ΟΥ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ

1. Μοροπούλου Α, Χαρακτηρισμός, Έλεγχος ποιότητας, Διάγνωση φθοράς και συντήρηση δομικών υλικών, Μεθοδολογία ενόργανων και μη καταστρεπτικών τεχνικών, Εκδόσεις ΕΜΠ, Αθήνα 2010, σελ. 213
2. Mc Murry J, Οργανική χημεία Τόμος Ι, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης 2005, σελ. 560-587
3. Όξεκιουν-Πετροπούλου Μ, Φυσικές Μέθοδοι Ανάλυσης-Οπτικές Μέθοδοι, Εκδόσεις Ε.Μ.Π, Αθήνα 1987, σελ 383-407
4. Ragupathy L, Ziener U, Dyllick-Brenzinger R, Von Vacano B, Landfester K. Enzyme-catalyzed polymerizations at higher temperatures: Synthetic methods to produce polyamides and new poly(amine-co-ester)s. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 2012; 76: 94-105
5. Παππά Α, Φυσικές μέθοδοι ανάλυσης, Χρωματογραφικές, Θερμικές, Ηλεκτρομετρικές, Φασματομετρία μάζας, Εκδόσεις ΕΜΠ, Αθήνα 2004, σελ. 142
6. Young R, Lovell P. Introduction to Polymers. Chapman & Hall Ed. London. 1991: 176-178, 195-200, 267
7. Βουγιούκα Σ, Αριστοποίηση Ιδιοτήτων Πολυαμιδικών Ρητινών με Τεχνολογία Πολυμερισμού Στερεάς Κατάστασης, Διδακτορική Διατριβή Ε.Μ.Π., Αθήνα 2004, σελ. 160-174

5. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΞΕΙΣ & ΠΡΩΤΕΣ ΥΛΕΣ

5.1ΣΚΟΠΟΣ

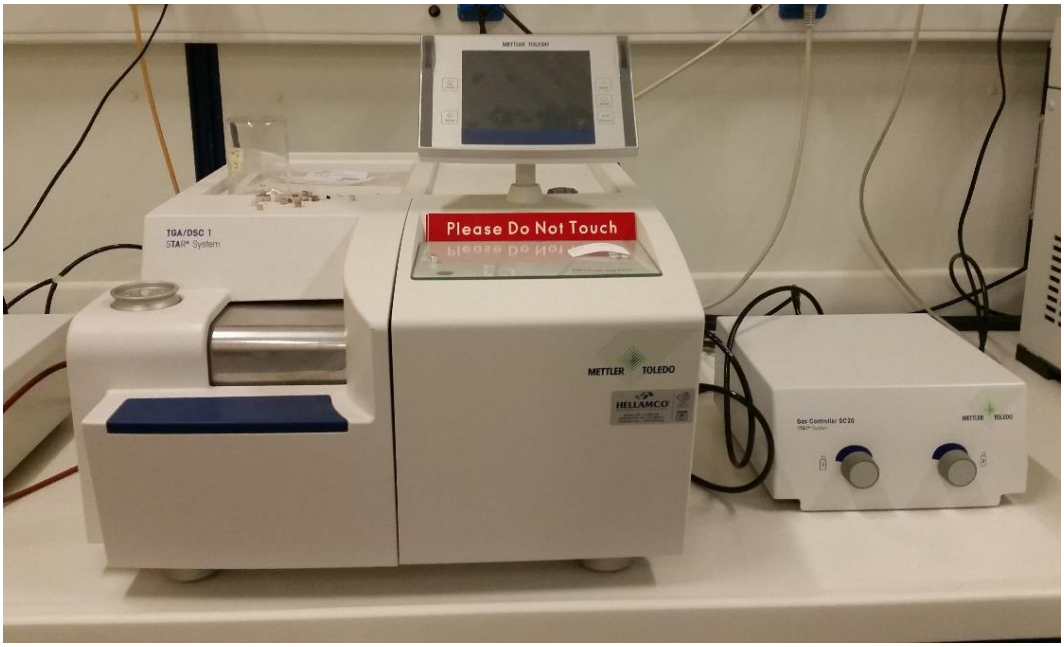
Στο κεφάλαιο αυτό περιγράφονται αναλυτικά οι πρώτες ύλες, οι πειραματικές διατάξεις που χρησιμοποιήθηκαν και οι διαδικασίες που ακολουθήθηκαν.

5.2ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Τα μονομερή 1,4-βουτανοδιόλη, δι-αιθυλεστέρας και δι-μεθυλεστέρας προμηθεύτηκαν από την ARD στη Γαλλία. Το χλωροφόρμιο που χρησιμοποιήθηκε προέρχεται από την Merck της Γερμανίας καθώς και από την Carlo Erba της Γαλλίας από την οποία προμηθεύτηκε επίσης και μεθανόλη. Το ένζυμο N435 (ακινητοποιημένη λιπάση *Candida Antarctica B*) προέρχεται από τη Novozymes της Δανίας. Το ένζυμο κουτινάση παράχθηκε στο εργαστήριο Βιοτεχνολογίας στις εγκαταστάσεις του ΕΜΠ.

5.3ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΤΑΞΗ TGA

Το όργανο TGA που χρησιμοποιήθηκε για τον ενζυμικό πολυμερισμό είναι το Mettler TGA/DSC 1 STARe System του Εργαστηρίου Τεχνολογίας Πολυμερών απεικονίζεται στην Εικόνα 5.1.



Εικόνα 5.1: Πειραματική διάταξη TGA που χρησιμοποιήθηκε για τον ενζυμικό πολυμερισμό

Η πειραματική διάταξη και τα μέρη αυτής παρουσιάστηκαν στο Κεφάλαιο 3 καθώς επίσης και η τεχνική πολυμερισμού που ακολουθήθηκε η οποία είναι η τεχνική μάζας αναλύθηκε λεπτομερώς στο υποκεφάλαιο 2.5.1.

Ως βιοκαταλύτης χρησιμοποιείται η ακινητοποιημένη λιπάση N435 σε ποσότητα 20 % του συνολικού βάρους των μονομερών (*C. antartica* Lipase B, CALB 1% wt), συγκέντρωση η οποία έχει χρησιμοποιηθεί επιτυχώς σε πολυεστεροποιήσεις [1,2,3] καθώς και η κουτινάση σε ποσοστό 3% και 5%. Το μικρό αυτό ποσοστό οφείλεται στο ότι η κουτινάση είναι ακινητοποιημένη στο μόριό της και όχι σε κάποια ρητίνη οπότε σε μικρότερη ποσότητα παρουσιάζει εξίσου σημαντική ενεργότητα.

Οι αντιδραστήρες (Εικ. 5.2) που χρησιμοποιήθηκαν μέσα στους οποίους έλαβε χώρα ο ενζυμικός πολυμερισμός ήταν αλουμινένια καψίδια 40μL και 100μL σφραγισμένα με αλουμινένιο καπάκι είτε με τρύπα μη προσδιοριζόμενης διαμέτρου είτε προτρυπημένα με τρύπα διαμέτρου 50μm.

Εικόνα 5.2: Οι αντιδραστήρες μέσα στους οποίους πραγματοποιήθηκε ενζυμικός πολυμερισμός

5.4ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΤΑΞΗ ΣΕ ΜΕΓΑΛΗ ΚΛΙΜΑΚΑ (2 g) - ΔΙΑΤΑΞΗ ΜΕ 'ΟΜΠΡΕΛΑ' ΑΖΩΤΟΥ

Έγινε προσπάθεια προσομοίωσης σε μεγαλύτερη κλίμακα της λειτουργίας του μικροαντιδραστήρα TGA και των συνθηκών που προσδιορίστηκαν. Η Εικόνα 5.3 δείχνει τη διάταξη που στήθηκε για την διαδικασία του ενζυμικού πολυμερισμού με πρότυπο τη λειτουργία του TGA.

Εικόνα 5.3: Πειραματική διάταξη ενζυμικού πολυμερισμού με ομπρέλα αζώτου

Η πειραματική διάταξη αποτελείται από μία θερμαινόμενη πλάκα. Πάνω στην πλάκα τοποθετείται ένα ελαιόλουτρο ρυθμισμένο στους 80 ˚C, όπου βυθίζεται ένα φιαλίδιο με τρυπημένο καπάκι χωρητικότητας 4ml που περιέχει τα μονομερή που πρόκειται να αντιδράσουν και το ένζυμο-καταλύτη σε ποσότητα 20 % του συνολικού βάρους των μονομερών. Στο φιαλίδιο εφαρμόζεται μαγνητική ανάδευση που παραμένει σταθερή (400 rpm). Άζωτο σε χαμηλή ροή 5ml/min εφαρμόζεται καθ' όλη τη διάρκεια της αντίδρασης, η οποία διήρκησε 90 λεπτά, προκειμένου να απομακρύνει την παραγόμενη αιθανόλη καθώς και πτητικά μονομερή, ώστε η ισορροπία της αντίδρασης να μετατοπίζεται προς τα δεξιά.

Στο τέλος της αντίδρασης το σύστημα απομακρύνεται από τη θέρμανση και προστίθεται χλωροφόρμιο υπό ανάδευση. Αφού το δείγμα αποκτήσει θερμοκρασία δωματίου πραγματοποιείται διήθηση υπό κενό προς παραλαβή του ενζύμου, το οποίο έχει αλλάξει χρώμα. Το διήθημα προστίθεται στάγδην σε μεγάλη περίσσεια μεθανόλης υπό ανάδευση.

Έπειτα το παραγόμενο προϊόν μαζί με το χλωροφόρμιο και τη μεθανόλη τοποθετούνται σε έναν περιστροφικό εξατμιστήρα (Rotavapor R-210, Bucchi) που απεικονίζεται στην Εικόνα 5.4.

Εικόνα 5.4: Πειραματική διάταξη εξάτμισης υπό κενό

Σε σφαιρική φιάλη προστίθεται ποσότητα του μίγματος και έπειτα η φιάλη προσαρμόζεται στην υποδοχή της διάταξης του Rotavapor R-210 και βυθίζεται σε ελαιόλουτρο. Ρυθμίζεται η θερμοκρασία και η ταχύτητα περιστροφής (52-72 rpm), εφαρμόζεται κενό και το σύστημα αφήνεται να αντιδράσει για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα. Κάθε μισή ώρα η αντλία κενού ετίθετο σε λειτουργία για λίγα λεπτά. Το σύστημα αφήνεται να αντιδράσει για 2 ώρες.

Γίνεται εξάτμιση του χλωροφορμίου και της μεθανόλης υπό κενό ικανό ώστε να εξατμιστούν τα χλωροφόρμιο και η μεθανόλη. Το υπόλειμμα της εξάτμισης είναι το πολυμερές.

5.5ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 5^{ΟΥ} ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ

1. Yang Y, Lu W, Zhang X, Xie W, Cai M, Gross R. Two-Step Biocatalytic Route to Biobased Functional Polyesters from ω-Carboxy Fatty Acids and Diols. Biomacromolecules, 2010
2. Mahapatro A, Kalra B, Kumar A, Gross R. Lipase-Catalyzed Polycondensations: Effect of Substrates and Solvent on Chain Formation, Dispersity and End-Group Structure. Biomacromolecules, 2003
3. Mahapatro A, Kumar A, Kalra B, Gross R. Solvent-Free Adipic Acid/1,8-Octanediol Condensation polymerizations Catalyzed by *Candida Antarctica* Lipase B. Macromolecules, 2004

6. ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ PBS ΜΕ ΜΕΤΕΣΤΕΡΟΠΟΙΗΣΗ ΔΙ-ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑ ΗΛΕΚΤΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΣΕ TGA ΜΕ ΛΙΠΑΣΗ

6.1ΣΚΟΠΟΣ

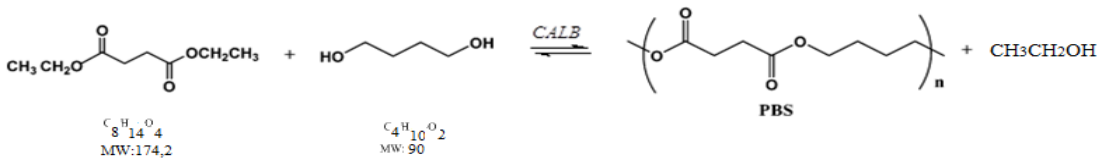
Στο κεφάλαιο αυτό παρατίθεται η διεργασία του ενζυμικού πολυμερισμού προς παραγωγή του πολυ(ηλεκτρικού βουτυλεστέρα) (PBS).

Η πραγματοποίηση του ενζυμικού πολυμερισμού βασίζεται στην καμπύλη της απώλειας μάζας συναρτήσει του χρόνου που δίνει το όργανο του TGA το οποίο καταγράφει κάθε χρονική στιγμή το βάρος του δείγματος. Επίσης, η κλίση της καμπύλης παρουσιάζει ενδιαφέρον και υπολογίζεται για τα πρώτα 5-15 λεπτά. Η τελική απώλεια μάζας καθώς και η υπολογιζόμενη κλίση είναι τα δεδομένα που επιβεβαιώνουν την επίτευξη της αντίδρασης.

Επιπλέον, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (^{1}H-NMR) και της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC) που διεξήχθησαν και που περιγράφονται στο κεφάλαιο 4. Ακολουθεί σχολιασμός των αποτελεσμάτων και διατύπωση των συμπερασμάτων που προκύπτουν σε σχέση με την ποιότητα και τις ιδιότητες των παραγόμενων πολυεστέρων που καθορίζουν τις πιθανές εφαρμογές των πολυεστέρων αυτών στη βιομηχανία και την καθημερινή ζωή.

6.2ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΔΙ-ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑ ΚΑΙ 1,4 –ΒΟΥΤΑΝΟΔΙΟΛΗΣ ΣΕ ΜΙΚΡΟΚΛΙΜΑΚΑ ΜΕ ΚΑΤΑΛΥΤΗ ΤΟ N435

Η χημική αντίδραση της 1,4 –βουτανοδιόλης με τον δι-αιθυλεστέρα του ηλεκτρικού οξέος, προς παραγωγή του πολύ(ηλεκτρικού βουτυλεστέρα) απεικονίζεται παρακάτω στην Εικόνα 6.1.



Εικόνα 6.1: Αντίδραση ενζυμικού πολυμερισμού της 1,4 –βουτανοδιόλης και του δι-αιθυλεστέρα προς παραγωγή PBS

Στα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν, η τεχνική πολυμερισμού που ακολουθήθηκε ήταν η τεχνική μάζας για την οποία αναλυτικές πληροφορίες έχουν δοθεί στην παράγραφο 2.5.1 του 2ου Κεφαλαίου.

Η στοιχειομετρία που τηρήθηκε σε όλα τα πειράματα της παρούσας εργασίας, ως προς τα μονομερή ήταν 1:1, ενώ το ένζυμο N435 προστέθηκε σε ποσοστό 20% επί των μονομερών (Πίν. 6.1).

Η απώλεια μάζας στο τέλος του ενζυμικού πολυμερισμού οφείλει να πλησιάζει το θεωρητικό ποσοστό της σχηματιζόμενης αιθανόλης για να επιβεβαιωθεί το γεγονός ότι ο πολυμερισμός ήταν επιτυχής.

Πίνακας 6.1: Υπολογισμός θεωρητικών ποσοτήτων που θα χρησιμοποιηθούν στον πολυμερισμό

	MW (g/mol)	**Θεωρ. Ποσότ. (mmol)**	**Θεωρ. Ποσότ. (mg)**	**mmol CH_3CH_2OH**	**mg CH_3CH_2OH**	**Θεωρ. Παραγ. Πολυμερές (mg)**	**% CH_3CH_2OH (wt)**
1,4-Βουτανοδιόλη (l)	90	0,12[α] 0,05[β]	10,80 4,54				
Δι-αιθυλεστέρας (l)	174,20	0,12[α] 0,05[β]	20,90 8,78				
Συνολικά μονομερή			31,70[α] 13,30[β]				
N435			6,34[α] 2,67[β]				
ΣΥΝΟΛΟ			38,04[α] 15,99[β]	0,24[α] 0,1[β]	11,04[α] 4,64[β]	20,66[α] 8,69[β]	35

* [α]: όταν χρησιμοποιήθηκε αλουμινένιο καψίδιο 100μL
* [β]: όταν χρησιμοποιήθηκε αλουμινένιο καψίδιο 40μL

Αμέσως μετά τον ενζυμικό πολυμερισμό, το σχηματιζόμενο προϊόν λαμβάνεται για περαιτέρω ανάλυση σε ^{1}H-NMR και σε DSC. Επιπρόσθετα γίνεται ανάλυση των διαγραμμάτων που λαμβάνονται από το TGA, από την οποία εκτιμώνται η επιτυχία της αντίδρασης, η επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων του πολυμερισμού ενώ μελετώνται και κρίσιμοι παράμετροι για να προσδιοριστούν οι βέλτιστες συνθήκες αντίδρασης.

6.3ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ ΕΝΖΥΜΙΚΟΥ ΠΟΛΥΜΕΡΙΣΜΟΥ ΣΤΟ TGA

Αλουμινένιο καψίδιο (Εικ.5.2) χωρητικότητας 40 μL τοποθετήθηκε στο ζυγό και με τη χρήση γυάλινου τριχοειδούς προστέθηκαν ξεχωριστά οι ποσότητες των μονομερών που αναφέρονται στον Πιν.6.1. Πρώτα προστέθηκε η 1,4-βουτανοδιόλη, έπειτα ο δι-αιθυλεστέρας και τελευταίο το ένζυμο (N435). Η σειρά που τηρήθηκε για τα μονομερή βασίζεται στο γεγονός ότι ο διεστέρας είναι ελαφρώς πιο πτητικός από την διόλη και για να μην χαθεί σημαντική ποσότητα του πρώτου κατά τη διάρκεια των ζυγίσεων έπρεπε να τοποθετηθεί όσο το δυνατόν αργότερα. Έπειτα το αλουμινένιο καψίδιο σφραγίστηκε με προτρυπημένο καπάκι με διάμετρο τρύπας 50 μm (Εικ.5.2) και τοποθετήθηκε στο όργανο του TGA.

Για τη σωστή μέτρηση της απώλειας μάζας κατά τον ενζυμικό πολυμερισμό στην άλλη θέση του ζυγού τοποθετήθηκε κενό αλουμινένιο δοχείο ίδιας χωρητικότητας και σφραγισμένο με καπάκι ίδιου τύπου για να μετριέται κάθε χρονική στιγμή η απώλεια βάση ενός σημείου αναφοράς. Χρησιμοποιώντας ηλεκτρονικό υπολογιστή ρυθμίστηκαν οι συνθήκες (Πίν. 6.2) κάτω από τις οποίες θα λάμβανε χώρα ο ενζυμικός πολυμερισμός.

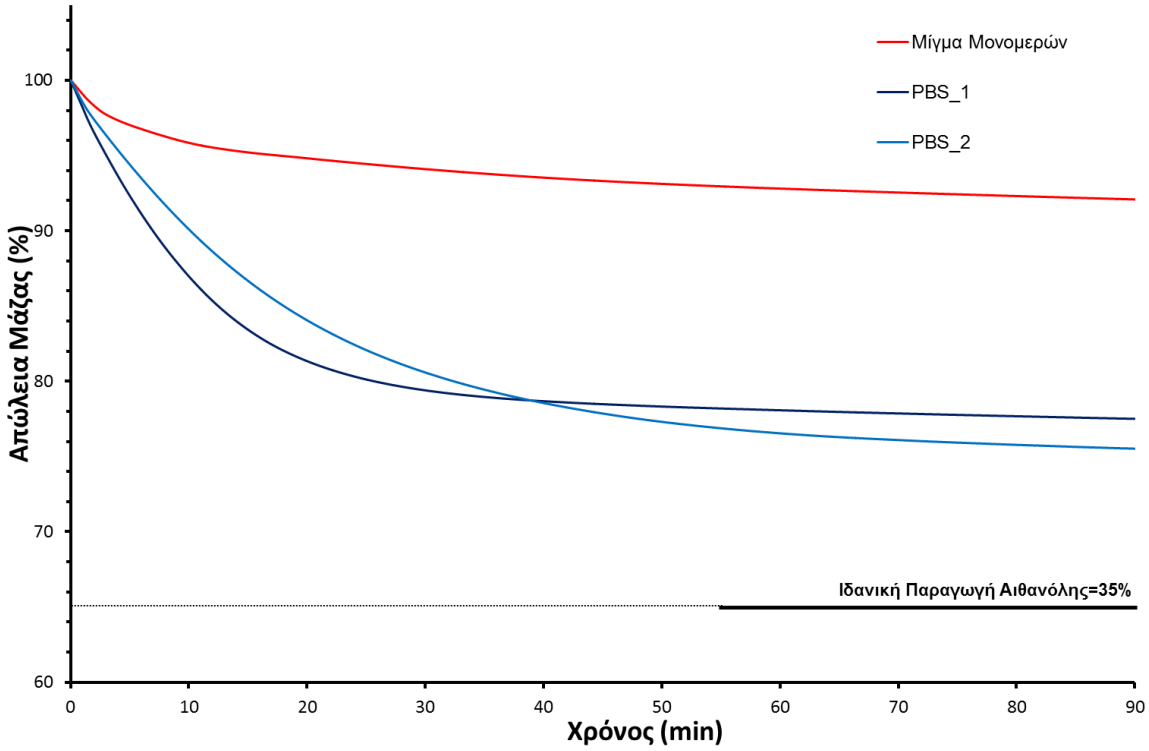
Εκτός από τα παραπάνω διεξήχθησαν επίσης κάποια πειράματα αναφοράς στις συνθήκες του ενζυμικού πολυμερισμού χρησιμοποιώντας το μίγμα των μονομερών απουσία ενζύμου για να επιβεβαιωθεί η επιτυχία του πολυμερισμού.

Οι συνθήκες αντίδρασης παρατίθεται αναλυτικά στο Κεφάλαιο 7.

Πίνακας 6.2: Πειραματικές συνθήκες διεξαγωγής ενζυμικού πολυμερισμού σε μικροαντιδραστήρα TGA με προτρυπημένο καπάκι προς παραγωγή PBS

Πείραμα	**Ποσότητα Μονομερών και Ενζύμου (mg)**	**Χωρητικότητα Καψιδίου (μL)**	**Θερμοκρασία (˚C)**	**Χρόνος Αντίδρασης (min)**	**Ροή Αζώτου (ml/min)**	**Όγκος Αντιδρώντων (%)**
PBS_1	15,97	40	80	90	0	39,90
PBS_2	16,34	40	80	90	0	40,90
Μίγμα Μονομερών	42,66 *(χωρίς ένζυμο)*	100	80	90	0	42,70

Τα διαγράμματα που λήφθηκαν στο τέλος του πολυμερισμού παρατίθενται παρακάτω.



Γράφημα 6.1: Απώλεια μάζας συναρτήσει του χρόνου για ενζυμικό πολυμερισμό σε TGA στους 80˚C, για 90 λεπτά και χωρίς παροχή αζώτου

Από το γράφημα 6.1 παρατηρείται πραγματοποίηση ενζυμικού πολυμερισμού σε όργανο TGA η οποία επιβεβαιώνεται περαιτέρω από τα φάσματα DSC και ^{1}H-NMR που ακολουθούν. Τα αποτελέσματα του πολυμερισμού που πραγματοποιήθηκε παρατίθενται στον Πίνακα 6.3.

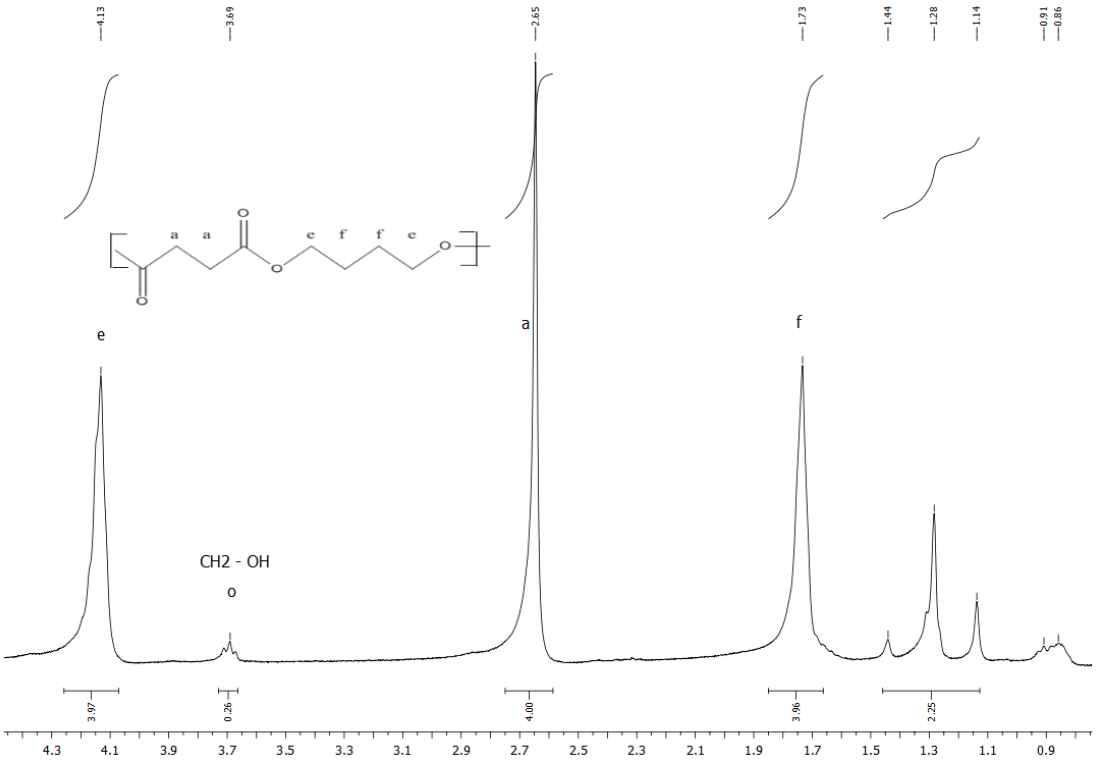
Πίνακας 6.3: Αποτελέσματα θερμοβαρυμετρικής ανάλυσης ενζυμικού πολυμερισμού για παραγωγή PBS

Πείραμα	**Απώλεια Μάζας (%)**	**Κλίση TGA καμπύλης (5-15min)**	**$T_{δείγματος}$ (˚C)**	**Μέση Απώλεια Μάζας (%)**	**Μέση Κλίση Καμπυλών (5-15min)**
PBS_1	23,58	-1,33	79,86 ± 0,23	24,49 ± 0,96	-1,05 ± 0,39
PBS_2	24,98	-0,77	78,96 ± 0,24		
Μίγμα Μονομερών	7,91	-0,18	81,05 ± 0,33		

Η απόκλιση μεταξύ των απωλειών μάζας και των κλίσεων των καμπυλών είναι αρκετά μικρή γεγονός που εξασφαλίζει την επαναληψιμότητα των πειραμάτων. Οι

υψηλές τιμές των απωλειών, σε σύγκριση με το πείραμα αναφοράς (χωρίς προσθήκη ενζύμου), δείχνει το σχηματισμό του επιθυμητού προϊόντος (PBS). Πιθανώς η διαφορά τόσο στις απώλειες μαζών όσο και στις κλίσεις των καμπυλών οφείλεται στην διαφορετική καταλυτική συμπεριφορά του ενζύμου.

Η επιβεβαίωση σχηματισμού πολυμερούς στηρίζεται στην παρακάτω εικόνα που δίνει το φάσμα της Φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (Εικ. 6.2) του παραγόμενου προϊόντος PBS_1.

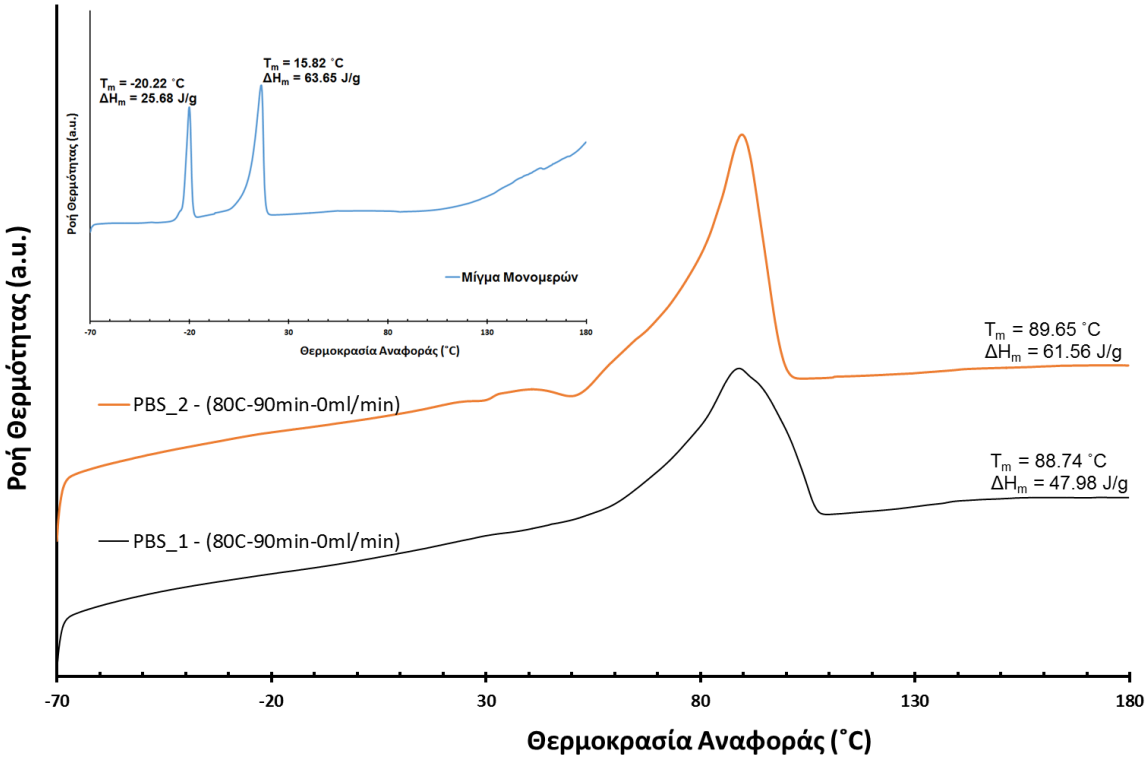


Εικόνα 6.2: Φάσμα 1H-NMR για το PBS_1

Όπως φαίνεται από το φάσμα τα υδρογόνα (H) που βρίσκονται στη θέση e και παρουσιάζουν απορρόφηση στα 4,13 ppm, με ένταση απορρόφησης 3,92 αντιστοιχούν στο άτομο του άνθρακα (C) που βρίσκεται δίπλα από τον εστερικό δεσμό (-CH_2O-), εντός της επαναλαμβανόμενης δομικής μονάδας. Τα υδρογόνα που βρίσκονται στη θέση a και παρουσιάζουν απορρόφηση στα 2,63 ppm και ένταση απορρόφησης 4 αντιστοιχούν στις ομάδες (-$COCH_2$-) εντός της επαναλαμβανόμενης δομικής μονάδας. Τα υδρογόνα που βρίσκονται στην θέση f και παρουσιάζουν απορρόφηση στα 1,73 ppm αντιστοιχούν στις ομάδες (-CH_2-). Επίσης παρατηρούμε και σήματα χαμηλής έντασης στα 3,69 ppm από τα υδρογόνα της θέσης o που αντιστοιχούν στον άνθρακα (C) που βρίσκεται δίπλα από την ακραία υδροξυλομάδα και σήματα στα 1,44-1,14 ppm που αντιστοιχούν στα υδρογόνα των ομάδων

(CH_3CH_2O-) που βρίσκονται εκτός της επαναλαμβανόμενης δομικής μονάδας. Το μοριακό βάρος M_n υπολογίζεται από τη σχέση 4.1 ίσο με 2844 g/mol.

Ακολούθως παρατίθεται το θερμογράφημα της Θερμιδομετρίας Σάρωσης των παραπάνω πειραμάτων στο οποίο συμπεριλαμβάνεται και το θερμογράφημα του μίγματος των μονομερών χωρίς την παρουσία ενζύμου (Διαγ. 6.2).



Γράφημα 6.2: DSC θερμογράφημα των PBS_1 και PBS_2

Το γράφημα 6.2 επιβεβαιώνει και αυτό με τη σειρά του, το σχηματισμό προϊόντος ενζυμικού πολυμερισμού καθώς οι κορυφές που εμφανίζονται πλησιάζουν το σημείο τήξης του εμπορικού PBS το οποίο κυμαίνεται στις τιμές 110-120˚C [1]. Η διαφορά στην θερμοκρασία τήξης ενζυμικού και χημικού PBS οφείλεται κυρίως στο χαμηλό μοριακό βάρος του ενζυμικά σχηματιζόμενου πολυμερούς σε σύγκριση με το μοριακό βάρος του χημικού. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης DSC δίνονται στον Πίνακα 6.4.

Πίνακας 6.4: Αποτελέσματα ανάλυσης Θερμιδομετρίας Σάρωσης και ^{1}H-NMR

Πείραμα	**T_m (˚C)**	**ΔH_m (J/g)**	**Μέσο T_m (˚C)**	**Μέσο ΔH_m (J/g)**	**M_n (g/mol)**
PBS_1	88,74	47,98	89,20 ± 0,64	54,77 ± 9,60	2844
PBS_2	89,65	61,56			

6.4ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 6^{ΟΥ} ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ

1. Danijela Jovanovi, Marija S. Nikoli And Jasna Djonlagi, Synthesis and characterization of biodegradable aliphatic copolyesters with hydrophilic soft segments 2004

7. ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΣΑΝ ΤΟΝ ΠΟΛΥΜΕΡΙΣΜΟ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ TGA ΩΣ ΟΡΓΑΝΟ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ ΤΗΣ ΕΝΖΥΜΙΚΗΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ

7.1ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός του κεφαλαίου είναι η αξιολόγηση του οργάνου TGA ως προς την δυνατότητα ελέγχου του ενζυμικού πολυμερισμού, ο οποίος πραγματοποιείται σε αδρανή ατμόσφαιρα κάτω από διαφορετικές συνθήκες με βασικές εξεταζόμενες παραμέτρους τη θερμοκρασία, τη ροή αζώτου και την ομοιογένεια του ενζύμου.

Η αξιολόγηση αυτή βασίζεται στην απώλεια μάζας που καταγράφει το όργανο κάθε χρονική στιγμή για όλο το διάστημα που λαμβάνει χώρα η αντίδραση. Η απεικόνιση της μείωσης αυτής δίδεται από το όργανο με μορφή καμπύλης στην οποία ενδιαφέρον παρουσιάζει η τιμή της κλίσης ιδιαίτερα στα πρώτα λεπτά της αντίδρασης. Η κλίση σε συνδυασμό με την τελική απώλεια μάζας αποτελούν τα στοιχεία που επιβεβαιώνουν την επίτευξη ή μη του ενζυμικού πολυμερισμού.

Μια ακόμη ένδειξη της επίτευξης πολυμερισμού αποτελεί η μακροσκοπική παρατήρηση του προϊόντος. Η εικόνα ενός υδαρούς υλικού ή υγρού στο καψίδιο της αντίδρασης αποδεικνύει την αποτυχία της αντίδρασης και συνάδει με την πολύ μικρή απώλεια μάζας που καταγράφεται και με την εικόνα του φάσματος ^{1}H-NMR (Δείγμα 1, δείγμα 2).

Επιπλέον, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (^{1}H-NMR) και της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC) που διεξήχθησαν και που περιγράφονται στο κεφάλαιο 4. Ακολουθεί σχολιασμός των αποτελεσμάτων και διατύπωση των συμπερασμάτων που προκύπτουν σε σχέση με την ποιότητα και τις ιδιότητες των παραγόμενων πολυεστέρων που καθορίζουν τις πιθανές εφαρμογές των πολυεστέρων αυτών στη βιομηχανία και την καθημερινή ζωή.

7.2 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΔΙΕΞΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΜΕΤΕΣΤΕΡΟΠΟΙΗΣΗΣ ΔΙ-ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑ ΣΕ TGA ΜΕ ΛΙΠΑΣΗ

Οι συνθήκες που εφαρμόστηκαν στα πειράματα της παραγράφου 6.3, προέκυψαν μετά από έλεγχο διαφόρων συνθηκών. Πιο συγκεκριμένα, ο ενζυμικός πολυμερισμός πραγματοποιήθηκε υπό την επίδραση διαφόρων παραμέτρων ώστε να προσδιοριστούν οι βέλτιστες συνθήκες του πολυμερισμού σε αδρανή ατμόσφαιρα που εξασφαλίζει το όργανο του TGA. Εξετάστηκε ένα εύρος θερμοκρασιών 65˚C, 75˚C, 80˚C και δύο ροές αζώτου 0ml/min και 5ml/min έχοντας ως σταθερές μεταβλητές το χρόνο αντίδρασης (90 λεπτά) και το ποσοστό του όγκου πλήρωσης

των δοχείων μέσα στα οποία γίνεται η αντίδραση (40%) . Συνολικά τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν και οι συνθήκες αυτών, παρατίθενται στον Πίνακα 7.1

Πίνακας 7.1: Πειραματικές συνθήκες διεξαγωγής ενζυμικού πολυμερισμού στον μικροαντιδραστήρα TGA προς παραγωγή PBS

Πείραμα	**Ποσότητα Μονομερών και Ενζύμου (mg)**	**Χωρητικότητα Καψιδίου (μL)**	**Καπάκι που χρησιμοποιήθηκε**	**Θερμοκρασία (˚C)**	**Χρόνος Αντίδρασης (min)**	**Ροή Αζώτου (ml/min)**	**Όγκος Αντιδρώντων (%)**
PBS_1	15,97	40	Προτρυπημένο (50μm)	80	90	0	39,90
PBS_2	16,34	40	Προτρυπημένο (50μm)	80	90	0	40,90
PBS_3	38,39	100	Προτρυπημένο (50μm)	65	90	0	38,40
PBS_4	38,76	100	Προτρυπημένο (50μm)	65	90	0	38,80
PBS_5	38,74	100	Προτρυπημένο (50μm)	65	90	0	38,70
PBS_6	38,92	100	Προτρυπημένο (50μm)	75	90	0	38,90
PBS_7	37,64	100	Προτρυπημένο (50μm)	75	90	0	37,60
PBS_8	39,94	100	Απροσδιορ. διαμέτρου τρύπα	75	90	5	39,90
PBS_9	37,41	100	Προτρυπημένο (50μm)	75	90	0	37,40
PBS_10	41,49	100	Προτρυπημένο (50μm)	75	90	0	41,50
PBS_11	39,06	100	Προτρυπημένο (50μm)	75	90	5	39
PBS_12	36,84	100	Προτρυπημένο (50μm)	75	90	0	36,80
PBS_13	37,89	100	Προτρυπημένο (50μm)	75	90	5	37,90
PBS_14	16,25	40	Προτρυπημένο (50μm)	80	90	5	40,60

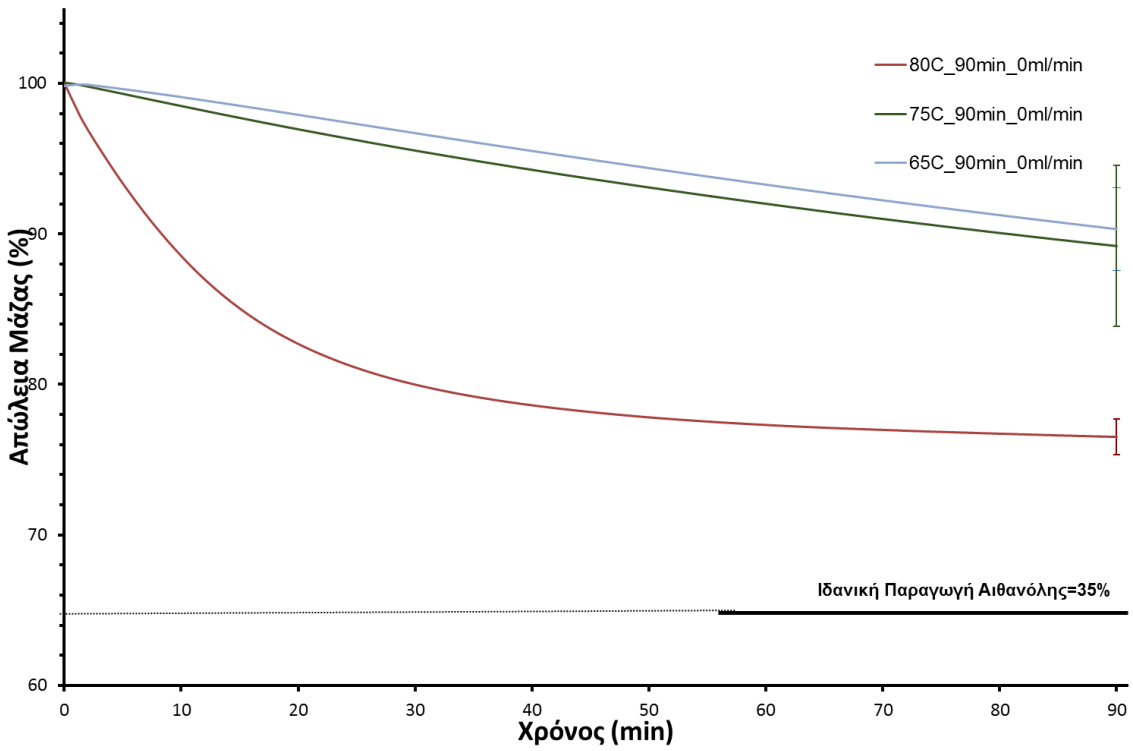
PBS_15	16,35	40	Προτρυπημένο (50μm)	80	90	5	40,90
PBS_16	38,16	100	Προτρυπημένο (50μm)	80	90	0	38,20
PBS_17	16,16	40	Προτρυπημένο (50μm)	80	90	0	40,40
PBS_18	16,39	40	Προτρυπημένο (50μm)	80	90	0	41
PBS_19	39,95	100	Προτρυπημένο (50μm)	80	90	0	43
PBS_20	17,21	40	Προτρυπημένο (50μm)	80	90	0	39,90
PBS_21	16,38	40	Προτρυπημένο (50μm)	80	90	0	40,90
PBS_22	17,10	40	Προτρυπημένο (50μm)	80	90	5	42,80
PBS_23	38,05	100	Απροσδιόρ. διαμέτρου τρύπα	95	90	5	38

Η εξέταση της επιρροής διαφόρων συνθηκών αντίδρασης κατά τον ενζυμικό πολυμερισμό στηρίχτηκε στις επιτυχημένες απόπειρες πολυμερισμού.

7.2.1 ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ

Για τη μελέτη επίδρασης της θερμοκρασίας στη διαδικασία του πολυμερισμού στο TGA χρησιμοποιήθηκαν για τους 65˚C τα PBS_3 και PBS_4, για τους 75˚C τα PBS_9 και PBS_10 και τέλος για τους 80˚C τα PBS_1 και PBS_2.

Το Γράφημα 7.1 απεικονίζει την απώλεια μάζας συναρτήσει του χρόνου για τις διάφορες θερμοκρασίες στις οποίες πραγματοποιήθηκε ο ενζυμικός πολυμερισμός.



Γράφημα 7.1: Απώλεια μάζας συναρτήσει του χρόνου για ενζυμικό πολυμερισμό σε TGA στους 65˚C, 75˚C, 80˚C, για 90 λεπτά και χωρίς παροχή αζώτου

Συμπερασματικά, αυξάνοντας τη θερμοκρασία της αντίδρασης παρατηρείται αύξηση της απώλειας μάζας καθώς και αύξηση στις τιμές των κλίσεων των καμπυλών κατά τα πρώτα 15 λεπτά.

Πίνακας 7.2: Αποτελέσματα θερμοβαρυμετρικής ανάλυσης ενζυμικού πολυμερισμού για παραγωγή PBS σε διαφορετικές θερμοκρασίες

Πείραμα	**Μέση Απώλεια Μάζας (%)**	**RSD (%)**	**Μέση Τιμή Κλίσεων Καμπυλών (5-15min)**	**RSD (%)**
65C_90min_0ml/min	9,67 ± 2,74	28,30	-0,11 ± 0,06	-54,50
75C_90min_0ml/min	10,80 ± 5,35	49,50	-0,16 ± 0,19	-119,30
80C_90min_0ml/min	23,50 ± 1,17	5	-0,83 ± 0,39	-47,40

Τα ποσοτικά αποτελέσματα επιβεβαιώνουν ότι η απώλεια μάζα εξαρτάται από τη θερμοκρασία.

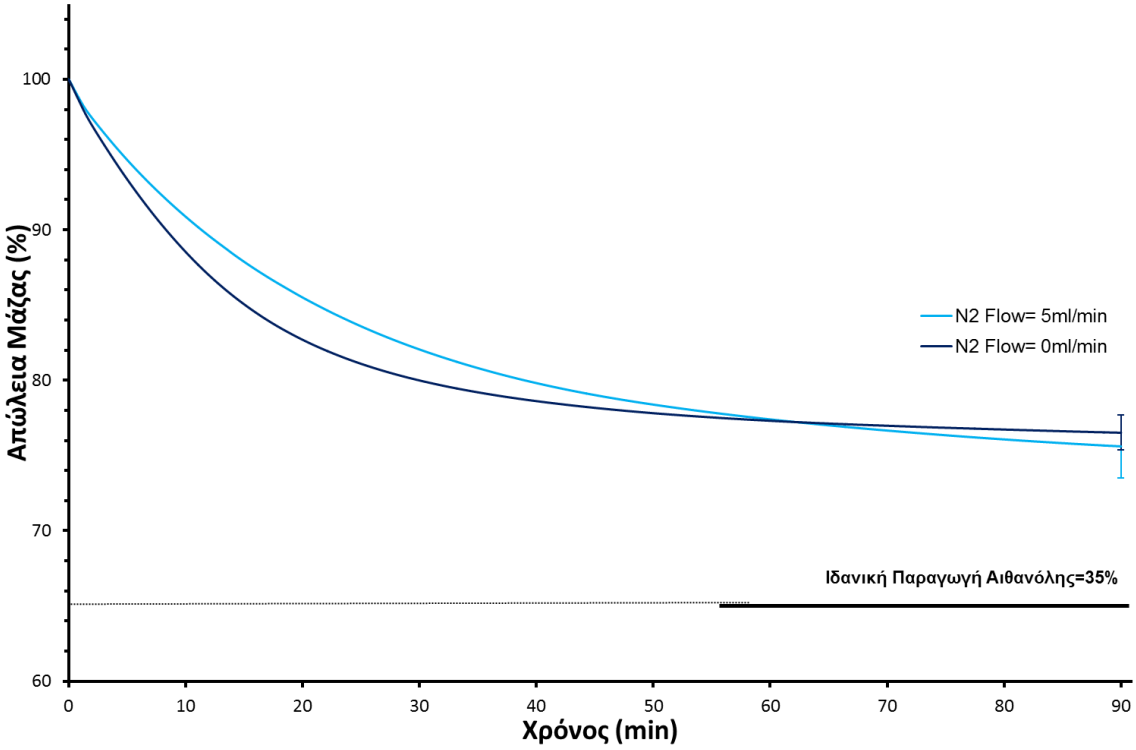
Το φαινόμενο αυτό εξηγείται από την αυξημένη συχνότητα των αντιδράσεων μετεστεροποίησης όταν αυτές πραγματοποιούνται κάτω από υψηλές θερμοκρασίες, διότι διευκολύνεται η κινητικότητα των ακραίων ομάδων ώστε να αντιδράσουν [2]. Εφόσον λοιπόν, το γράφημα 7.1 βρίσκεται σε απόλυτη συμφωνία με τα αποτελέσματα του οργάνου του TGA καταλήγουμε στο ότι η βέλτιστη θερμοκρασία πραγματοποίησης της ενζυμικής παραγωγής PBS κάτω από αδρανής συνθήκες είναι η θερμοκρασία των 80˚C. Ωστόσο, πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι περαιτέρω αύξηση της θερμοκρασίας ενέχει τον κίνδυνο απενεργοποίησης του ενζύμου.

7.2.2 ΡΟΗ ΑΔΡΑΝΟΥΣ ΑΕΡΙΟΥ

Για τη μελέτη επίδρασης της ροής του αζώτου στη διαδικασία του πολυμερισμού στο TGA χρησιμοποιήθηκαν για την ροή των 5 ml/min τα PBS_14 και PBS_15 και για την ροή των 0 ml/min τα PBS_1 και PBS_2.

Η εφαρμογή ροής αδρανούς αερίου στοχεύει στην απομάκρυνση του παραπροϊόντος της αντίδρασης, που στην προκειμένη περίπτωση είναι η αιθανόλη με σημείο βρασμού τους 78,2˚C [1], αλλά μπορεί να επιφέρει και ψύξη του εσωτερικού χώρου του TGA, μεταβάλλοντας τοπικά τη θερμοκρασία αντίδρασης..

Το γράφημα 7.2 απεικονίζει την απώλεια μάζας συναρτήσει του χρόνου για τις δύο διαφορετικές ροές αζώτου στις οποίες πραγματοποιήθηκε ο ενζυμικός πολυμερισμός



Γράφημα 7.2: Απώλεια μάζας συναρτήσει του χρόνου για ενζυμικό πολυμερισμό σε TGA στους 80˚C, για 90 λεπτά σε 5ml/min και 0ml/min ροή αζώτου

Οι επιλεγμένες ροές αζώτου οδήγησαν σε ελαφρώς διαφορετικά αποτελέσματα εντός του σφάλματος (RSD %) πιθανώς λόγω ψύξης του μικροαντιδραστήρα παρουσία αδρανούς αερίου καταλήγοντας πως η παρουσία αζώτου δεν επιδρά ουσιαστικά στην αντίδραση. Το συμπέρασμα αυτό βασίστηκε στην παραπλήσια απώλεια μάζας και για τα τέσσερα πειράματα καθώς και στην παρόμοια κλίση των θερμοβαρυμετρικών καμπυλών.

Τα ποσοτικά αποτελέσματα συνοψίζονται στον πίνακα 7.3 και επιβεβαιώνουν τα συμπεράσματα.

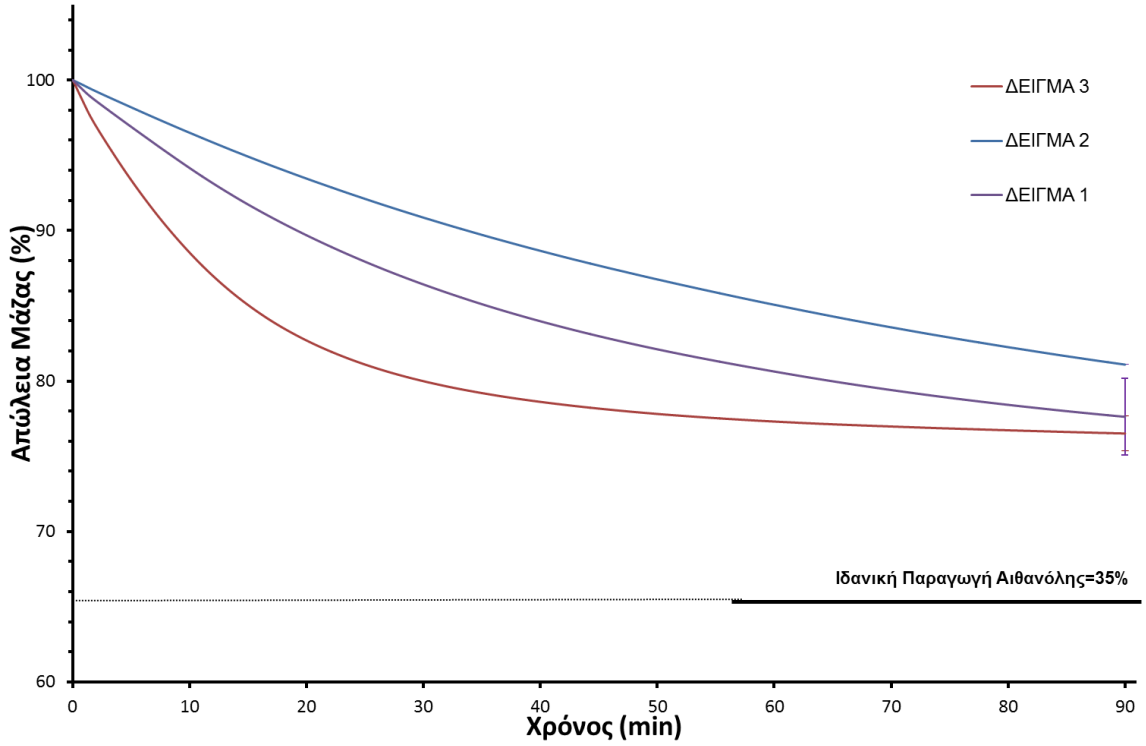
Πίνακας 7.3: Αποτελέσματα θερμοβαρυμετρικής ανάλυσης ενζυμικού πολυμερισμού για παραγωγή PBS

Πείραμα	**Μέση Απώλεια Μάζας (%)**	**RSD (%)**	**Μέση Τιμή Κλίσεων Καμπυλών (5-15min)**	**RSD (%)**
N_2 Flow= 5ml/min	24,40 ± 2,11	8,60	-0,67 ± 0,22	-33
N_2 Flow= 0ml/min	23,50 ± 1,17	5	-0,83 ± 0,39	-47,40

7.2.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΟΜΟΙΟΓΕΝΕΙΑΣ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ (N435)

Για τη μελέτη επίδρασης της ομοιογένειας του ενζύμου στη διαδικασία του πολυμερισμού στο TGA χρησιμοποιήθηκαν για το πρώτο δείγμα του ενζύμου τα PBS_9 και PBS_10, για το δεύτερο δείγμα ενζύμου τα PBS_16 και PBS_17 και για το τρίτο δείγμα τα PBS_1 και PBS_2.

Είναι σημαντικό ότι χρησιμοποιήθηκε ένζυμο μίας συγκεκριμένης παρτίδας παραγωγής από το οποίο λαμβάνονταν δείγμα με τυχαία επιλογή κόκκων για κάθε σειρά πειραμάτων, καταλήγοντας στα αποτελέσματα του γραφήματος 7.3.

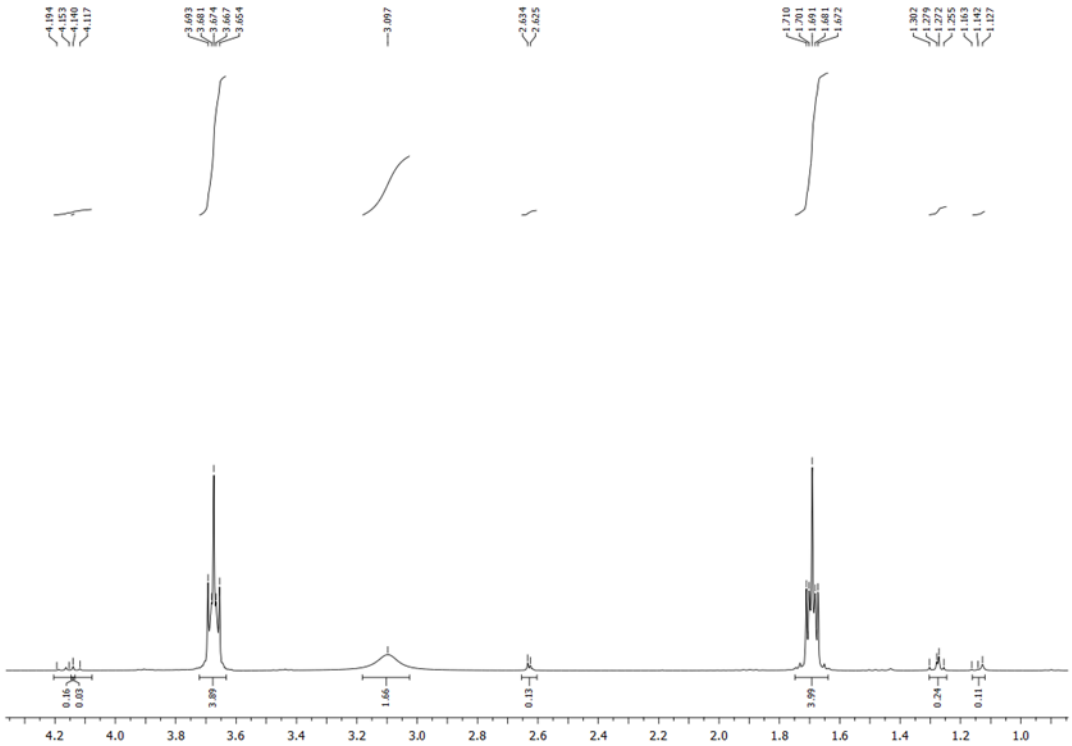


Γράφημα 7.3: Απώλεια μάζας συναρτήσει του χρόνου για ενζυμικό πολυμερισμό σε TGA στους 80˚C, για 90min, χωρίς ροή αζώτου και 3 διαφορετικά δείγματα ενζύμου

Διαφορετικά δείγματα από την ίδια παρτίδα του N435 περιέχουν κόκκους ποικίλης δραστικότητας. Συνεπώς, η πορεία της αντίδρασης διαφέρει, γεγονός που παρατηρείται και από τις κλίσεις των καμπυλών του γραφήματος 7.3 οι οποίες έχουν υπολογιστεί για το χρονικό διάστημα των 5-15 πρώτων λεπτών. Επομένως, το TGA μπορεί να αποτελέσει ένα εργαλείο αξιολόγησης της ομοιογένειας ενός ενζύμου.

Πίνακας 7.4: Αποτελέσματα θερμοβαρυμετρικής ανάλυσης ενζυμικού πολυμερισμού για παραγωγή PBS με χρήση διαφορετικών δειγμάτων ενζύμου

Πείραμα	**Μέση Απώλεια Μάζας (%)**	**RSD (%)**	**Μέση Τιμή Κλίσεων Καμπυλών (5-15min)**	**RSD (%)**
ΔΕΙΓΜΑ 1	22,40 ± 2,55	11,40	-0,52 ± 0,22	-42,90
ΔΕΙΓΜΑ 2	18,09 ± 0	0	-0,35 ± 0	0
ΔΕΙΓΜΑ 3	23,50 ± 1,17	5	-0,83 ± 0,39	-47,40

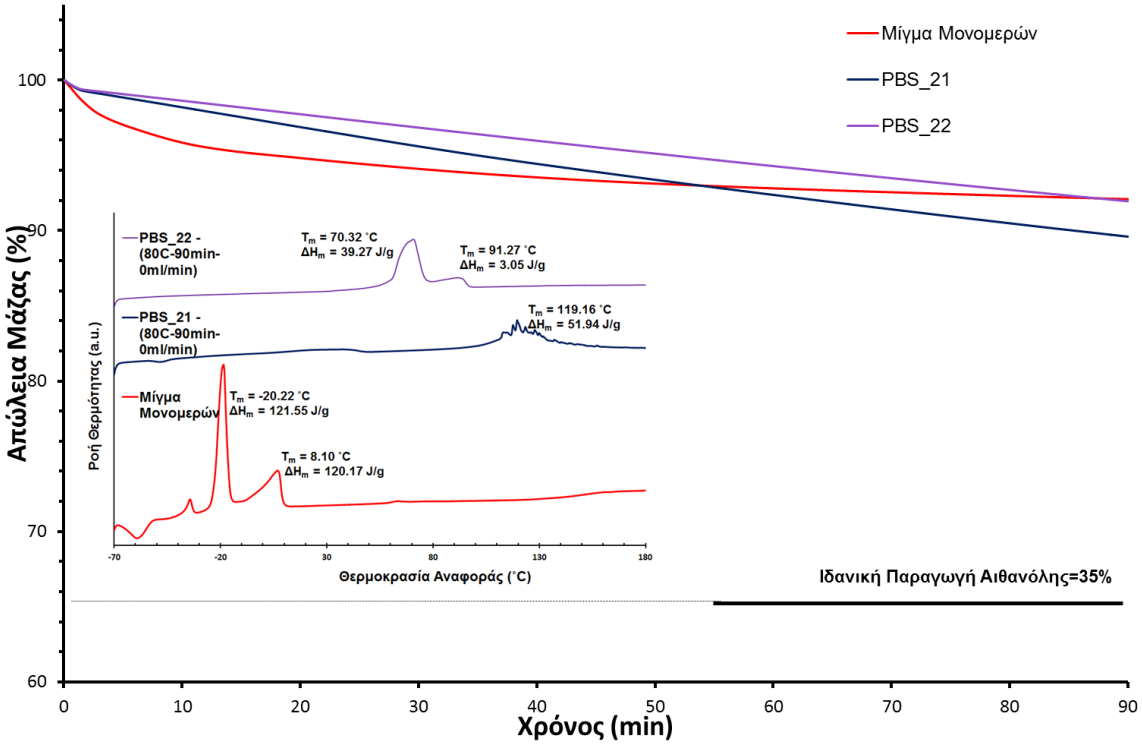


Εικόνα 7.1: Επιβεβαίωση μη σχηματισμού προϊόντος κατά τον ενζυμικό πολυμερισμό σύμφωνα με το ΔΕΙΓΜΑ 1

7.3 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ TGA ΩΣ ΠΡΟΣ ΤΗΝ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΝΑ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΕΙ ΤΟΝ ΕΝΖΥΜΙΚΟ ΠΟΛΥΜΕΡΙΣΜΟ

Το TGA αποτελεί έναν εναλλακτικό τρόπο ελέγχου της πορείας του ενζυμικού πολυμερισμού του πολύ(ηλεκτρικού βουτυλεστέρα) αλλά και άλλων πιθανότατα πολυεστέρων, με χρήση ελάχιστης ποσότητας ενζύμου και μονομερών. Επιπλέον, παρέχει τη δυνατότητα αξιολόγησης της δραστικότητας ενός ενζύμου κατά τη διάρκεια οποιασδήποτε ενζυμικής αντίδρασης.

Τα πειράματα με χαμηλή απώλεια μάζας (PBS_21, PBS_22), με ευθεία καμπύλη αντίδρασης και μικρή κλίση καμπύλης αποτελούν παραδείγματα αποτυχημένου πολυμερισμού. Εκτός της μακροσκοπικής παρατήρησης, το συμπέρασμα αυτό ενισχύεται και από γραφήματα Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης (γράφημα 7.4), όπου εμφανίζονται κορυφές με διακυμάνσεις, πιθανόν λόγω ολιγομερών.



Γράφημα 7.4: Απώλεια μάζας συναρτήσει του χρόνου για ενζυμικό πολυμερισμό σε TGA στους 80˚C, για 90 λεπτά, χωρίς ροή αζώτου

7.4 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 7ΟΥ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ

1. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/702?from=summary
2. Vouyiouka S, Karakatsani E, Papaspyrides C. Solid state polymerization. Prog. Polymer Sci 2005: 30, 10-37

8. ΕΞΕΤΑΣΗ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΚΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ PBS

8.1ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός του κεφαλαίου αυτού είναι η μελέτη της αντίδρασης της 1,4- βουτανοδιόλης και ενός άλλου δικαρβοξυλικού παραγώγου του ηλεκτρικού οξέος, τον δι-μεθυλεστέρα με καταλύτη N435 προς παραγωγή PBS σε μικροκλίμακα. Ακόμα, εξετάζεται η εφικτότητα της ενζυμικής αντίδρασης των 1,4- βουτανοδιόλη και δι-μεθυλεστέρα με εργαστηριακά παρασκευασμένο ένζυμο, την κουτινάση. Τέλος, έγινε προσπάθεια μετάβασης της αντίδρασης ενζυμικού πολυμερισμού της 1,4-βουτανοδιόλης και του δι-αιθυλεστέρα, που αναλύθηκε στα προηγούμενα κεφάλαια, σε μεγαλύτερη κλίμακα.

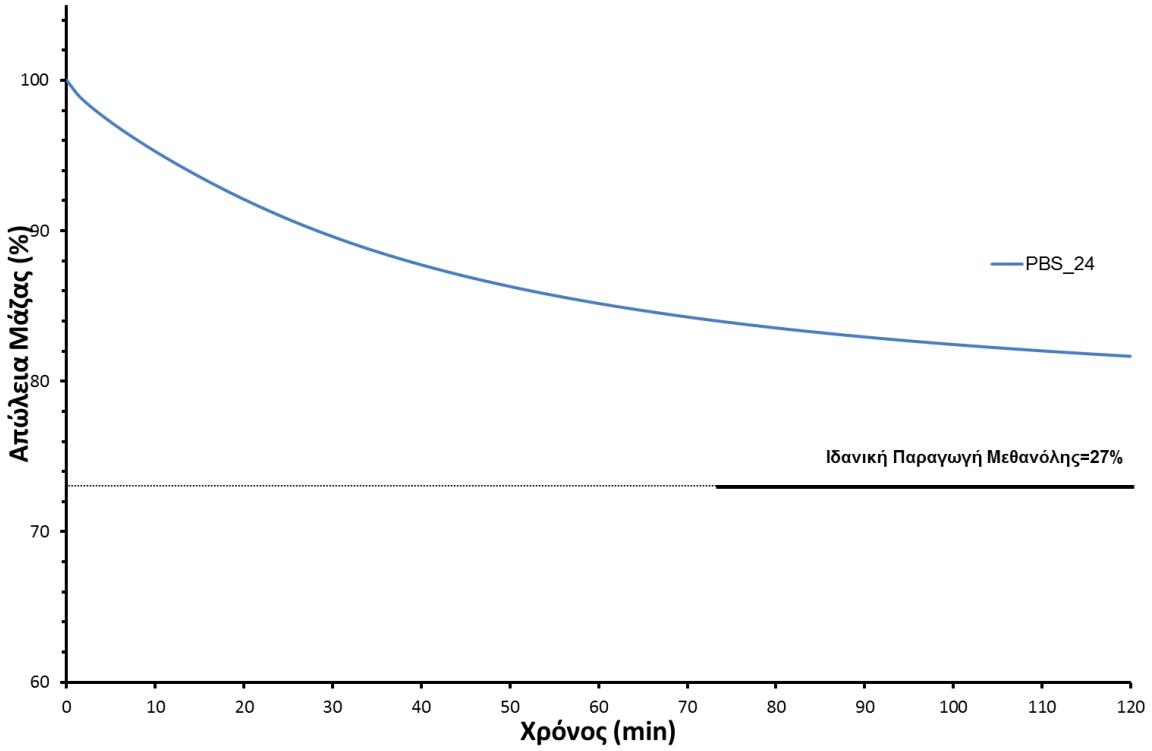
8.2ΕΝΖΥΜΙΚΟΣ ΠΟΛΥΜΕΡΙΣΜΟΣ 1,4- ΒΟΥΤΑΝΟΔΙΟΛΗΣ ΜΕ ΔΙ-ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΑ ΜΕ ΚΑΤΑΛΥΤΗ N435 ΣΕ ΜΙΚΡΟΚΛΙΜΑΚΑ

Με γνώμονα την έρευνα των Sugihara et al. [3] έγινε προσπάθεια παραγωγής του ενδιαφερόμενου προϊόντος με χρήση ενός διαφορετικού μονομερούς στην θέση του δι-αιθυλεστέρα, ένα άλλο δικαρβοξυλικό παράγωγο του ηλεκτρικού οξέος, τον δι-μεθυλεστέρα. Οι ποσότητες μονομερών και ενζύμου που χρησιμοποιήθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 8.1 ενώ οι συνθήκες κάτω από τις οποίες έλαβε χώρα ο πολυμερισμός παρατίθενται στον Πίνακα 8.2.

Πίνακας 8.1: Υπολογισμός θεωρητικών ποσοτήτων που θα χρησιμοποιηθούν στον πολυμερισμό

	MW (g/mol)	**Θεωρ. Ποσότ. (mmol)**	**Θεωρ. Ποσότ. (mg)**	**mmol CH_3OH**	**mg CH_3OH**	**Θεωρ. Παραγ. Πολυμερές (mg)**	**% CH_3OH (wt)**
1,4-Βουτανοδιόλη (l)	90	0,14	12,60				
Δι-μεθυλεστέρας (l)	164,10	0,14	20,46				
Συνολικά μονομερή			33,06				
N435			6,61				
ΣΥΝΟΛΟ			39,67	0,28	8,96	24,10	27

Η προετοιμασία των αντιδράσεων ακολούθησε την πορεία που περιγράφηκε στο κεφάλαιο 6.3 και οι συνθήκες του πολυμερισμού παραθέτονται στον Πίνακα 8.2.

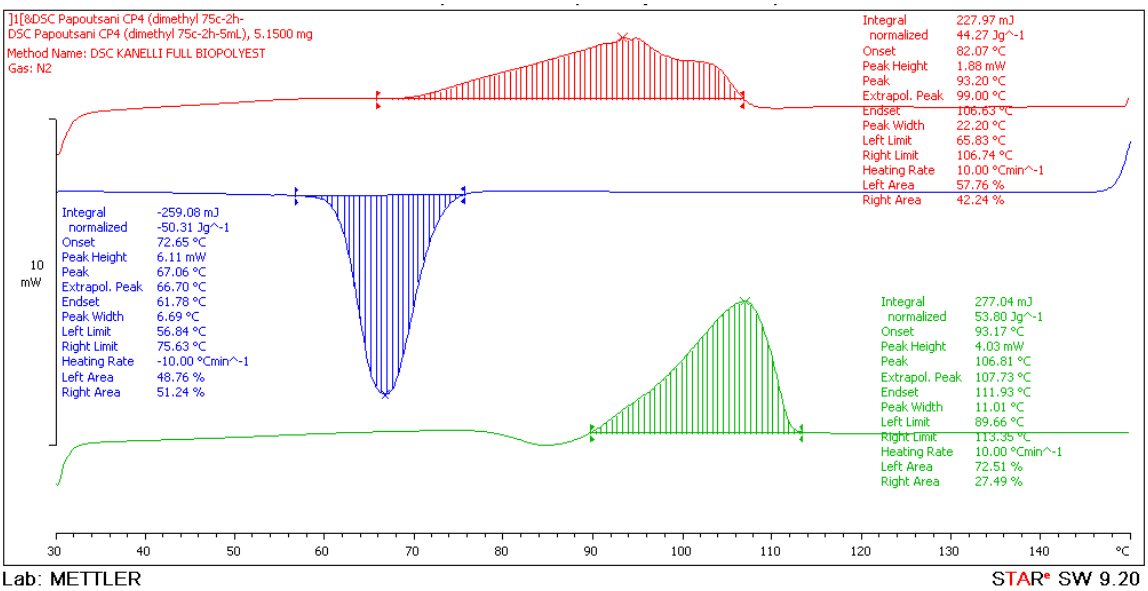


Γράφημα 8.1: Απώλεια μάζας συναρτήσει του χρόνου για ενζυμικό πολυμερισμό σε TGA στους 75˚C, για 120 λεπτά και 5ml/min ροή αζώτου

Πίνακας 8.2: Πειραματικές συνθήκες διεξαγωγής ενζυμικού πολυμερισμού στον «μικροαντιδραστήρα» TGA προς παραγωγή PBS

Πείραμα	Ποσότητα Μονομερών και Ενζύμου (mg)	Χωρητικότητα Καψιδίου (μL)	Θερμοκρασία (˚C)	Χρόνος Αντίδρασης (min)	Ροή Αζώτου (ml/min)	Όγκος Αντιδρώντων (%)
PBS_24	39,46	100	75	120	5	39,46

Τα αποτελέσματα επιβεβαιώνονται με το θερμογράφημα του PBS_24 το οποίο ακολουθεί παρακάτω (Εικ. 8.1) δίνοντας τα σημεία τήξης του πολυμερούς που σχηματίστηκε καθώς και την ενθαλπία.



Εικόνα 8.1: Θερμογράφημα DSC του PBS_24

Πίνακας 8.3: Πειραματικά αποτελέσματα Θερμοβαρυμετρικής ανάλυσης και Ανάλυσης Θερμιδομετρίας Σάρωσης

Πείραμα	Απώλεια Μάζας (%)	Κλίση TGA καμπύλης (5-15min)	$T_{δείγματος}$ (˚C)	T_{m1} (˚C)	T_c (˚C)	T_{m2} (˚C)	$ΔH_{m1}$ (J/g)
PBS_24	18,34	-0,36	80,28 ± 0,26	93,20	67,06	106,81	44,27

8.3ΕΝΖΥΜΙΚΟΣ ΠΟΛΥΜΕΡΙΣΜΟΣ 1,4- ΒΟΥΤΑΝΟΔΙΟΛΗΣ ΜΕ ΔΙ-ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΑ ΣΕ ΜΙΚΡΟΚΛΙΜΑΚΑ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΚΟΥΤΙΝΑΣΗΣ

Σε αυτή την αντίδραση ο διεστέρας που χρησιμοποιήθηκε ήταν ο διμεθυλεστέρας ο οποίος κατά τον πολυμερισμό του με τη διόλη απελευθερώνει μεθανόλη με σημείο ζέσεως τους 64,7˚C [1]. Ο εξεταζόμενος ως επί το πλείστον δι-αιθυλαιστέρας απελευθερώνει αιθανόλη με σημείο ζέσεως 78,2˚C ως παραπροϊόν αντίδρασης με την διόλη[2]. Για την εξέταση της συμπεριφοράς της κουτινάσης στη σύνθεση PBS λαμβάνεται υπόψη ότι η κουτινάση διατηρεί την ενεργότητά της μέχρι 70 ˚C [3,4].

Επομένως, η αντίδραση σύνθεσης απαιτεί τη χρήση ενός αρχικού μονομερούς που οδηγεί σε σχηματισμό παραπροϊόντος με χαμηλό σημείο βρασμού (64,7˚C), ώστε να διευκολύνεται η απομάκρυνσή του λόγω θερμοκρασίας ακόμα και της τάξης των 70ºC.

Για αυτόν το λόγο χρησιμοποιήθηκε ως μονομερές ο δι-μεθυλεστέρας καθώς η μεθανόλη, ως παραπροϊόν με χαμηλό σημείο βρασμού είναι ευκολότερο να διαφύγει. Οι ποσότητες μονομερών και ενζύμου που χρησιμοποιήθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 8.4 ενώ οι συνθήκες κάτω από τις οποίες έλαβε χώρα ο πολυμερισμός παρατίθενται στον Πίνακα 8.5.

Πίνακας 8.4: Υπολογισμός θεωρητικών ποσοτήτων που θα χρησιμοποιηθούν στον πολυμερισμό

	MW (g/mol)	**Θεωρ. Ποσότ. (mmol)**	**Θεωρ. Ποσότ. (mg)**	**mmol CH_3OH**	**mg CH_3OH**	**Θεωρ. Παραγ. Πολυμερές (mg)**	**% CH_3OH (wt)**
1,4-Βουτανοδιόλη (l)	90	0,14	12,60				
Δι-μεθυλεστέρας (l)	164,10	0,14	20,46				
Συνολικά μονομερή			33,06				
Κουτινάση			0,99 (3%) ή 1,50 (5%)				
ΣΥΝΟΛΟ			34,05 ή 34,56	0,28	8,96	24,10	27

Όπως και στα πειράματα με δι-αιθυλεστέρα ως μονομερές, ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία, ενώ οι συνθήκες της αντίδρασης παρουσιάζονται στον Πίνακα 8.5.

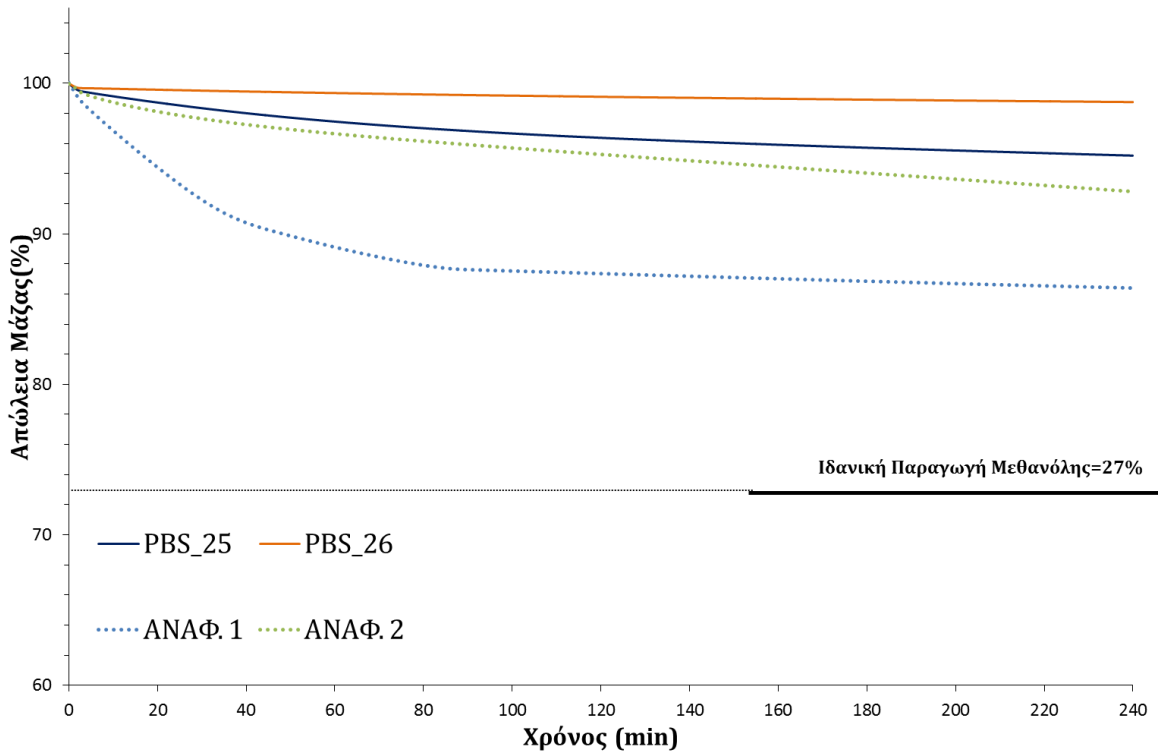
Πίνακας 8.5: Πειραματικές συνθήκες διεξαγωγής ενζυμικού πολυμερισμού στον «μικροαντιδραστήρα» TGA προς παραγωγή PBS

Πείραμα	**Ποσότητα Μονομερών και Ενζύμου (mg)**	**Χωρητικότητα Καψιδίου (μL)**	**Θερμοκρασία (˚C)**	**Χρόνος Αντίδρασης (min)**	**Ροή Αζώτου (ml/min)**	**Όγκος Αντιδρώντων (%)**
PBS_25	33,31	100	50	240	0	33,31
PBS_26	37,62	100	55	240	0	37,62

Εκτός από τα παραπάνω διεξήχθησαν επίσης κάποια πειράματα αναφοράς στις συνθήκες του ενζυμικού πολυμερισμού χρησιμοποιώντας το μίγμα των μονομερών απουσία ενζύμου για να επιβεβαιωθεί η επιτυχία του πολυμερισμού. Οι συνθήκες των πειραμάτων αναφοράς δίνονται στον πίνακα 8.6.

Πίνακας 8.6: Πειραματικές συνθήκες διεξαγωγής πειραμάτων αναφοράς χωρίς την χρήση ενζύμου στον «μικροαντιδραστήρα» TGA

Πείραμα	Ποσότητα Μονομερών και Ενζύμου (mg)	Χωρητικότητα Καψιδίου (μL)	Θερμοκρασία (˚C)	Χρόνος Αντίδρασης (min)	Ροή Αζώτου (ml/min)	Όγκος Αντιδρώντων (%)
ΑΝΑΦ. 1	35,09	100	50	240	0	35,09
ΑΝΑΦ. 2	35,95	100	55	240	0	35,95



Γράφημα 8.2: Απώλεια μάζας συναρτήσει του χρόνου για τον ενζυμικό πολυμερισμό με χρήση Κουτινάσης

Το γράφημα 8.2 είναι ενδεικτικό ενός αποτυχημένου πολυμερισμού, με κριτήριο την ελάχιστη απώλεια μάζας και την ευθεία καμπύλη αντίδρασης (μικρή κλίση) που παρουσιάζουν οι δοκιμές PBS_25 και PBS_26.

Η μεγαλύτερη απώλεια μάζας που παρατηρείται στα δείγματα αναφοράς αποδίδεται στην πτητικότητα των μονομερών.

Τα ποσοτικά αποτελέσματα της παραπάνω ανάλυσης δίνονται στον πίνακα 8.7 τα οποία και επαληθεύουν το προηγούμενο γράφημα.

Πίνακας 8.7: Αποτελέσματα θερμοβαρυμετρικής ανάλυσης ενζυμικού πολυμερισμού για παραγωγή PBS με χρήση ενζύμου Κουτινάση

Πείραμα	**Απώλεια Μάζας (%)**	**Κλίση TGA καμπύλης (5-35 min)**	**T_{sample} (˚C)**	**Μέση Απώλεια Μάζας (%)**	**Μέση Κλίση Καμπυλών (5-15min)**
PBS_25	4,44	-0,04	52,34 ± 0,30	2,86 ± 2,26	-0,02 ± 0,02
PBS_26	1,24	-0,01	56,63 ± 0,28		
ΑΝΑΦ. 1	13,61	-0,23	52,38 ± 0,31		
ΑΝΑΦ. 2	7,20	-0,06	56,64 ± 0,38		

8.4ΕΝΖΥΜΙΚΟΣ ΠΟΛΥΜΕΡΙΣΜΟΣ 1,4- ΒΟΥΤΑΝΟΔΙΟΛΗΣ ΜΕ ΔΙ-ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑ ΣΕ ΜΕΓΑΛΗ ΚΛΙΜΑΚΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ (2 g) ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ Ν435

Έγινε προσπάθεια μετάβασης της διεργασίας ενζυμικού πολυμερισμού της 1,4-βουτανοδιόλης και του δι-αιθυλεστέρα με καταλύτη το ένζυμο Ν435 από την μικροκλίμακα του TGA σε μεγαλύτερη εργαστηριακή κλίμακα (~ 2 g).

Οι θεωρητικές ποσότητες που υπολογίστηκαν (Πίν. 8.8) βασίζονται αρχικά στη στοιχειομετρία των αντιδρώντων η οποία διατηρείται στο 1:1 καθώς επίσης και στη χωρητικότητα του γυάλινου φιαλιδίου στο οποίο θα λάβει χώρα ο ενζυμικός πολυμερισμός. Το φιαλίδιο είναι χωρητικότητας 4ml οπότε για να διατηρηθεί ο όγκος πλήρωσης στο 40% ο συνολικός όγκος των μονομερών με το ένζυμο υπολογίζεται 1,6ml, ίση με 1.6g μάζας, δεδομένης πυκνότητας μονομερών ~1g/cm^3.

Πίνακας 8.8: Υπολογισμός θεωρητικών ποσοτήτων που θα χρησιμοποιηθούν στον πολυμερισμό

	MW (g/mol)	**Θεωρ. Ποσότ. (mol)**	**Θεωρ. Ποσότ. (g)**	**mol CH_3OH**	**g CH_3OH**	**Θεωρ. Παραγ. Πολυμερές (g)**	**% CH_3OH (wt)**
1,4-Βουτανοδιόλη (l)	90	0,005	0,45				
Δι-αιθυλεστέρας (l)	174,2	0,005	0,87				
Συνολικά μονομερή			1,32				
N435			0,26				
ΣΥΝΟΛΟ			1,59	0,01	0,46	0,86	35

Τα μονομερή προστέθηκαν με πιπέτα σε γυάλινο φιαλίδιο χωρητικότητας 4ml, όπου τοποθετήθηκε και το ένζυμο και μαγνητικός αναδευτήρας. Έπειτα το γυάλινο φιαλίδιο κουμπώθηκε με τρυπημένο καπάκι με απροσδιόριστη διάμετρο τρύπας και τοποθετήθηκε στο ελαιόλουτρο της εικόνας 5.3. Για προσομοίωση του περιβάλλοντος του TGA εφαρμόστηκε εξωτερικά χαμηλή ροή αζώτου ως «ομπρέλα» για απομάκρυνση του παραπροϊόντος και εφαρμόστηκαν οι συνθήκες αντίδρασης (Πιν. 8.9) που προσδιορίστηκαν ως βέλτιστες στο σύστημα TGA.

Πίνακας 8.9: Πειραματικές συνθήκες διεξαγωγής ενζυμικού πολυμερισμού σε μεγαλύτερη κλίμακα (2 g)

Πείραμα	**Ποσότητα Μονομερών και Ενζύμου (g)**	**Χωρητικότητα Φιαλιδίου (ml)**	**Θερμοκρασία (˚C)**	**Χρόνος Αντίδρασης (min)**	**Ροή Αζώτου (ml/min)**	**Όγκος Αντιδρώντων (%)**
PBS_27	1,65	100	80	90	0	41,25
Μίγμα Μονομερών	1,38	100	80	90	0	34,50

Μετά την πραγματοποίηση της αντίδρασης του PBS_27, ποσότητα χλωροφορμίου προστέθηκε στο γυάλινο φιαλίδιο ίση με το ¼ του συνόλου των αντιδρώντων. Έπειτα έγινε διήθηση υπό κενό του προϊόντος για την απομάκρυνση του ενζύμου και τον καθαρισμό αυτού προς επαναχρησιμοποίηση σε άλλο πείραμα. Στη συνέχεια προστέθηκε στάγδην ποσότητα μεθανόλης, ενώ το μίγμα βρίσκεται υπό συνεχή ανάδευση, ίση με 4 φορές την ποσότητα του χλωροφορμίου.

Σε έναν επιτυχημένο πολυμερισμό, κατά την προσθήκη της μεθανόλης το χλωροφόρμιο διαλύεται ενώ το πολυμερές καταβυθίζεται. Στην συγκεκριμένη περίπτωση δεν παρατηρήθηκε καταβύθιση. Για αυτό το λόγο το μίγμα υποβλήθηκε σε εξάτμιση υπό κενό σε περιστροφικό εξατμιστήρα (εικόνα 5.4) για να απομακρυνθούν το χλωροφόρμιο και η μεθανόλη. Το τελικό προϊόν που παρέμεινε στη σφαιρική φιάλη είχε τη μορφή ενός κολλώδους αδιαφανούς ρευστού. Δείγματα από αυτό το ρευστό λήφθηκαν για περαιτέρω ανάλυση σε DSC και ^{1}H-NMR.

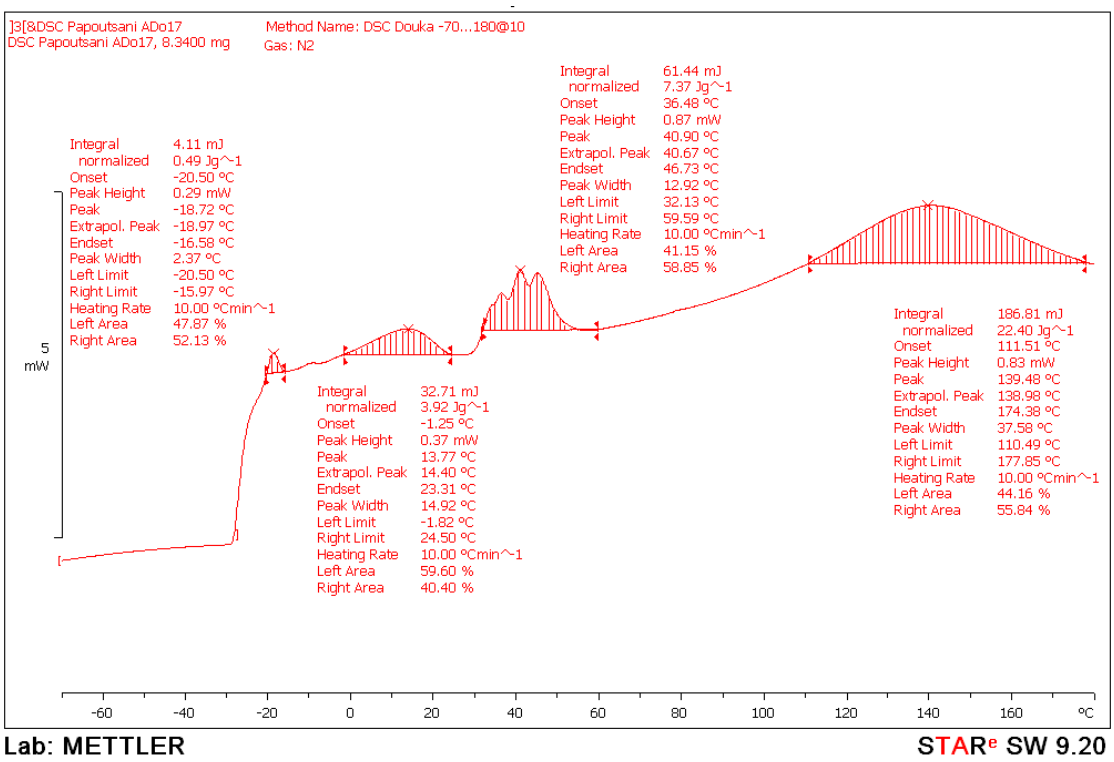
Τα αποτελέσματα που λήφθηκαν μετά την διεξαγωγή των πειραμάτων δίνονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 8.10: Αποτελέσματα Διεξαγωγής Πειραμάτων σε Μεγάλη Κλίμακα (~2 g)

Πείραμα	**Απώλεια Μάζας (%)**	**$T_{δείγματος}$ (˚C)**	**^{1}H-NMR M_n (g/mol)**
PBS_27	28,64	80 ± 1,50	549,60*
Μίγμα Μονομερών	0,28	80 ± 1,50	

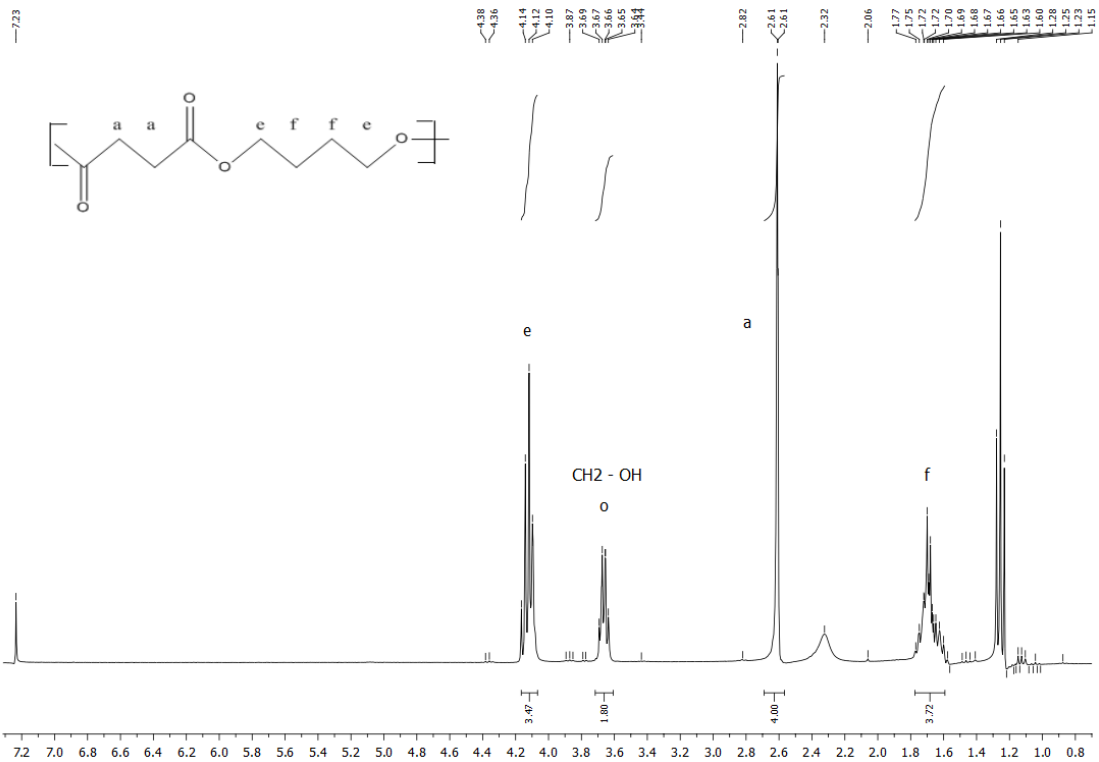
*υπολογίστηκε με βάση τη σχέση 4.1

Το θερμογράφημα DSC για το PBS_27 απεικονίζεται ακολούθως.



Εικόνα 8.2: Θερμογράφημα Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης για το PBS_27

Καμία κορυφή δεν αντιστοιχεί σε θερμοκρασία κοντά στο αναμενόμενο σημείο τήξης του PBS. Οι κορυφές αντιπροσωπεύουν είτε μονομερή είτε ξένα σώματα που βρέθηκαν στη μάζα του προϊόντος. Παρόλο που το διάγραμμα Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης δεν δίνει κανένα στοιχείο για το σχηματισμό πολυμερούς γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι δεν σχηματίστηκε PBS, το φάσμα Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού για το PBS_27 (Εικ. 8.3), επιβεβαιώνει τη σύνθεση κάποιων ολιγομερών καθώς και τη χαμηλή απόδοση του πολυμερισμού.



Εικόνα 8.3: Φάσμα ^{1}H-NMR για το PBS_27

8.5 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 8ΟΥ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ

1. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/methanol
2. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/702?from=summary
3. http://homepages.rpi.edu/~grossr/research/research010.htm
4. Abul Azim, Mo Hunsen, Harald Mang, Sabine R. Wallner, Asa Ronkvist, Wenchun Xie, and Richard A. Gross, Cutinase: a new biocatalyst for polyester synthesis via polycondensation reactions, Polymer Preprints 2006, 47(2), 226

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

9. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

9.1ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ PBS ΜΕ ΜΕΤΕΣΤΕΡΟΠΟΙΗΣΗ ΔΙ-ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑ ΣΕ TGA ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΛΙΠΑΣΗΣ

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η παρακολούθηση της ενζυμικής σύνθεσης του αλειφατικού πολυ(ηλεκτρικού βουτυλεστέρα) (PBS) σε αδρανείς συνθήκες από το όργανο Θερμοβαρυμετρικής Ανάλυσης - TGA.

Συγκεκριμένα, έγινε προσπάθεια αξιολόγησης της ενζυμικής παραγωγής του PBS με τεχνική μάζας, με χρήση του ενζύμου Novozyme 435 (N435) ως βιοκαταλύτη σε ποσότητα 20 % w/w ως προς τη μάζα των μονομερών (*Candida antartica* Lipase B, CALB 2 % w/w). Η αντίδραση έλαβε χώρα στους 80°C, για 90 λεπτά, χωρίς την παροχή αζώτου. Οι προαναφερόμενες συνθήκες διαπιστώθηκε πως οδήγησαν σε πολυεστέρα χαμηλού μοριακού βάρους. Η προσπάθεια αυτή κρίθηκε επιτυχής, καθώς το όργανο του TGA φαίνεται να ελέγχει τον ενζυμικό πολυμερισμό μέσω των απωλειών μάζας και την κλίση της καμπύλης της αντίδρασης, δίνοντας αποτελέσματα που επιβεβαιώθηκαν περαιτέρω από αναλύσεις DSC και ^{1}H-NMR.

Ως προς τις παραμέτρους της ενζυμικής πολυεστεροποίησης, η μελέτη περιελάμβανε εξέταση της:

- Επίδρασης της θερμοκρασίας: Η αξιολόγηση του πολυμερισμού επετεύχθη μέσω των γραφημάτων της Θερμοβαρυμετρικής Ανάλυσης στα οποία εξετάζονταν η κλίση της καμπύλης τα πρώτα 5-15 λεπτά και η τελική απώλεια μάζας. Στους 65 και 75°C δεν σχηματίστηκε PBS, ίσως κάποια ολιγομερή, ενώ στους 80°C υπήρξε σχηματισμός προϊόντος χαμηλού μοριακού βάρους με επαναλήψιμες δοκιμές.
- Επίδρασης της ροής του αζώτου: Η αξιολόγηση του πολυμερισμού βασίστηκε στη μελέτη των γραφημάτων της Θερμοβαρυμετρικής Ανάλυσης στα οποία εξετάζονταν η κλίση της καμπύλης τα πρώτα 5-15 λεπτά και η τελική απώλεια μάζας. Η παρουσία αζώτου (0 και 5 ml/min) δεν είχε ουσιαστική επίδραση και δεδομένης της επαναληψιμότητας των πειραμάτων και των σφαλμάτων τους, η μηδενική ροή αζώτου κρίθηκε προτιμότερη.
- Επίδρασης της ομοιογένειας του ενζύμου: διεξάγοντας πειράματα με διαφορετικά δείγματα ενζύμου από την ίδια παρτίδα παραγωγής. Αντίστοιχα με τις παραπάνω παραμέτρους προέκυψε ότι κάθε κόκκος ενζύμου έχει διαφορετική ενεργότητα επιδεικνύοντας διαφορετική καταλυτική συμπεριφορά ανά πείραμα. Αυτή η συμπεριφορά του ενζύμου παρακολουθείται από το TGA το οποίο λειτουργεί ως μέθοδος αξιολόγησης της δραστικότητας ενός ενζύμου κατά τη διάρκεια οποιασδήποτε ενζυμικής

αντίδρασης. Συνεπώς, το TGA αποτελεί ένα σημαντικό εργαλείο όχι μόνο για τον Τομέα των Πολυμερών αλλά ακόμα και για τον Τομέα της Βιοτεχνολογίας για πρόβλεψη ενζυμικών αντιδράσεων.

Το ενζυμικά παραγόμενο PBS παρουσιάζει σημείο τήξης μεταξύ 88,74 και 89,65 ˚C και ενθαλπίες τήξης μεταξύ 47,98 και 61,56 J/g. Παρατηρείται ότι το ενζυμικά σχηματιζόμενο PBS παρουσιάζει χαμηλότερο σημείο τήξης σε σύγκριση με το χημικά σχηματιζόμενο που εμφανίζει σημείο τήξης μεταξύ των 110-120˚C, ωστόσο το φάσμα του ^{1}H-NMR επιβεβαιώνει τον επιτυχή σχηματισμό PBS.

Σε επόμενη εργασία θα μπορούσε να μελετηθεί ένα ευρύτερο φάσμα θερμοκρασιών, περισσότερες ροές αδρανούς αερίου καθώς και η χρήση διαφορετικών ενζύμων. Ακόμη θα μπορούσαν να γίνουν δοκιμές σύνθεσης άλλων πολυμερών (πολυεστέρων ή πολυαμιδίων) και να εξεταστούν διαφορετικές τεχνικές ενζυμικού πολυμερισμού, όπως είναι η τεχνική αιωρήματος/διαλύματος που συναντάται συχνά στη βιβλιογραφία.

9.2 ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ PBS ΜΕ ΜΕΤΕΣΤΕΡΟΠΟΙΗΣΗ ΔΙ-ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΑ ΣΕ TGA ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΛΙΠΑΣΗΣ

Εν συνεχεία, έγινε προσπάθεια σχηματισμού του πολυ(ηλεκτρικού βουτυλεστέρα) με χρήση 1,4- βουτανοδιόλης και δι-μεθυλεστέρα βασιζόμενοι στην έρευνα των Sugihara et al. σε αδρανείς συνθήκες σε μικροκλίμακα σε σύστημα TGA. Για τον ενζυμικό πολυμερισμό ακολουθήθηκε τεχνική μάζας. Ως βιοκαταλύτης χρησιμοποιήθηκε το N435 σε ποσότητα 20 % w/w ως προς τη μάζα των μονομερών (*Candida antartica* Lipase *B*, CALB 2 % w/w). Η αντίδραση έλαβε χώρα στους 75˚C, για 120 λεπτά, με παροχή αζώτου 5ml/min και κρίθηκε επιτυχής, καθώς το TGA ελέγχει αξιόπιστα τον ενζυμικό πολυμερισμό δίνοντας αποτελέσματα που επιβεβαιώθηκαν περαιτέρω από αναλύσεις DSC.

Στη θερμοκρασία των 75˚C, είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι στην αντίδραση με μονομερές τον δι-αιθυλεστέρα ο πολυμερισμός δεν έδωσε επιτυχή αποτελέσματα ενώ στην περίπτωση με χρήση δι-μεθυλεστέρα σχηματίστηκε το επιθυμητό προϊόν. Αυτό οφείλεται στο ότι παραπροϊόν της αντίδρασης με δι-αιθυλεστέρα είναι η αιθανόλη ενώ παραπροϊόν της αντίδρασης με δι-μεθυλεστέρα είναι η μεθανόλη. Η αιθανόλη εμφανίζει υψηλότερο σημείο βρασμού από τη μεθανόλη οπότε η δεύτερη μπορεί να διαφύγει σε θερμοκρασία χαμηλότερη από αυτήν που διαφεύγει η πρώτη, διευκολύνοντας την εξέλιξη του πολυμερισμού με απομάκρυνση του παραπροϊόντος.

Κρίνεται απαραίτητη η περαιτέρω ανάλυση των παρεληφθέντων αποτελεσμάτων και για τον λόγο αυτό προτείνεται μελλοντικά να γίνει εκτενέστερη ανάλυση στον

ενζυμικό πολυμερισμό με χρήση του δι-μεθυλεστέρα. Ενδιαφέρουσα, επίσης, θα ήταν και μία έρευνα που θα επικεντρωνόταν στη σύγκριση της ποιότητας του επιθυμητού προϊόντος, όταν αυτό λαμβάνεται με μετεστεροποίηση του δι-αιθυλεστέρα και όταν λαμβάνεται με μετεστεροποίηση του δι-μεθυλεστέρα.

9.3ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ PBS ΜΕ ΜΕΤΕΣΤΕΡΟΠΟΙΗΣΗ ΔΙ-ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΑ ΣΕ TGA ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΚΟΥΤΙΝΑΣΗΣ

Η σύνθεση PBS με τεχνική μάζας με χρήση 1,4- βουτανοδιόλης και δι-μεθυλεστέρα σε αδρανείς συνθήκες σε μικροκλίμακα εξετάστηκε και παρουσία διαφορετικού καταλύτη. Ως βιοκαταλύτης χρησιμοποιήθηκε μια ακινητοποιημένη υδρολάση, η κουτινάση (3 και 5% w/w ως προς τη μάζα των μονομερών), η οποία παρασκευάστηκε εργαστηριακά από το Εργαστήριο Βιοτεχνολογίας του ΕΜΠ. Η αντίδραση έλαβε χώρα στους 50 και 55˚C, για 240 λεπτά, χωρίς παροχή αζώτου. Οι συνθήκες αυτές δεν οδήγησαν σε σχηματισμό πολυεστέρα, γεγονός που επιβεβαιώθηκε και μακροσκοπικά λαμβάνοντας ένα υγρό προϊόν αντίδρασης. Το αποτέλεσμα αυτό αποδίδεται στις θερμοκρασίες της αντίδρασης, οι οποίες αφενός συνέβαλλαν στην απενεργοποίηση της κουτινάσης και αφετέρου είναι αρκετά χαμηλές για διεξαγωγή πολυμερισμού.

Ωστόσο, το αποτέλεσμα αυτό επιβεβαίωσε τη δυνατότητα του TGA να παρακολουθεί την πορεία μιας αντίδρασης και την επίτευξη ή όχι πολυμερισμού.

Κρίνεται απαραίτητη η περαιτέρω μελέτη του ενζυμικού πολυμερισμού προς σχηματισμό PBS με βιοκαταλύτη την κουτινάση και για το λόγο αυτό προτείνεται να γίνει εκτενέστερη ανάλυση των συνθηκών του πολυμερισμού με χρήση του συγκεκριμένου ενζύμου και διεξοδικότερη μελέτη της καταλυτικής του δράσης. Ενδιαφέρουσα, επίσης, θα ήταν και μία έρευνα που θα επικεντρωνόταν στη μελέτη και άλλων ενζύμων όπως για παράδειγμα η εξέταση του ενζύμου αλκαλάση.

9.4ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ PBS ΜΕ ΜΕΤΕΣΤΕΡΟΠΟΙΗΣΗ ΔΙ-ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑ ΣΕ ΜΕΓΑΛΗ ΚΛΙΜΑΚΑ (~2 g) ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΛΙΠΑΣΗΣ

Τέλος, εξετάστηκε η δυνατότητα μετάβασης της παραγωγής του PBS σε εργαστηριακή κλίμακα της τάξης των 2 g, εφαρμόζοντας τις αριστοποιημένες συνθήκες που προσδιορίστηκαν στο TGA και προσομοιάζοντας ένα σύστημα αντίδρασης ανάλογο του TGA. Η αντίδραση, λοιπόν, έλαβε χώρα στους 80˚C, για ενενήντα λεπτά, με χαμηλή παροχή αζώτου ως ‘ομπρέλα’ παρουσία N435 (20 % w/w ως προς τη μάζα των μονομερών). Οι προαναφερόμενες συνθήκες διαπιστώθηκε πως

οδήγησαν σε ολιγομερή χαμηλού μοριακού βάρους αποτελέσματα που επιβεβαιώθηκαν και από αναλύσεις DSC και ^{1}H-NMR.

Η λεπτομερέστερη μελέτη της παραπάνω διαδικασίας θα μπορούσε να συμπεριληφθεί σε επόμενη εργασία, ώστε να προσομοιωθεί αποτελεσματικότερα το περιβάλλον του συστήματος TGA και να ερευνηθεί η αναγκαιότητα εφαρμογής κενού για βελτίωση των ιδιοτήτων του λαμβανόμενου προϊόντος.