



**ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ**

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

**ΤΟΜΕΑΣ IV: ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ**

Πολυτεχνειούπολη Ζωγράφου, Αθήνα 157 80

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΠΟΛΥΜΕΡΩΝ**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Παραγωγή πολυεστέρων με βάση το  
φουρανοδικό οξύ: Ενζυμικός προπολυμερισμός  
και μεταπολυμερισμός τήγματος**

**Πλάγγεση Ουρανία**

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ

**Σταματίνα Ν. Βουγιούκα**

*Αναπλ. Καθηγήτρια ΕΜΠ*

**ΑΘΗΝΑ 2024**

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Τεχνολογίας Πολυμερών της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου κατά το ακαδημαϊκό έτος 2022-2023. Αντικείμενο της εργασίας αποτέλεσε ο ενζυμικός προπολυμερισμός σε συνδυασμό με τον μεταπολυμερισμό τήγματος του PBF.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια του Ε.Μ.Π. κα Σταματίνα Ν. Βουγιούκα, επιβλέπουσα της παρούσας εργασίας, για την ευκαιρία που μου έδωσε να αναλάβω ένα τόσο ενδιαφέρον θέμα και την εμπιστοσύνη που μου έδειξε στην περάτωση του. Το ενδιαφέρον και η καθοδήγηση της έπαιξαν σημαντικό ρόλο στην ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας.

Επιπλέον, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στην δόκτορα Χριστίνα Γκουντέλα για την συνεργασία και την υποστήριξη κατά την εκπόνηση και τη συγγραφή της διπλωματικής εργασίας. Οι γνώσεις της και η βοήθεια που μου προσέφερε ήταν καθοριστικής σημασίας για την ομαλή ολοκλήρωση του κύκλου των σπουδών μου.

Ακόμη, οφείλω να ευχαριστήσω όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Τεχνολογίας Πολυμερών για την αρμονική συνεργασία και το ευχάριστο κλίμα που υπήρχε κατά την παραμονή μου στο εργαστήριο.

Τέλος, δεν θα μπορούσα να παραλείψω την οικογένειά μου και τα αγαπημένα μου πρόσωπα, που με την πολύτιμη στήριξη τους με βοήθησαν να φτάσω στο τέλος των σπουδών μου ευχάριστα και εποικοδομητικά.

## Περιεχόμενα

Πρόλογος / Ευχαριστίες.....	i
Περιεχόμενα.....	ii
Κατάλογος Πινάκων .....	v
Κατάλογος Εικόνων .....	vi
Περίληψη .....	ix
Abstract .....	xi
Κεφάλαιο 1: Πολυεστέρες με βάση του φουράνιο .....	1
1.1. Εισαγωγικά στοιχεία.....	1
1.2. PEF .....	4
1.3. PBF.....	7
Κεφάλαιο 2: Ενζυμικός Πολυμερισμός .....	11
2.1. Πράσινη Χημεία .....	11
2.2. Ενζυμικός πολυμερισμός .....	14
2.2.1. Είδη ενζύμων .....	14
2.2.2. Μηχανισμοί και παράμετροι αντίδρασης.....	16
2.3. Ενζυμικός πολυμερισμός του PBF .....	19
2.4. Σκοπός διπλωματικής εργασίας .....	21
Κεφάλαιο 3: Πειραματικό μέρος .....	22
3.1. Πρώτες ύλες- Αντιδραστήρια .....	22
3.1.1. Υλικά.....	22
3.1.2. Όργανα και συσκευές .....	23
3.2. Πειραματική διαδικασία .....	23

3.2.1.	Ενζυμικός προπολυμερισμός .....	23
3.2.2.	Μεταπολυμερισμός τήγματος .....	26
3.3.	Χαρακτηρισμός πρώτων υλών και προϊόντων .....	27
3.3.1.	Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός (NMR) .....	27
3.3.2.	Φασματοσκοπία υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (FTIR).....	30
3.3.3.	Χρωματογραφία Διέλευσης μέσω Πηκτής (GPC).....	32
3.3.4.	Θερμοβαρυμετρική ανάλυση TGA.....	35
3.3.5.	Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης DSC .....	37
3.3.6.	Μέτρηση ενεργότητας ενζύμου .....	39
Κεφάλαιο 4:Μελέτη της διεργασίας του ενζυμικού πολυμερισμού μάζας του PBF:		
Αξιολόγηση των κρίσιμων παραμέτρων της διεργασίας .....		
4.1.	Μακροσκοπική μορφολογία προϊόντων .....	40
4.2.	Ταυτοποίηση της δομής των προϊόντων του ενζυμικού προπολυμερισμού .....	41
4.2.1.	Ταυτοποίηση μέσω <sup>1</sup> H-NMR .....	41
4.2.2.	Ταυτοποίηση μέσω FTIR.....	42
4.3.	Επίδραση της θερμοκρασίας.....	44
4.3.1.	Υπολογισμός μοριακού βάρους με χρωματογραφίας διέλευσης μέσω πηκτής (GPC) και με H-NMR .....	44
4.3.2.	Ενεργότητα ενζύμου .....	47
4.3.3.	Υπολογισμός ακραίων ομάδων .....	48
4.3.4.	Θερμοβαρυμετρική Ανάλυση (TGA) .....	50
4.3.5.	Θερμιδομετρία Διαφορικής Σάρωσης (DSC) .....	51
4.4.	Επίδραση μειωμένης πίεσης .....	52
4.5.	Επίδραση χρόνου αντίδρασης.....	55
4.6.	Κλιμάκωση διεργασίας.....	58

Κεφάλαιο 5:Μελέτη της διεργασίας του μεταπολυμερισμού για την αύξηση του μοριακού βάρους των ολιγομερών PBF: Αξιολόγηση των κρίσιμων παραμέτρων της διεργασίας.....	60
5.1 Διερεύνηση της θερμοκρασίας μεταπολυμερισμού τήγματος.....	60
Κεφάλαιο 6:Συμπεράσματα                      και                      Μελλοντική                      Έρευνα .....	66
6.1.    Συμπεράσματα .....	66
6.2.    Προτάσεις για μελλοντική έρευνα .....	67
Βιβλιογραφία.....	68
Παράρτημα.....	77

Πίνακας 1: Χημικές ουσίες παραγόμενες από υδατάνθρακες με την μεγαλύτερη προοπτική, DOE 2004 [7] .....	1
Πίνακας 2: Ιδιότητες του PEF και του PET συγκριτικά [6,11–13] .....	6
Πίνακας 3: Ιδιότητες φράγματος PBF [22,23].....	8
Πίνακας 4: Θερμικές Ιδιότητες PBF [3,5,17,18,20–24].....	9
Πίνακας 5: Μηχανικές Ιδιότητες PBF [3,5,18,20,22] .....	9
Πίνακας 6: Βιβλιογραφικά δεδομένα ενζυμικής σύνθεσης του PBF [35–37] .....	20
Πίνακας 7: Βασικές πληροφορίες αντιδραστηρίων για την ενζυμική σύνθεση PBF .....	22
Πίνακας 8: Διερεύνηση συνθηκών διεργασίας ενζυμικού προπολυμερισμού PBF .....	24
Πίνακας 9: Διερεύνηση συνθηκών μεταπολυμερισμού PBF .....	26
Πίνακας 10: Θερμικές ιδιότητες oligομερών μετά τον μεταπολυμερισμό τους - διερεύνηση θερμοκρασίας .....	64
Πίνακας Π1: Θερμικές ιδιότητες των δειγμάτων A-75, A-80, A-85, A-90, A-95..	77
Πίνακας Π2: Μοριακά βάρη των δειγμάτων A-75, A-80, A-85, A-90, A-95 .....	77
Πίνακας Π3: Θερμικές ιδιότητες των δειγμάτων B-90, B-95, C-90-6, C-90-24, C-95-6 .....	77
Πίνακας Π4: Μοριακά βάρη των δειγμάτων B-90, B-95, C-90-6, C-90-24, C-95-6 .....	77
Πίνακας Π5: Θερμικές ιδιότητες δειγμάτων κλιμακωμένης διεργασίας .....	78
Πίνακας Π6: Μοριακά βάρη δειγμάτων κλιμακωμένης διεργασίας.....	78
Πίνακας Π7: Μοριακά βάρη δειγμάτων μετά τον μεταπολυμερισμό .....	78

## Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 1: Δομή FDCA (α) TPA (β) HMF (γ) .....	2
Εικόνα 2: Δομή PEF.....	3
Εικόνα 3: Οι πρώτες φιάλες από PEF που κατασκευάστηκαν (αριστερά) και τυπικές διαφανείς φιάλες από PET που κατασκευάζονται σήμερα (δεξιά)[6] .....	3
Εικόνα 4: Προβλεπόμενη αύξηση της αγοράς του PEF έως το 2027[9].....	4
Εικόνα 5: Δομή EG .....	4
Εικόνα 6: Επισκόπηση της παραγωγής PEF από τις πρώτες ύλες έως το τελικό προϊόν [6].....	5
Εικόνα 7: Στάδια μετατροπής της φρουκτόζης σε FDCA και έπειτα PEF [6].....	5
Εικόνα 8: Σύνθεση PEF.....	7
Εικόνα 9: Δομή PBF.....	8
Εικόνα 10: Δομή 1,4-BDO.....	8
Εικόνα 11: Συνθετικό μονοπάτι του PBF [3] .....	10
Εικόνα 12: Οι 12 Αρχές της Πράσινης Χημείας [29].....	12
Εικόνα 13: Είδη καταλυτικών ενζύμων .....	15
Εικόνα 14: Διάταξη σύνθεσης PBF.....	24
Εικόνα 15: Σχηματική απεικόνιση πειραματικής διαδικασίας ενζυμικού προπολυμερισμού PBF.....	25
Εικόνα 16: Θέση χαρακτηριστικών ομάδων στο φάσμα H-NMR [42].....	28
Εικόνα 17: Φασματοόμετρο Bruker DRX 400 .....	29
Εικόνα 18: Κατηγοριοποίηση υδρογόνων PBF.....	30
Εικόνα 19: Περιοχές απορρόφησης χαρακτηριστικών δεσμών και ομάδων στο φάσμα IR.....	32
Εικόνα 20: Φασματοσκόπιο Platinum-ATR ALFA II Bruker.....	32
Εικόνα 21: Αρχή λειτουργίας χρωματογραφικής στήλης .....	33
Εικόνα 22: Τυπική διάταξη συσκευής GPC .....	33
Εικόνα 23: Διάταξη GPC Agilent 1260 Infinity II.....	35
Εικόνα 24: Διάταξη θερμοζυγού [50].....	36
Εικόνα 25: Θερμοζυγός TGA 1 STARe System .....	37
Εικόνα 26: Συσκευή DSC 1 STARe System.....	38

Εικόνα 27: Προϊόν ενζυμικού προπολυμερισμού που πραγματοποιήθηκε σε συνθήκες 90°C /200mbar/2h (A-90) (α) και το αντίστοιχο δείγμα αναφοράς (β) .....	40
Εικόνα 28: Φάσμα <sup>1</sup> H-NMR του δείγματος A-90 .....	41
Εικόνα 29: Φάσματα FTIR του δείγματος A-90 και των μονομερών BDO και DEF .....	43
Εικόνα 30: Χρωματογραφήματα GPC του δείγματος A-90 και των μονομερών DEF, BDO .....	44
Εικόνα 31: Μοριακά βάρη δειγμάτων A-75, A-80, A-85, A-90, A-95.....	45
Εικόνα 32: Ποσοστά πληθυσμών μοριακών βαρών στα δείγματα A-75, A-80, A-85, A-90, A-95 .....	46
Εικόνα 33: Ενεργότητα του βιοκαταλύτη N435 πριν και μετά την αντίδραση...48	
Εικόνα 34: Υδροξυλικά άκρα των δειγμάτων A-75, A-80, A-85, A-90, A-95 .....	49
Εικόνα 35: Καμπύλη TGA και πρώτη παράγωγος του δείγματος A-90 και των μονομερών DEF, BDO .....	50
Εικόνα 36: Καμπύλες DSC του δείγματος A-90 και των μονομερών DEF και BDO κατά την 1 <sup>η</sup> θέρμανση (α) την ψύξη (β) και την 2 <sup>η</sup> θέρμανση (γ).....	52
Εικόνα 37: Φάσματα H-NMR (α) και FTIR (β) των δειγμάτων A-90 και B-90.....	53
Εικόνα 38: Φάσματα H-NMR (α) και FTIR (β) των δειγμάτων A-95 και B-95.....	53
Εικόνα 39: Μοριακά βάρη και ποσοστά πληθυσμών ολιγομερούς στα δείγματα A-90 και B-90 .....	54
Εικόνα 40: Μοριακά βάρη και ποσοστά πληθυσμών ολιγομερούς στα δείγματα A-95 και B-95 .....	54
Εικόνα 41: Φάσματα H-NMR (α) και FTIR (β) των δειγμάτων A-90, C-90-6 και C-90-24 .....	55
Εικόνα 42: Φάσματα H-NMR (α) και FTIR (β) των δειγμάτων A-95 και C-95-6...55	
Εικόνα 43: Μοριακά βάρη και ποσοστά πληθυσμών ολιγομερούς στα δείγματα A-90, C-90-6 και C-90-24.....	56
Εικόνα 44: Μοριακά βάρη και ποσοστά πληθυσμών ολιγομερούς στα δείγματα A-95 και C-95-6.....	57
Εικόνα 45: Φάσματα H-NMR (α) και FTIR (β) των δειγμάτων A-90, A-90_3g και A-90_6g.....	58
Εικόνα 46: Χρωματογραφήματα δειγμάτων A-90, A-90_3g και A-90_6g.....	58



Εικόνα 47: Μοριακά βάρη των δειγμάτων A-90, A-90_3g και A-90_6g.....	59
Εικόνα 48: Μοριακά βάρη δειγμάτων μετά τον μεταπολυμερισμό τους .....	61
Εικόνα 49: Ποσοστά πληθυσμών μοριακών βαρών των προϊόντων του μεταπολυμερισμού – διερεύνηση θερμοκρασίας .....	62
Εικόνα 50: Ποσοστό υδροξυλικών άκρων των δειγμάτων μετά τον πολυμερισμό τους .....	63
Εικόνα 51: Μηχανισμός αποτελεσματικής μετεστεροποίησης PBS [58].....	63
Εικόνα 52: Μοριακά βάρη και πολυδιασπορά δειγμάτων μετά τον μεταπολυμερισμό τους – διερεύνηση χρόνου .....	65
Εικόνα 53: Ποσοστά πληθυσμών μοριακών βαρών των προϊόντων του μεταπολυμερισμού – διερεύνηση χρόνου.....	65

Οι επιπτώσεις της χρήσης πλαστικών στο περιβάλλον και τον άνθρωπο έχουν ωθήσει την επιστημονική κοινότητα στην αναζήτηση λύσεων για την επίτευξη μιας πιο βιώσιμης παραγωγικής διαδικασίας. Βασισμένοι στις Αρχές της Πράσινης Χημείας που έχουν διατυπωθεί, η έρευνα έχει στραφεί σε νέα πολυμερή, όπως οι πολυεστέρες με βάση το φουράνιο, και σε πιο φιλικές προς το περιβάλλον μεθόδους σύνθεσης τους, όπως ο ενζυμικός πολυμερισμός. Έτσι, στην παρούσα εργασία μελετάται ο ενζυμικός προπολυμερισμός του πολυ(φουρανοδικού βουτυλεστέρα) (PBF) με την χρήση του εμπορικού ενζύμου Novozyme 435 και η περαιτέρω αναβάθμισή του με μεταπολυμερισμό τήγματος. Συγκεκριμένα, στο πρώτο κομμάτι της εργασίας, μελετάται ο ενζυμικός πολυμερισμός, με σκοπό τον σχεδιασμό μιας πραγματικά πράσινης διεργασίας, χωρίς χρήση διαλύτη και πολύ υψηλών θερμοκρασιών. Προτείνεται, έτσι μια διεργασία δυο σταδίων, το πρώτο εκ των οποίων λαμβάνει χώρα σε θερμοκρασία 50°C και ατμοσφαιρική πίεση για 24 ώρες και έχει σκοπό την ενζυμική σύνθεση σε χαμηλή θερμοκρασία. Το δεύτερο στάδιο αποσκοπεί στην προώθηση της χημικής ισορροπίας με την αύξηση της θερμοκρασίας και την μείωση της πίεσης, οπότε οι συνθήκες του (θερμοκρασία, πίεση, χρόνος αντίδρασης) αποτελούν αντικείμενο διερεύνησης. Προκύπτει, λοιπόν, ότι οι βέλτιστες συνθήκες διεξαγωγής του δεύτερου σταδίου είναι 2 ώρες σε θερμοκρασία 90°C και πίεση 200 mbar. Το προϊόν που παραλήφθηκε είχε μάζα 1.2 g, όμως περιείχε υπολείμματα του μονομερούς DEF. Το προϊόν παρουσίασε  $\overline{M}_n = 1800 \text{ g/mol}$  και  $\overline{M}_w = 1900 \text{ g/mol}$ ,  $T_{m2} = 72^\circ\text{C}$ ,  $T_{d,5\%} = 182^\circ\text{C}$  και  $T_{d,max} = 387^\circ\text{C}$ . Η εφαρμογή υψηλού κενού και η συχνή χρήση διαλυτών σε αντίστοιχες διεργασίες δυσχεραίνουν την κλιμάκωση τους, όμως, στο πλαίσιο της παρούσας εργασίας, επετεύχθη η κλιμάκωση της παραπάνω διεργασίας με τελικό προϊόν στα 6 g, χωρίς σημαντική υποβάθμιση των ιδιοτήτων του. Το δεύτερο κομμάτι της μελέτης αφορούσε την διερεύνηση των συνθηκών του μεταπολυμερισμού τήγματος (θερμοκρασία και χρόνος) και την αποτελεσματικότητα του στην αναβάθμιση των ιδιοτήτων του πολυμερούς, διατηρώντας, παράλληλα, τον πράσινο χαρακτήρα της διεργασίας, επιλέγοντας όσο το δυνατόν χαμηλότερες

θερμοκρασίες. Ο μεταπολυμερισμός ήταν επιτυχής, και είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του  $\overline{M}_n$  κατά 87%, και του  $\overline{M}_w$  κατά 179% όταν έλαβε χώρα στους 125°C για 16 ώρες.

**Λέξεις κλειδιά:** Φουρανικοί πολυεστέρες, Πολυ(φουρανοδικός βουτυλεστέρας), Ενζυμικός πολυμερισμός, Μεταπολυμερισμός τήγματος

## Abstract

The impact of plastic use on the environment and humans has driven the scientific community to search for ways to achieve a more sustainable production process. Based on the Green Chemistry Principles, research has turned to new polymers, such as furan polyesters, and more environmentally friendly synthesis methods, like enzymatic polymerization. Thus, in this work, the enzymatic pre-polymerization of poly(butylene 2,5-furan dicarboxylate) (PBF) using the commercially available enzyme Novozyme 435 and its further upgrade by melt post-polymerization is studied. Specifically, in the first part of the study, enzymatic polymerization is investigated, with the aim of designing a truly green, solventless and low temperature process. A two-step process is thus proposed, the first of which takes place at 50°C and atmospheric pressure for 24 hours and is intended for enzymatic synthesis at low temperature. The second stage aims to promote chemical equilibrium by increasing the temperature and decreasing the pressure, so its conditions (temperature, pressure, reaction time) are the subject of investigation. Therefore, it is concluded that the optimum conditions of the second stage are 2 hours at a temperature of 90°C and a pressure of 200 mbar. Hence, a product with a mass of 1.2 g was obtained, which contained DEF residues. The product demonstrated  $\overline{M}_n = 1800 \text{ g/mol}$  and  $\overline{M}_w = 1900 \text{ g/mol}$ ,  $T_{m2} = 72^\circ\text{C}$ ,  $T_{d,5\%} = 182^\circ\text{C}$  και  $T_{d,max} = 387^\circ\text{C}$ . The application of high vacuum and the frequent use of solvents in similar processes hinder their scaling, but in the framework of this work, the scaling of the above process was achieved, resulting in 6 g of the final product, without significantly downgrading its properties. The second part of this study focused on the investigation of the conditions of melt post-polymerization (temperature and time) and its effectiveness in upgrading the properties of the polymer, while maintaining the green character of the process, selecting the lowest temperatures possible. The process was successful, and resulted in a 87% increase of the  $\overline{M}_n$  and a 179% increase of the  $\overline{M}_w$ , when it took place at 125°C for 16 h.

**Key words:** Aliphatic polyesters, Poly(butylene 2,5-furan dicarboxylate), Enzymatic polymerization, Melt post-polymerization

### 1.1. Εισαγωγικά στοιχεία

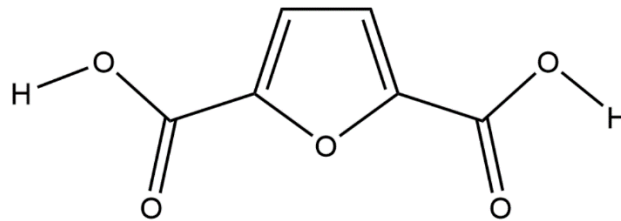
Η αυξανόμενη ανησυχία σχετικά με τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις της παραγωγής πλαστικών και την εξάντληση των ορυκτών πόρων έχει ως αποτέλεσμα την στροφή τόσο της ακαδημαϊκής κοινότητας όσο και της βιομηχανίας στην ανάπτυξη πολυμερών βιολογικής προέλευσης [1–3]. Συγκεκριμένα, το ενδιαφέρον στρέφεται στα πολυμερή που συντίθενται απευθείας από τη βιομάζα ή των οποίων τα μονομερή προέρχονται από αυτή [1–4]. Μεταξύ αυτών, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα πολυμερή που προέρχονται από το 2,5-φουρανδικαρβοξυλικό οξύ (FDCA), ένα δομικό στοιχείο που έχει συμπεριληφθεί στη λίστα του US Department of Energy με τα 12 χημικά μεγαλύτερης προστιθέμενης αξίας που παράγονται από την βιομάζα (Πίνακας 1) [3,5,6].

**Πίνακας 1: Χημικές ουσίες παραγόμενες από υδατάνθρακες με την μεγαλύτερη προοπτική, DOE 2004 [7]**

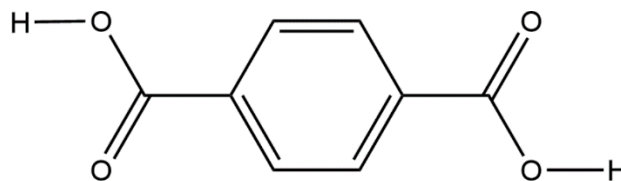
Χημικές ουσίες
Ηλεκτρικό, φουμαρικό και μηλικό οξύ
2,5-φουρανδικαρβοξυλικό οξύ
3-υδροξυπροπιονικό οξύ
Ασπαρτικό οξύ
Σακχαρικό οξύ
Γλουταμινικό οξύ
Ιτακονικό οξύ
Λεβουλινικό οξύ
3-υδροξυβουτυρολακτόνη
Γλυκερόλη
Σορβιτόλη
Ξυλιτόλη/αραβιτιτόλη

Πιο αναλυτικά, το FDCA αποτελεί μια ένωση με δομή παρόμοια με του τερεφθαλικού οξέος (TPA), με τη διαφορά ότι αντί για βεζοϊκό δακτύλιο, έχει φουρανικό (Εικόνα 1α, 1β) [1–3]. Το FDCA μπορεί να παραχθεί μέσω οξειδωσης

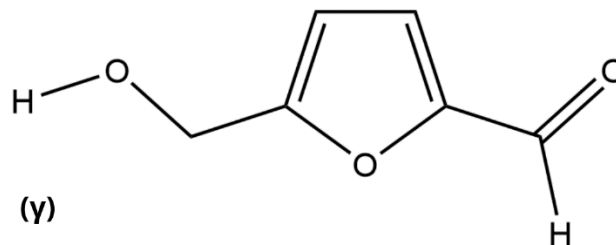
της υδροξυμεθυλ-φουρφουράλης (HMF) (Εικόνα 1γ), η οποία με την σειρά της παράγεται από την αφυδάτωση σακχάρων [4,6]. Έτσι, η βιολογική προέλευση του FDCA και η ομοιότητα του με το TPA, το καθιστούν υποσχόμενο αντικαταστάτη του τελευταίου στην σύνθεση πολυεστέρων [1–3].



(α)



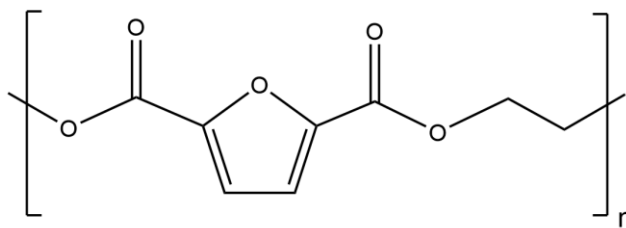
(β)



(γ)

Εικόνα 1: Δομή FDCA (α) TPA (β) HMF (γ)

Σημαντικό ρόλο στην διερεύνηση της σύνθεσης και παραγωγής του FDCA σε μεγάλη κλίμακα διαδραμάτισε η εταιρία Avantium, η οποία δημιούργησε την τεχνολογία "YXY<sup>®</sup> Technology" έναν προηγμένο τρόπο παραγωγής FDCA (βλ. Ενότητα 1.2). Έως το 2008, η Avantium είχε επιτύχει την παραγωγή FDCA σε κλίμακα κιλού, ενώ την επόμενη χρονιά παρουσίασε την πρώτη φιάλη από πολυ(φουρανοδικό αιθυλεστέρα) (PEF) (Εικόνες 2,3). Ως αποτέλεσμα, κίνησε το ενδιαφέρον τόσο άλλων εταιριών, όσο και της ακαδημαϊκής κοινότητας, αυξάνοντας έτσι το ερευνητικό ενδιαφέρον προς τα φουρανικά πολυμερή [6].



Εικόνα 2: Δομή PEF

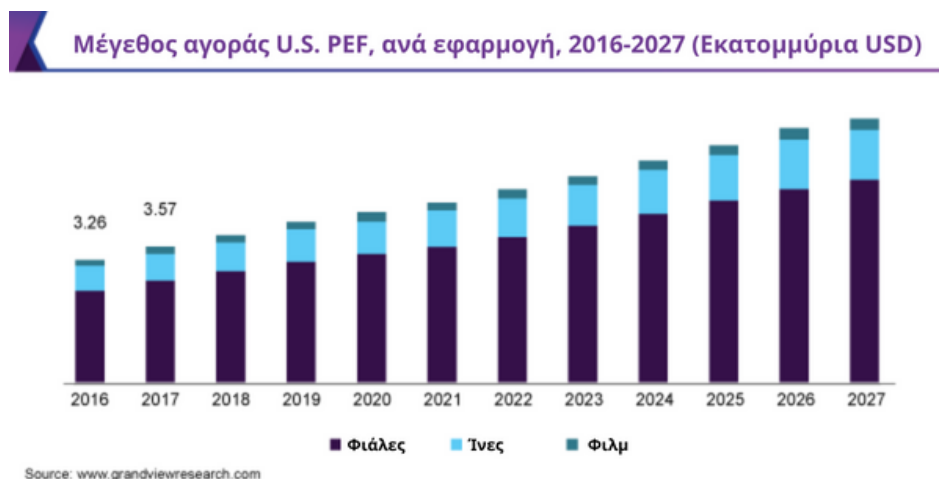


Εικόνα 3: Οι πρώτες φιάλες από PEF που κατασκευάστηκαν (αριστερά) και τυπικές διαφανείς φιάλες από PET που κατασκευάζονται σήμερα (δεξιά) [6]

Τα φουρανικά πολυμερή παρουσιάζουν αντίστοιχες μηχανικές και θερμικές ιδιότητες με τα τερεφθαλικά ανάλογά τους, ενώ έχουν βελτιωμένες ιδιότητες φράγματος. Τα παραπάνω, σε συνδυασμό με την βιολογική τους προέλευση, τα καθιστούν υποσχόμενους αντικαταστάτες των ορυκτής προέλευσης ανάλογων τους [2,4,5].

Σημειώνεται ότι στο πλαίσιο της προσπάθειας για βιώσιμη ανάπτυξη, έχουν εφαρμοστεί περιορισμοί από τις κυβερνήσεις αναφορικά με την χρήση συνθετικών πλαστικών μιας χρήσης, ενώ έχουν πραγματοποιηθεί και καμπάνιες ενημέρωσης των πολιτών. Έτσι, προκειμένου να συμμορφωθούν στους νέους κανονισμούς και να ανταποκριθούν στις απαιτήσεις των καταναλωτών, οι εταιρίες στρέφουν τις προσπάθειές τους στην ενσωμάτωση πλαστικών βιολογικής προέλευσης στα προϊόντα τους. Οι παράγοντες αυτοί οδηγούν στην

ραγδαία ανάπτυξη της αγοράς των βιολογικής προέλευσης πολυμερών, με αναμενόμενη αύξηση στα 29.8 δισεκατομμύρια δολάρια έως το 2027, με σύνθετο ετήσιο ρυθμό ανάπτυξης (CAGR) 18.2% κατά την περίοδο 2022-2027 [8]. Πιο συγκεκριμένα, αναφορικά με το PEF, τον κυριότερο εκπρόσωπο της οικογένειας των φουρανικών πολυεστέρων, η αξία της αγοράς του αναμένεται να φτάσει τα 44.5 εκατομμύρια δολάρια έως το 2027, με σύνθετο ρυθμό ετήσιας ανάπτυξης (CAGR) 6.6% από το 2020 μέχρι το 2027 (Εικόνα 4) [9].



Εικόνα 4: Προβλεπόμενη αύξηση της αγοράς του PEF έως το 2027[9]

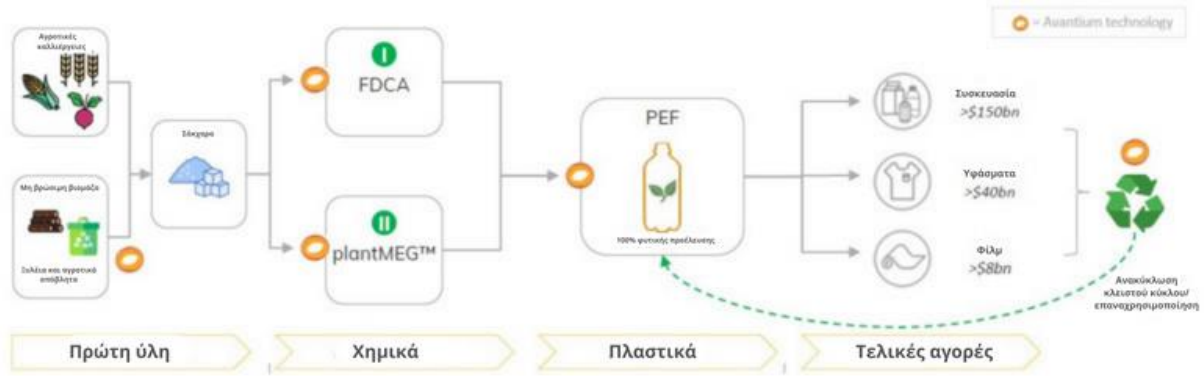
## 1.2. PEF

Ο πολυ(φουρανοδικός αιθυλεστέρας) (PEF) πρόκειται για τον κύριο εκπρόσωπο της οικογένειας των φουρανικών πολυεστέρων. Συντίθεται μέσω του πολυμερισμού της αιθυλενογλυκόλης (EG) (Εικόνα 5) και του FDCA [6,10–12]. Τα δύο μονομερή του PEF μπορούν να παραχθούν από ανανεώσιμες πρώτες ύλες (σάκχαρα), οπότε το PEF έχει biobased χαρακτήρα (Εικόνα 6).



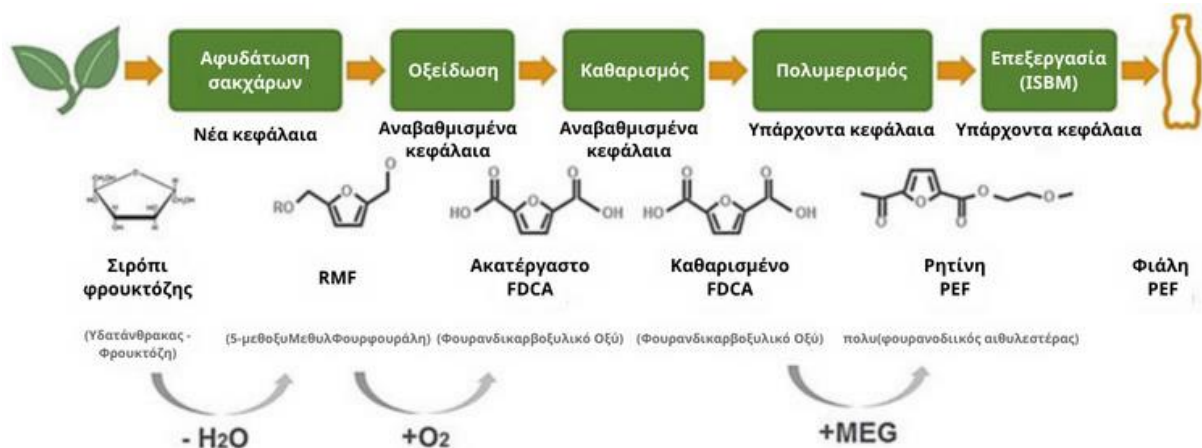
Εικόνα 5: Δομή EG





Εικόνα 6: Επισκόπηση της παραγωγής PEF από τις πρώτες ύλες έως το τελικό προϊόν [6]

Συγκεκριμένα, το FDCA, όπως προαναφέρθηκε, μπορεί να παρασκευαστεί σε πιλοτική κλίμακα σύμφωνα με την YXY<sup>®</sup> Technology της Avantium (Εικόνα 7). Η διεργασία αυτή περιλαμβάνει την αφυδάτωση ενός φυτικού σακχάρου (σιρόπι φρουκτόζης) προς αλκόξυμεθυλ φουρφουράλες, οι οποίες τελικά οξειδώνονται προς FDCA. Αναφορικά με την αιθυλενογλυκόλη, η Avantium έχει αναπτύξει την Ray Technology<sup>™</sup>, με την οποία μετατρέπει καταλυτικά, σε ένα βήμα, σάκχαρα σε γλυκόλες. Η εταιρεία έχει μια πιλοτική μονάδα παραγωγής plantMEG<sup>™</sup> (μονο-αιθυλενογλυκόλης) στην Ολλανδία [6].



Εικόνα 7: Στάδια μετατροπής της φρουκτόζης σε FDCA και έπειτα PEF [6]

Το PEF είναι 100% βιολογικής προέλευσης και ανακυκλώσιμο, οπότε συνάδει με τις αρχές της κυκλικής οικονομίας. Μπορεί να ανακυκλωθεί μηχανικά και χημικά,

χρησιμοποιώντας τις ήδη υπάρχουσες τεχνολογίες για την ανακύκλωση του PET [6]. Αποτελεί, λοιπόν, έναν εξαιρετικό υποψήφιο αντικαταστάτη του PET, καθώς επιδεικνύει άριστες ιδιότητες φράγματος και βελτιωμένες θερμικές και μηχανικές ιδιότητες σε σύγκριση με το PET.

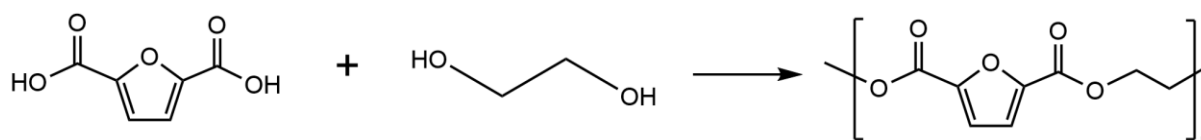
Πιο συγκεκριμένα, το PEF παρουσιάζει 10-11 φορές χαμηλότερη διαπερατότητα στο O<sub>2</sub> και ~19 φορές στο CO<sub>2</sub> σε σχέση με το τερεφθαλικό του ανάλογο, το PET, παρόλο που ο ελεύθερος όγκος του είναι μεγαλύτερος [6,11–13]. Αναφορικά με τις θερμικές του ιδιότητες, το PEF έχει θερμοκρασία τήξης ( $T_m$ ) 210–230°C, θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης ( $T_g$ ) 75-88°C και θερμοκρασία αποικοδόμησης ( $T_d$ ) 300-350°C [6,11,12]. Οι μηχανικές του ιδιότητες είναι επίσης βελτιωμένες σε σχέση με το PET, με το μέτρο Young να φτάνει τα 3.1-3.6 GPa και την τάση διαρροής (Yield stress) τα 90-100 MPa [6,12]. Οι συγκριτικές ιδιότητες των δύο πολυμερών εμφανίζονται στον Πίνακα 2.

**Πίνακας 2: Ιδιότητες του PEF και του PET συγκριτικά [6,11–13]**

	<b>PEF</b>	<b>PET</b>
Διαπερατότητα O <sub>2</sub>	0.0107	0.114
Διαπερατότητα CO <sub>2</sub>	0.026	0.46
$T_g$ (°C)	75-88	76
$T_m$ (°C)	210-230	250-270
$T_d$ (°C)	300-350	400-410
Μέτρο Young (GPa)	3.1-3.6	2.1-2.2
Τάση Διαρροής (MPa)	90-100	50-60

Οι ιδιότητες φράγματος αερίων αποτελούν καθοριστικό παράγοντα για διάφορες εφαρμογές συσκευασίας, όπως τα τρόφιμα, ποτά, γαλακτοκομικά, φαρμακευτικά είδη, καλλυντικά και άλλες συσκευασίες προϊόντων [9,14]. Έτσι, οι ιδιότητες του PEF το καθιστούν ιδανικό, μεταξύ άλλων, για συσκευασία τροφίμων, και ιδιαίτερα φιάλες [6,10–12]. Το 2021, η Avantium κυκλοφόρησε PEF κατάλληλο για επαφή με τρόφιμα, γεγονός που επιτρέπει τη χρήση του σε άμεση επαφή με όξινα τρόφιμα και αλκοολούχα ποτά [6]. Εκτός αυτού, αναμένεται να χρησιμοποιηθεί σε μορφή ινών ή φιλμ σε βιομηχανικές συσκευασίες, όπως τσιμέντου, εντομοκτόνων και λιπασμάτων, αλλά και σε υφάσματα, ρούχα, χαλιά, φίλτρα κ.α. [9,11].

Η σύνθεση του PEF πραγματοποιείται μέσω πολυσυμπύκνωσης δύο σταδίων, η οποία περιλαμβάνει μια εστεροποίηση που ακολουθείται από μία πολυσυμπύκνωση για αύξηση του μοριακού βάρους (Εικόνα 8). Το πρώτο στάδιο πραγματοποιείται στους 160-190°C με χρήση μεταλλικού καταλύτη (Sb, Ti, Ge, Sn), ενώ το δεύτερο στους 220-240°C, υπό κενό. Η διάρκεια των σταδίων είναι 3-8h [10,15]. Παρά την αποτελεσματικότητά τους, οι μεταλλικοί καταλύτες αποτελούν πρόβλημα, καθώς η πλήρης απομάκρυνσή τους είναι δύσκολη, με αποτέλεσμα την υποβάθμιση των ιδιοτήτων του πολυεστέρα (χρωματισμός, θερμική αστάθεια) και την πρόκληση προβλημάτων στην υγεία και το περιβάλλον [11,16]. Για την επίτευξη μιας πιο βιώσιμης οδού σύνθεσης, έχει προταθεί η τεχνική του πολυμερισμού διάνοιξης δακτυλίου (ROP), στην οποία χρησιμοποιούνται κυκλικά oligομερή του FDCA και γραμμικές αλκυλ-διολες. Η τεχνική ROP προσφέρει, επίσης, καλύτερο έλεγχο στα μοριακά βάρη και την πολυδιασπορά του πολυμερούς [11,12].

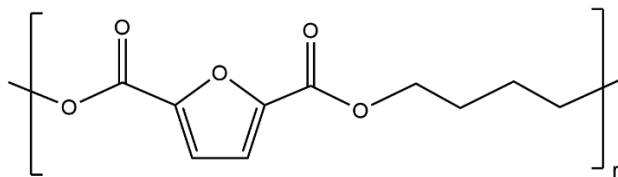


Εικόνα 8: Σύνθεση PEF

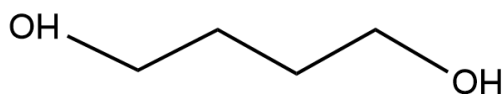
### 1.3. PBF

Ο πολυ(φουρανοδικός βουτυλεστέρας) (PBF) (Εικόνα 9) αποτελεί επίσης ένα υποσχόμενο μέλος της οικογένειας των φουρανικών πολυεστέρων, το οποίο, όμως, δεν έχει μελετηθεί εξίσου εκτενώς με το PEF. Είναι το φουρανικό ανάλογο του πολύ(τερεφθαλικού βουτυλεστέρα) (PBT) και συντίθεται μέσω του πολυμερισμού της 1,4-βουτανοδιόλης (1,4-BDO) (Εικόνα 10) και του FDCA [2,17–21]. Ο πολυεστέρας αυτός έχει bio-based χαρακτήρα, αφού και τα δύο μονομερή του μπορούν να παραχθούν από ανανεώσιμες πηγές. Η παραγωγή του FDCA έχει αναλυθεί παραπάνω, ενώ η 1,4-BDO μπορεί να παραληφθεί από την αναγωγή του ηλεκτρικού οξέος (SA) [20]. Σε αντίθεση με το PEF, το PBF δεν είναι

εμπορικά διαθέσιμο, ούτε έχει παραχθεί σε κλίμακα μεγαλύτερη της εργαστηριακής.



Εικόνα 9: Δομή PBF



Εικόνα 10: Δομή 1,4-BDO

Το PBF εμφανίζει παρόμοιες θερμικές και μηχανικές ιδιότητες, αλλά καλύτερες ιδιότητες φράγματος σε σύγκριση με το PBT. Παρουσιάζει υψηλή σταθερότητα, αντοχή, ολκιμότητα, υψηλή τάση κρυστάλλωσης και ευκολία στην επεξεργασία [2,20].

Αναφορικά με τις ιδιότητες φράγματος (Πίνακας 3), η διαπερατότητα του PBF στο  $O_2$  είναι  $0.018-0.0246 \cdot 10^{-10} \text{ cm}^3 \cdot \text{cm} / \text{cm}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{cmHg}$  και  $0.018 \cdot 10^{-10} \text{ cm}^3 \cdot \text{cm} / \text{cm}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{cmHg}$  στο  $CO_2$  [22,23].

Πίνακας 3: Ιδιότητες φράγματος PBF [22,23]

Ιδιότητες φράγματος	PBF
Διαπερατότητα $O_2$ ( $10^{10} \text{ cm}^3 \cdot \text{cm} / \text{cm}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{cmHg}$ )	0.018-0.0246
Διαπερατότητα $CO_2$ ( $10^{10} \text{ cm}^3 \cdot \text{cm} / \text{cm}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{cmHg}$ )	0.018

Το πολυμερές αυτό έχει θερμοκρασία τήξης ( $T_m$ ) 165–173°C, θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης ( $T_g$ ) 33-40°C, θερμοκρασία αποικοδόμησης ( $T_d$ ) 380-407°C και θερμοκρασία ψυχρής κρυστάλλωσης ( $T_{cc}$ ) 90.9-109°C. Επίσης, συνήθως δεν κρυσταλλώνει κατά την ψύξη του, αλλά όταν παρατηρείται κρυστάλλωση, αυτή σημειώνεται στους 95.3-108°C [3,5,17,18,20–24]. Οι θερμικές ιδιότητες του PBF παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.

**Πίνακας 4: Θερμικές Ιδιότητες PBF [3,5,17,18,20–24]**

Θερμικές ιδιότητες	PBF
$T_m$ (°C)	165-173
$T_g$ (°C)	33-40
$T_d$ (°C)	380-407
$T_{cc}$ (°C)	91-109
$T_c$ (°C)	95-108

Η κρυσταλλική του δομή και οι μηχανικές του ιδιότητες είναι παρόμοιες με αυτές του PBT. Συγκεκριμένα, έχει μέτρο Young 1.3-2.0 GPa, παραμόρφωση θραύσης 237-411%, και αντοχή σε εφελκυσμό 19-65 MPa [3,5,18,20,22]. Οι μηχανικές ιδιότητες του PBF εμφανίζονται στον παρακάτω Πίνακα 5.

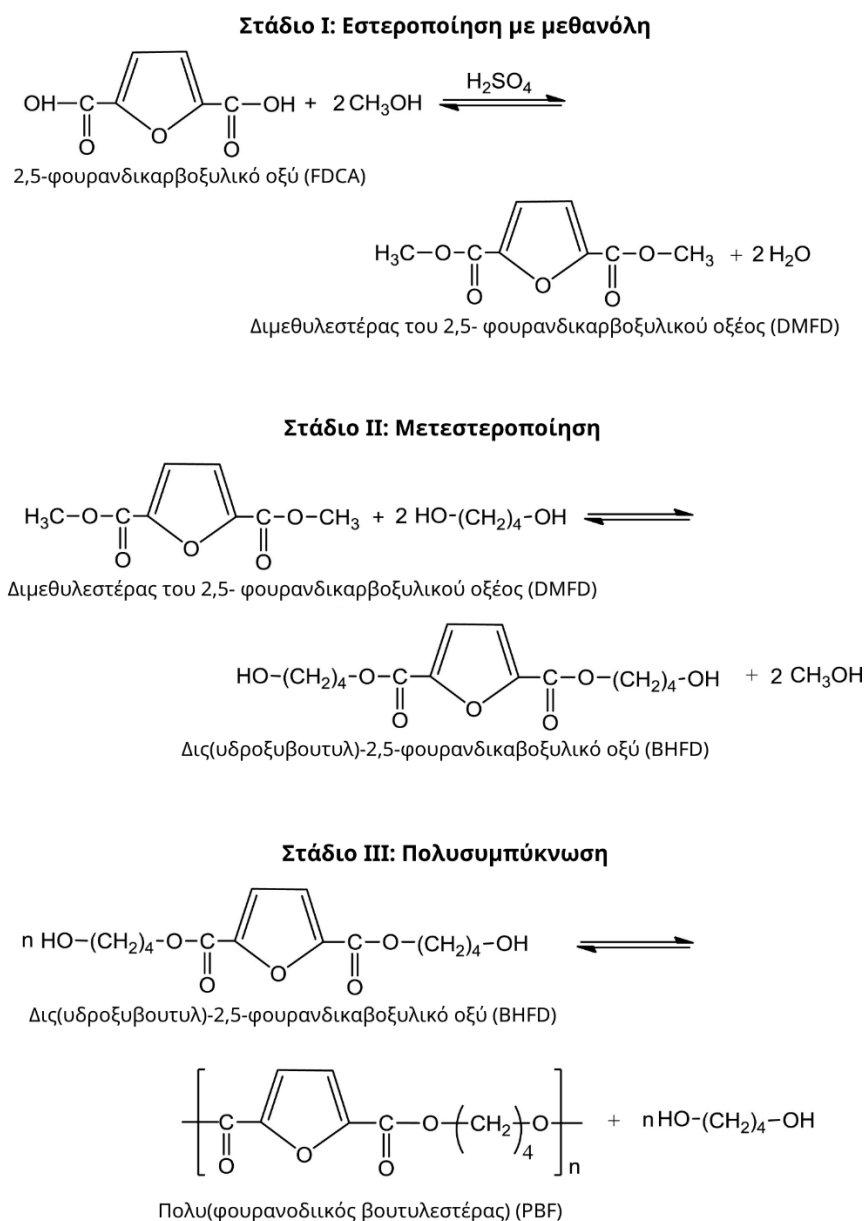
**Πίνακας 5: Μηχανικές Ιδιότητες PBF [3,5,18,20,22]**

Μηχανικές Ιδιότητες	PBF
Μέτρο Young (GPa)	1.3-2.0
Παραμόρφωση Θραύσης (%)	237-411
Αντοχή σε εφελκυσμό (MPa)	19-65

Οι πλεονεκτικές ιδιότητες φράγματος του PBF, καθώς και η καλή κρυσταλλωσιμότητα και οι μηχανικές του ιδιότητες, το καθιστούν ικανό υποψήφιο αντικαταστάτη του PBT, κυρίως σε εφαρμογές συσκευασίας και καταναλωτικών αγαθών, όπως οι φιάλες και τα αγροτικά προϊόντα. Επίσης, προσφέρει την δυνατότητα εξαγωγής συνεχών ινών από το τήγμα του. Παρ' όλα αυτά, ο συγκεκριμένος πολυεστέρας υστερεί στις θερμικές του ιδιότητες, οπότε εξετάζεται η χρήση του ως συμπολυμερές, προκειμένου να ανταποκριθεί στις απαιτήσεις της αγοράς. Σημαντικές είναι, εκτός αυτού, και οι προσπάθειες αύξησης του μοριακού βάρους του τελικού προϊόντος, που έχουν σκοπό την διεύρυνση των πιθανών πεδίων εφαρμογής του [2,5,23,25].

Ομοίως με το PEF, η σύνθεση του PBF περιλαμβάνει πολυσυμπύκνωση δύο σταδίων, με το πρώτο στάδιο να πραγματοποιείται στους 160-190°C, με χρήση ~400 ppm καταλύτη με βάση το τιτάνιο (Tetrabutyl titanate (TBT), Titanium isopropoxide (TIP), Titanium butoxide), συνήθως σε ατμόσφαιρα αζώτου ή αργού. Όσον αφορά το δεύτερο στάδιο, πραγματοποιείται στους 220-250°C, υπό κενό

(0.05-1 mbar). Και τα δύο στάδια λαμβάνουν χώρα υπό ανάδευση [5,15,17–25]. Ενδεικτικά, η συνολική διαδικασία σύνθεσης του PBF φαίνεται παρακάτω στην *Εικόνα 11*.



**Εικόνα 11: Συνθετικό μονοπάτι του PBF [3]**

### 2.1. Πράσινη Χημεία

Η Πράσινη Χημεία είναι ένα σχετικά νέο και ανερχόμενο επιστημονικό πεδίο, που στοχεύει στην επίτευξη της βιωσιμότητας. Ορίζεται ως «ο σχεδιασμός χημικών προϊόντων και διεργασιών για την μείωση ή εξάλειψη της χρήσης και παραγωγής επικίνδυνων ουσιών». Για την παροχή πλαισίου για τον σχεδιασμό βιώσιμων προϊόντων, το 1998 διατυπώθηκαν από τους P. Anastas και N. Eghbali οι 12 Αρχές της Πράσινης Χημείας, οι οποίες εφαρμόζονται σε όλη τη διάρκεια του κύκλου ζωής ενός προϊόντος (Εικόνα 12). Οι αρχές αυτές συνοψίζονται παρακάτω [26–28].

1. **Πρόληψη:** προτίμηση της αποφυγής αποβλήτων σε σχέση με την επεξεργασία ή τον καθαρισμό τους.
2. **Οικονομία ατόμου:** συνθετικές μέθοδοι με σκοπό την μεγιστοποίηση της ενσωμάτωσης των αρχικών υλικών στο τελικό προϊόν.
3. **Ασφαλέστερη χημική σύνθεση:** προτίμηση μεθόδων σύνθεσης που παράγουν χημικές ουσίες με ελάχιστη ή καθόλου τοξικότητα για τον άνθρωπο και το περιβάλλον.
4. **Ασφαλέστερα χημικά:** σχεδιασμός προϊόντων αποτελεσματικών αλλά καθόλου ή ελάχιστα τοξικών.
5. **Ασφαλέστεροι διαλύτες και βοηθητικές ουσίες:** η χρήση βοηθητικών ουσιών, όπως διαλύτες, μέσα διαχωρισμού κ.α., θα πρέπει να αποφεύγεται, και όταν συμβαίνει, να είναι αβλαβής.
6. **Ενεργειακή απόδοση:** ελαχιστοποίηση των ενεργειακών απαιτήσεων των χημικών διεργασιών. Εκτέλεση συνθετικών μεθόδων κατά προτίμηση και θερμοκρασία και πίεση περιβάλλοντος.
7. **Ανανεώσιμες πρώτες ύλες:** χρήση πρώτων υλών που είναι ανανεώσιμες και όχι εξαντλούμενες.

8. **Αποφυγή χημικών παραγώγων:** η χρήση ομάδων αποκλεισμού ή προστασίας ή οποιωνδήποτε προσωρινών τροποποιήσεων θα πρέπει να ελαχιστοποιηθεί, καθώς απαιτούν πρόσθετα αντιδραστήρια και δημιουργούν απόβλητα.

9. **Κατάλυση:** Η χρήση όσο το δυνατό πιο επιλεκτικών καταλυτών προτιμάται από τα στοιχειομετρικά αντιδραστήρια.

10. **Βιοδιάσπαση:** σχεδιασμός χημικών προϊόντων ώστε να διασπώνται σε αβλαβείς ουσίες μετά τη χρήση, ώστε να μη συσσωρεύονται στο περιβάλλον.

11. **Ανάλυση σε πραγματικό χρόνο για αποτροπή της ρύπανσης:** αναλυτικές μέθοδοι για παρακολούθηση και έλεγχο σε πραγματικό χρόνο κατά τη διάρκεια των συνθέσεων ώστε να ελαχιστοποιηθεί ο σχηματισμός επικίνδυνων παραπροϊόντων.

12. **Ασφαλέστερη χημεία για την πρόληψη ατυχημάτων:** σχεδιασμός των χημικών ουσίες και των μορφών τους (στερεά, υγρά ή αέρια) ώστε να ελαχιστοποιηθεί το ενδεχόμενο χημικών ατυχημάτων, συμπεριλαμβανομένων εκρήξεων, πυρκαγιάς και απελευθέρωσης στο περιβάλλον.



Εικόνα 12: Οι 12 Αρχές της Πράσινης Χημείας [29]



Η αυξανόμενη παραγωγή των πλαστικών τα τελευταία χρόνια έχει οδηγήσει και σε εκτενέστερη έρευνα για τις επιπτώσεις τους στο περιβάλλον και τον άνθρωπο. Αρχικά, εφόσον η συντριπτική πλειοψηφία των πολυμερών συντίθενται με ορυκτές πρώτες ύλες, που δεν είναι ανανεώσιμες, ενώ η παραγωγή τους είναι πολύ ενεργοβόρα και συνδέεται με την εκπομπή μεγάλων ποσοτήτων διοξειδίου του άνθρακα. Στο τέλος του κύκλου ζωής τους, τα πλαστικά καταλήγουν κατά κύριο λόγο σε χωματερές, καθώς μόνο ένα πολύ μικρό ποσοστό τους ανακυκλώνεται αποτελεσματικά. Εκτός αυτού, παρόλο που από μόνα τους τα πλαστικά είναι αβλαβή, τα μικροπλαστικά έχουν σοβαρές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία αλλά και στα οικοσυστήματα. Έτσι, επιδιώκεται η ανάπτυξη πιο βιώσιμων μονοπατιών παραγωγής πολυμερών, τα οποία είναι σε συμφωνία με τις αρχές της πράσινης χημείας. Για να είναι πραγματικά πράσινο ένα πολυμερές, πρέπει να έχει πράσινες ιδιότητες, δηλαδή να προέρχεται από πρώτες ύλες βιολογικής προέλευσης και να είναι βιοδιασπώμενο, αλλά και να παράγεται με φιλικές προς το περιβάλλον μεθόδους [30].

Συγκεκριμένα, έχουν αναπτυχθεί πολυμερή από ανανεώσιμες πρώτες ύλες, είτε συνθέτοντας τα μονομερή τους από ανανεώσιμες πηγές (φυτικά έλαια, σάκχαρα, γλυκερόλη, φουράνια, κ.α.) είτε χρησιμοποιώντας νέα μονομερή, είτε στρεφόμενοι σε φυσικά πολυμερή (άμυλο κ.α.) (Αρχή 7). Ένα από τα νέα αυτά πολυμερή που έχει βρει εκτενή εφαρμογή κυρίως στην συσκευασία και στις ίνες είναι το πολυ(γαλακτικό οξύ) (PLA). Επίσης, νέες κατευθύνσεις ακολουθούνται αναφορικά με την χρήση διαλυτών, με στόχο τεχνικές πολυμερισμού χωρίς διαλύτες ή την χρήση ασφαλέστερων διαλυτών όπως τα ιονικά υγρά (Αρχή 5). Ένας ακόμη τρόπος που εφαρμόζονται οι αρχές της πράσινης χημείας στην επιστήμη των πολυμερών είναι η στροφή της προς βιοδιασπώμενα πολυμερικά υλικά, ειδικά σε προϊόντα μικρού χρόνου όπως τα υλικά συσκευασίας και τα μαχαιροπήρουνα ή ποτήρια μιας χρήσης (Αρχή 10). Κάποια από τα πολυμερή που ανήκουν σε αυτή την κατηγορία είναι το PLA, τα πολυ(υδροξυαλκανοειδή) (PHAs), το άμυλο, το πολυ(ασπαρτικό οξύ), η πολυ(αιθυλενογλυκόλη) και το PVA. Ιδιαίτερη έμφαση έχει δοθεί και στην έρευνα του ενζυμικού πολυμερισμού, που χρησιμοποιεί ένζυμα ως καταλύτες που επιτυγχάνουν υψηλότερους ρυθμούς

αντίδρασης, έχουν μεγάλη εκλεκτικότητα και δρουν σε ήπιες συνθήκες, ενώ περιορίζουν την παραγωγή παραπροϊόντων (Αρχές 6,8,9) [26–28].

## 2.2. Ενζυμικός πολυμερισμός

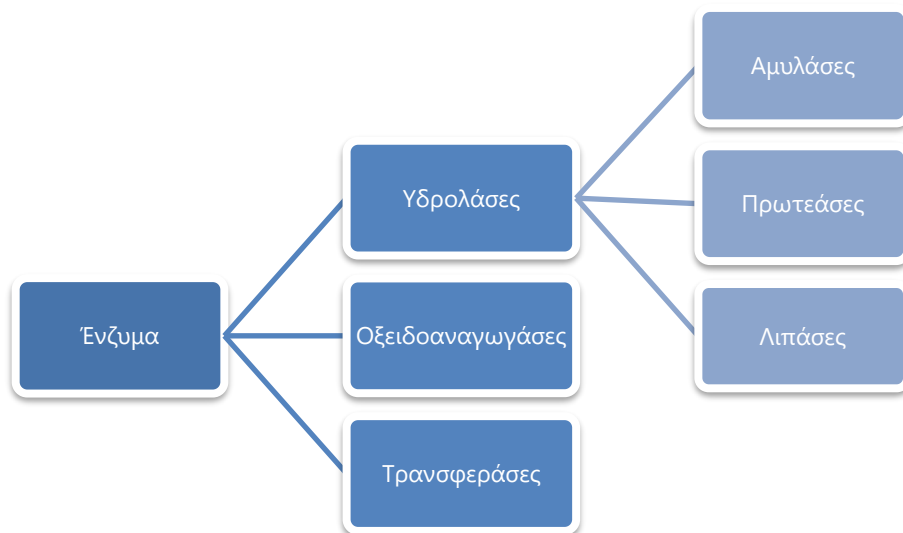
Ο ενζυμικός πολυμερισμός περιλαμβάνει την χρήση ενζύμων ως βιοκαταλύτες για την σύνθεση πολυμερών. Τα ένζυμα είναι πρωτεΐνες που καταλύουν πληθώρα αντιδράσεων με αποτελεσματικότητα, καθώς επιδεικνύουν μεγάλη ενάντιο-, τόπο- και χημειο-εκλεκτικότητα. Στα πλεονεκτήματά τους περιλαμβάνονται οι ήπιες συνθήκες αντίδρασης, η μη τοξική τους φύση και η δυνατότητα επαναχρησιμοποίησης τους. Εκτός αυτού, η παραγωγή παραπροϊόντων από τις ενζυμικά καταλυόμενες αντιδράσεις είναι περιορισμένη, ενώ χάρη στις ήπιες συνθήκες αποφεύγονται ανεπιθύμητες παράπλευρες αντιδράσεις, όπως η υδρόλυση και η μετεστεροποίηση [31–33]. Για τους λόγους αυτούς, ο ενζυμικός πολυμερισμός θεωρείται ένας υποσχόμενος τρόπος για την πιο βιώσιμη σύνθεση πολυμερών, και κυρίως πολυεστέρων. Βέβαια, τα ένζυμα ως καταλύτες παρουσιάζουν και κάποια μειονεκτήματα, όπως το υψηλό κόστος, η απαίτηση για μεγάλες ποσότητες και η επίτευξη χαμηλότερου μοριακού βάρους πολυμερών. Για την αντιμετώπιση των προβλημάτων αυτών διεξάγεται έρευνα τόσο αναφορικά με το είδος των ενζύμων, όσο και με τις μεθόδους πολυμερισμού [31].

### 2.2.1. Είδη ενζύμων

Για τον ενζυμικό πολυμερισμό χρησιμοποιούνται ως καταλύτες ένζυμα των οικογενειών των τρανσφεράσων, οξειδοαναγωγάσων και υδρολασών. Οι τελευταίες είναι γνωστές και ως εστεράσες, καθώς καταλύουν την εστεροποιήσεις σε οργανικούς διαλύτες και υδρολύσεις πολυεστέρων λιπαρών οξέων σε υδατικά μέσα. Οι υδρολάσες μπορούν να διαχωριστούν σε αμυλάσες, πρωτεάσες και λιπάσες (Εικόνα 13).

Οι λιπάσες είναι το τρίτο πιο εμπορικά διαθέσιμο ένζυμο και προέρχεται από ζώα, φυτά και μικρόβια. Ειδικότερα, οι μικροβιακές λιπάσες χρησιμοποιούνται ευρέως ως βιομηχανικοί καταλύτες, χάρη στην αφθονία τους, την ταχύτατη αναπαραγωγή τους, την ικανότητα τους να προσαρμόζονται σε εύρος θερμοκρασιών και pH, και την δυνατότητα απομόνωσης και καθαρισμού τους

σε μορφή εξωκυτταρικών ενζύμων. Εκτός αυτού, για την δράση τους δεν απαιτούν συμπράγοντες, και η εκλεκτικότητα τους περιορίζει σημαντικά τις παράπλευρες αντιδράσεις [31,32,34].



Εικόνα 13: Είδη καταλυτικών ενζύμων

Από τις λιπάσες, το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο ένζυμο είναι η λιπάση B προερχόμενη από το *Candida antarctica* (CALB), η οποία έχει διατηρήσει το ενδιαφέρον τόσο στην ελεύθερη όσο και στην ακινητοποιημένη μορφή της [4]. Η δημοτικότητα της οφείλεται στο εύρος των υποστρωμάτων στα οποία λειτουργεί, στην υψηλή καταλυτική της απόδοση, στην στερεοεκλεκτικότητά της στις δευτερεύουσες αλκοόλες, αλλά και στη υψηλή της σταθερότητα σε υψηλές θερμοκρασίες (έως 100°C) στην ακινητοποιημένη της μορφή [31,34–36]. Είναι γεγονός ότι η ακινητοποίηση των ενζύμων προτιμάται σε μεγάλο βαθμό, καθώς διασφαλίζει την βιολογική τους δράση σε οργανικά μέσα και ενισχύει την ανθεκτικότητά τους, με αποτέλεσμα υψηλότερες αποδόσεις στους πολυμερισμούς. Επίσης, διευκολύνει την ευκολότερη απομάκρυνση του καταλύτη, για επαναχρησιμοποίηση του έως και 10 φορές. Η ανακυκλωσιμότητα της CALB συμβάλει στην βιωσιμότητα των αντιδράσεων και είναι σε συμφωνία με τις αρχές της πράσινης χημείας. Η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη CALB είναι το εμπορικά διαθέσιμο Novozym 435 (N435), που πρόκειται για ακινητοποιημένη λιπάση σε ακριλική ρητίνη [32,34].

### 2.2.2. Μηχανισμοί και παράμετροι αντίδρασης

Η σύνθεση πολυεστέρων με καταλύτη λιπάση ακολουθεί τον μηχανισμό της αντίστοιχης αντίδρασης υδρόλυσης. Ανάλογα με τα μονομερή, η σύνθεση του πολυεστέρα υπάγεται σε μια από τις δυο παρακάτω κατηγορίες, τον ενζυμικό πολυμερισμό διάνοιξης δακτυλίου (eROP) και την ενζυμική πολυσυμπύκνωση [31].

Ο μηχανισμός eROP (λιπάσης) ξεκινάει με τον συνδυασμό της σερίνης με μονομερή κυκλικού εστέρα προς σχηματισμός ενός ασταθούς ενεργού ενδιάμεσου ενζύμου-υποστρώματος, το οποίο υδρολύεται ταχέως από το νερό ή τις αλκοόλες. Ως αποτέλεσμα, επιτυγχάνεται τόσο η διάνοιξη του δακτυλίου του υποστρώματος όσο και η ανάκτηση της λιπάσης, μετά την οποία, αυτή συνδυάζεται με άλλα μονομερή για να σχηματίσει ένα άλλο ενεργό ενζυμικό-υποστρωματικό ενδιάμεσο. Το μόριο αυτό αντικαθιστά το νερό και δρα στο ενδιάμεσο σχηματίζοντας διμερές και ελεύθερο ένζυμο, ενώ στη συνέχεια, το διμερές αντιδρά με το νέο ενεργό ενδιάμεσο ενζύμου-υποστρώματος για να λάβει τριμερές και με αυτόν τον τρόπο να συνεχιστεί ο πολυμερισμός διάνοιξης δακτυλίου [31].

Η ενζυμική πολυσυμπύκνωση περιλαμβάνει τη συμπύκνωση μονομερών με πολλαπλές καρβοξυλομάδες και υδροξυλομάδες για τη δημιουργία πολυμερών, η οποία καταλύεται από ένα ένζυμο. Κατά τον σταδιακό πολυμερισμό, μικρά μόρια, όπως νερό και αλκοόλες, απελευθερώνονται μέσω των αντιδράσεων μεταξύ υποστρωμάτων προς σχηματισμό νέων χημικών δεσμών. Η ενζυμική πολυσυμπύκνωση ακολουθεί αντίστοιχο μηχανισμό με τον πολυμερισμό διάνοιξης δακτυλίου. Στο ενεργό κέντρο, το ένζυμο δεσμεύει το μονομερές (πολυκαρβοξυλικό οξύ ή εστέρα) για να σχηματίσει ένα σύμπλοκο ενζύμου-υποστρώματος και απελευθερώνει παραπροϊόντα (νερό εάν το μονομερές είναι πολυκαρβοξυλικό οξύ ή αλκοόλη όταν το μονομερές είναι). Το σύμπλοκο αντιδρά με ένα άλλο μονομερές με μια ομάδα υδροξυλίου για να σχηματίσει ένα διμερές και απελευθερώνει ένα ένζυμο. Το διμερές μπορεί να συνδυαστεί με ένζυμο για το σχηματισμό συμπλόκου ενζύμου-υποστρώματος ή να αντιδράσει απευθείας με σύμπλοκα ενζύμου-υποστρώματος για να γίνει ολιγομερές και στη συνέχεια πολυμερές παραγωγή ενός πολυμερούς [31].

Σε αντίθεση με την πολυσυμπύκνωση, κατά τον eROP δεν απελευθερώνεται κάποια ομάδα. Ωστόσο, η εκκίνηση του πολυμερισμού διευκολύνεται από ποσότητες νερού δεσμευμένες σε ένζυμο, οπότε, ομοίως με την πολυσυμπύκνωση, η απομάκρυνση της περίσσειας νερού είναι σημαντική για την επίτευξη καλών μετατροπών άρα και προϊόντων υψηλού μοριακού βάρους [32]. Εκτός αυτού, ο eROP, παρουσιάζει κάποια μειονεκτήματα, κυρίως τον αργό ρυθμό του ενζυμικού πολυμερισμού και την χρήση διαλυτών όπως το τολουόλιο [37].

Ο ενζυμικός πολυμερισμός επηρεάζεται από διάφορες παραμέτρους όπως ο τύπος του ενζύμου, η συγκέντρωσή του, η δομή του μονομερούς, η θερμοκρασία και ο χρόνος αντίδρασης και, η απουσία ή παρουσία διαλύτη κατά τη διάρκεια της αντίδρασης [32]. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο ένζυμο είναι η ακινητοποιημένη CALB, καθώς είναι το μέχρι στιγμής αποτελεσματικότερο. Ενδεικτικά, για την σύνθεση του πολυ(ηλεκτρικού βουτυλεστέρα) (PBS) χρησιμοποιείται σχεδόν αποκλειστικά το N435, με εξαίρεση μια μελέτη του 1998, όπου χρησιμοποιήθηκε λιπάση από *Rhizomucor miehei*. Αντίστοιχα, για την σύνθεση του πολύ(γαλακτικού οξέος) (PLA), το N435 αποτελεί μια αρκετά δημοφιλή επιλογή, ενώ άλλες πιθανότητες που έχουν μελετηθεί είναι η λιπάση *Candida rugosa* (LCR) και οι λιπάσες από *P. fluorescens* (AK), *Burkholderia cepacia* (LBC) και χοιρινό πάγκρεας (PPL) [37].

Αναφορικά με την συγκέντρωσή του ενζύμου, αποδεικνύεται ότι το μοριακό βάρος του πολυμερούς τείνει να αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης του ενζύμου. Η συσχέτιση αυτή, όμως, δεν είναι απόλυτη, αφού παρατηρείται πλατό στην απόδοση της αντίδρασης και το μοριακό βάρος του προϊόντος μετά από περαιτέρω αύξηση της ποσότητας του καταλύτη. Αυτό συμβαίνει διότι η επιμήκυνση της σχηματιζόμενης πολυμερικής αλυσίδας αυξάνει την στερεοχημική παρεμπόδιση των μακρομορίων και οδηγεί σε χαμηλότερο ρυθμό διάχυσης στο μέσο διασποράς. Γενικά, επιδιώκεται η χρήση της ελάχιστης δυνατής ποσότητας καταλύτη, τόσο για οικονομικούς λόγους, αφού οι βιοκαταλύτες είναι ακριβοί, όσο και για την διατήρηση του πράσινου χαρακτήρα της διεργασίας. Μια τυπική συγκέντρωση που επιλέγεται είναι 10% wt των μονομερών, ώστε να επιτυγχάνεται το μεγαλύτερο δυνατό μοριακό βάρος, με την χρήση της ελάχιστης ποσότητας βιοκαταλύτη [32,37].

Ένας ακόμα παράγοντας που επηρεάζει την ενζυμική σύνθεση είναι το μήκος της αλυσίδας του μονομερούς. Γενικά, η αύξηση των ατόμων άνθρακα της αλυσίδας οδηγούν σε αυξημένο μοριακό βάρος, καθώς αυτή παρουσιάζει υδροφοβικό χαρακτήρα, ενισχύοντας έτσι την διάχυση της στα υδροφοβικά ενεργά κέντρα του ενζύμου και διευκολύνοντας την διαφυγή των μορίων νερού (παραπροϊόν) [38]. Στο αυξημένο μοριακό βάρος συμβάλει και η μειωμένη διαλυτότητα των μικρότερων αλυσίδων στο μέσο της αντίδρασης, που έχει ως αποτέλεσμα τη πρόωρη καταβύθιση των προϊόντων. Επίσης, σημαντικό ρόλο στον έλεγχο του μοριακού βάρους του προϊόντος διαδραματίζει η αναλογία των μονομερών, αν και σε αντιδράσεις με δυο μονομερή, συνήθως επιλέγεται η χρήση ισομοριακών ποσοτήτων [32].

Οι συνθήκες της αντίδρασης επιτελούν σημαντικό ρόλο στην δραστηριότητα και την σταθερότητα του ενζύμου, άρα και στα χαρακτηριστικά του τελικού πολυμερούς. Αρχικά, αναφορικά με την θερμοκρασία της αντίδρασης, η αύξηση της οδηγεί σε μεγαλύτερη αύξηση της πολυμερικής αλυσίδας, καθώς διευκολύνει την διάλυση του υποστρώματος και μειώνει το ιξώδες του μέσου αντίδρασης, οδηγώντας σε υψηλότερα μοριακά βάρη. Όμως, οι υψηλές θερμοκρασίες έχουν ως αποτέλεσμα την διάσπαση των δεσμών υδρογόνου και των υδροφοβικών αλληλεπιδράσεων, άρα την μετουσίωση και καταβύθιση των πρωτεϊνών και την απενεργοποίηση των ενζύμων [31,32]. Ενδεικτικά, το PBS συντίθεται ενζυμικά με καταλύτη N435 σε θερμοκρασία 50-130°C, το PLA στους 60-130°C και το PBF στους 50-140°C [37]. Επίδραση στο μοριακό βάρος του προϊόντος έχει και η διάρκεια της αντίδρασης, η οποία επιδρά γενικά θετικά αν αποφευχθεί η απενεργοποίηση του καταλύτη [31,32].

Εκτός αυτών, η δράση του ενζύμου επηρεάζεται από το περιβάλλον την αντίδρασης. Ο ενζυμικός πολυμερισμός λαμβάνει χώρα σε σύστημα με ή χωρίς διαλύτη. Στην περίπτωση του πολυμερισμού μάζας, το ένζυμο διασπείρεται μέσα στα αντιδραστήρια, γεγονός που αυξάνει την αποτελεσματικότητα του πολυμερισμού αλλά δυσχεραίνει την μεταφορά μάζας. Έτσι, για την επίτευξη υψηλών μοριακών βαρών, προτιμάται η χρήση διαλυτών, που φέρνει όλα τα αντιδραστήρια στην ίδια φάση και αυξάνει τον ρυθμό της αντίδρασης. Πιο συγκεκριμένα, σχετικά με τους διαλύτες, η πολικότητα τους μπορεί είτε να προκαλέσει την απενεργοποίηση του ενζύμου αλλάζοντας την διαμόρφωση του,

είτε να διευκολύνει την απελευθέρωση του δεσμευμένου στο ένζυμο νερού και να ξεκινήσει αντιδράσεις υδρόλυσης. Ως εκ τούτου, στις ενζυμικές συνθέσεις προτιμώνται συνήθως διαλύτες με χαμηλή πολικότητα. Επιπλέον, απαιτείται υψηλή συγγένεια ενζύμου-διαλύτη ώστε η θέση πρόσδεσης να είναι προσβάσιμη στις αντιδραστικές ομάδες. Τέλος, ο διαλύτης πρέπει να είναι χημικά αδρανής για την αποφυγή παράπλευρων αντιδράσεων και πρέπει να έχει σημείο ζέσεως κατάλληλο για την θερμοκρασία αντίδρασης [31,32].

Δεδομένων αυτών, η έρευνα επικεντρώνεται στον σχεδιασμό θερμοσταθερών λιπασών, στην ένταξη πράσινων διαλυτών (νερό, ιονικά υγρά, υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα) στις πολυμερικές συνθέσεις και στην βελτιστοποίηση των τεχνικών πολυμερισμού μάζας.

### 2.3. Ενζυμικός πολυμερισμός του PBF

Εστιάζοντας στην σύνθεση του PBF, ο ενζυμικός πολυμερισμός του δεν έχει μελετηθεί εκτενώς. Το μόνο ένζυμο που έχει χρησιμοποιηθεί είναι το N435, δεδομένης της επίδοσής του στην σύνθεση αλειφατικών πολυεστέρων. Μέχρι στιγμής, η χρήση του στη σύνθεση αλειφαρωματικών και αρωματικών πολυεστέρων είναι περιορισμένη, εξαιτίας του υψηλού σημείου τήξεώς τους, της χαμηλής διαλυτότητας τους στο μέσο της αντίδρασης, και της χαμηλής δραστηριότητας των αρωματικών μονομερών. Ως μονομερές χρησιμοποιείται ο διεθυλεστέρας του 2,5- φουρανδικαρβοξυλικού οξέος (DEF) και όχι το αντίστοιχο οξύ (FDCA), λόγω της χαμηλότερης θερμοκρασίας τήξης του, της καλύτερης διαλυτότητας του στο μέσο της αντίδρασης και της υψηλότερης εκλεκτικότητας της CALB στους εστέρες. Στην βιβλιογραφία αναφέρονται δύο επιτυχημένες απόπειρες σύνθεσης του PBF, οι οποίες πρόκεινται για διεργασίες δύο σταδίων, το δεύτερο εκ των οποίων λαμβάνει χώρα σε υψηλότερη θερμοκρασία και χαμηλότερη πίεση, με σκοπό την επίτευξη υψηλότερων μοριακών βαρών. Σημειώνεται, επίσης, ότι το ένζυμο ξηραίνεται πριν χρησιμοποιηθεί [35–37].

Πιο αναλυτικά, στην εργασία των Comerford *et al.* [35], εξετάζεται πολυμερισμός μάζας στους 50°C με καταλύτη N435 υπό διαφορετικές συνθήκες πίεσης και ατμόσφαιρας. Η παραλαβή του προϊόντος έγινε με προσθήκη διχλωρομεθανίου

(DCM). Μετά το πρώτο στάδιο, προέκυψε ολιγομερές με  $\overline{M}_n = 500 \text{ g/mol}$  και  $\overline{M}_w = 600 \text{ g/mol}$ . Η μετέπειτα θερμική επεξεργασία οδήγησε σε κάθε περίπτωση σε αύξηση του μοριακού βάρους, ενώ η απομάκρυνση του βιοκαταλύτη πριν από αυτή στοχεύει στην διατήρηση της ενεργότητας και την επαναχρησιμοποίησή του. Χρησιμοποιήθηκε ισομοριακή ποσότητα μονομερών, και ποσότητα ενζύμου ίση με το 10% του μείγματός τους [35,37].

Στην δεύτερη περίπτωση, στην εργασία των Jiang *et al.* [36], μελετάται πολυμερισμός διαλύματος, με διαλύτη διφενυλαιθέρα και βιοκαταλύτη N435. Στο πρώτο στάδιο της μεθόδου, ο πολυμερισμός λαμβάνει χώρα στους 80°C σε ατμοσφαιρική πίεση, ενώ για το δεύτερο εφαρμόζεται κενό στα 2 mmHg (2.7 mbar) και θερμοκρασία 95-140°C. Τα τελικά προϊόντα διαλύθηκαν σε χλωροφόρμιο και καταβυθίστηκαν με μεθανόλη ή εξάνιο. Ως αποτέλεσμα, παραλήφθηκε PBF με  $\overline{M}_n = 1600 \text{ g/mol}$  και  $\overline{M}_w = 5500 \text{ g/mol}$ . Χρησιμοποιήθηκε ισομοριακή ποσότητα μονομερών, και ποσότητα ενζύμου ίση με το 10% του μείγματός τους [36,37].

Τα συγκεντρωτικά δεδομένα που προκύπτουν από την βιβλιογραφία σχετικά με την ενζυμική σύνθεση του PBF παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.

**Πίνακας 6: Βιβλιογραφικά δεδομένα ενζυμικής σύνθεσης του PBF [35–37]**

Πολυμερές	Ένζυμο	Διαλύτης	T (°C)	Mw (g/mol)	Mn (g/mol)
PBF	N453	-	50	600	500
PBF	N453	διφενυλαιθέρας	80-140	5500	1600

Παρατηρείται ότι στην περίπτωση του πολυμερισμού μάζας επιτυγχάνονται χαμηλότερα μοριακά βάρη. Το γεγονός αυτό αποδίδεται στο υψηλότερο ιξώδες του συστήματος αντίδρασης, που δυσχεραίνει την διάχυση των μονομερών και των δραστικών αλυσίδων ολιγομερών ή πολυμερών. Η αύξηση θερμοκρασίας στο δεύτερο στάδιο της αντίδρασης καθυστερεί τον διαχωρισμό φάσεων, ενώ επίσης απομακρύνει το νερό και τα παραπροϊόντα (αλκοόλες), βελτιώνοντας έτσι την απόδοση της πολυσυμπύκνωσης, οδηγώντας σε προϊόντα υψηλότερου μοριακού βάρους [37].

Στην βιβλιογραφία εντοπίζονται, επίσης, προσπάθειες σύνθεσης φουρανικών συμπολυμερών. Οι Maniar *et al.* [39] χρησιμοποίησαν DEF, 2,5-



δισ(υδροξυμεθυλ)φουράνιο (BHMF) και διάφορες αλειφατικές γραμμικές διόλες για να συνθέσουν διάφορους συμπολυεστέρες με βάση το φουράνιο, επιτυγχάνοντας  $\overline{M}_w$  έως 35.000 g/mol. Πιο συγκεκριμένα, όταν χρησιμοποιήθηκε 1,8-οκτανοδιόλη (1,8-ODO), σχηματίστηκε P(FMF-co-OF) με  $\overline{DP}_n$  και  $\overline{DP}_w$  122 και 269, το οποίο ήταν το υψηλότερο μεταξύ των αλειφατικών διολών που εξετάστηκαν. Επιπλέον, Οι Maniar *et al.* [40] συνέθεσαν ενζυμικά πολυ(εστερικά αμίδια) με βάση το FDCA. Το πολυ(δωδεκαμεθυλφουρανικό-co-δωδεκαμεθυλοφουραναμίδιο) (PEAF12) παρουσίασε το υψηλότερο  $\overline{M}_w$  (21.000 g/mol), ενώ εμφάνισε  $T_m$  92°C και  $T_d$  395°C, συγκρίσιμα με το PEF [37].

## 2.4. Σκοπός διπλωματικής εργασίας

Όπως διαπιστώνεται από την παραπάνω βιβλιογραφική ανασκόπηση, το PBF πρόκειται για ένα νέο υποσχόμενο πολυμερές, το οποίο παρουσιάζει μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον. Ταυτόχρονα, η μελέτη της ενζυμικής του σύνθεσης είναι ιδιαίτερα περιορισμένη, με μόλις δυο αναφορές επιτυχημένης παραγωγής του μέσω αυτής της διεργασίας [35,36]. Έτσι, ο σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η μελέτη του ενζυμικού πολυμερισμού του PBF χρησιμοποιώντας ως βιοκαταλύτη το εμπορικό ένζυμο Novozyme 435. Πιο συγκεκριμένα, εξετάζονται οι κρίσιμες παράμετροι της διεργασίας, δηλαδή η θερμοκρασία, η πίεση και ο χρόνος της, ενώ επίσης διερευνάται η δυνατότητα κλιμάκωσής της. Ο δεύτερος άξονας της εργασίας είναι η αναβάθμιση του συντεθειμένου υλικού μέσω της διεργασίας του μεταπολυμερισμού, οπότε μελετάται η επίδραση της θερμοκρασίας και του χρόνου αντίδρασης στην αποτελεσματικότητά της.

## Κεφάλαιο 3: Πειραματικό μέρος

Στο κεφάλαιο αυτό αναφέρονται οι πρώτες ύλες και τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν καθώς και η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε για την πραγματοποίηση των πειραμάτων. Επίσης, περιγράφονται οι αναλυτικές τεχνικές που εφαρμόστηκαν για τον χαρακτηρισμό των προϊόντων.

### 3.1. Πρώτες ύλες- Αντιδραστήρια

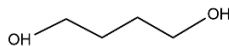
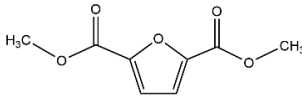
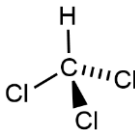
#### 3.1.1. Υλικά


Για την σύνθεση του πολυ(φουρανοδικού βουτυλεστέρα) (PBF) χρησιμοποιούνται τα μονομερή 1,4-βουτανοδιόλη (1,4-BDO) και διεθυλεστέρας του 2,5-φουρανδικαρβοξυλικού οξέος (DEF). Η 1,4-BDO πρόκειται για ένα παχύρρευστο υγρό (σημείο τήξης 19-20°C, σημείο βρασμού 229-230°C), ενώ ο DEF είναι στερεός σε θερμοκρασίας δωματίου (σημείο τήξης 47°C, σημείο βρασμού 167°C).

Ως καταλύτης χρησιμοποιείται η ακινητοποιημένη λιπάση B του *Candida antarctica* B, εμπορικά διαθέσιμη με την ονομασία Novozym®435 (N435), ενώ ως διαλύτης επιλέγεται το χλωροφόρμιο. Όπως αναφέρθηκε και στο Κεφ. 2.3, στην ενζυμική σύνθεση χρησιμοποιείται ο εστέρας του 2,5-φουρανδικαρβοξυλικού οξέος αντί το οξύ, λόγω της μεγαλύτερης εξειδίκευσης της λιπάσης σε εστερικά υποστρώματα.

Στον Πίνακα 7 συνοψίζονται οι βασικές πληροφορίες για τα αντιδραστήρια.

Πίνακας 7: Βασικές πληροφορίες αντιδραστηρίων για την ενζυμική σύνθεση PBF

Αντιδραστήριο	Τύπος	Δομή	Προμηθευτής	Χαρακτηριστικά
1,4-βουτανοδιόλη (1,4-BDO)	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>		Alfa Aesar	Καθαρότητας 99% MW= 90.12 g/mol
Διεθυλεστέρας του 2,5-φουρανδικαρβοξυλικού οξέος (DEF)	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>		BIOSYNTH	MW= 212.2 g/mol
Χλωροφόρμιο	CHCl <sub>3</sub>		Fisher Chemical	Καθαρότητας >=99.8%

Ακίνητοποιημένο ένζυμο Novozym®435 (N435)		Novozymes	Ενεργότητα 10000 PLU/g, βέλτιστη θερμοκρασία 30- 60°C
----------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------	-----------	----------------------------------------------------------------

### 3.1.2. Όργανα και συσκευές

- Περιστροφικός εξατμιστήρας (Rotavapor R-210, Buchi)
- Θερμόμετρο υδραργύρου (τοποθετημένο μέσα στο λουτρό για μεγαλύτερη ακρίβεια στη μέτρηση της θερμοκρασίας)
- Σφαιρικές φιάλες των 5, 10, 50 και 100 mL
- Σύστημα διήθησης υπό κενό
- Ξηραντήρας συνδεδεμένος με αντλία υψηλού κενού (Rotary pump RV5, Edwards Vacuum)

## 3.2. Πειραματική διαδικασία

### 3.2.1. Ενζυμικός προπολυμερισμός

Αρχικά, ζυγίζεται ποσότητα μονομερών 1,4-BDO και DEF ώστε να υπάρχει στοιχειομετρική αναλογία 1:1 (0.006 mol από το καθένα, δηλαδή 0.54g 1,4-BDO και 1.27g DEF). Τα μονομερή τοποθετούνται σε σφαιρική φιάλη των 10 mL, η οποία συνδέεται στον περιστροφικό εξατμιστήρα. Ο στερεός DEF και η υγρή 1,4-BDO προαναδεύονται στους 50°C μέχρι να παραληφθεί ένα ομοιογενές μείγμα. Έπειτα, προστίθεται το ένζυμο N435 σε ποσότητα ίση με το 10% της συνολικής μάζας των μονομερών. Αυτή τη χρονική στιγμή, ξεκινάει ο πολυμερισμός, ο οποίος πραγματοποιείται σε δύο στάδια. Το πρώτο στάδιο της αντίδρασης επιλέχθηκε να λαμβάνει χώρα στους 50°C, σε ατμοσφαιρική πίεση για 24 ώρες, ώστε και τα δύο μονομερή να βρίσκονται σε υγρή μορφή. Οι ήπιες αυτές συνθήκες συμβάλουν, επίσης, στην ελαχιστοποίηση της απώλειας την 1,4-BDO κατά την διεργασία. Αναφορικά με το δεύτερο στάδιο, οι συνθήκες του διερευνώνται στην παρούσα εργασία. Συγκεκριμένα, η διερεύνηση περιλαμβάνει την θερμοκρασία, την πίεση και τον χρόνο αντίδρασης. Μετά το τέλος της διεργασίας, παραλαμβάνεται το προϊόν (παχύρρευστο υγρό) αναμεμειγμένο με το ένζυμο. Η διάταξη φαίνεται στην *Εικόνα 14*.



Εικόνα 14: Διάταξη σύνθεσης PBF

Οι συνθήκες των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 8.

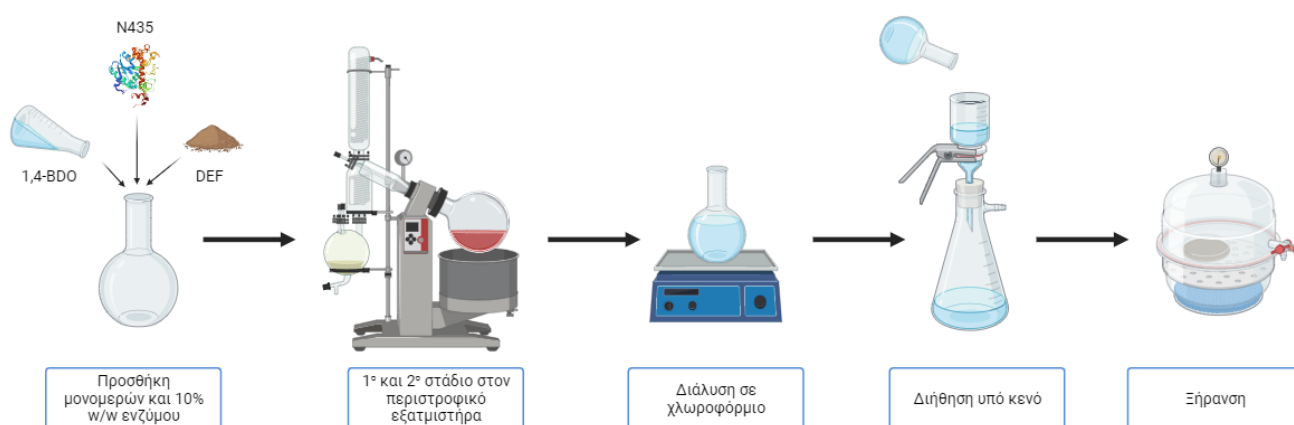
Πίνακας 8: Διερεύνηση συνθηκών διεργασίας ενζυμικού προπολυμερισμού PBF

Δείγμα	1 <sup>ο</sup> στάδιο			2 <sup>ο</sup> στάδιο		
	T(°C)	P(mbar)	t(h)	T(°C)	P(mbar)	t(h)
<b>A-75</b>	50	1000	24	<b>75</b>	200	2
<b>A-80</b>	50	1000	24	<b>80</b>	200	2
<b>A-85</b>	50	1000	24	<b>85</b>	200	2
<b>A-90</b>	50	1000	24	<b>90</b>	200	2
<b>A-95</b>	50	1000	24	<b>95</b>	200	2
<b>B-90</b>	50	1000	24	90	<b>20</b>	2
<b>B-95</b>	50	1000	24	95	<b>20</b>	2
<b>C-90-6</b>	50	1000	24	90	200	<b>6</b>
<b>C-95-6</b>	50	1000	24	95	200	<b>6</b>
<b>C-90-24</b>	50	1000	24	90	200	<b>24</b>

Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε στον σχεδιασμό των πειραμάτων διερεύνησης των βέλτιστων συνθηκών του 2<sup>ου</sup> σταδίου έχει ως εξής. Αρχικά, μετά από βιβλιογραφική ανασκόπηση, επιλέχθηκαν συνθήκες πίεσης και χρόνου αντίστοιχες με αυτές της ενζυμικής σύνθεσης άλλων πολυεστέρων (π.χ. PBS). Το

εύρος διερεύνησης της θερμοκρασίας βασίστηκε στις προηγούμενες μελέτες για το PBF αλλά και στις θερμοκρασίες βέλτιστης λειτουργίας του ενζύμου. Αφού συγκρίθηκαν τα αποτελέσματα για τις διαφορετικές θερμοκρασίες στα 200 mbar για 2 ώρες, στις δύο βέλτιστες θερμοκρασίες, εξετάστηκε η επίδραση της πίεσης στην διεργασία. Τέλος, ως παράμετρος της διεργασίας διερευνήθηκε ο χρόνος αντίδρασης. Εκτός από τις 2 ώρες στις οποίες διεξαγόταν η αντίδραση στα προηγούμενα πειράματα, έγιναν δοκιμές στις 6 και τις 24 ώρες.

Μετά το πέρας και του δεύτερου σταδίου, η σφαιρική φιάλη απομακρύνεται από τον περιστροφικό εξατμιστήρα και προστίθενται περίπου 10 mL χλωροφορμίου ώστε να διαλυθεί το προϊόν. Η φιάλη, στην συνέχεια, αφήνεται υπό ήπια μαγνητική ανάδευση, μέχρι την πλήρη διαλυτοποίηση του προϊόντος. Έπειτα, πραγματοποιείται διήθηση υπό κενό ώστε να απομακρυνθεί το ένζυμο από το διάλυμα χλωροφορμίου-προϊόντος. Το διήθημα τοποθετείται στον απαγωγό ώστε να εξατμιστεί η μεγαλύτερη ποσότητα του χλωροφορμίου. Μετά από 24 ώρες, το δείγμα μεταφέρεται σε ξηραντήρα συνδεδεμένο με αντλία υψηλού κενού ώστε να απομακρυνθούν υπολειπόμενα ίχνη διαλύτη. Η πειραματική διαδικασία του ενζυμικού προπολυμερισμού παρουσιάζεται συνοπτικά στην *Εικόνα 15*.



**Εικόνα 15: Σχηματική απεικόνιση πειραματικής διαδικασίας ενζυμικού προπολυμερισμού PBF**

Τέλος, πραγματοποιήθηκε κλιμάκωση της διεργασίας με σκοπό την παραλαβή 3 και 6 g προϊόντος.

Για την πρώτη περίπτωση, χρησιμοποιήθηκαν 0.0143 mol του κάθε μονομερούς (1.29 g 1,4-BDO και 3.03 g DEF) σε φιάλη των 50 mL, με αποτέλεσμα την επίτευξη 2.4 φορές μεγαλύτερης κλίμακας. Αναφορικά με την παραγωγή των 6g, χρησιμοποιήθηκαν 0.0285 mol του κάθε μονομερούς (2.57 g 1,4-BDO και 6.06 g DEF) σε φιάλη των 100 mL, με αποτέλεσμα την επίτευξη 4.8 φορές μεγαλύτερης κλίμακας.

### 3.2.2. Μεταπολυμερισμός τήγματος

Για τις δοκιμές μεταπολυμερισμού χρησιμοποιήθηκε ως αρχικό υλικό το προϊόν που προέκυψε από την κλιμάκωση των 3g (A-90\_3g). Επιλέγεται η τεχνική τήγματος καθώς το αρχικό υλικό είναι σε μορφή gel και παρουσιάζει χαμηλή θερμοκρασία τήξης.

Αρχικά, ζυγίζεται ποσότητα προπολυμερούς (100-200 mg) και τοποθετείται στη σφαιρική φιάλη των 5 mL, που λειτουργεί ως αντιδραστήρας. Η σφαιρική φιάλη συνδέεται στον περιστροφικό εξατμιστήρα όπου πραγματοποιείται μεταπολυμερισμός τήγματος σε μειωμένη πίεση (200 mbar) έτσι ώστε να απομακρύνεται το προκύπτον παραπροϊόν. Οι συνθήκες μεταπολυμερισμού που διερευνήθηκαν εμφανίζονται στον Πίνακα 9.

Πίνακας 9: Διερεύνηση συνθηκών μεταπολυμερισμού PBF

Δείγμα	T(°C)	P(mbar)	t(h)
<b>P-85</b>	<b>85</b>	200	4
<b>P-95</b>	<b>95</b>	200	4
<b>P-105</b>	<b>105</b>	200	4
<b>P-115</b>	<b>115</b>	200	4
<b>P-125</b>	<b>125</b>	200	4
<b>P-135</b>	<b>135</b>	200	4
<b>P-145</b>	<b>145</b>	200	4
<b>P-155</b>	<b>155</b>	200	4
<b>P-125-6</b>	125	200	<b>6</b>
<b>P-125-8</b>	125	200	<b>8</b>
<b>P-125-16</b>	125	200	<b>16</b>

Αρχικά, έγινε διερεύνηση της θερμοκρασίας, ξεκινώντας από θερμοκρασίας στην οποία το αρχικό υλικό βρίσκεται σε κατάσταση τήγματος. Στην θερμοκρασία που βρέθηκε ως βέλτιστη, εξετάστηκε ως παράμετρος ο χρόνος του μεταπολυμερισμού.

### 3.3. Χαρακτηρισμός πρώτων υλών και προϊόντων

#### 3.3.1. Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός (NMR)

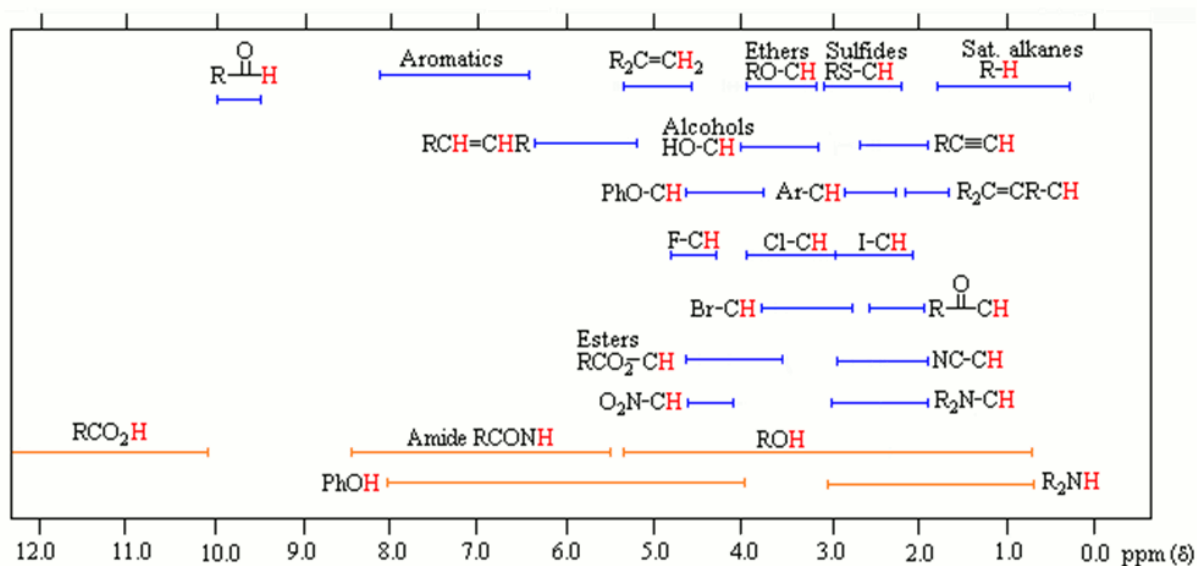
Η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού αποτελεί μια αναλυτική τεχνική που χρησιμοποιείται ευρέως για την ταυτοποίηση της δομής μικρών μορίων και μακρομορίων [41,42].

Η τεχνική αυτή βασίζεται στις ιδιότητες αυτοστροφορμής (spin) που έχουν οι ατομικοί πυρήνες, οι οποίοι όταν εκτίθενται σε ακτινοβολία κατάλληλης συχνότητας απορροφούν ενέργεια και η κατάσταση χαμηλότερης ενέργειας μεταβαίνει στην κατάσταση υψηλότερης ενέργειας (αναστροφή spin). Όταν συμβεί αυτή η αναστροφή, οι μαγνητικοί πυρήνες συντονίζονται με την εφαρμοζόμενη ακτινοβολία, φαινόμενο που ονομάζεται Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός. Οι πυρήνες που έχουν εξεταστεί περισσότερο είναι οι  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$ , όμως έμφαση θα δοθεί στον πρωτονιακό πυρηνικό μαγνητικό συντονισμό [41].

Η συχνότητα της ακτινοβολίας που απορροφάται από έναν πυρήνα επηρεάζεται σημαντικά από το χημικό του περιβάλλον. Ανάλογα με το είδος των ατόμων με τα οποία συνδέονται, άρα τα ηλεκτρόνια που τους περιβάλλουν, οι πυρήνες μπορεί να προστατεύονται από την πλήρη επίδραση του μαγνητικού πεδίου σε μεγαλύτερο ή μικρότερο βαθμό. Ως αποτέλεσμα, απαιτείται διαφορετική ποσότητα ενέργειας για τον συντονισμό του κάθε πυρήνα, γεγονός που αποτυπώνεται στο φάσμα H-NMR. Τα φάσματα αυτά απεικονίζουν την ένταση της απορρόφησης ενέργειας συναρτήσει της συχνότητας της ακτινοβολίας που υφίστανται οι πυρήνες. Οι πυρήνες που προστατεύονται περισσότερο από τα ηλεκτρόνια απαιτούν εφαρμογή ισχυρότερο πεδίου για τον συντονισμό τους, οπότε απορροφούν στην δεξιά πλευρά του φάσματος, ενώ οι αποπροστατευμένοι πυρήνες στην αριστερή. Η κλίμακα των φασμάτων δεν είναι απόλυτη, αφού η συχνότητα συντονισμού και η ένταση του μαγνητικού



πεδίου είναι αλληλοεξαρτώμενες. Έτσι, οι τιμές απεικονίζονται στην κλίμακα δ, οι τιμές της οποίας βρίσκονται υπολογίζοντας τη διαφορά της συχνότητας συντονισμού μιας ομάδας πρωτονίων με αυτή μιας ένωσης αναφοράς [41,43]. Η θέση στο γράφημα στην οποία απορροφά ένας πυρήνας ονομάζεται χημική μετατόπιση. Στην *Εικόνα 16* απεικονίζεται ενδεικτικά η θέση κάποιων χαρακτηριστικών ομάδων στην κλίμακα αυτή.



Εικόνα 16: Θέση χαρακτηριστικών ομάδων στο φάσμα H-NMR [42]

Το φάσμα H-NMR παρέχει επίσης πληροφορίες σχετικά με την ποσοτική σχέση μεταξύ ενδομοριακών και διαμοριακών συντονισμών [42]. Η ολοκλήρωση του εμβαδού κάθε κορυφής δίνει την δυνατότητα καταμέτρησης των διαφορετικών ειδών πρωτονίων σε ένα μόριο, αφού το εμβαδόν είναι ανάλογο με τον αριθμό των πρωτονίων στα οποία οφείλεται [41].

Η απορρόφηση ενός πρωτονίου συχνά, επίσης, διασπάται σε μια συστοιχία κορυφών, που ονομάζεται πολλαπλή. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται σχάση spin-spin και οφείλεται στην αλληλεπίδραση ή σύζευξη των spin γειτονικών πυρήνων [41,43].

Συνοψίζοντας, ένα φάσμα H-NMR δίνει τις παρακάτω πληροφορίες:

- Ο αριθμός των σημάτων δείχνει πόσα διαφορετικά είδη πρωτονίων υπάρχουν



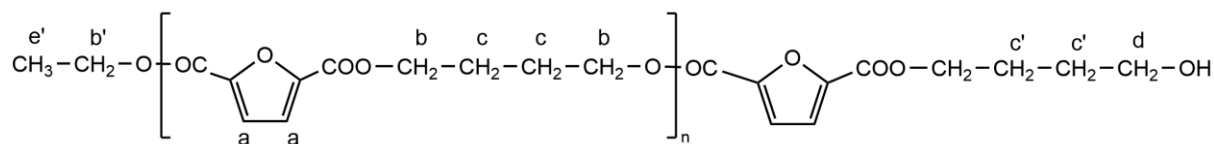
- Η θέση (χημική μετατόπιση) των σημάτων δείχνει το χημικό περιβάλλον του πρωτονίου
- Η ένταση (ολοκλήρωση) του κάθε σήματος είναι ανάλογη του πλήθους πρωτονίων αυτού του είδους
- Η σχάση σήματος (πολλαπλότητα κορυφών) δείχνει τον αριθμό των γειτονικών πρωτονίων [43].

Η φασματοσκοπία H-NMR πραγματοποιήθηκε σε  $\text{CDCl}_3$  σε φασματόμετρο Bruker DRX 400 (Εικόνα 17), εξοπλισμένο με έναν  $^1\text{H}/^{13}\text{C}$  διπλό ανεστραμμένο ευρύ αισθητήρα 5 mm, ο οποίος λειτουργεί 400 MHz.



**Εικόνα 17: Φασματόμετρο Bruker DRX 400**

Εκτός αυτών, η φασματοσκοπία H-NMR μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον υπολογισμό του μοριακού βάρους ενός πολυμερούς. Εφόσον το εμβαδό κάθε κορυφής είναι ανάλογο με την μοριακή συγκέντρωση του κάθε είδους συγκεκριμένου μοριακού βάρους στο εξεταζόμενο δείγμα, αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μια σχέση για τον υπολογισμό του μοριακού βάρους του συνολικού μορίου [44]. Στην παρούσα εργασία μελετάται το πολυμερές PBF, του οποίου τα υδρογόνα κατηγοριοποιούνται όπως φαίνεται στην παρακάτω *Εικόνα 18*.



**Εικόνα 18: Κατηγοριοποίηση υδρογόνων PBF**

Έτσι, το μοριακό του βάρος υπολογίζεται σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση.

$$M_n = \frac{I_b - I_d - \frac{2}{3} \cdot I_e}{4} \cdot 88.1 + \frac{I_a - \frac{1}{3} \cdot I_{e'}}{2} \cdot 122 + \frac{I_d}{2} \cdot 89.11 + \frac{I_e}{3} \cdot 45.06$$

$$0.5 \cdot \left( \frac{I_d}{2} + \frac{I_e}{3} \right)$$

Επίσης, από το H-NMR μπορούν να υπολογιστεί το ποσοστό των υδροξυλικών άκρων του μακρομορίου, χρησιμοποιώντας την παρακάτω εξίσωση.

$$\%OH = \frac{\frac{I_d}{2}}{\frac{I_d}{2} + \frac{I_e}{3}} \cdot 100\%$$

### 3.3.2. Φασματοσκοπία υπέρυθρου με μετασχηματισμό Fourier (FTIR)

Η φασματοσκοπία υπέρυθρου είναι μια οπτική μέθοδος ανάλυσης, που στηρίζεται στην απορρόφηση υπέρυθρης ακτινοβολίας από τα μόρια μιας ένωσης τα οποία διεγείρονται σε υψηλότερες στάθμες δόνησης ή περιστροφής. Κατά την αποδιέγερση τους, αυτά εκπέμπουν την απορροφημένη ενέργεια σε μήκος κύματος χαρακτηριστικό για το κάθε υλικό από το οποίο εκπέμπεται [3,5]. Η υπέρυθρη περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος εκτείνεται από την περιοχή του ορατού (0.8 μm) έως την περιοχή των μικροκυμάτων (1000 μm), όμως, για αναλυτικούς σκοπούς, ενδιαφέρον παρουσιάζει η περιοχή του μέσου υπέρυθρου. Το μέσο υπέρυθρο (MIR) κυμαίνεται μεταξύ 2.5 και 25 μm, που αντιστοιχεί στους κυματαριθμούς 4.000-400 cm<sup>-1</sup> [41,43,45].

Ανάλογα με τους δεσμούς και την γεωμετρία του μορίου, αυτό μπορεί να εμφανίζει πολλές διαφορετικές μορφές επιμήκυνσης και κάμψης των δεσμών, άρα και διαφορετικές απορροφήσεις, καθιστώντας τα φάσματα IR περίπλοκα. Ταυτόχρονα, όμως, η πολυπλοκότητα τους τους επιτρέπει να λειτουργούν ως «δακτυλικό αποτύπωμα» για κάθε ένωση [41,43,45].

Συνήθως στα μόρια παρατηρούνται οι ακόλουθοι βασικοί τύποι δονήσεων [45]:

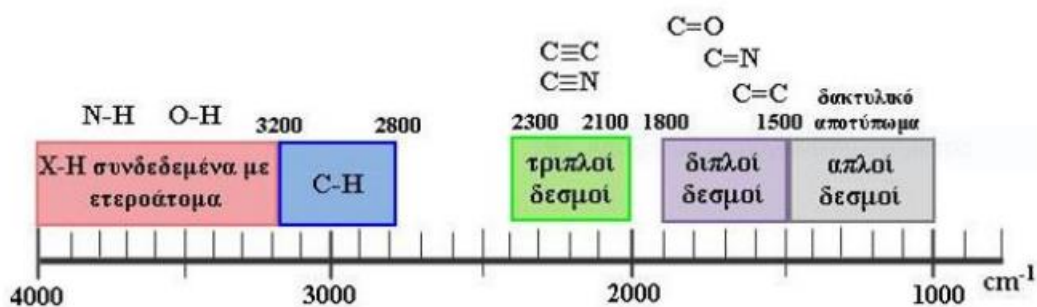
- Δονήσεις τάσης (stretching vibrations) οι οποίες παράγονται όταν δύο συνδεδεμένα άτομα πάλλονται συνεχώς μεταξύ τους, μεταβάλλοντας τη μεταξύ τους απόσταση κατά μήκος του άξονα του δεσμού. Οι δονήσεις τάσης μπορεί να είναι συμμετρικές ή ασύμμετρες.
- Δονήσεις κάμψης (bending vibrations) οι οποίες χαρακτηρίζονται από μία συνεχή μεταβολή της γωνίας μεταξύ δύο δεσμών και διακρίνονται στους εξής τέσσερις τύπους:
  - Δονήσεις ψαλιδιού ή παραμόρφωσης (scissoring or deformation vibrations) οι οποίες παράγονται όταν δύο άτομα που είναι συνδεδεμένα με ένα κεντρικό άτομο κινούνται εμπρός πίσω εντός του επιπέδου ισορροπίας (in-plane) και προς τη μεταξύ τους διεύθυνση.
  - Δονήσεις αιώρησης (rocking vibrations) οι οποίες συμβαίνουν όταν μία μη γραμμική δομική μονάδα τριών ατόμων δονείται εμπρός και πίσω εντός του επιπέδου ισορροπίας (in-plane) που σχηματίζεται από τα άτομα και τους δύο δεσμούς.
  - Δονήσεις σείσης (wagging vibrations) οι οποίες παράγονται όταν μία μη γραμμική δομική μονάδα τριών ατόμων δονείται εκτός του επιπέδου ισορροπίας (out-of-plane) που σχηματίζεται από τα άτομα και τους δύο δεσμούς.
  - Δονήσεις συστροφής (twisting vibrations) οι οποίες λαμβάνουν χώρα όταν μία δομική μονάδα τριών ατόμων συστρέφεται γύρω από τον δεσμό σύνδεσης με το υπόλοιπο τμήμα του μορίου εκτός του επιπέδου ισορροπίας (out-of-plane).

Για την ευκολότερη ερμηνεία των πολύπλοκων φασμάτων IR, συνήθως χωρίζονται στις εξής περιοχές [41,43,45]:

- Περιοχή δακτυλικού αποτυπώματος ( $1.500-400 \text{ cm}^{-1}$ ) όπου παρατηρούνται οι απορροφήσεις των δονήσεων σκελετού (δονήσεις τάσης των ομάδων C-C, C-O και C-N).

- Περιοχή χαρακτηριστικών ομάδων ( $4.000-1.400\text{ cm}^{-1}$ ) όπου οι απορροφήσεις οφείλονται στις δονήσεις τάσεις των των ομάδων O-H, N-H, C-H.

Πιο αναλυτικά, οι περιοχές απορρόφησης κάποιων χαρακτηριστικών δεσμών και ομάδων εμφανίζονται στην *Εικόνα 19*.



**Εικόνα 19:** Περιοχές απορρόφησης χαρακτηριστικών δεσμών και ομάδων στο φάσμα IR

Στην παρούσα μελέτη, χρησιμοποιήθηκε το όργανο Platinum-ATR ALFA II Bruker (*Εικόνα 20*), στο οποίο έγινε σάρωση μικρής ποσότητας των παραληφθέντων προϊόντων σε εύρος  $4.00-400\text{ cm}^{-1}$ .

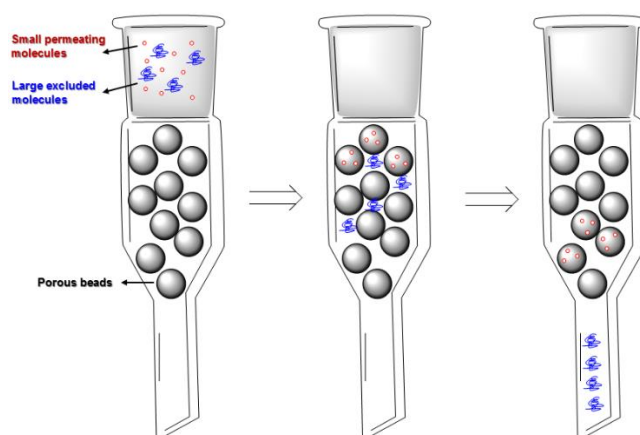


**Εικόνα 20:** Φασματοσκόπιο Platinum-ATR ALFA II Bruker

### 3.3.3. Χρωματογραφία Διέλευσης μέσω Πηκτής (GPC)

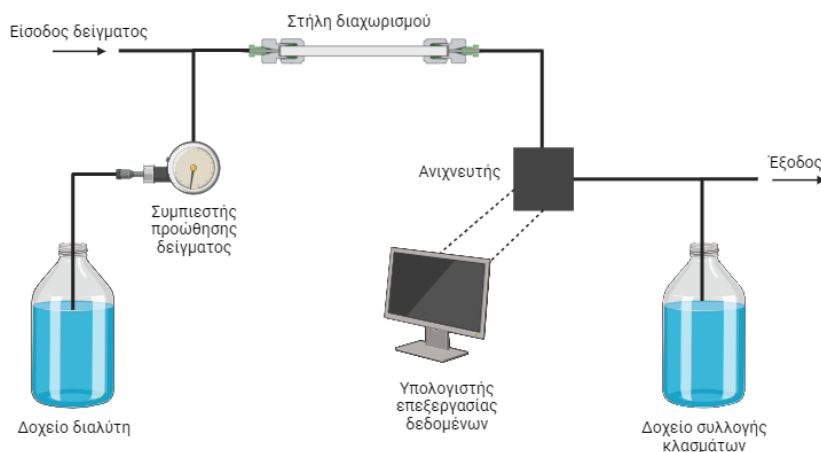
Η χρωματογραφία διέλευσης μέσω πηκτής αποτελεί είδος χρωματογραφίας έκλυσης υγρού-στερεού, κατά την οποία ο διαχωρισμός του δείγματος σε

κλάσματα γίνεται βάσει των διαφορετικών μεγεθών των μακρομορίων. Πιο συγκεκριμένα, τα μεγαλύτερα μακρομόρια αδυνατούν να διεισδύσουν στους πόρους της σταθερής φάσης, οπότε περνούν ανάμεσα τους και εξέρχονται πρώτα από την στήλη, ενώ τα μικρότερα εισέρχονται μέσα στους πόρους, άρα διανύουν μεγαλύτερη απόσταση και βγαίνουν από τη στήλη μετέπειτα (Εικόνα 21) [46–48].



Εικόνα 21: Αρχή λειτουργίας χρωματογραφικής στήλης

Μια τυπική συσκευή GPC ακολουθεί το διάγραμμα που φαίνεται παρακάτω στην Εικόνα 22.



Εικόνα 22: Τυπική διάταξη συσκευής GPC

Σημειώνεται ότι το μέγεθος των μακρομορίων δεν εξαρτάται μόνο από το μοριακό βάρος, αλλά και από την μοριακή δομή, την συγγένεια του πολυμερούς και του διαλύτη (η υψηλή συγγένεια έχει ως αποτέλεσμα ανηγμένες αλυσίδες πολυμερούς), τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των λειτουργικών ομάδων και τις διακλαδώσεις του μακρομορίου [48].

Η GPC πρόκειται για μια έμμεση μέθοδο υπολογισμού του μοριακού βάρους, οπότε στο τέλος της στήλης πρέπει να υπάρχει ανιχνευτής σκεδασμού φωτός, διαφορικός δείκτης διάθλασης ή υπεριώδους φωτός [46]. Επίσης, για τον καθορισμό της σχέσης μεταξύ του χρόνου έκλουσης που μετράται και του μοριακού βάρους κατασκευάζεται καμπύλη βαθμονόμησης που ονομάζεται «παγκόσμια καμπύλη». Για την κατασκευή της χρησιμοποιούνται πρότυπα διαλύματα πολυμερών γνωστού μοριακού βάρους με στενή κατανομή [46,48]. Στην συγκεκριμένη περίπτωση χρησιμοποιήθηκε καμπύλη βαθμονόμησης πολυστυρενίου (PS).

Η συσχέτιση των μεγεθών επιτυγχάνεται χρησιμοποιώντας τις σταθερές του Mark-Houwink, με το γινόμενο  $[\eta]M$  (όπου  $[\eta]$ , το εσωτερικό ιξώδες και  $M$  η μοριακή μάζα δειγμάτων πολυμερών διαφορετικής χημικής φύσης και μορφολογίας) να σχετίζεται με τον χρόνο έκλουσης σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση [49].

$$\log([\eta] \cdot MW) = a \cdot RT + b$$

Όπου:

- $a$  και  $b$ : Σταθερές
- $RT$ : Χρόνος έκλουσης
- $[\eta]$ : Ιξώδες πολυμερούς
- $MW$ : Μοριακό βάρος πολυμερούς

Πριν την ανάλυση, κάθε δείγμα διαλύεται σε χλωροφόρμιο με τελική συγκέντρωση διαλύματος 2mg/mL, ομογενοποιείται και περνάει από φίλτρο Syringe Filters Nylon 25 mm 0.22  $\mu$ m. Έπειτα τοποθετείται στο όργανο, γίνονται οι κατάλληλες ρυθμίσεις θερμοκρασίας, παροχής διαλύτη κ.ο.κ. και ξεκινά η ανάλυση.

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε το όργανο Agilent 1260 Infinity II (Agilent Technologies) (Εικόνα 23), εξοπλισμένο με μια στήλη προστασίας (PLgel 5μm) και δύο στήλες PLgel MIXED-D 5 μm (300 x 7,5 mm). Η έκλυση πραγματοποιήθηκε με χλωροφόρμιο με ρυθμό ροής 1 mL/min. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση ανιχνευτή δείκτη διάθλασης (RID) Agilent 1260 Infinity II (G7162A). Η βαθμονόμηση του οργάνου πραγματοποιήθηκε με πρότυπα πολυστυρενίου μοριακού βάρους από 162 έως 500.000 g/mol (EasiVial PS-M 2 ml) και κατασκευάστηκε η αντίστοιχη παγκόσμια καμπύλη βαθμονόμησης.



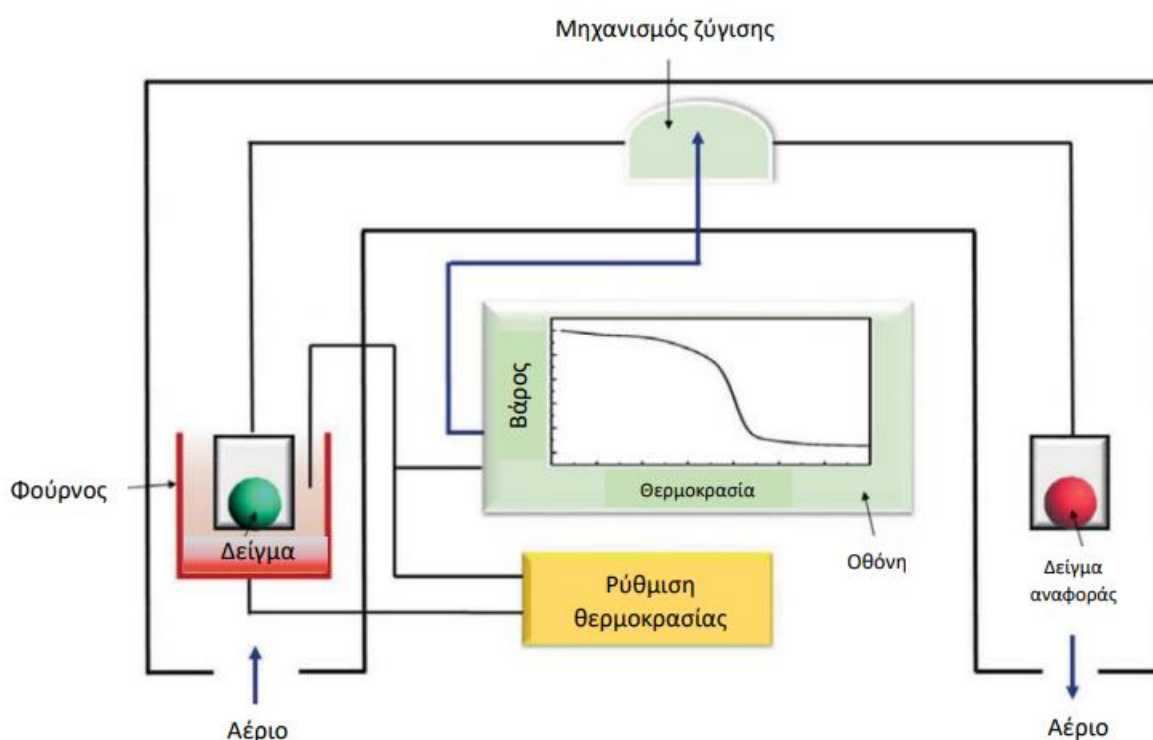
Εικόνα 23: Διάταξη GPC Agilent 1260 Infinity II

#### 3.3.4. Θερμοβαρυμετρική ανάλυση TGA

Η θερμοβαρυμετρική ανάλυση αποτελεί μια θερμική μέθοδο ανάλυσης που χρησιμοποιείται σε δείγματα τα οποία κατά την θέρμανση τους εμφανίζουν φυσικά ή χημικά φαινόμενα που συνοδεύονται από μείωση ή αύξηση του βάρους. Πιο συγκεκριμένα, κατά την ανάλυση αυτή, το εξεταζόμενο δείγμα θερμαίνεται σε ελεγχόμενες συνθήκες (περιβάλλον αέριο, ρυθμός αύξησης θερμοκρασίας, τελική θερμοκρασία) και ταυτόχρονα καταγράφεται το βάρος, η θερμοκρασία του και ο χρόνος της ανάλυσης [43,50]. Η θερμοβαρυμετρική ανάλυση χρησιμοποιείται για την διερεύνηση της θερμικής και οξειδωτικής

σταθερότητας καθώς και της σύστασης των δειγμάτων, αφού η μεταβολή του βάρους τους αποδίδεται σε διαφορετικούς παράγοντες. Η αύξηση του βάρους συνήθως συνδέεται με την προσρόφηση ή την οξείδωση, ενώ η απώλεια βάρους συνήθως οφείλεται στην αποικοδόμηση, την εκρόφηση, την αφυδάτωση ή την αεριοποίηση [50].

Η ανάλυση πραγματοποιείται σε θερμοζυγό, ο οποίος αποτελείται από: ευαίσθητο αναλυτικό ζυγό, φούρνο, φιάλη παροχής αερίου, 2 ροόμετρα (ένα για το προστατευτικό αέριο και ένα για το αέριο του φούρνου) και αντλία του ψυκτικού υγρού [50]. Η διάταξη παρουσιάζεται σχηματικά στην *Εικόνα 24*.



**Εικόνα 24: Διάταξη θερμοζυγού [50]**

Με τη βοήθεια του υπολογιστή, τα καταγεγραμμένα δεδομένα παρουσιάζονται ως διάγραμμα του ποσοστού μεταβολής του βάρους συναρτήσει της θερμοκρασίας (καμπύλη TG), ενώ επίσης χρησιμοποιείται η πρώτη παράγωγος της καμπύλης αυτής (DTG). Από τα γραφήματα αυτά εντοπίζεται η θερμοκρασία αποικοδόμησης/διάσπασης του εξεταζόμενου πολυμερούς ( $T_d$ ), η οποία ορίζεται ως η θερμοκρασία όπου παρατηρείται η μέγιστη μεταβολή βάρους.



Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιείται θερμοζυγός TGA 1 STARe System της Mettler Toledo (Εικόνα 25). Τα δείγματα θερμαίνονται από τους 30 έως τους 600°C με ρυθμό θέρμανσης 10°C/min και ροή φέροντος αέριου αζώτου 20 mL/min.

Από το θερμογράφημα που προκύπτει εξάγονται με κατάλληλη επεξεργασία η θερμοκρασία αποικοδόμησης ( $T_d$ ) και το επί τοις εκατό υπόλειμμα μάζας το οποίο προκύπτει ως το % κλάσμα της τελικής μάζας που παραμένει στο θερμοζυγό προς την αρχική μάζα του δείγματος.



Εικόνα 25: Θερμοζυγός TGA 1 STARe System

### 3.3.5. Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης DSC

Η διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης αποτελεί μια συχνά χρησιμοποιούμενη θερμική μέθοδο για τον προσδιορισμό των φυσικών ιδιοτήτων των πολυμερών. Κατά την ανάλυση αυτή, το υπό εξέταση δείγμα καθώς και ένα δείγμα αναφοράς θερμαίνονται σε ελεγχόμενες συνθήκες, ενώ καταγράφεται συνεχώς η θερμοκρασία τους, ο χρόνος της ανάλυσης και το θερμικό περιεχόμενο που απαιτείται ώστε το δείγμα να διατηρηθεί στην ίδια θερμοκρασία με αυτό της αναφοράς. Οι μεταβολές της ενέργειας αντιστοιχούν σε φυσικά ή χημικά φαινόμενα που λαμβάνουν χώρα, έτσι μπορούν να προσδιοριστούν η τήξη, η κρυστάλλωση και η υαλώδης μετάπτωση του υλικού [43,51].

Συνήθως, η μέθοδος που χρησιμοποιείται περιλαμβάνει έναν κύκλο θέρμανσης για να σβηστεί η θερμική ιστορία του πολυμερούς, ακολουθούμενο από έναν

κύκλο ψύξης και έναν δεύτερο κύκλο θέρμανσης. Ως αποτέλεσμα, λαμβάνονται τρεις καμπύλες της θερμοχωρητικότητας συναρτήσεως της θερμοκρασίας αναφοράς. Σε ένα τέτοιο διάγραμμα, οι ενδόθερμες διεργασίες, όπως η τήξη, καταγράφονται ως κορυφές, ενώ οι εξώθερμες, όπως η κρυστάλλωση, παρουσιάζουν αντίθετη φορά. Τα εμβαδά που περικλείονται από τις κορυφές εκφράζουν την απορροφούμενη (για τις ενδόθερμες διεργασίες) ή εκλυόμενη (για τις εξώθερμες διεργασίες) θερμότητα, ανηγμένη ως προς τη μάζα του εξεταζόμενου δείγματος.

Στην συγκεκριμένη εργασία, χρησιμοποιείται η συσκευή DSC 1 STARe System της Mettler Toledo (Εικόνα 26). Για την προετοιμασία των δειγμάτων λαμβάνονταν 10-15 mg υλικού προς μέτρηση σε ειδικά κυλινδρικά καψίδια (pans) αλουμινίου. Έπειτα καταγράφεται το βάρος τους και ακολουθεί αεροστεγής σφράγιση των καψιδίων με μεταλλικά καλύμματα με τη βοήθεια ειδικής πρέσας. Επιπλέον στο κάλυμμα δημιουργείται οπή εξαερισμού στο μέγεθος της μύτης βελόνας. Τέλος, το εκάστοτε δείγμα τοποθετείται στον αντίστοιχο υποδοχέα της διάταξης DSC.



**Εικόνα 26: Συσκευή DSC 1 STARe System**

Η επιλογή των θερμοκρασιακών συνθηκών για τις μετρήσεις επιλέγονται για την ανάδειξη των θερμικών ιδιοτήτων των προϊόντων. Στο περιβάλλον των υποδοχέων δημιουργήθηκε αδρανής ατμόσφαιρα με ροή αζώτου (20 mL/min).

Για τον χαρακτηρισμό των δειγμάτων PBF εφαρμόζεται ο θερμικός κύκλος:

- 25 → 180°C (1η θέρμανση)
- 2 min στους 180°C
- 180 → -90°C (ψύξη)
- 2 min στους -90°C
- -90 → 200°C (2η θέρμανση)

Το βήμα αλλαγής θερμοκρασίας ήταν 10°C/min

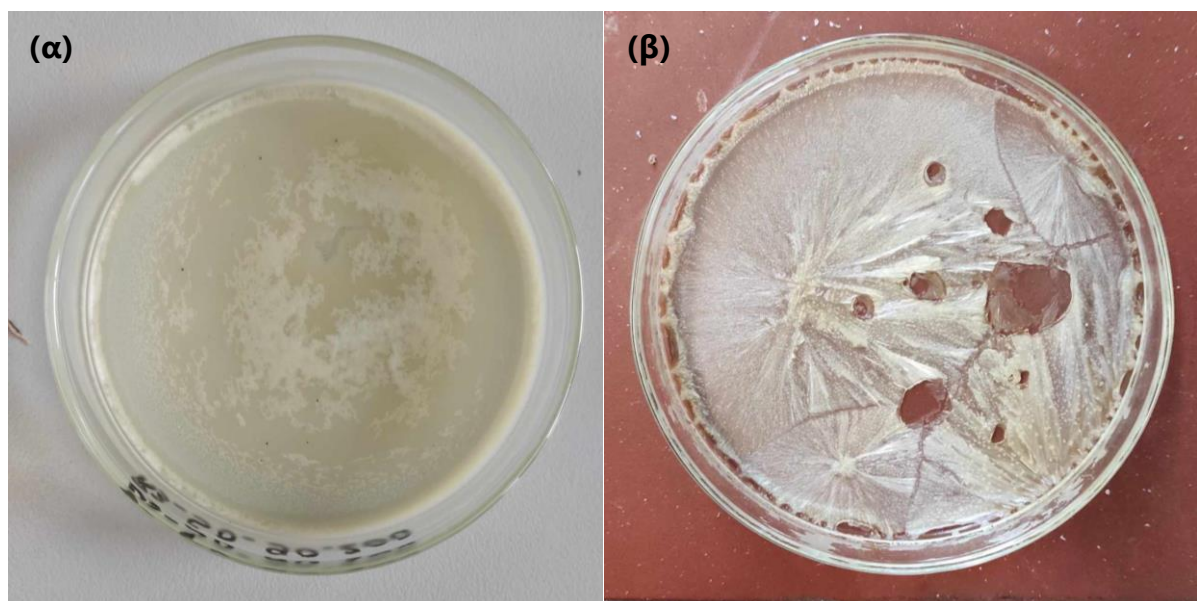
### 3.3.6. Μέτρηση ενεργότητας ενζύμου

Η μέτρηση της ενεργότητας της λιπάσης N435 διεξήχθη σύμφωνα με το παρακάτω πρωτόκολλο. Για τον προσδιορισμό της εστερολυτικής δραστηριότητας χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα το p-νιτροφαινυλοβουτυρικό οξύ (pNPB). Η εστερολυτική δράση του βιοκαταλύτη εκτιμήθηκε μέσω αντιδράσεων με pNPB στους 35°C για 35 λεπτά υπό ανάδευση (1400 rpm), σε έναν Eppendorf Thermomixer Comfort (Eppendorf, Γερμανία). Οι αντιδράσεις λάμβαναν χώρα σε 1 mL διαλύματος υποστρώματος που περιείχε 1.0 mM του υποστρώματος σε ρυθμιστικό διάλυμα 0.1 M κιτρικού-φωσφορικού με pH 6.0 και 1 mg βιοκαταλύτη. Η απελευθέρωση της p-νιτροφαινόλης (pNP) παρακολουθήθηκε στα 410 nm, σε συσκευή ανάγνωσης μικροπλακών SpectraMax-250 (Molecular Devices, ΗΠΑ), συνδεδεμένη με το λογισμικό SoftMaxPro (έκδοση 1.1, Molecular Devices, ΗΠΑ).

## Κεφάλαιο 4: Μελέτη της διεργασίας του ενζυμικού πολυμερισμού μάζας του PBF: Αξιολόγηση των κρίσιμων παραμέτρων της διεργασίας

### 4.1. Μακροσκοπική μορφολογία προϊόντων

Τα προϊόντα του ενζυμικού προπολυμερισμού παραλαμβάνονται σε κολλώδη μορφή και παρουσιάζουν ελαφρώς κίτρινο χρωματισμό. Ενδεικτικά παρουσιάζεται στην *Εικόνα 27* το δείγμα A-90. Η κολλώδης μορφολογία υποδεικνύει χαμηλό βαθμό πολυμερισμού των προϊόντων και είναι σημαντικά διαφορετική σε σχέση με τη μορφολογία του δείγματος αναφοράς και του μείγματος των μονομερών, που βρίσκονται σε μορφή σκόνης μετά την ξήρανση (*Εικόνα 27*).

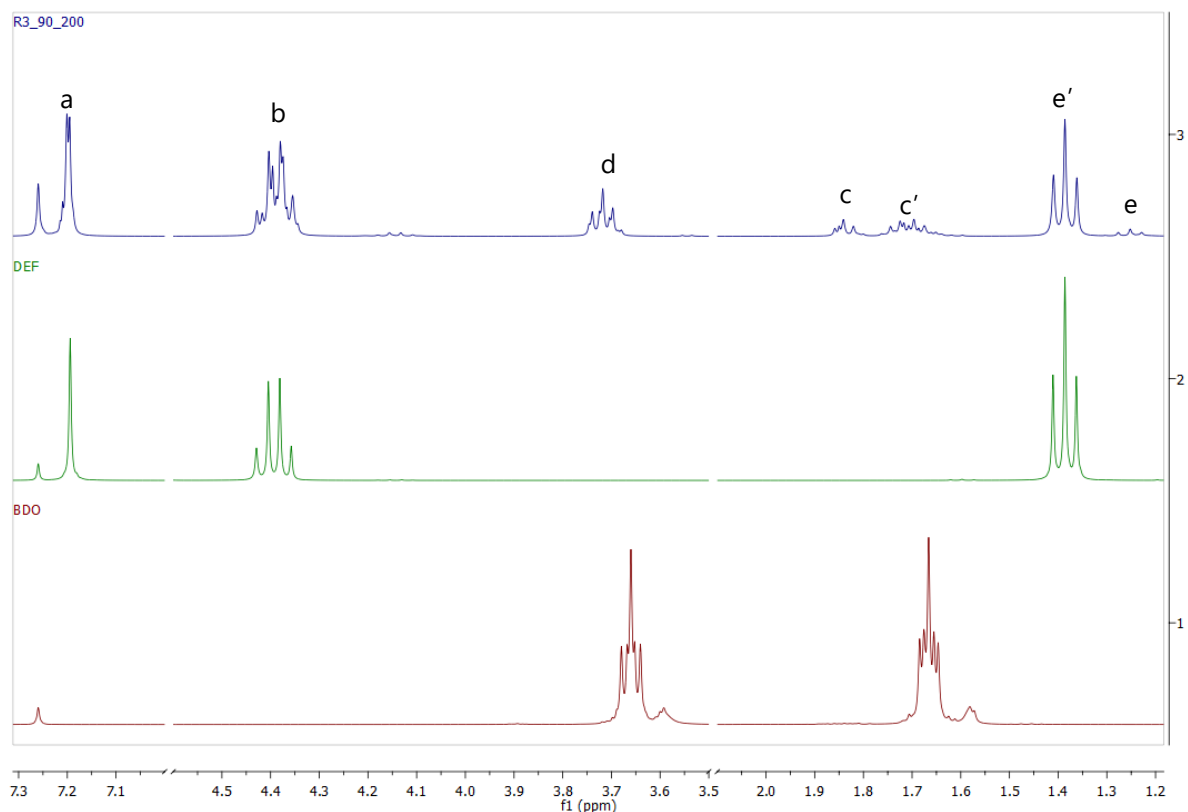
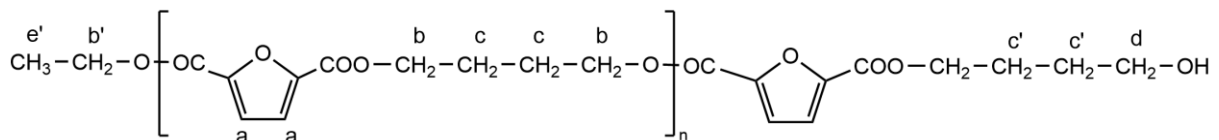


**Εικόνα 27:** Προϊόν ενζυμικού προπολυμερισμού που πραγματοποιήθηκε σε συνθήκες 90°C /200mbar/2h (A-90) (α) και το αντίστοιχο δείγμα αναφοράς (β)

## 4.2. Ταυτοποίηση της δομής των προϊόντων του ενζυμικού προπολυμερισμού

### 4.2.1. Ταυτοποίηση μέσω $^1\text{H-NMR}$

Η επαναλαμβανόμενη δομική μονάδα του PBF επιβεβαιώνεται μέσω φασματοσκοπίας  $^1\text{H-NMR}$  για όλα τα προϊόντα του ενζυμικού προπολυμερισμού. Στην *Εικόνα 28* παρουσιάζεται ενδεικτικά το φάσμα του προϊόντος A-90, καθώς τα παραλαμβανόμενα φάσματα όλων των προϊόντων (A-75, A-80, A-85, A-95) είναι παρόμοια.



Εικόνα 28: Φάσμα  $^1\text{H-NMR}$  του δείγματος A-90

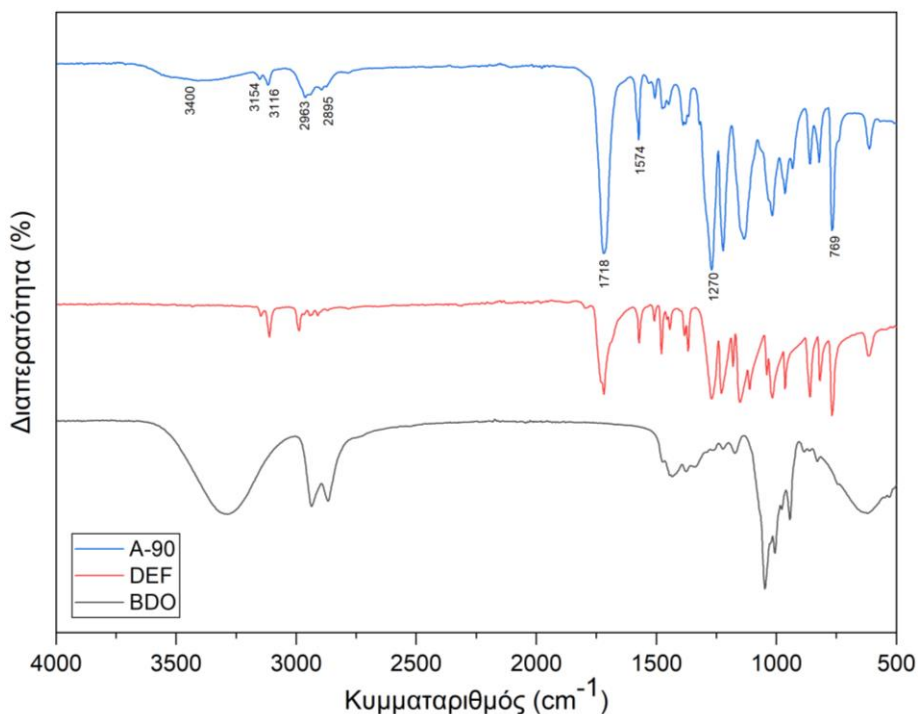
Η κανονικοποίηση ορίζεται ως προς τα υδρογόνα στη θέση a, με απορρόφηση στα 7.20ppm (2H, d,  $-\text{CH}=\text{}$ , φουρανικός δακτύλιος) και ένταση απορρόφησης 2. Τα υδρογόνα στη θέση b παρουσιάζουν απορρόφηση στα 4.43-4.36ppm (4H, m,  $-\text{CO}-\text{O}-\text{CH}_2-$ , από την 1,4-BDO), με ένταση απορρόφησης 4.36. Τα υδρογόνα b' από το εστερικό άκρο ( $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{O}-$ ) απορροφούν στην ίδια συχνότητα με τα υδρογόνα b της επαναλαμβανόμενης δομικής μονάδας, με αποτέλεσμα να συμπίπτουν με αυτά στο φάσμα. Αυτά της θέσης d εμφανίζουν απορρόφηση στα 3.74-3.68ppm (m,  $-\text{CH}_2-\text{OH}$ , ακραίες ομάδες της 1,4-BDO) και ένταση απορρόφησης 1.30. Σημειώνονται, επίσης, τα υδρογόνα e με απορρόφηση στα 1.28-1.23 ppm (t, 3H,  $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-$ , ακραίες ομάδες του DEF) έντασης 0.20, και τα υδρογόνα e' στα 1.41-1.36 ppm (t), με ένταση απορρόφησης 2.21. Τέλος, εμφανίζονται υδρογόνα στις θέσεις c και c' με απορρόφηση στα 1.91-1.82 ppm (4H, m,  $-\text{CO}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ , από την 1,4-BDO) και στα 1.75-1.68 ppm (m, 4H,  $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}$ , από το 1,4-βουτύλιο της BDO) αντίστοιχα. Στο φάσμα εντοπίζονται όλες οι αναμενόμενες από την βιβλιογραφία κορυφές, επιβεβαιώνοντας έτσι την παραγωγή PBF [15,17,25,36,52].

Συγκρίνοντας, στη συνέχεια, το παραπάνω φάσμα με τα φάσματα των μονομερών παρατηρούνται διαφορές, γεγονός που ενισχύει περαιτέρω το συμπέρασμα παραγωγής προϊόντος. Πιο συγκεκριμένα, οι κορυφές στα 1.91-1.82 ppm και στα 1.75-1.68 ppm εμφανίζονται μόνο στο φάσμα του προϊόντος. Επίσης, το γεγονός ότι η κορυφή που εμφανίζεται στα 7.20 ppm είναι διπλή αποτελεί ένδειξη ότι υπάρχουν υπολείμματα διεστέρα στο προϊόν. Περαιτέρω ένδειξη των υπολειμμάτων DEF στο προϊόν είναι η ύπαρξη των υδρογόνων e', τα οποία εμφανίζονται επίσης στο φάσμα του μονομερούς. Τα αντίστοιχα πρωτόνια e στο oligομερές έχουν μετατοπισμένη απορρόφηση, στα 1.28-1.23 ppm, λόγω του διαφορετικού χημικού περιβάλλοντος του oligοεστέρα σε σύγκριση με τον καθαρό διεστέρα. Εκτός αυτών, οι υπόλοιπες κορυφές παρατηρούνται και στα τρία φάσματα, αν και με μειωμένη ένταση στο φάσμα του προϊόντος.

#### 4.2.2. Ταυτοποίηση μέσω FTIR

Η χημική δομή των προϊόντων επαληθεύεται επίσης μέσω FTIR (5 επαναλήψεις). Στο φάσμα FTIR εντοπίζονται οι παρακάτω χαρακτηριστικές κορυφές, οι οποίες

αντιστοιχούν σε δονήσεις ή τάσεις δεσμών του μορίου. Στην *Εικόνα 29* εμφανίζεται το φάσμα FTIR του A-90 σε σύγκριση με τα αντίστοιχα φάσματα των μονομερών.



**Εικόνα 29: Φάσματα FTIR του δείγματος A-90 και των μονομερών BDO και DEF**

Οι χαρακτηριστικές κορυφές που παρατηρούνται αναλύονται παρακάτω.

Η ασθενής κορυφή στα  $3400\text{ cm}^{-1}$  υποδεικνύει την παρουσία υδροξυλίων στο προϊόν. Κοντά στα  $3154$  και  $3116\text{ cm}^{-1}$  εμφανίζονται δύο αδύναμες ζώνες εκπομπής που αποδίδονται στην τάση του δεσμού C-H του φουρανικού δακτυλίου. Χαμηλής έντασης κορυφές παρατηρούνται επίσης στα  $2963$  και  $2895\text{ cm}^{-1}$  που αντιστοιχούν στις συμμετρικές και αντισυμμετρικές τάσεις του δεσμού C-H των μεθυλ-ομάδων. Στα  $1718\text{ cm}^{-1}$  εντοπίζεται κορυφή που αντιστοιχεί στις δονήσεις τάσης του δεσμού C=O, τυπικού των εστερομάδων. Εμφανίζεται, επίσης, κορυφή στα  $1574\text{ cm}^{-1}$ , η οποία αποδίδεται στην τάση του δεσμού C=C του φουρανικού δακτυλίου, και στα  $1270\text{ cm}^{-1}$  που αντιστοιχεί στις δονήσεις τάσης του δεσμού C-O. Τέλος, οι κορυφές στα  $965$ ,  $826$ ,  $769\text{ cm}^{-1}$  αντιστοιχούν στις δονήσεις τάση των 2,5-δισ-υποκατεστημένων φουρανικών δακτυλίων [15,25,36,53,54].

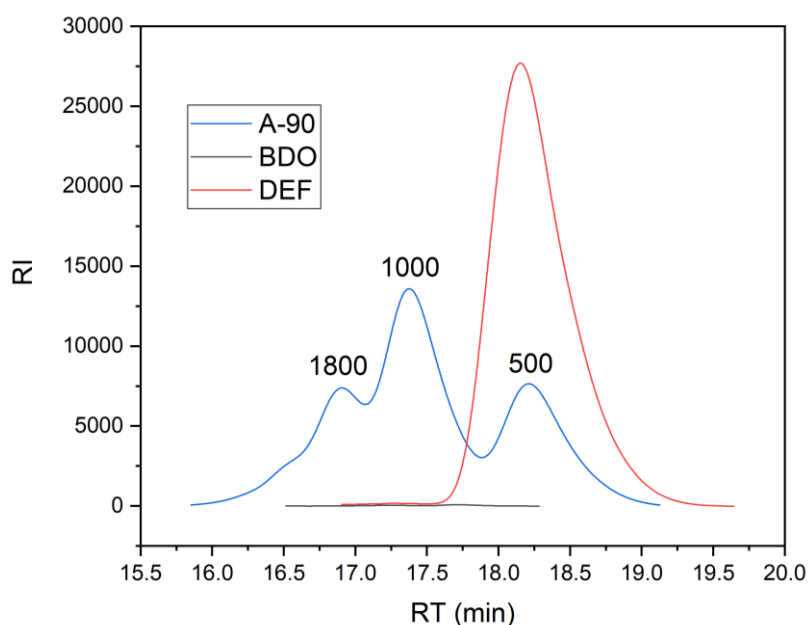


Αποδεικνύεται, έτσι η παραγωγή του αναμενόμενου πολυεστέρα. Καθώς, όμως, οι κορυφές του φάσματος περιλαμβάνονται και στα αντίστοιχα φάσματα των μονομερών λόγω των παρόμοιων χημικών δομών τους, δεν παρατηρείται κάποια ειδοποιός διαφορά μεταξύ του φάσματος του προϊόντος και αυτού του μείγματος των μονομερών, εκτός από την σαφώς χαμηλότερη ένταση στην κορυφή που αντιστοιχεί στα υδροξύλια. Η διαφορά αυτή έγκειται στο γεγονός ότι η κορυφή στο προϊόν αντιστοιχεί στα υδροξυλικά του άκρα και όχι στην παρουσία μορίων 1,4-βουτανοδιόλης.

### 4.3. Επίδραση της θερμοκρασίας

#### 4.3.1. Υπολογισμός μοριακού βάρους με χρωματογραφίας διέλευσης μέσω πηκτής (GPC) και με H-NMR

Μετά την ταυτοποίηση της δομικής μονάδας των προπολυμερών, υπολογίζεται το μοριακό του βάρος με GPC. Στην Εικόνα 30 παρουσιάζεται ενδεικτικά το χρωματογράφημα του δείγματος A-90, καθώς και αυτά των μονομερών, για λόγους σύγκρισης.



Εικόνα 30: Χρωματογραφήματα GPC του δείγματος A-90 και των μονομερών DEF, BDO

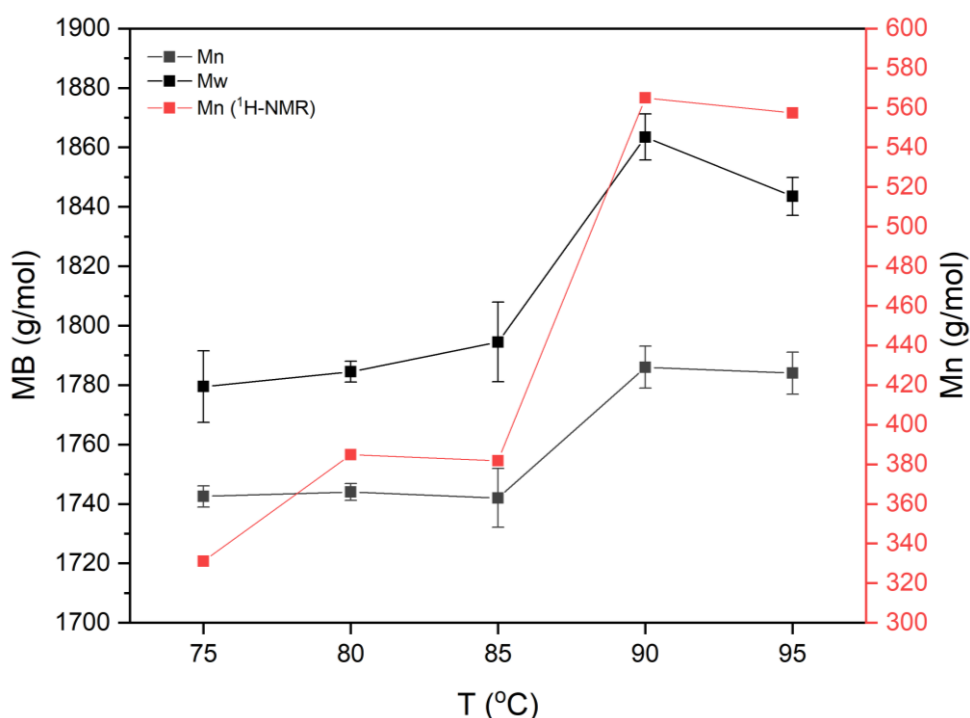
Οι διαφορές μεταξύ των χρωματογραφημάτων επιβεβαιώνουν την παραγωγή προϊόντος, αλλά και την παρουσία υπολειμμάτων DEF στο προϊόν, που



εμφανίζεται με κορυφή στα 500 g/mol, γεγονός που είναι σε συμφωνία με τα αποτελέσματα του  $^1\text{H-NMR}$ . Οι άλλες δύο κορυφές υποδεικνύουν την ύπαρξη δυο πληθυσμών διαφορετικών μοριακών βαρών στο προϊόν.

Τα αποτελέσματα που προκύπτουν από τις δύο μεθόδους παρουσιάζουν απόκλιση, η οποία σε μεγάλο βαθμό οφείλεται στο γεγονός ότι η GPC πρόκειται για μια έμμεση μέθοδο προσδιορισμού του μοριακού βάρους. Για την μετατροπή του χρόνου έκλουσης σε μοριακό βάρος χρησιμοποιείται καμπύλης βαθμονόμησης πολυστυρενίου (PS), με αποτέλεσμα το μοριακό βάρος συχνά να υπερεκτιμάται. Αντίθετα, ο υπολογισμός του μοριακού βάρους μέσω  $^1\text{H-NMR}$  αποτελεί μια άμεση μέθοδο, η οποία όμως στην συγκεκριμένη περίπτωση παρουσιάζει μειονεκτήματα εξαιτίας της ύπαρξης δύο πληθυσμών μοριακών βαρών [44].

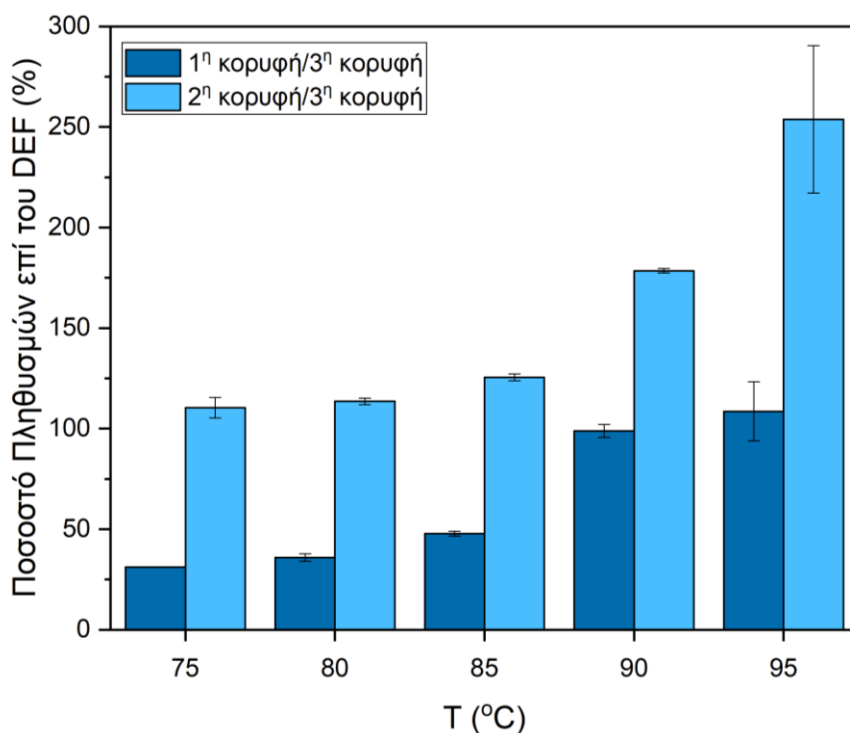
Παρά την απόκλιση, όμως, η τάση των μοριακών βαρών είναι ίδια και με τους δυο τρόπους υπολογισμού (Εικόνα 31).



Εικόνα 31: Μοριακά βάρη δειγμάτων A-75, A-80, A-85, A-90, A-95

Συγκρίνοντας το προκύπτον μοριακό βάρος σε κάθε μια από τις θερμοκρασίες που δοκιμάστηκαν, παρατηρείται η τάση που φαίνεται στο παραπάνω

διάγραμμα. Όμως, οι διαφορές που παρατηρούνται μεταξύ των μοριακών βαρών των δειγμάτων δεν είναι σημαντικές. Εξετάζεται, λοιπόν, και το ποσοστό του κάθε πληθυσμού (Εικόνα 32), και γίνεται εμφανές ότι μέγιστο ποσοστό του πληθυσμού με το υψηλότερο μοριακό βάρος εμφανίζεται στα δείγματα A-90 και A-95.



**Εικόνα 32: Ποσοστά πληθυσμών μοριακών βαρών στα δείγματα A-75, A-80, A-85, A-90, A-95**

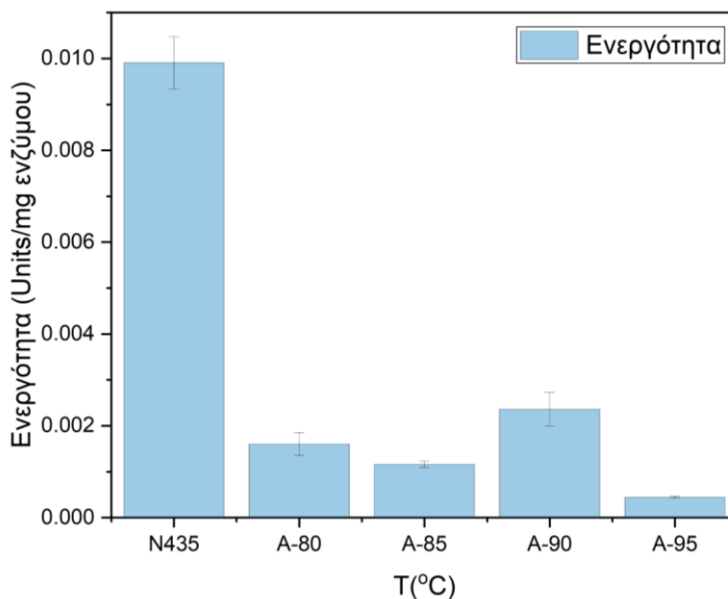
Συγκρίνοντας με τις μελέτες σύνθεσης του PBF από την βιβλιογραφία, επιτυγχάνεται αρκετά μεγαλύτερο μοριακό βάρος σε σχέση με την εργασία των Comerford *et al.* [35] οι οποίοι συνθέτουν PBF με  $\overline{M}_n = 500 \text{ g/mol}$  και  $\overline{M}_w = 600 \text{ g/mol}$  σε διεργασία που δεν χρησιμοποιεί διαλύτη. Η διαφορά στο μοριακό βάρος πιθανότατα έγκειται στην προσθήκη δεύτερου σταδίου υψηλότερης θερμοκρασίας στην παρούσα μελέτη, μετά το πρώτο στάδιο που λαμβάνει χώρα στην ίδια θερμοκρασία (50°C) [35]. Το μέσου αριθμού μοριακό βάρος που επετεύχθη στην παρούσα εργασία (1800 g/mol) είναι συγκρίσιμο με αυτό που αναφέρεται από τους Jiang *et al.* [36] (1600 g/mol), ενώ το μέσου βάρους μοριακό βάρος του A-90 (1900 g/mol) είναι σαφώς μικρότερο από τα 5500 g/mol, όταν η διεργασία λαμβάνει χώρα σε μέγιστη θερμοκρασία 140°C και

χρήση διφαινυλαιθέρα ως διαλύτη. Στους 95°C παραλαμβάνουν πολυμερή με  $\overline{M}_n = 1400 \text{ g/mol}$  και  $\overline{M}_w = 2100 \text{ g/mol}$ , κάνοντας τα αποτελέσματα αρκετά πιο συγκρίσιμα με αυτά της παρούσας εργασίας. Οι Jiang *et al.* [36] αναφέρουν, επίσης, την παρατήρηση δύο πληθυσμών ολιγομερών διαφορετικού μοριακού βάρους, γεγονός που αποδίδεται στην υψηλή κρυσταλλωσιμότητα των ολιγομερών του PBF, στην μείωση της καταλυτικής δραστηριότητας του ενζύμου σε θερμοκρασίες υψηλότερες των 90°C, και στην χαμηλότερη μετατροπή των μικρότερων αλυσίδων σε μεγαλύτερες σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες [36].

Καταληκτικά, οι 90°C έχουν αναφερθεί ως βέλτιστη θερμοκρασία σε άλλα συστήματα ενζυμικής σύνθεσης πολυμερών, όπως της ενζυμικής σύνθεσης του PBS, του ROP της ε-καπρολακτόνης σε τολουόλιο και της σύνθεσης φουραν-αλειφατικών πολυαμιδίων σε τολουόλιο, ενώ σε μεγαλύτερες θερμοκρασίες παρατηρείται αρκετά εντονότερη απενεργοποίηση του N435 [37]. Έτσι, αν και δεν παρουσιάζει σημαντικές διαφορές με τις υπόλοιπες θερμοκρασίες στο επιτευχθέν μοριακό βάρος, εμφανίζει αυξημένα ποσοστά του πληθυσμού με το μεγαλύτερο μοριακό βάρος, οπότε επιλέγεται για την συνέχιση της διερεύνησης των υπόλοιπων συνθηκών του ενζυμικού προπολυμερισμού.

#### 4.3.2. Ενεργότητα ενζύμου

Διερευνήθηκε επίσης η ανακυκλωσιμότητα του ενζύμου, μετρώντας την ενεργότητά του πριν και μετά την αντίδραση. Όπως φαίνεται στην *Εικόνα 33*, στους 90°C έχει διατηρηθεί η ενεργότητα του ενζύμου στο μέγιστο ποσοστό (24%), δηλαδή έχει πρακτικά απενεργοποιηθεί. Ουσιαστικά, μετά από μόλις μια χρήση του, το ένζυμο δεν είναι πλέον ζωντανό και δεν μπορεί να επαναχρησιμοποιηθεί.



Εικόνα 33: Ενεργότητα του βιοκαταλύτη N435 πριν και μετά την αντίδραση

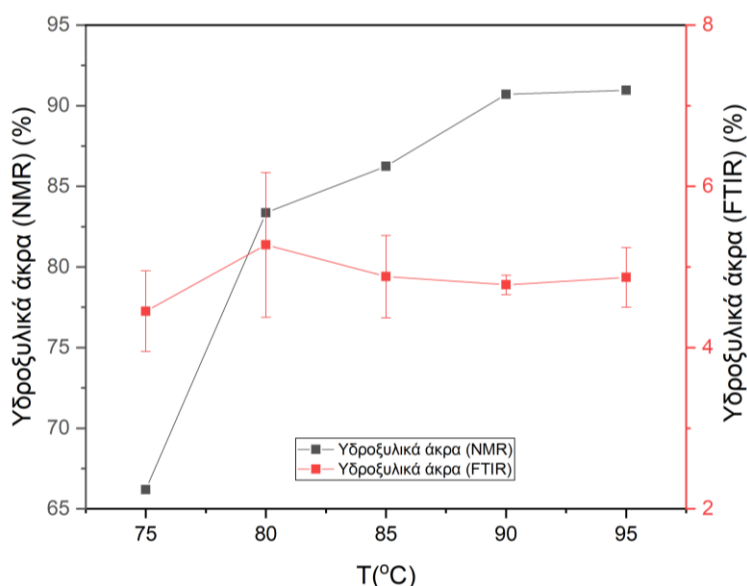
Η δυνατότητα επαναχρησιμοποίησης του N435 σε αντιδράσεις μετεστεροποίησης έχει μελετηθεί από τους Nasr *et. al.* [55] οι οποίοι χρησιμοποίησαν 1,6-εξανδιόλη και αδιπικό διαιθυλεστέρα σε συστήματα μάζας και διαλύτη (διφαινυλαιθέρα) για την ενζυμική παραγωγή πολυ(αδιπικού εξυλενίου). Στην περίπτωση του πολυμερισμού μάζας, επιτεύχθηκαν σταθερές τιμές  $\overline{M}_n$  του πολυεστέρα σε θερμοκρασίες μέχρι 100°C, ενώ στον πολυμερισμό διαλύματος υπήρξε μείωση κατά 17%. Η μεγαλύτερη ευπάθεια του ενζύμου στην δεύτερη περίπτωση αποδίδεται στην καλύτερη μεταφορά θερμότητας αλλά και στην επίδραση της παρουσίας οργανικών διαλυτών στην δομή του βιοκαταλύτη [55]. Παρόλα αυτά, στο σύστημα που εξετάζεται στην παρούσα μελέτη, το ένζυμο δεν διατηρεί την δραστικότητα του.

#### 4.3.3. Υπολογισμός ακραίων ομάδων

Μέσω του H-NMR, υπολογίστηκε και το ποσοστό των υδροξυλικών άκρων των προϊόντων, όπως φαίνονται παρακάτω στην Εικόνα 34. Παρατηρείται ότι το ποσοστό τους φτάνει σε πλατό στο 90% από τους 90°C και μετά. Έτσι, γίνεται εμφανές ότι παράγονται ολιγομερή πλούσια σε υδροξυλικά και φτωχά σε εστερικά άκρα, συμπεριφορά που έχει παρατηρηθεί αντίστοιχα και κατά την ενζυμική σύνθεση του PBS και πιθανότατα σχετίζεται με τον μηχανισμό κατάλυσης της λιπάσης. Πιο συγκεκριμένα, κατά τη διάρκεια μιας αντίδρασης

μετεστεροποίησης, ο εστέρας αντιδρά πρώτα με το ενεργό κέντρο της λιπάσης, δηλαδή με την πρωτοταγή αλκοολική ομάδα της σερίνης, προκειμένου να σχηματίσει το ενδιάμεσο σύμπλοκο άκυλο-ενζύμου (EAM). Στη συνέχεια, η αλκοόλη, που είναι πυρηνόφιλο, προσβάλλει το EAM και μέσω συνεχούς σχηματισμού ενδιάμεσων ειδών το τελικό προϊόν (ολιγομερές) απελευθερώνεται, ενώ το ένζυμο αναγεννάται. Λαμβάνεται, λοιπόν, η υπόθεση ότι η καταλυόμενη από λιπάση αντίδραση μετεστεροποίησης του DEF με την BDO ακολουθεί αυτόν τον μηχανισμό, οπότε το χαμηλό εσωτερικό μήκος της αλυσίδας άνθρακα (4) και οι ογκώδεις δακτύλιοι φουρανίου του DEF περιορίζουν την πρόσβασή του στο ενεργό κέντρο του ενζύμου, ενώ επιτρέπουν την πυρηνόφιλη επίθεση της διόλης στα ενδιάμεσα σύμπλοκα. Ως αποτέλεσμα, σχηματίζονται προπολυμερή PBF πλούσια σε OH [56].

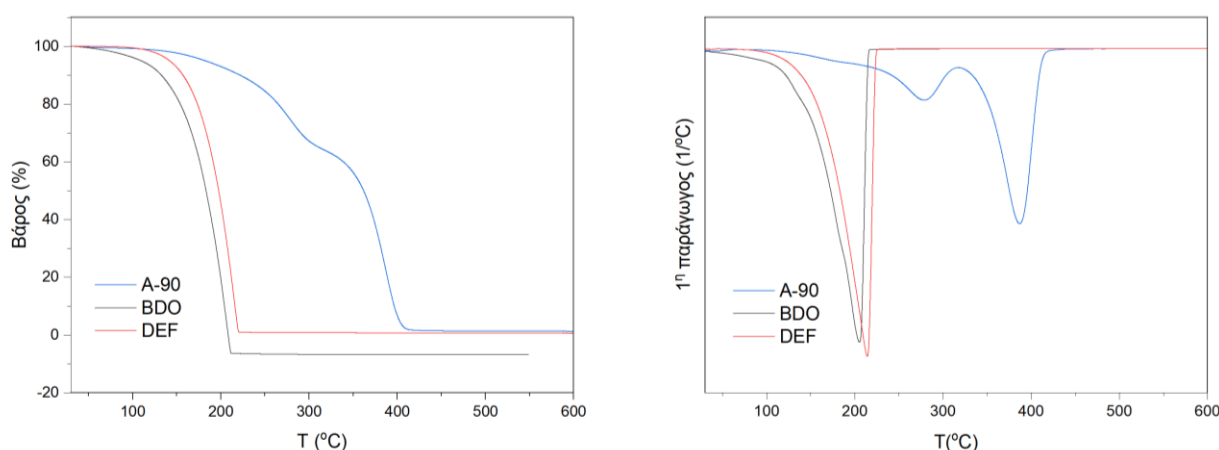
Υπολογισμός των ακραίων ομάδων γίνεται και μέσω του FTIR, όπου από τις κορυφές στα  $1718\text{ cm}^{-1}$  και  $3400\text{ cm}^{-1}$  ποσοτικοποιούνται οι εστερικοί δεσμοί και τα υδροξύλια. Η ένταση των υδροξυλικών κορυφών, που αντιστοιχεί στα υδροξυλικά άκρα, απεικονίζονται στην *Εικόνα 34*, χωρίς όμως να αποτυπώνεται η προαναφερθείσα τάση και με σημαντικά σφάλματα, γεγονός που πιθανότατα οφείλεται στην μορφολογία των δειγμάτων που ενδεχομένως εμποδίζει την επαφή της επιφάνειας με τον κρύσταλλο.



**Εικόνα 34: Υδροξυλικά άκρα των δειγμάτων A-75, A-80, A-85, A-90, A-95**

#### 4.3.4. Θερμοβαρυμετρική Ανάλυση (TGA)

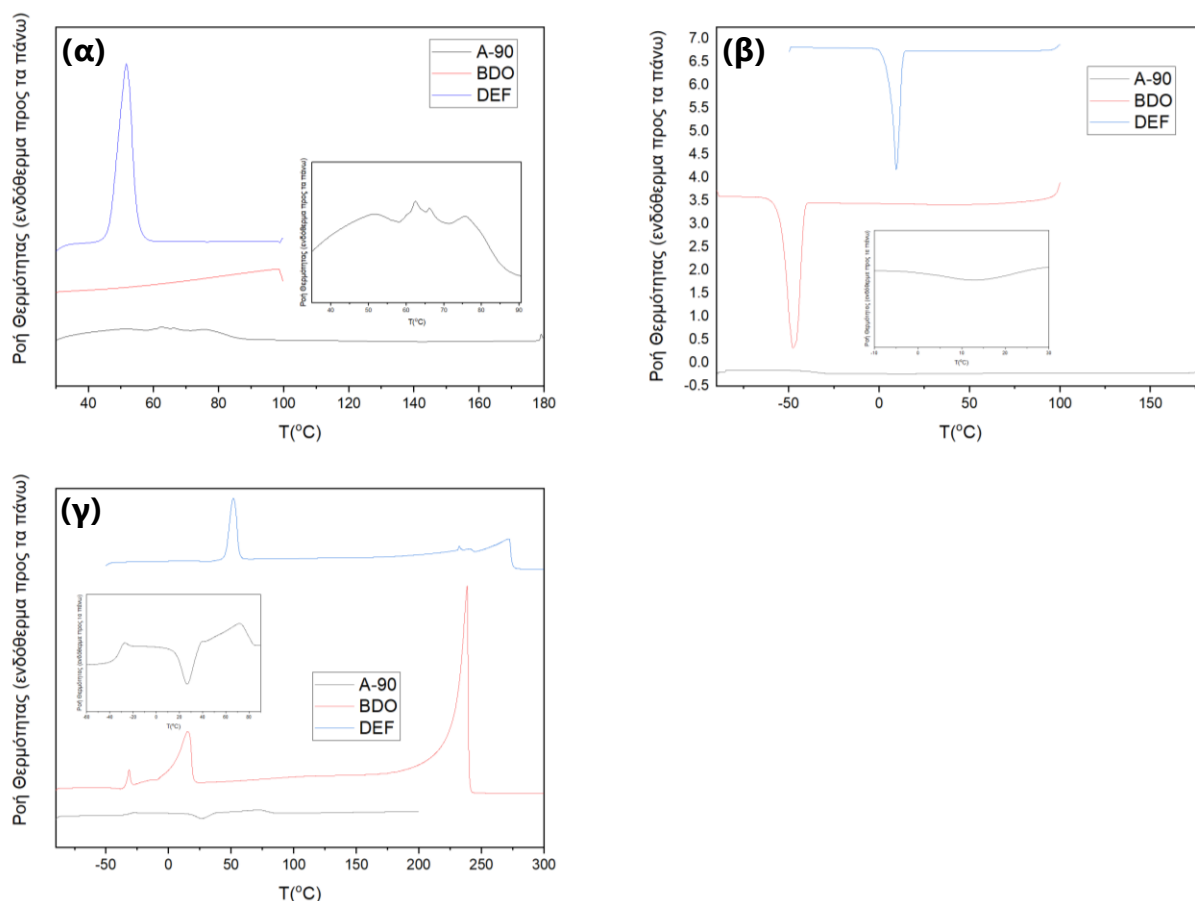
Για την εξέταση των θερμικών ιδιοτήτων των προϊόντων, αυτά υποβάλλονται σε θερμοβαρυμετρική ανάλυση. Θερμαίνοντας τα δείγματα μέχρι τους 600°C, η αποικοδόμηση του δείγματος πραγματοποιείται σε δύο στάδια (Εικόνα 35). Η απώλεια μάζας φαίνεται να ξεκινάει μετά τους 170°C, γεγονός που υποδεικνύει την παρουσία υπολειμμάτων DEF, όπως έχει αναφερθεί και προηγουμένως. Το πρώτο στάδιο διάσπασης (~275-280°C) αποδίδεται στον πληθυσμό χαμηλότερου μοριακού βάρους του πολυμερούς, ενώ το δεύτερο αποδίδεται στη διάσπαση του πληθυσμού μεγαλύτερου μοριακού βάρους του παραγόμενου ολιγομερούς, καθώς η θερμοκρασία στην οποία λαμβάνει χώρα ταυτίζεται με την αναμενόμενη από τη βιβλιογραφία (~385°C). Αντίστοιχη συμπεριφορά θερμικής διάσπασης έχει αναφερθεί τόσο για το PBF όσο και για άλλους πολυεστέρες και αποδίδεται κατά κύριο λόγο σε διάσπαση ολιγομερών και υπολειμμάτων μονομερών [36,57]. Οι Jiang *et al.* [36], σε ενζυμικά συντεθειμένο PBF αντίστοιχου μοριακού βάρους, παρατήρησαν επίσης δύο στάδια διάσπασης, εξαιτίας της παρουσίας πληθυσμού ολιγομερών χαμηλότερου μοριακού βάρους και μέγιστη θερμοκρασία διάσπασης 393-398°C [36].



**Εικόνα 35: Καμπύλη TGA και πρώτη παράγωγος του δείγματος A-90 και των μονομερών DEF, BDO**

#### 4.3.5. Θερμιδομετρία Διαφορικής Σάρωσης (DSC)

Τα προϊόντα, καθώς και τα μονομερή, υποβλήθηκαν σε δυο κύκλους θέρμανσης και έναν ψύξης προκειμένου να εξεταστούν οι θερμικές τους ιδιότητες. Στην *Εικόνα 38* εμφανίζονται οι καμπύλες που αντιστοιχούν στο δείγμα A-90. Όπως είναι φανερό από την ενδόθερμη κορυφή στους 50°C στον 1<sup>ο</sup> κύκλο θέρμανσης, που είναι η θερμοκρασία τήξης του DEF, επιβεβαιώνεται η παρουσία υπολειμμάτων διεστέρα σε συμφωνία με τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την GPC και τις ενδείξεις από το <sup>1</sup>H-NMR και το TGA. Η δεύτερη κορυφή στους 60-70°C αποδίδεται στην τήξη του ολιγομερούς. Τόσο στην ψύξη όσο και στον 2<sup>ο</sup> κύκλο θέρμανσης, παρατηρείται μια μετάπτωση στους -32°C, η μορφολογία της οποίας παρομοιάζει υαλώδη μετάπτωση. Όμως, είναι σημαντικά χαμηλότερη από αυτή που αναφέρεται στην βιβλιογραφία, έτσι λαμβάνεται η υπόθεση ότι σχετίζεται με την ύπαρξη δύο πληθυσμών μοριακών βαρών στα εξεταζόμενα προϊόντα [36]. Πιο συγκεκριμένα, ο πληθυσμός χαμηλότερου μοριακού βάρους, καθώς έχει ελάχιστες ενεργειακές απαιτήσεις, μπορεί να αποκτήσει αρκετή κινητικότητα σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες, και να μεταβεί από τη στερεή σε μια πιο ελαστική κατάσταση. Στον 2<sup>ο</sup> κύκλο θέρμανσης εμφανίζεται εξώθερμη κορυφή στους 27°C και ενδόθερμη στους 72°C, οι οποίες αντιστοιχούν στην κρυστάλλωση και την τήξη του ολιγομερούς αντίστοιχα. Η μορφή των καμπυλών είναι σε αντιστοιχία με αυτή που εντοπίζεται στην βιβλιογραφία, όμως οι θερμοκρασίες είναι σημαντικά μειωμένες, πιθανότατα εξαιτίας των χαμηλών μοριακών βαρών [3,5,17,18,20–24]. Συγκρίνοντας τα υπόλοιπα δείγματα, οι θερμικές ιδιότητες των οποίων παρουσιάζονται στον *Πίνακα Π1*, γίνεται εμφανές ότι μερικές φορές παρατηρείται κρυστάλλωση κατά την ψύξη, γεγονός που επίσης αναφέρεται βιβλιογραφικά.



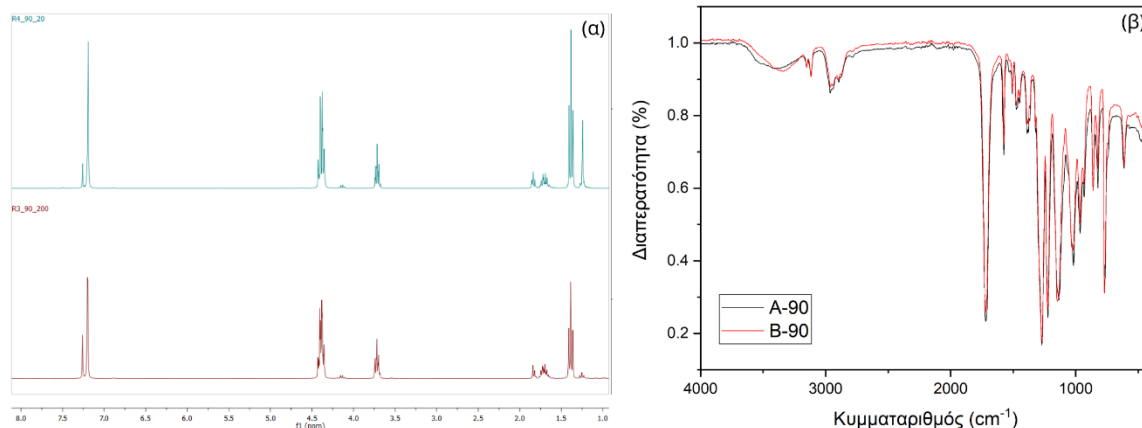
Εικόνα 36: Καμπύλες DSC του δείγματος A-90 και των μονομερών DEF και BDO κατά την 1<sup>η</sup> θέρμανση (α) την ψύξη (β) και την 2<sup>η</sup> θέρμανση (γ)

#### 4.4. Επίδραση μειωμένης πίεσης

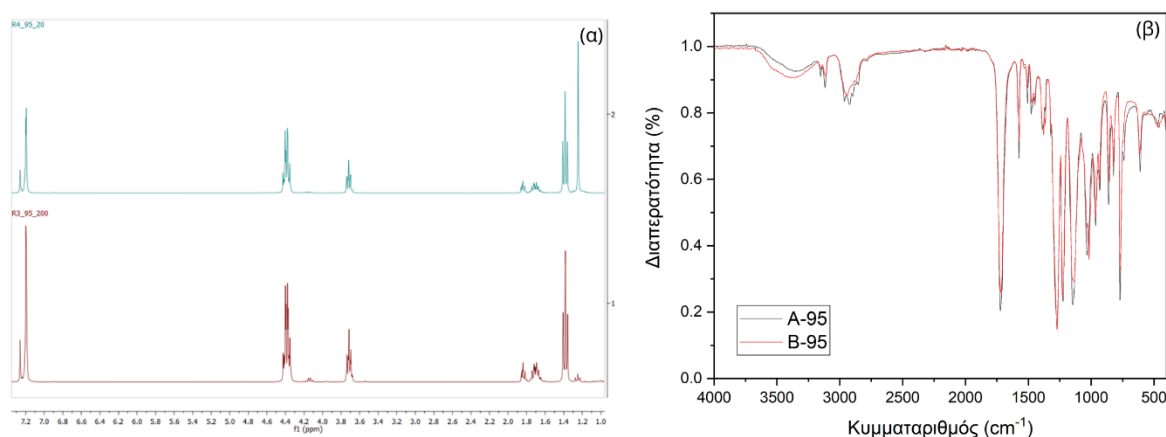
Σε συνέχεια της διερεύνησης των συνθηκών της αντίδρασης σύνθεσης PBF, εξετάστηκε η επίδραση της εφαρμογής μειωμένης πίεσης κατά την αντίδραση, στις θερμοκρασίες 90 και 95°C, που παρουσίασαν τα πιο υποσχόμενα αποτελέσματα. Οπότε, ως δείγματα αναφοράς θα χρησιμοποιηθούν τα A-90 και A-95.

Από τις αναλύσεις <sup>1</sup>H-NMR και FTIR επιβεβαιώνεται η σύνθεση του PBF στις παραπάνω συνθήκες διεργασίας (Εικόνες 37,38).



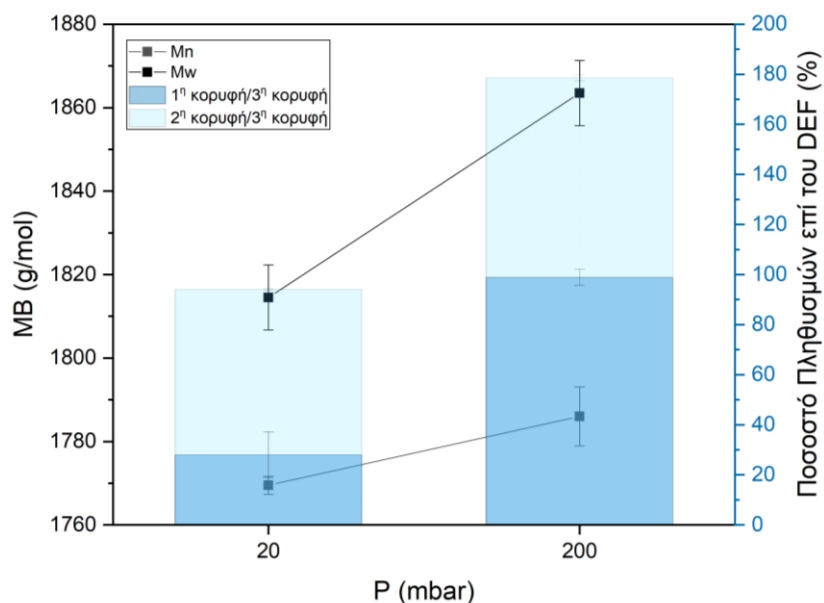


Εικόνα 37: Φάσματα H-NMR (α) και FTIR (β) των δειγμάτων A-90 και B-90

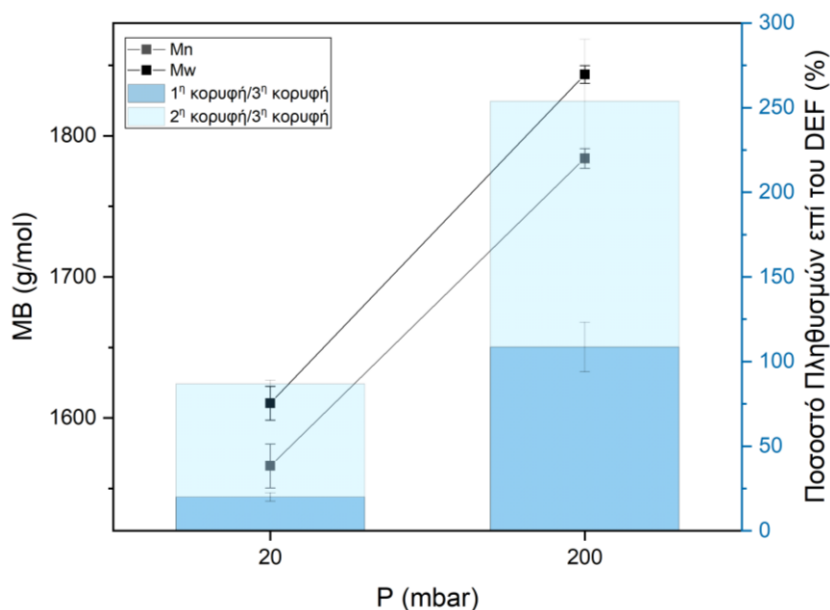


Εικόνα 38: Φάσματα H-NMR (α) και FTIR (β) των δειγμάτων A-95 και B-95

Αναφορικά με τα μοριακά βάρη των προϊόντων, αυτά βρέθηκαν ελαφρώς μειωμένα σε σχέση με αυτά που παρήχθησαν σε συνθήκες υψηλότερης πίεσης, πιθανόν εξαιτίας εξάχνωσης των χαμηλότερου MW ολιγομερών από την εφαρμογή κενού, διαταράσσοντας έτσι την ισορροπία της αντίδρασης. Σημειώνεται, επιπλέον, ότι μειώνεται σημαντικά το ποσοστό των πληθυσμών του ολιγομερούς σε σχέση με τα υπολείμματα διεστέρα, όπως φαίνεται από τις Εικόνες 39,40. Εξάγεται, λοιπόν, το συμπέρασμα ότι οι συνθήκες χαμηλής πίεσης δεν ευνοούν την εξεταζόμενη διεργασία.



Εικόνα 39: Μοριακά βάρη και ποσοστά πληθυσμών ολιγομερούς στα δείγματα A-90 και B-90



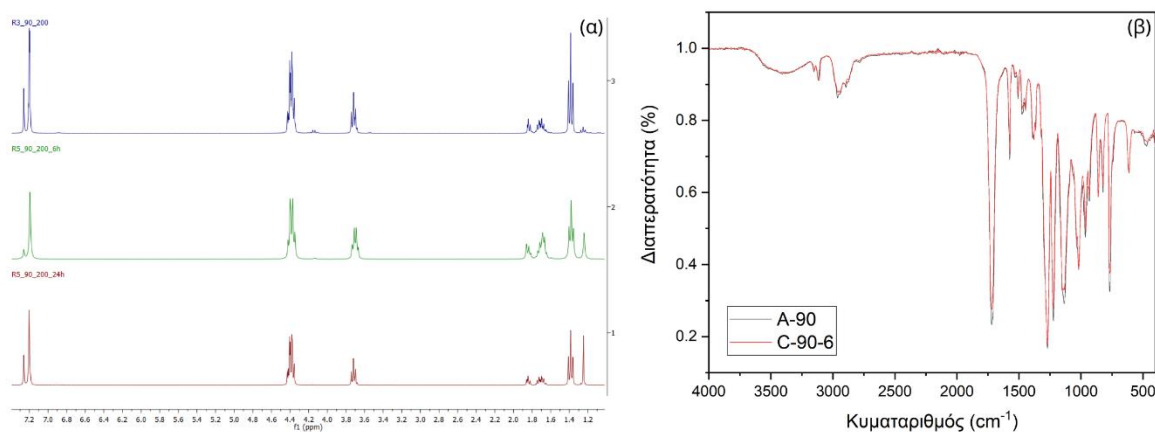
Εικόνα 40: Μοριακά βάρη και ποσοστά πληθυσμών ολιγομερούς στα δείγματα A-95 και B-95

Εξετάζοντας, έπειτα, τις θερμικές ιδιότητες των προϊόντων, λαμβάνονται καμπύλες TGA ίδιας μορφής με τις προηγούμενες, καθώς και πολύ κοντινές θερμοκρασίες διάσπασης. Παρ' όλα αυτά, και στις δυο περιπτώσεις, παρατηρείται αύξηση του  $T_{d,5\%}$ , ίσως εξαιτίας της απομάκρυνσης των ολιγομερών χαμηλότερου μοριακού βάρους.

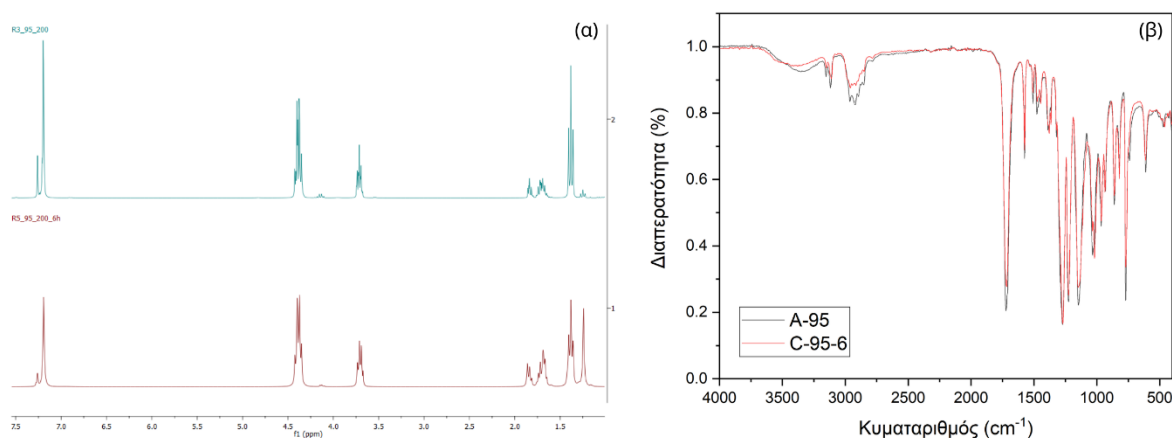
## 4.5. Επίδραση χρόνου αντίδρασης

Στη συνέχεια, έγινε διερεύνηση της επίδρασης του χρόνου της αντίδρασης στη διεργασία του πολυμερισμού. Στους 90°C, πραγματοποιήθηκαν δοκιμές διάρκειας 6 και 24 ωρών και αξιολογήθηκαν με βάση το δείγμα αναφοράς A-90 (200 mbar), δεδομένου ότι παρουσίασε καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με το B-90 (20 mbar) κατά την δοκιμή της πίεσης. Αντίστοιχα, στους 95°C, πραγματοποιήθηκε δοκιμή διάρκειας 6 ωρών και αξιολογήθηκε με βάση το δείγμα αναφοράς A-95, το οποίο ομοίως παρουσίασε καλύτερη εικόνα από το B-95.

Όπως φαίνεται από τα φάσματα  $^1\text{H-NMR}$  και FTIR (Εικόνες 41,42), επιβεβαιώνεται η σύνθεση του PBF και στις δύο περιπτώσεις.



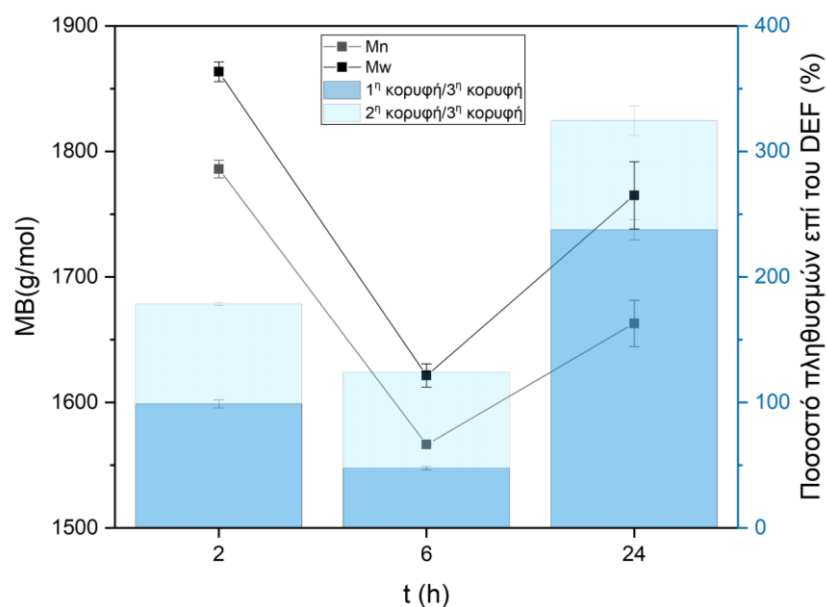
Εικόνα 41: Φάσματα H-NMR (α) και FTIR (β) των δειγμάτων A-90, C-90-6 και C-90-24



Εικόνα 42: Φάσματα H-NMR (α) και FTIR (β) των δειγμάτων A-95 και C-95-6

Εξετάζοντας τα μοριακά βάρη, αρχικά στην περίπτωση των 90°C, αυτά βρέθηκαν μειωμένα όταν η διάρκεια του δεύτερου σταδίου αυξήθηκε στις 6 ώρες. Μειωμένα βρέθηκαν, επίσης, τα ποσοστά των πληθυσμών των ολιγομερών συγκεκριμένων μοριακών βαρών (Εικόνα 43). Η εικόνα αυτή υποδεικνύει ότι η χημική αντίδραση πιθανότατα έφτασε την ισορροπία, αφού και η κατανάλωση των ενεργών άκρων ήταν υψηλή. Ως αποτέλεσμα, σχηματίστηκε αυξημένη ποσότητα παραπροϊόντων, τα οποία δεν μπόρεσαν να απομακρυνθούν επαρκώς από το εφαρμοσμένο κενό και η συσσώρευση του οδήγησε σε ολιγομερή ευαίσθητα στην αλκοόλυση.

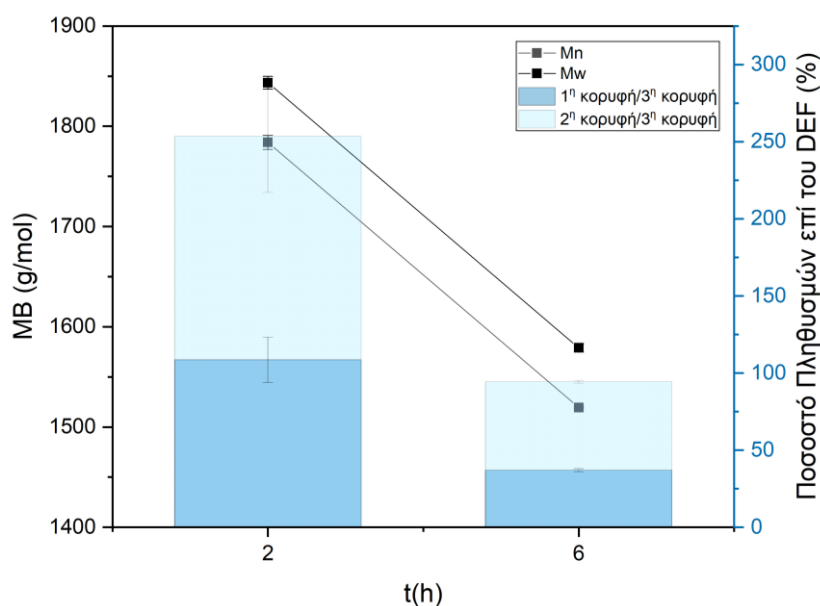
Για την περαιτέρω εξέταση της υπόθεσης αυτής, πραγματοποιήθηκε επιπλέον δοκιμή μεγαλύτερης διάρκειας, στις 24 ώρες. Τα μοριακά βάρη στην περίπτωση αυτή (C-90-24) βρέθηκαν αυξημένα σε σχέση με το δείγμα C-90-6, όμως μειωμένα σε σχέση με το δείγμα αναφοράς (A-90). Σημαντική αύξηση παρατηρήθηκε στα ποσοστά των πληθυσμών των ολιγομερών. Η εικόνα αυτή αποδίδεται στα πιθανόν ανταγωνιστικά φαινόμενα που λαμβάνουν χώρα, με αυτό της αύξησης του μήκους της αλυσίδας με τον χρόνο να υπερνικά την συσσώρευση παραπροϊόντων στο σύστημα.



**Εικόνα 43: Μοριακά βάρη και ποσοστά πληθυσμών ολιγομερούς στα δείγματα A-90, C-90-6 και C-90-24**

Αναφορικά με τις θερμικές ιδιότητες των προϊόντων, οι θερμοκρασίες των δυο σταδίων διάσπασης των προϊόντων παραμένουν πρακτικά σταθερές με την αύξηση του χρόνου της διεργασίας. Αντίθετα, το  $T_{d,5\%}$  παρουσιάζει μείωση στο δείγμα C-90-6, η οποία συνάδει με την μείωση που παρατηρείται στο μοριακό βάρος. Αναφορικά με το δείγμα C-90-24, εμφανίζει αύξηση στο  $T_{d,5\%}$ , το οποίο πιθανόν να οφείλεται στους αυξημένους πληθυσμούς ολιγομερών συγκριτικά με το δείγμα αναφοράς A-90.

Προχωρώντας στους 95°C, (Δείγμα C-95-6), η μείωση του μοριακού βάρους εμφανίζεται ακόμα εντονότερη (Εικόνα 44). Το γεγονός αυτό αποδίδεται στην υποβάθμιση του υλικού μετά την παραμονή του για εκτεταμένο χρονικό διάστημα σε υψηλές θερμοκρασίες, αλλά και στην εντονότερη απενεργοποίηση του ενζύμου, το οποίο απομακρύνεται από τις βέλτιστες συνθήκες λειτουργίας του και παραμένει σε αυτές για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.



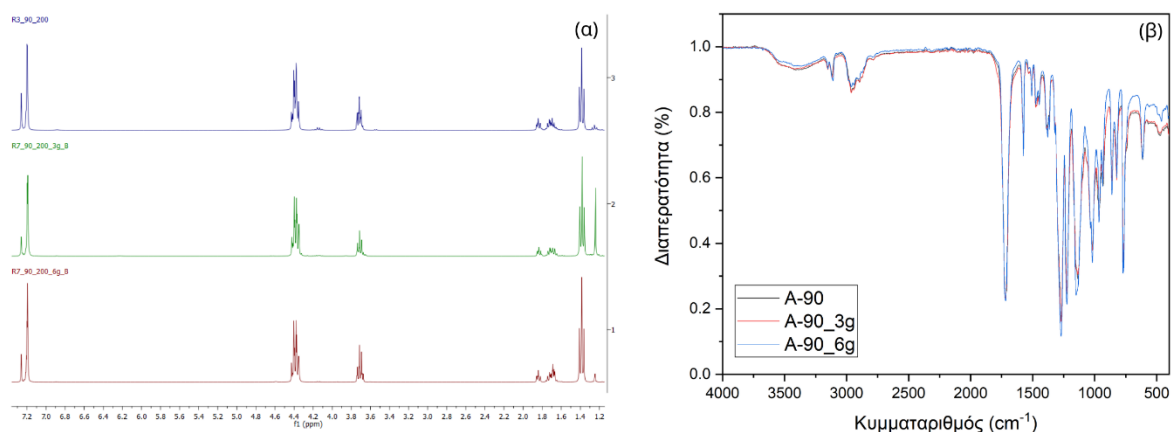
**Εικόνα 44: Μοριακά βάρη και ποσοστά πληθυσμών ολιγομερούς στα δείγματα A-95 και C-95-6**

Οι θερμικές ιδιότητες του δείγματος C-95-6 δεν παρουσιάζουν σημαντική απόκλιση από αυτές του δείγματος αναφοράς A-95, με εξαίρεση την μείωση της θερμοκρασίας διάσπασης του πρώτου σταδίου.

## 4.6. Κλιμάκωση διεργασίας

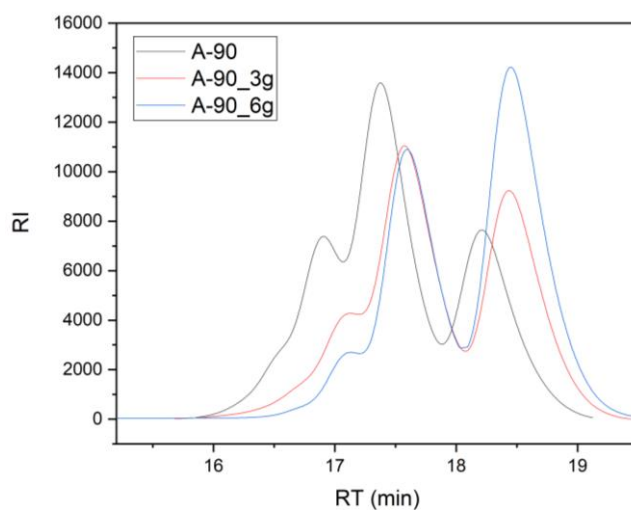
Στις συνθήκες που βρέθηκαν ως βέλτιστες (A-90), πραγματοποιήθηκε η αντίδραση σε μεγαλύτερη κλίμακα, με στόχο την παραγωγή 3 και 6 γραμμαρίων αντίστοιχα.

Όπως προκύπτει από τα φάσματα  $^1\text{H-NMR}$  και FTIR (Εικόνα 45), η κλιμάκωση ήταν επιτυχής και παρήχθη προϊόν PBF.



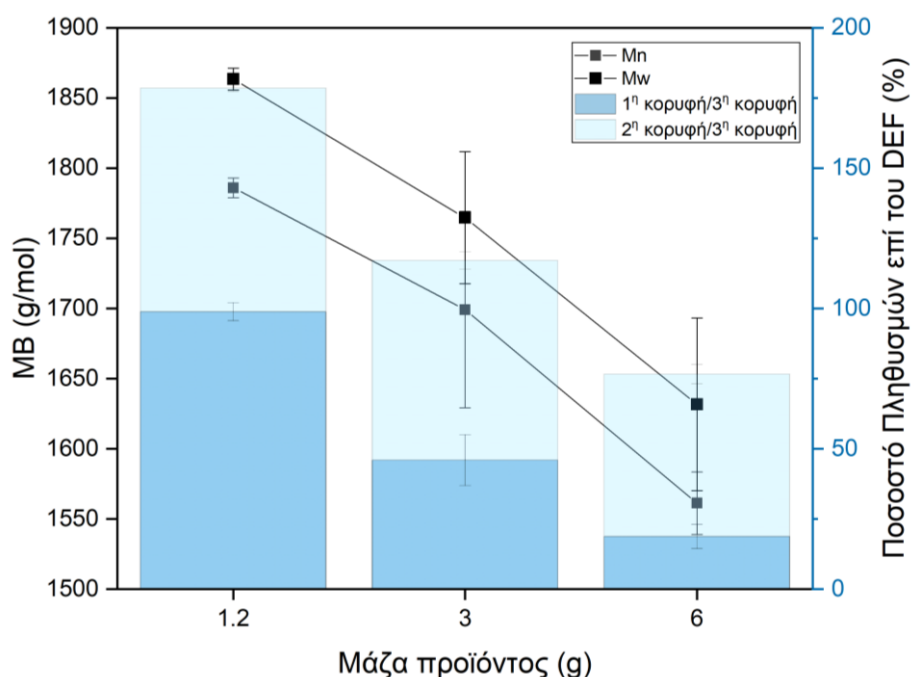
Εικόνα 45: Φάσματα  $\text{H-NMR}$  (α) και FTIR (β) των δειγμάτων A-90, A-90\_3g και A-90\_6g

Αναφορικά με τα μοριακά βάρη των δειγμάτων A-90\_3g και A-90\_6g, όπως φαίνεται στην Εικόνα 46, τα χρωματογραφήματά τους έχουν ίδια μορφή με αυτά του δείγματος αναφοράς (A-90), γεγονός που υποδεικνύει παραγωγή προϊόντος με δύο πληθυσμούς διαφορετικών μοριακών βαρών.



Εικόνα 46: Χρωματογραφήματα δειγμάτων A-90, A-90\_3g και A-90\_6g

Τα μοριακά βάρη που επιτυγχάνονται είναι ελαφρώς μικρότερα σε σχέση με την μικρότερη κλίμακα (Εικόνα 47), όπως είναι αναμενόμενο, αφού η δημιουργία μεγαλύτερων αλυσίδων παρεμποδίζεται εξαιτίας των περιορισμών στην μεταφορά μάζας που εμφανίζονται εντονότερα στις μεγαλύτερες κλίμακες, όπου δυσχεραίνεται και η απομάκρυνση των παραπροϊόντων. Προφανώς, αντίστοιχη είναι και η μείωση των πληθυσμών των παραγόμενων ολιγομερών.



Εικόνα 47: Μοριακά βάρη των δειγμάτων A-90, A-90\_3g και A-90\_6g

Με την πτώση του μοριακού βάρους πέφτει και το  $T_{d,5\%}$ , όπως φαίνεται πιο έντονα στην κλιμάκωση στα 6g, ενώ οι θερμοκρασίες διάσπασης των δύο πληθυσμών ολιγομερών παραμένουν αμετάβλητες (Πίνακας Π5).

## Κεφάλαιο 5: Μελέτη της διεργασίας του μεταπολυμερισμού για την αύξηση του μοριακού βάρους των ολιγομερών PBF: Αξιολόγηση των κρίσιμων παραμέτρων της διεργασίας

Η ενζυμική σύνθεση του PBF ήταν επιτυχημένη, όμως τα μοριακά βάρη που προέκυψαν ήταν χαμηλά. Έτσι, για την αναβάθμιση του υλικού με την αύξηση του μοριακού του βάρους, πραγματοποιήθηκαν δοκιμές μεταπολυμερισμού. Η τεχνική που επιλέχθηκε ήταν μεταπολυμερισμός τήγματος, εξαιτίας της μορφολογίας gel που παρουσίαζαν τα συντεθειμένα ολιγομερή, όμως χρησιμοποιήθηκαν όσο το δυνατόν χαμηλότερες θερμοκρασίες ώστε να διατηρηθεί ο πράσινος χαρακτήρας της διεργασίας. Ως αρχικό υλικό χρησιμοποιήθηκε το δείγμα A-90\_3g, δηλαδή η κλιμάκωση των βέλτιστων συνθηκών του ενζυμικού προπολυμερισμού.

Ο συνδυασμός ενζυμικού προπολυμερισμού με τον μεταπολυμερισμό τήγματος χαμηλής θερμοκρασίας πρόκειται για μεθοδολογία που έχει δώσει υποσχόμενα αποτελέσματα σύμφωνα με την βιβλιογραφία. Ενδεικτικά, στην περίπτωση του PBS, έχει αναφερθεί αύξηση του  $\overline{M}_n$  κατά 76% μετά την εφαρμογή του μεταπολυμερισμού τήγματος σε θερμοκρασία 110°C [52]. Αναφορικά με το PBF, οι Comerford *et al.* [35] ακολούθησαν την προσέγγιση της θερμικής αναβάθμισης των ενζυμικά συντεθειμένων ολιγομερών, εξετάζοντας ως παραμέτρους την θερμοκρασία και την ατμόσφαιρα στην οποία λαμβάνει χώρα η αντίδραση. Ως αποτέλεσμα, μετά από 24h στους 140°C παρέλαβαν πολυμερές με 3.3 φορές μεγαλύτερο  $\overline{M}_n$  και 2.7 φορές μεγαλύτερο  $\overline{M}_w$  από το αρχικό υλικό [35].

Στην παρούσα μελέτη, γίνεται διερεύνηση της θερμοκρασίας και του χρόνου της διεργασίας του μεταπολυμερισμού τήγματος με σκοπό την εύρεση των βέλτιστων συνθηκών του για το παρόν σύστημα.

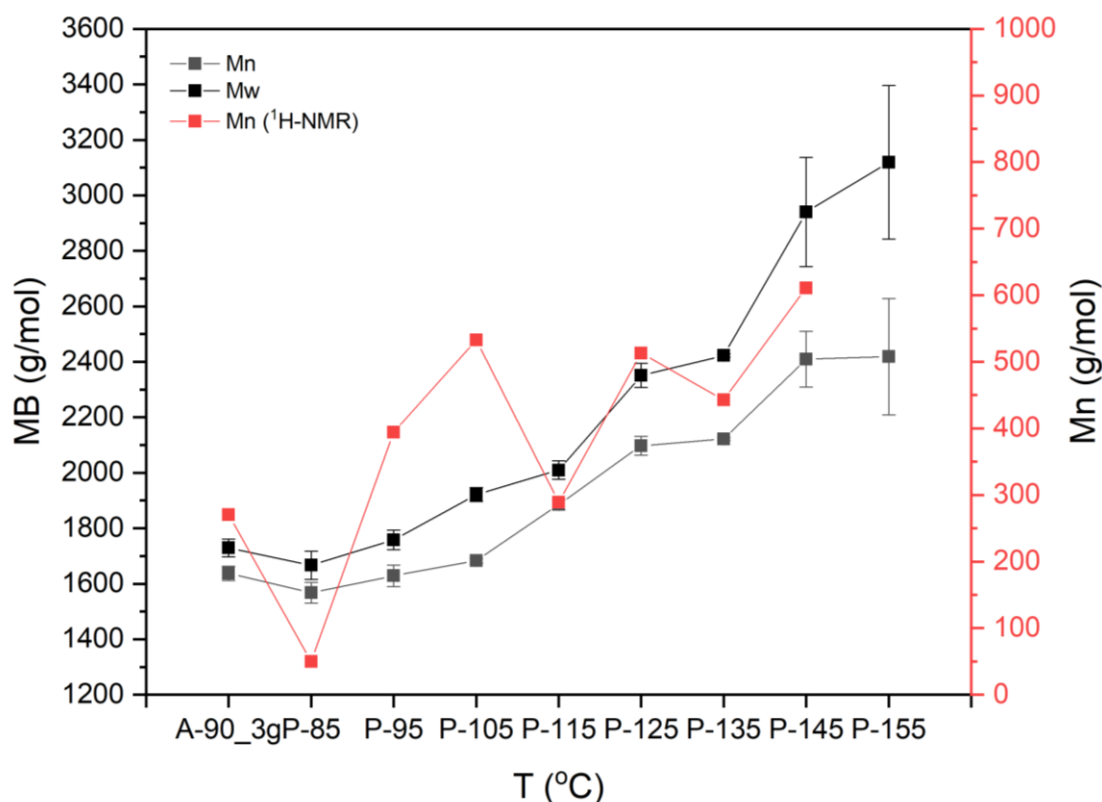
### 5.1 Διερεύνηση της θερμοκρασίας μεταπολυμερισμού τήγματος

Από την διεργασία του μεταπολυμερισμού παραλήφθηκαν προϊόντα, η μορφολογία των οποίων ήταν παρόμοια με του αρχικού υλικού, αλλά



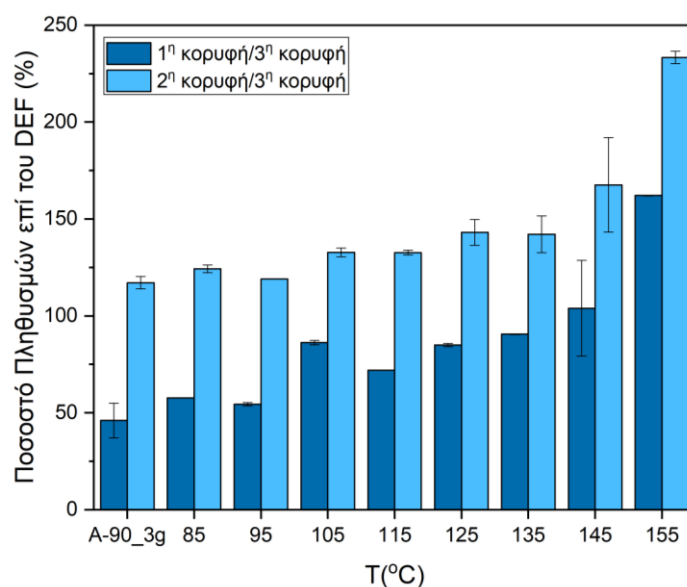
παρουσίαζαν μεγαλύτερη σκληρότητα. Τα μοριακά τους βάρη υπολογίστηκαν μέσω GPC και  $^1\text{H-NMR}$ . Όπως φαίνεται στην *Εικόνα 48*, ο μεταπολυμερισμός αρχίζει να επιδρά στο μοριακό βάρος του ολιγομερούς από τους  $105^\circ\text{C}$  και παρατηρείται συνεχής αύξηση του μοριακού βάρους έως και 28% στους  $125^\circ\text{C}$ , ενώ στους  $135^\circ\text{C}$  παραμένει σταθερό. Έπειτα, σημειώνεται περαιτέρω αύξηση στους  $145$  και  $155^\circ\text{C}$ , όμως πολύ αυξημένα εμφανίζονται και τα σφάλματα, γεγονός που πιθανότατα οφείλεται σε ανομοιομορφίες στο δείγμα και σε φαινόμενα υποβάθμισης συνδεόμενα με την θερμοκρασία. Η υπόθεση αυτή ενισχύεται, επίσης, από την αλλαγή στο χρώμα του δείγματος, το οποίο έχει γίνει πιο σκούρο καφέ. Αντίστοιχη αλλοίωση του υλικού αναφέρθηκε και από τους Comerford *et al.* [35], οποίοι παρατήρησαν πιο σκούρα ολιγομερή PBF μετά την επεξεργασία τους σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των  $140^\circ\text{C}$  [35].

Είναι εμφανές ότι η τάση των μοριακών βαρών δεν αποτυπώνεται πλήρως από τον υπολογισμό τους μέσω του  $^1\text{H-NMR}$ . Καθώς οι διαφορές δεν είναι σημαντικές, αυτές μπορεί να οφείλονται σε σφάλματα των μετρήσεων και σε ανομοιομορφίες των δειγμάτων.



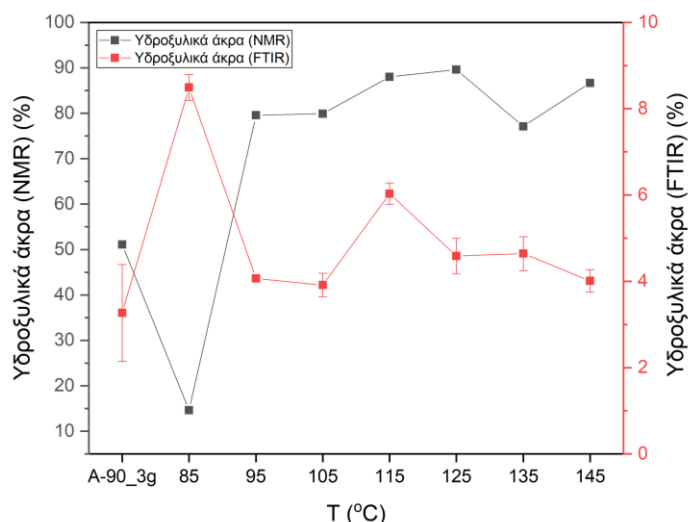
**Εικόνα 48: Μοριακά βάρη δειγμάτων μετά τον μεταπολυμερισμό τους**

Η αύξηση του μοριακού βάρους με τον χρόνο φαίνεται να σχετίζονται γραμμικά, καθώς ο συντελεστής προσδιορισμού  $R^2$  παίρνει τιμές 0.96 για το  $\overline{M}_n$  και 0.95 για το  $\overline{M}_w$ . Εξετάζοντας την κλίση κάθε σημείου, αυτή βαίνει αυξανόμενη μέχρι τους 125°C όπου μένει σταθερή μέχρι τους 135°C, ενώ αυξάνεται ξανά στους 145°C και μένει πάλι σταθερή μέχρι τους 155°C, σε συμφωνία και με την μακροσκοπική μορφολογία των δειγμάτων. Αυξητική τάση με την πάροδο του χρόνου παρουσιάζουν και οι πληθυσμοί μοριακών βαρών, όπως φαίνεται στην *Εικόνα 49*.



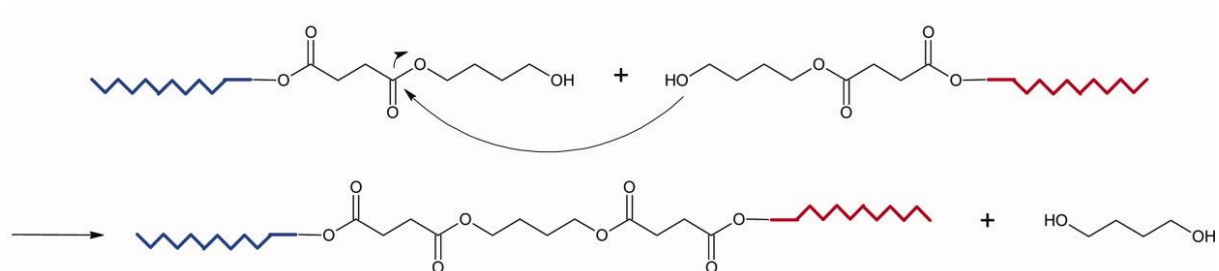
**Εικόνα 49: Ποσοστά πληθυσμών μοριακών βαρών των προϊόντων του μεταπολυμερισμού – διερεύνηση θερμοκρασίας**

Αναφορικά με τα υδροξυλικά άκρα των δειγμάτων, αυτά παραμένουν σε πολύ υψηλά επίπεδα σύμφωνα με τα αποτελέσματα του  $^1\text{H-NMR}$  (77-90%), με μέγιστο στους 125°C, όπου φτάνουν το 90% (*Εικόνα 50*).



**Εικόνα 50: Ποσοστό υδροξυλικών άκρων των δειγμάτων μετά τον πολυμερισμό τους**

Το γεγονός αυτό ενδεχομένως οφείλεται στον μηχανισμό της μετεστεροποίησης και στα πλούσια σε OH ολιγομερή στα οποία εφαρμόζεται ο μεταπολυμερισμός. Ειδικότερα, ένας πιθανός μηχανισμός που ακολουθείται είναι η πυρηνόφιλη επίθεση στον άνθρακα με την εστερική λειτουργία από το οξυγόνο ενός υδροξυλικού άκρου, ο οποίος οδηγεί σε αποτελεσματική μετεστεροποίηση, όπως αναφέρεται για το PBS (Εικόνα 51) [58]. Παρόλα αυτά, υπάρχει πιθανότητα να λαμβάνουν ταυτόχρονα χώρα αναποτελεσματικές αντιδράσεις μετεστεροποίησης, όπως η ανταλλαγή μιας ακραίας εστερομάδας και μιας ακραίας υδροξυλομάδας μεταξύ δύο πολυμερικών αλυσίδων, χωρίς να συμβάλουν στην αύξηση το μοριακού βάρους και την επιμήκυνση της αλυσίδας.



**Εικόνα 51: Μηχανισμός αποτελεσματικής μετεστεροποίησης PBS [58]**

Οι θερμικές ιδιότητες των ολιγομερών που τέθηκαν σε μεταπολυμερισμό δεν επηρεάστηκαν σημαντικά, καθώς η μέγιστη θερμοκρασία διάσπασης παραμένει πρακτικά σταθερή, ενώ η θερμοκρασία του πρώτου σταδίου διάσπασης

εμφανίζεται μειωμένη στα δείγματα P-85 και P-105. Αναλυτικά, οι θερμικές ιδιότητες των δειγμάτων του μεταπολυμερισμού εμφανίζονται στον Πίνακα 10.

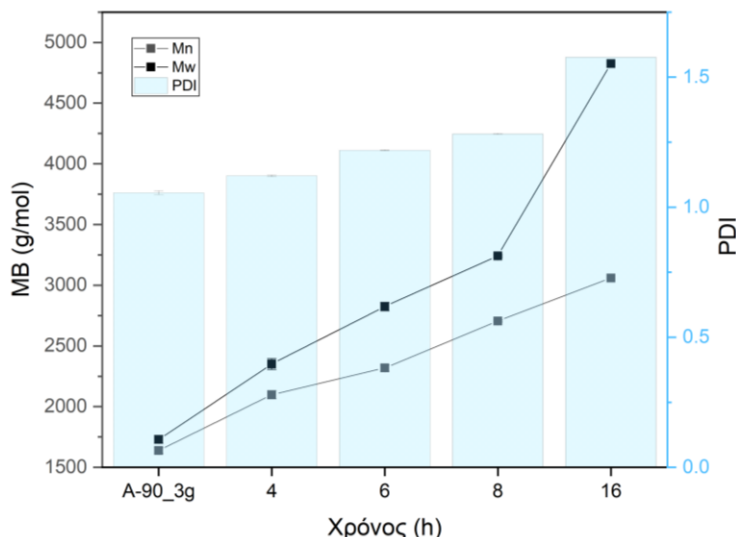
**Πίνακας 10: Θερμικές ιδιότητες ολιγομερών μετά τον μεταπολυμερισμό τους - διερεύνηση θερμοκρασίας**

<b>Δείγμα</b>	<b>T<sub>d,5%</sub></b>	<b>T<sub>d1</sub></b>	<b>T<sub>d2</sub></b>
<b>P-85</b>	167	256	360
<b>P-95</b>	187	266	357
<b>P-105</b>	170	253	353
<b>P-115</b>	144	266	354
<b>P-125</b>	163	262	354
<b>P-135</b>	186	270	354
<b>P-145</b>	209	265	358

Συμπερασματικά, ο μεταπολυμερισμός τήγματος είναι επιτυχημένος ως προς την αύξηση του μοριακού βάρους για το συγκεκριμένο σύστημα, χωρίς να προκαλεί σημαντική υποβάθμιση στις θερμικές ιδιότητες του πολυμερούς. Τα μεγάλα σφάλματα που εμφανίζονται στις θερμοκρασίες 145 και 155°C υποδεικνύουν πιθανώς ανομοιομορφίες στο δείγμα. Το ανεπιθύμητο αυτό γεγονός, σε συνδυασμό με την προσπάθεια ανάπτυξης διεργασιών με τις ελάχιστες δυνατές ενεργειακές απαιτήσεις, σύμφωνα με τις αρχές της πράσινης χημείας, επιλέγεται η συνέχιση της μελέτης στους 125°C.

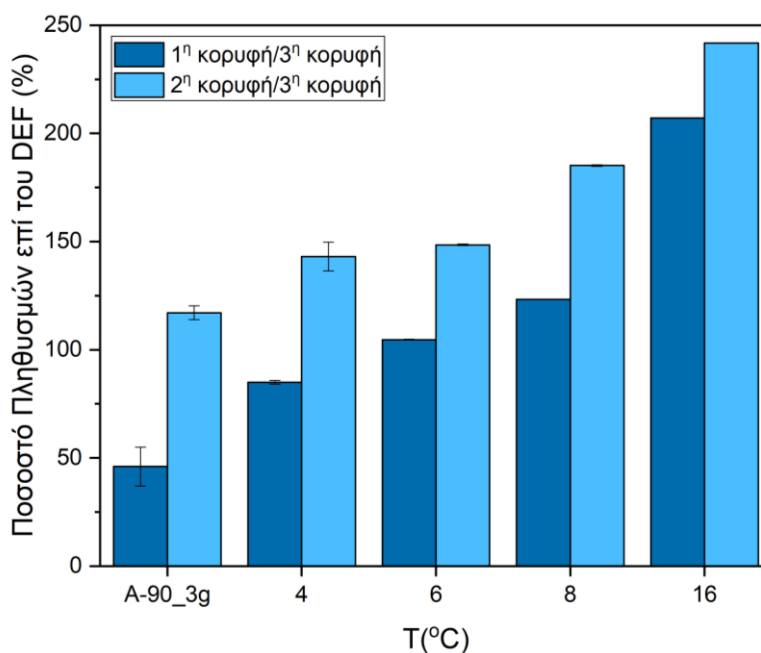
## 5.2 Διερεύνηση χρόνου μεταπολυμερισμού

Σε συνέχεια της μελέτης της θερμοκρασίας του μεταπολυμερισμού, μελετήθηκε ο χρόνος αντίδρασης στους 125°C. Όπως γίνεται εμφανές από το παρακάτω διάγραμμα (Εικόνα 53), η αύξηση του χρόνου αντίδρασης έχει ως αποτέλεσμα την επίτευξη σαφώς υψηλότερων μοριακών βαρών. Από τις πρώτες 4 ώρες μεταπολυμερισμού τα  $\overline{M}_n$  και  $\overline{M}_w$  αυξήθηκαν κατά 15% και 16% αντίστοιχα, ενώ η μεγαλύτερη αύξηση σημειώθηκε μετά τις 16 ώρες, με το  $\overline{M}_n$  του δείγματος να έχει αυξηθεί κατά 87%, φτάνοντας τις 3100 g/mol ενώ το  $\overline{M}_w$  κατά 179%, φτάνοντας τα 4800 g/mol. Παρατηρείται, ακόμα αύξηση της πολυδιασποράς του πολυμερούς, φτάνοντας πιο κοντά στην πιο πιθανή κατανομή (most probable distribution).



**Εικόνα 52: Μοριακά βάρη και πολυδιασπορά δειγμάτων μετά τον μεταπολυμερισμό τους – διερεύνηση χρόνου**

Η αύξηση του μοριακού βάρους με τον χρόνο φαίνεται να σχετίζονται γραμμικά, καθώς ο συντελεστής προσδιορισμού  $R^2$  παίρνει τιμές 0.93 για το  $\overline{M}_n$  και 0.998  $\overline{M}_w$ . Εξετάζοντας την κλίση κάθε σημείου, αυτή βαίνει αυξανόμενη, ξεκινώντας από 0.22 στις 4 ώρες και φτάνοντας το 0.46 μετά τις 16 ώρες. Αυξητική τάση με την πάροδο του χρόνου παρουσιάζουν και οι πληθυσμοί μοριακών βαρών, όπως φαίνεται στην *Εικόνα 53*.



**Εικόνα 53: Ποσοστά πληθυσμών μοριακών βαρών των προϊόντων του μεταπολυμερισμού – διερεύνηση χρόνου**

### 6.1. Συμπεράσματα

Στην παρούσα εργασία επιβεβαιώθηκε η δυνατότητα ενζυμικής σύνθεσης του PBF με χρήση του βιοκαταλύτη N435 και τεχνική μάζας. Η διεργασία περιλαμβάνει δύο στάδια αυξανόμενης θερμοκρασίας και πρόκειται για μια πράσινη διεργασία, αφού λαμβάνει χώρα σε χαμηλές θερμοκρασίες και χωρίς τη χρήση διαλύτη. Η μορφολογία του προϊόντος που προέκυψε ήταν ένα gel με ελαφρώς κίτρινο χρωματισμό. Σημαντικό είναι να σημειωθεί ότι παραλήφθηκε προϊόν στο οποίο εντοπίστηκαν υπολείμματα μονομερούς (DEF) και αποτελούνταν από δύο πληθυσμούς ολιγομερών με διαφορετικά βάρη. Το πρώτο στάδιο λάμβανε χώρα στους 50°C, σε ατμοσφαιρική πίεση για 24 ώρες, ενώ μετά από διερεύνηση των συνθηκών του δεύτερου σταδίου της διεργασίας (θερμοκρασία, πίεση, χρόνος), εξήχθη το συμπέρασμα ότι οι βέλτιστες συνθήκες διεξαγωγής του είναι 2 ώρες σε θερμοκρασία 90°C και πίεση 200 mbar. Το προϊόν παρουσίασε  $\overline{M}_n = 1800 \text{ g/mol}$  και  $\overline{M}_w = 1900 \text{ g/mol}$ ,  $T_{m2} = 72^\circ\text{C}$ ,  $T_{d,5\%} = 182^\circ\text{C}$  και  $T_{d,max} = 387^\circ\text{C}$ , τιμές που αναφέρονται για πρώτη φορά σε διεργασία χωρίς διαλύτη. Επετεύχθη, ακόμα, για πρώτη φορά κλιμάκωση της παραπάνω διεργασίας με τελικό προϊόν στα 6 g, χωρίς σημαντική υποβάθμιση των ιδιοτήτων του.

Στην συνέχεια, με σκοπό την αναβάθμιση των ιδιοτήτων του προϊόντος, εξετάστηκε η δυνατότητα μεταπολυμερισμού του. Η τεχνική που μελετήθηκε ήταν ο χαμηλής θερμοκρασίας μεταπολυμερισμός τήγματος. Η διεργασία ήταν επιτυχής και είχε ως αποτέλεσμα την διαρκή αύξηση του μοριακού βάρους του προϊόντος μέχρι και τους 155°C. Διερευνώντας, έπειτα, την επίδραση του χρόνου στην αποτελεσματικότητα του μεταπολυμερισμού, βρέθηκε ότι η αύξηση της διάρκειας της διεργασίας είναι ευεργετική. Τελικά, πραγματοποιώντας μεταπολυμερισμό στους 125°C για 16 ώρες προέκυψε αύξηση του  $\overline{M}_n$  κατά 87%, και του  $\overline{M}_w$  κατά 179%.

Συμπερασματικά, προτείνεται μια πράσινη μεθοδολογία σύνθεσης και αναβάθμισης PBF. Αυτή περιλαμβάνει μια διεργασία ενζυμικού

προπολυμερισμού δύο σταδίων, η οποία λαμβάνει χώρα σε χαμηλές θερμοκρασίες και χρησιμοποιεί ως βιοκαταλύτη το ένζυμο N435, και μια διεργασία μεταπολυμερισμού τήγματος χαμηλής θερμοκρασίας.

## 6.2. Προτάσεις για μελλοντική έρευνα

Οι φουρανικοί πολυεστέρες πρόκεινται για αρκετά νέα πολυμερή, γεγονός που αφήνει μεγάλα περιθώρια για διερεύνηση των εφαρμογών και των τρόπων σύνθεσης τους. Ειδικότερα, υπάρχουν ελάχιστες μελέτες του ενζυμικού προπολυμερισμού αλλά και του μεταπολυμερισμού του PBF. Οπότε, σε συνέχεια της παρούσας εργασίας, προτείνονται η παρακάτω άξονες μελέτης.

Για τον ενζυμικό προπολυμερισμό:

- Προσπάθεια καθαρισμού του προϊόντος από τα υπολείμματα του DEF
- Περαιτέρω κλιμάκωση της διεργασίας
- Δοκιμή χρήσης διαφορετικών ενζύμων ως βιοκαταλύτες, συμπεριλαμβανομένων και μη εμπορικών

Για τον μεταπολυμερισμό:

- Περαιτέρω διερεύνηση του χρόνου της διεργασίας
- Διερεύνηση της ατμόσφαιρας π.χ. N<sub>2</sub>

## Βιβλιογραφία

- [1] Y. Jiang, A.J.J. Woortman, G.O.R. Alberda Van Ekenstein, K. Loos, A biocatalytic approach towards sustainable furanic-aliphatic polyesters, *Polym Chem* 6 (2015) 5198–5211. <https://doi.org/10.1039/c5py00629e>.
- [2] N. Pouloupoulou, G. Kantoutsis, D.N. Bikiaris, D.S. Achilias, M. Kapnisti, G.Z. Papageorgiou, Biobased engineering thermoplastics: Poly(butylene 2,5-furandicarboxylate) blends, *Polymers (Basel)* 11 (2019). <https://doi.org/10.3390/polym11060937>.
- [3] B. Wu, Y. Xu, Z. Bu, L. Wu, B.G. Li, P. Dubois, Biobased poly(butylene 2,5-furandicarboxylate) and poly(butylene adipate-co-butylene 2,5-furandicarboxylate)s: From synthesis using highly purified 2,5-furandicarboxylic acid to thermo-mechanical properties, *Polymer (Guildf)* 55 (2014) 3648–3655. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2014.06.052>.
- [4] N. Pouloupoulou, G.N. Nikolaidis, V.L. Efstathiadou, M. Kapnisti, G.Z. Papageorgiou, Blending as a process for controlling the properties of poly(ethylene 2,5-furandicarboxylate) (PEF): Fully biobased PEF/PBF blends, *Polymer (Guildf)* 266 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2022.125615>.
- [5] J. Wang, X. Liu, J. Zhu, Y. Jiang, Copolyesters based on 2,5-furandicarboxylic acid (FDCA): Effect of 2,2,4,4-tetramethyl-1,3-cyclobutanediol units on their properties, *Polymers (Basel)* 9 (2017). <https://doi.org/10.3390/polym9090305>.
- [6] E. de Jong, H.A. Visser, A.S. Dias, C. Harvey, G.J.M. Gruter, The Road to Bring FDCA and PEF to the Market, *Polymers (Basel)* 14 (2022). <https://doi.org/10.3390/polym14050943>.
- [7] J.J. Bozell, G.R. Petersen, Technology development for the production of biobased products from biorefinery carbohydrates—the US Department of Energy’s “top 10” revisited, *Green Chemistry* 12 (2010) 539–55. <https://doi.org/10.1039/b922014c>.



- [8] Bio-based Polymer Market - Forecast(2023 - 2028), (n.d.).  
<https://www.industryarc.com/Research/Bio-based-Polymer-Market-Research-509285> (accessed December 15, 2023).
- [9] Polyethylene Furanoate Market Size, Share & Trends Analysis Report By Application (Bottles, Fibers, Films), By Region (North America, Europe, APAC, Central & South America, MEA), And Segment Forecasts, 2020 - 2027, (n.d.).  
<https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/polyethylene-furanoate-pef-market> (accessed December 15, 2023).
- [10] L. Papadopoulos, A. Zamboulis, N. Kasmi, M. Wahbi, C. Nannou, D.A. Lambropoulou, M. Kostoglou, G.Z. Papageorgiou, D.N. Bikiaris, Investigation of the catalytic activity and reaction kinetic modeling of two antimony catalysts in the synthesis of poly(ethylene furanoate), *Green Chemistry* 23 (2021) 2507–2524.  
<https://doi.org/10.1039/d0gc04254d>.
- [11] K. Loos, R. Zhang, I. Pereira, B. Agostinho, H. Hu, D. Maniar, N. Sbirrazzuoli, A.J.D. Silvestre, N. Guigo, A.F. Sousa, A Perspective on PEF Synthesis, Properties, and End-Life, *Front Chem* 8 (2020).  
<https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00585>.
- [12] H. Nakajima, P. Dijkstra, K. Loos, The recent developments in biobased polymers toward general and engineering applications: Polymers that are upgraded from biodegradable polymers, analogous to petroleum-derived polymers, and newly developed, *Polymers (Basel)* 9 (2017).  
<https://doi.org/10.3390/polym9100523>.
- [13] S.K. Burgess, J.E. Leisen, B.E. Kraftschik, C.R. Mubarak, R.M. Kriegel, W.J. Koros, Chain mobility, thermal, and mechanical properties of poly(ethylene furanoate) compared to poly(ethylene terephthalate), *Macromolecules* 47 (2014) 1383–1391.  
<https://doi.org/10.1021/ma5000199>.
- [14] M. Zhao, C. Zhang, F. Yang, Y. Weng, Gas barrier properties of furan-based polyester films analyzed experimentally and by molecular

- simulations, *Polymer (Guildf)* 233 (2021).  
<https://doi.org/10.1016/j.polymer.2021.124200>.
- [15] N.V. Trung, M.N. Nguyen, A.N.T. Ngoc, N.P. Thi, T.T. Quang, T.T. Thi, Synthesis and Characterizations of Biobased Copolymer Poly(ethylene-co-butylene 2,5-Furandicarboxylate), *Int J Polym Sci* 2021 (2021).  
<https://doi.org/10.1155/2021/9104546>.
- [16] C.I. Gkountela, S.N. Vouyiouka, Enzymatic Polymerization as a Green Approach to Synthesizing Bio-Based Polyesters, *Macromol* 2 (2022) 30–57. <https://doi.org/10.3390/macromol2010003>.
- [17] J. Zhu, J. Cai, W. Xie, P.H. Chen, M. Gazzano, M. Scandola, R.A. Gross, Poly(butylene 2,5-furan dicarboxylate), a biobased alternative to PBT: Synthesis, physical properties, and crystal structure, *Macromolecules* 46 (2013) 796–804. <https://doi.org/10.1021/ma3023298>.
- [18] E. Bianchi, M. Soccio, V. Siracusa, M. Gazzano, S. Thiyagarajan, N. Lotti, Poly(butylene 2,4-furanoate), an Added Member to the Class of Smart Furan-Based Polyesters for Sustainable Packaging: Structural Isomerism as a Key to Tune the Final Properties, *ACS Sustain Chem Eng* 9 (2021) 11937–11949.  
<https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.1c04104>.
- [19] G.Z. Papageorgiou, V. Tsanaktis, D.G. Papageorgiou, S. Exarhopoulos, M. Papageorgiou, D.N. Bikiaris, Evaluation of polyesters from renewable resources as alternatives to the current fossil-based polymers. Phase transitions of poly(butylene 2,5-furan-dicarboxylate), *Polymer (Guildf)* 55 (2014) 3846–3858.  
<https://doi.org/10.1016/j.polymer.2014.06.025>.
- [20] G. Wang, Y. Dong, X. Hao, L. Zhang, R. Sun, Bio-based poly(butylene furandicarboxylate-co-butylene 2,5-thiophenedicarboxylate): synthesis, thermal properties, crystallization properties and mechanical properties, *Polymer Bulletin* (2022). <https://doi.org/10.1007/s00289-022-04330-y>.

- [21] G. Wang, M. Jiang, Q. Zhang, R. Wang, X. Tong, S. Xue, G. Zhou, Biobased copolyesters: Synthesis, sequence distribution, crystal structure, thermal and mechanical properties of poly(butylene sebacate-co-butylene furandicarboxylate), *Polym Degrad Stab* 143 (2017) 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2017.05.027>.
- [22] T.P. Kainulainen, T.I. Hukka, H.D. Özeren, J.A. Sirviö, M.S. Hedenqvist, J.P. Heiskanen, Utilizing Furfural-Based Bifuran Diester as Monomer and Comonomer for High-Performance Bioplastics: Properties of Poly(butylene furanoate), Poly(butylene bifuranoate), and Their Copolyesters, *Biomacromolecules* 21 (2020) 743–752. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.9b01447>.
- [23] A. Shen, G. Wang, J. Wang, X. Zhang, X. Fei, L. Fan, J. Zhu, X. Liu, Poly(1,4-butylene -co-1,4-cyclohexanedimethylene 2,5-furandicarboxylate) copolyester: Potential bio-based engineering plastic, *Eur Polym J* 147 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2021.110317>.
- [24] G. Guidotti, M. Soccio, M.C. García-Gutiérrez, T. Ezquerra, V. Siracusa, E. Gutiérrez-Fernández, A. Munari, N. Lotti, Fully Biobased Superpolymers of 2,5-Furandicarboxylic Acid with Different Functional Properties: From Rigid to Flexible, High Performant Packaging Materials, *ACS Sustain Chem Eng* 8 (2020) 9558–9568. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c02840>.
- [25] M. Kwiatkowska, I. Kowalczyk, K. Kwiatkowski, A. Zubkiewicz, Microstructure and mechanical/elastic performance of biobased poly (butylene furanoate)-block-poly (ethylene oxide) copolymers: Effect of the flexible segment length, *Polymers (Basel)* 12 (2020). <https://doi.org/10.3390/polym12020271>.
- [26] P. Anastas, N. Eghbali, *Green Chemistry: Principles and Practice*, *Chem Soc Rev* 39 (2010) 301–312. <https://doi.org/10.1039/b918763b>.

- [27] M.A. Dubé, V.A. Gabriel, A.S. Pakdel, Y. Zhang, Sustainable polymer reaction engineering: Are we there yet?, *Canadian Journal of Chemical Engineering* 99 (2021) 31–60. <https://doi.org/10.1002/cjce.23865>.
- [28] M.A. Dubé, S. Salehpour, Applying the Principles of Green Chemistry to Polymer Production Technology, *Macromol React Eng* 8 (2014) 7–28. <https://doi.org/10.1002/mren.201300103>.
- [29] F. Anaya-Rodríguez, J.C. Durán-Álvarez, K.T. Drisya, R. Zanella, The Challenges of Integrating the Principles of Green Chemistry and Green Engineering to Heterogeneous Photocatalysis to Treat Water and Produce Green H<sub>2</sub>, *Catalysts* 13 (2023). <https://doi.org/10.3390/catal13010154>.
- [30] Y. Jiang, K. Loos, Enzymatic synthesis of biobased polyesters and polyamides, *Polymers (Basel)* 8 (2016). <https://doi.org/10.3390/polym8070243>.
- [31] H. Wang, H. Li, C.K. Lee, N.S. Mat Nanyan, G.S. Tay, Recent Advances in the Enzymatic Synthesis of Polyester, *Polymers (Basel)* 14 (2022). <https://doi.org/10.3390/polym14235059>.
- [32] V. Hevilla, A. Sonseca, C. Echeverría, A. Muñoz-Bonilla, M. Fernández-García, Enzymatic Synthesis of Polyesters and Their Bioapplications: Recent Advances and Perspectives, *Macromol Biosci* 21 (2021). <https://doi.org/10.1002/mabi.202100156>.
- [33] J. Zhang, H. Shi, D. Wu, Z. Xing, A. Zhang, Y. Yang, Q. Li, Recent developments in lipase-catalyzed synthesis of polymeric materials, *Process Biochemistry* 49 (2014) 797–806. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.02.006>.
- [34] A. Kundys, E. Białeczka-Florjańczyk, A. Fabiszewska, J. Małajowicz, *Candida antarctica* Lipase B as Catalyst for Cyclic Esters Synthesis, Their Polymerization and Degradation of Aliphatic Polyesters, *J Polym Environ* 26 (2018) 396–407. <https://doi.org/10.1007/s10924-017-0945-1>.

- [35] J.W. Comerford, F.P. Byrne, S. Weinberger, T.J. Farmer, G.M. Guebitz, L. Gardossi, A. Pellis, Thermal upgrade of enzymatically synthesized aliphatic and aromatic oligoesters, *Materials* 13 (2020). <https://doi.org/10.3390/ma13020368>.
- [36] Y. Jiang, A.J.J. Woortman, G.O.R. Alberda Van Ekenstein, K. Loos, A biocatalytic approach towards sustainable furanic-aliphatic polyesters, *Polym Chem* 6 (2015) 5198–5211. <https://doi.org/10.1039/c5py00629e>.
- [37] C.I. Gkountela, S.N. Vouyiouka, Enzymatic Polymerization as a Green Approach to Synthesizing Bio-Based Polyesters, *Macromol* 2 (2022) 30–57. <https://doi.org/10.3390/macromol2010003>.
- [38] S.N. Vouyiouka, E. Topakas, A. Katsini, C.D. Papaspyrides, P. Christakopoulos, A green route for the preparation of aliphatic polyesters via lipase-catalyzed prepolymerization and low-temperature postpolymerization, *Macromol Mater Eng* 298 (2013) 679–689. <https://doi.org/10.1002/mame.201200188>.
- [39] D. Maniar, Y. Jiang, A.J.J. Woortman, J. van Dijken, K. Loos, Furan-Based Copolyesters from Renewable Resources: Enzymatic Synthesis and Properties, *ChemSusChem* 12 (2019) 990–999. <https://doi.org/10.1002/cssc.201802867>.
- [40] D. Maniar, F. Silvianti, V.M. Ospina, A.J.J. Woortman, J. van Dijken, K. Loos, On the way to greener furanic-aliphatic poly(ester amide)s: Enzymatic polymerization in ionic liquid, *Polymer (Guildf)* 205 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2020.122662>.
- [41] J. McMurry, *Οργανική Χημεία*, 9η, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, 2017.
- [42] S.K. Bharti, R. Roy, Quantitative <sup>1</sup>H NMR spectroscopy, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 35 (2012) 5–26. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.02.007>.

- [43] Μ. Όξενκιουν-Πετροπούλου, Α. Παππά, Φυσικές Μέθοδοι ανάλυσης - Εργαστηριακές ασκήσεις, 3η, Εργαστήριο Ανόργανης και Αναλυτικής Χημείας, Σχολή Χημικών Μηχανικών, ΕΜΠ, Αθήνα, 2009.
- [44] J.U. Izunobi, C.L. Higginbotham, Polymer molecular weight analysis by  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy, *J Chem Educ* 88 (2011) 1098–1104. <https://doi.org/10.1021/ed100461v>.
- [45] Κεφάλαιο 7. Φασματοσκοπία Υπερύθρου Μετασχηματισμού Fourier με Αποσβένουσα Ολική Ανάκλαση, n.d.
- [46] Γ.Π. Καραγιαννήδης, Ε.Δ. Σιδερίδου, Χημεία Πολυμερών, Εκδόσεις Ζήτη, Θεσσαλονίκη, 2010.
- [47] E. Lubomirsky, A. Khodabandeh, J. Preis, M. Susewind, T. Hofe, E.F. Hilder, R.D. Arrua, Polymeric stationary phases for size exclusion chromatography: A review, *Anal Chim Acta* 1151 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338244>.
- [48] S.I. Yusa, Polymer characterization, in: *Polymer Science and Nanotechnology: Fundamentals and Applications*, Elsevier, 2020: pp. 105–124. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816806-6.00006-6>.
- [49] Size Exclusion, n.d.
- [50] H.M. Ng, N.M. Saidi, F.S. Omar, K. Ramesh, S. Ramesh, S. Bashir, Thermogravimetric Analysis of Polymers, in: *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*, Wiley, 2018: pp. 1–29. <https://doi.org/10.1002/0471440264.pst667>.
- [51] C. Schick, Differential scanning calorimetry (DSC) of semicrystalline polymers, *Anal Bioanal Chem* 395 (2009) 1589–1611. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-3169-y>.
- [52] Christina.I. Gkountela, D. Markoulakis, M. Mathioudaki, I. Pitterou, A. Detsi, S.N. Vouyiouka, Scalable enzymatic polymerization and low-temperature post-polymerization of poly(butylene succinate): Process

- parameters and application, *Eur Polym J* 198 (2023) 112423. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2023.112423>.
- [53] X. Zhang, S. Ma, A. Shen, J. Zhu, Z. Shen, J. Wang, X. Liu, High molecular weight poly(butylene terephthalate-co-butylene 2,5-furandicarboxylate) copolyesters: From synthesis to thermomechanical and barrier properties, *J Appl Polym Sci* 137 (2020). <https://doi.org/10.1002/app.49365>.
- [54] M. Matos, A.F. Sousa, P. V. Mendonça, A.J.D. Silvestre, Co-polymers based on Poly(1,4-butylene 2,5-furandicarboxylate) and Poly(propylene oxide) with tuneable thermal properties: Synthesis and characterization, *Materials* 12 (2019). <https://doi.org/10.3390/ma12020328>.
- [55] K. Nasr, A. Favrelle-Huret, R. Mincheva, G. Stoclet, M. Bria, J.M. Raquez, P. Zinck, The Impact of Diethyl Furan-2,5-dicarboxylate as an Aromatic Biobased Monomer toward Lipase-Catalyzed Synthesis of Semiaromatic Copolyesters, *ACS Appl Polym Mater* 4 (2022) 1387–1400. <https://doi.org/10.1021/acscapm.1c01777>.
- [56] C. Gkountela, M. Rigopoulou, E.M. Barampouti, S. Vouyiouka, Enzymatic prepolymerization combined with bulk post-polymerization towards the production of bio-based polyesters: The case of poly(butylene succinate), *Eur Polym J* 143 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.110197>.
- [57] K. Chrissafis, K.M. Paraskevopoulos, D.N. Bikiaris, Thermal degradation mechanism of poly(ethylene succinate) and poly(butylene succinate): Comparative study, *Thermochim Acta* 435 (2005) 142–150. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2005.05.011>.
- [58] N. Jacquél, F. Freyermouth, F. Fenouillot, A. Rousseau, J.P. Pascault, P. Fuertes, R. Saint-Loup, Synthesis and properties of poly(butylene succinate): Efficiency of different transesterification catalysts, *J Polym Sci A Polym Chem* 49 (2011) 5301–5312. <https://doi.org/10.1002/pola.25009>.





## Παράρτημα

Πίνακας 11: Θερμικές ιδιότητες των δειγμάτων A-75, A-80, A-85, A-90, A-95

Δείγμα	1 <sup>η</sup> Θέρμανση		Ψύξη		2 <sup>η</sup> Θέρμανση					TGA		
	T <sub>m</sub>	ΔH <sub>m</sub>	T <sub>c</sub>	ΔH <sub>c</sub>	T <sub>g</sub>	T <sub>m</sub>	ΔH <sub>m</sub>	T <sub>cc</sub>	ΔH <sub>cc</sub>	T <sub>d,5%</sub>	T <sub>d1</sub>	T <sub>d2</sub>
<b>A-75</b>	55	13.84	-	-	-41	-	-	-	-	176	281.5	386
<b>A-80</b>	76	4.84	15	2.74	-35	71	9.44	26.5	10.68	195	275	383
<b>A-85</b>	42	57.41	-	-	-49	58.5	6.62	20.7	2.38	198	275.5	385
<b>A-90</b>	62.5	52.22	13.5	0.93	-36	71.8	13.68	26.7	17.32	182	279	387
<b>A-95</b>	76.5	9.51	-	-	-39	68.5	12.02	26.5	10.47	175	280	384

Πίνακας 12: Μοριακά βάρη των δειγμάτων A-75, A-80, A-85, A-90, A-95

Δείγμα	NMR		GPC	
	Mn (g/mol)	Mn (g/mol)	Mw (g/mol)	Ποσοστό πληθυσμού υψηλότερου MB (%)
<b>A-75</b>	330	1700	1800	31.1±0.04
<b>A-80</b>	380	1700	1800	35.9±1.8
<b>A-85</b>	380	1700	1800	47.8±1.2
<b>A-90</b>	560	1800	1900	98.9±3.2
<b>A-95</b>	560	1800	1800	108.6±14.6

Πίνακας 13: Θερμικές ιδιότητες των δειγμάτων B-90, B-95, C-90-6, C-90-24, C-95-6

Δείγμα	T <sub>d,5%</sub>	T <sub>d1</sub>	T <sub>d2</sub>
<b>B-90</b>	203	272	385
<b>B-95</b>	183.5	272	384
<b>C-90-6</b>	159	279	384
<b>C-90-24</b>	199	284.5	390.5
<b>C-95-6</b>	180.5	256.5	393

Πίνακας 14: Μοριακά βάρη των δειγμάτων B-90, B-95, C-90-6, C-90-24, C-95-6

Δείγμα	NMR		GPC	
	Mn (g/mol)	Mn (g/mol)	Mw (g/mol)	Ποσοστό πληθυσμού υψηλότερου MB (%)
<b>B-90</b>	170	1800	1800	28.0±9.1
<b>B-95</b>	310	1600	1600	20.0±2.5
<b>C-90-6</b>	280	1600	1600	47.6±1.4
<b>C-90-24</b>	390	1700	1800	237.7±8.1
<b>C-95-6</b>	220	1500	1600	37.0±1.0

Πίνακας 15: Θερμικές ιδιότητες δειγμάτων κλιμακωμένης διεργασίας

Δείγμα	T <sub>d,5%</sub>	T <sub>d1</sub>	T <sub>d2</sub>
A-90_3g	182	277	367.75
A-90_6g	168.25	272.5	384

Πίνακας 16: Μοριακά βάρη δειγμάτων κλιμακωμένης διεργασίας

Δείγμα	NMR		GPC	
	Mn (g/mol)	Mn (g/mol)	Mw (g/mol)	Ποσοστό πληθυσμού υψηλότερου MB (%)
A-90_3g	270	1600	1700	46.0±9.0
A-90_6g	370	1600	1600	18.8±4.3

Πίνακας 17: Μοριακά βάρη δειγμάτων μετά τον μεταπολυμερισμό

Δείγμα	NMR		GPC	
	Mn (g/mol)	Mn (g/mol)	Mw (g/mol)	Ποσοστό πληθυσμού υψηλότερου MB (%)
P-85	50	1600	1700	57.7±0.3
P-95	390	1600	1800	54.4±0.8
P-105	530	1700	1900	86.2±1.1
P-115	290	1900	2000	71.9±0.1
P-125	510	2100	2400	85.0±0.8
P-135	440	2100	2400	90.6±0.2
P-145	610	2400	2900	103.9±24.6
P-155	-	2400	3100	162.1±1.1
P-125-6	-	2300	2800	104.6±0.2
P-125-8	-	2700	3200	123.3±0.1
P-125-16	-	3100	4800	207.1