

**YENİ AMFİFİLİK BİYOBOZUNUR POLYESTER ÜRETİMİNİN SENTEZİ VE
KARAKTERİZASYONU**

Tuğba TORAMAN

**Bülent Ecevit Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalında
Yüksek Lisans Tezi
Olarak Hazırlanmıştır**

**ZONGULDAK
Mayıs 2014**

KABUL:

Tuğba TORAMAN tarafından hazırlanan "YENİ AMFİFİLİK BİYOBOZUNUR POLYESTER ÜRETİMİNİN SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU" başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek, Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir. 30/05/2014

Başkan: Prof. Dr. Baki HAZER
Bülent Ecevit Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Şadi ŞEN
Bülent Ecevit Üniversitesi

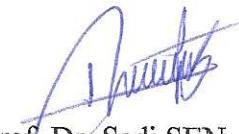


Üye : Doç. Dr. Seda TIĞLI AYDIN
Bülent Ecevit Üniversitesi



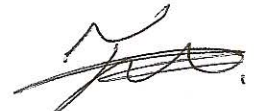
ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım./..../2014



Prof. Dr. Şadi ŞEN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”



Tuğba TORAMAN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

YENİ AMFİFİLİK BİYOBOZUNUR POLYESTER ÜRETİMİNİN SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU

Tuğba TORAMAN

Bülent Ecevit Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Baki HAZER

Mayıs 2014, 69 sayfa

Mikrobiyal poliestere ve Poli-N-isopropil akril amidlere dayanan ısıya duyarlı yeni polimer konjugatları rapor edilmiştir. Poli (3-hidroksi undekanoat)(PHU) ve soya yağından poli (3-Hidroksi alkanoatlar)(PHA) karanlıkta, oda sıcaklığında brom kullanılarak bromlandırılmıştır. Bromlandırılmış PHA'lar potasyum etil ksantat ile yer değiştirme tepkisi yoluyla makro tersinir ek parçalanma zinciri transferi (RAFT) maddelerine dönüştürülmüştür. N- izopropil akril amid'in RAFT polimerizasyonu, PHA-g-PNIPAM türü ısıya duyarlı amfifilik graft kopolimerleri kuyruğu elde etmek için ksantat sarkıt grupları içeren PHA türeviden başlatılmıştır. PHU-g-PNIPAM ve PHU-Sy-g-PNIPAM amfifilik graft kopolimerlerin suda çözünürlüğü %50'den tamamen suda çözünür hale getirilmiştir. Yeni konjugatların yapısal ve termal karakterizasyonları ¹H NMR, GPC, DSC ve TGA teknikleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

ÖZET (devam ediyor)

Anahtar Kelimeler: Poly (3-hidroksi alkanoat), Isıya duyarlı polimer, Amfifilik polimer

Bilim Kodu: 405.04.00

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF THE NOVEL THERMORESPONSIVE CONJUGATES BASED ON POLY (3-HYDROXY ALKANOATES)

Tuğba TORAMAN

Bülent Ecevit University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

Thesis Advisor: Prof. Baki HAZER

May 2014, 69 pages

Novel thermoresponsive polymer conjugates based on microbial polyesters and poly-N-isopropyl acryl amide, PNIPAM, have been reported. The unsaturated poly-3-hydroxy alkanates, poly (3-hydroxy undecenoate), PHU, and 1:1 mixture of 10-undecenoic acid and soy oil acids, PHU-Sy, were brominated by using bromine in the dark, at room temperature. Brominated PHAs were transformed to macro reversible addition–fragmentation chain transfer (RAFT) agents via the substitution reaction with potassium ethyl xanthate. RAFT polymerization of N-isopropyl acryl amide, NIPAM, was initiated by the PHA derivative containing xanthate pendant groups in order to obtain brush type PHA-g-PNIPAM thermoresponsive amphiphilic graft copolymers. The water uptake of the PHU-g-PNIPAM and PHU-Sy-g-PNIPAM amphiphilic graft copolymers changed from 50 % to completely soluble in water. Structural and thermal characterization of the novel conjugates were carried out by using ¹H NMR, GPC, DSC and TGA techniques.

ABSTRACT (continued)

Keywords: Poly (3-hydroxy alkanoate), Thermo responsive polymer, Amphiphilic polymer

Science Code: 405.04.00

TEŞEKKÜR

Tez alıřmam sűresince deęerli bilgi ve tecrűbelerini esirgemeyen, kendisiyle çalıřmaktan onur duyduęum hocam, sayın Prof. Dr. Baki HAZER'e saygı ve űkranlarımı sunarım.

Çalıřmalarım sűresince desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen, Polimer Arařtırma Grubu'nun deęerli űyelerine teőekkűr ederim.

Çalıřmam sűresince destek ve yardımlarını esirgemeyen BEű Fen Edebiyat Fakűltesi űęretim elemanlarına ve personeline teőekkűr ederim.

Çalıřmamda bana mali destek saęlayan, TűBİTAK' a (Proje No: 211T016) ve Bűlent Ecevit űniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Arařtırma Projeleri Fonu' na (BAP Proje No: 2013-72118496-01) teőekkűr ederim.

Yaşamım boyunca maddi, manevi her konuda bana destek olan aileme minnettarlığımı sunmaktan mutluluk ve onur duyarım.

Çalıřmalarım sűresince destek ve yardımlarını esirgemeyen deęerli arkadařım Tolga YAZAN'a ayrıca teőekkűr ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvii
EK AÇIKLAMALAR DİZİNİ.....	xix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xxi
BÖLÜM 1 GİRİŞ.....	1
1.1 BAKTERİYEL POLİESTERLER VE ÇEŞİTLERİ.....	2
1.1.1 Poli(-3-Hidroksialkanoat)ların Yapısı ve Özellikleri	3
1.1.2 Poli(-3-hidroksialkanoat)ların Kullanım Alanları	7
BÖLÜM 2 POLİ(-3-HİDROKSİ ALKANOAT)LARIN MODİFİKASYONLARI	9
2.1 BİYOSENTETİK MODİFİKASYONLAR	9
2.1.1 Doymamış Mikrobiyal Poliesterler (PHA'lar)	9
2.2 KİMYASAL MODİFİKASYONLAR	11
2.3 GRAFT REAKSİYONLARI.....	11
2.4 TRANSESTERİFİKASYON REAKSİYONLARI.....	13
BÖLÜM 3 DENEYSEL KISIM	19
3.1 KULLANILAN MADDELER	19

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
3.2 KULLANILAN ALETLER	20
3.2.1 Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (NMR)	20
3.2.2 Fourier Transform Infrared Spektrometresi (FT-IR)	20
3.2.3 Jel Geçirgenlik Kromatografisi (GPC)	20
3.2.4 Termogravimetrik Analiz (TGA)	21
3.2.5 Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC)	21
3.2.6 UV-VIS Spektrofotometre	21
3.2.7 Vakum Etüvü	21
3.2.8 Magnetik Karıştırıcı	21
3.2.9 Dijital Hassas Terazî	22
3.3 DENEYLERİN YAPILIŞI	22
3.3.1 PHU'ların Bromlanması	22
3.3.2 PHU-Makro Raft Ajanı Sentezi	22
3.3.3 PHA'ların Ksentat Türevleri İle NIPAM Polimerizasyonu	22
3.3.4 Graft Kopolimerlerin Şişme Oranının Belirlenmesi	23
BÖLÜM 4 BULGULAR VE TARTIŞMA	25
4.1 PHU ve PHU-Sy'NİN BROMLANMASI	25
4.2 PHU (PHU-Xa) ve PHU-Sy (PHU-Sy-Xa) ARASINDA KSENTAT TÜREVLERİ ..	27
4.3 PHA'LARIN KSENTAT TÜREVLERİ TARAFINDAN NIPAM ARASINDA BAŞLATILAN RAFT POLİMERİZASYONU	28
BÖLÜM 5 SONUÇ VE YORUM	33
KAYNAKLAR	35
EK AÇIKLAMALAR A NMR SPEKTRUMLARI	39
EK AÇIKLAMALAR B GPC KROMATOGRAMLARI	49
EK AÇIKLAMALAR C TGA EĞRİLERİ	55

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
EK AÇIKLAMALAR D DSC TERMOGRAMLARI.....	61
ÖZGEÇMİŞ	69

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
1.1	Bakterilerin cinsine göre sentezlenen PHA' ların genel molekül yapıları 3
1.2	Doğal yollarla PHA biyosentez şeması..... 4
1.3	Polihidroksialkanoatların genel yapısı; R1 ve R2, alkil grupları, (C ₁ -C ₁₃) 'dir..... 6
2.1	Poli(-3-hidroksi-oktanoat-ko-10-undekanoat)(PHOU) sentezi. 10
2.2	Soya yağından poli(-3-hidroksi alkanoat) (PHA-Sy) sentezi. 10
2.3	PHN-g-P MMA polimerinin sentez reaksiyon mekanizması..... 12
2.4	PHB-diol elde etmek için tek adımda transesterifikasyon (a) ve (b) PHB-diol son hali (i), bisaminopropil uçlu PEG ile transamidasyon (ii), çözelti içinde metakriloil oksitilen glikol ile PHB transesterifikasyon reaksiyonları (iii) 13
2.5	Metakriloil uçlu vPEG-b-PHB blok kopolimer sentez reaksiyon şeması..... 14
2.6	PHOU ile asılı hidroksil grupları (PHOU-OH) 14
2.7	Poly(3-hidroksi undekanoat) (PHU)'nun aktif gruplarından yola çıkılarak hidroksillenmesi..... 15
2.8	PHU-Br'un elde edilmiş reaksiyonu 15
2.9	PHO-Cl, PHB-Cl ve PHA-Sy-Cl elde edilmiş reaksiyonları 16
2.10	PHU-COOH sentez reaksiyonu 17
2.11	PHOU ile asılı karboksil grupları (PHOU-COOH) 17
2.12	Dietanol amin varlığında PHOU (PHON) hidroksillemek için epoksitlenmiş-PHOU (PHOE) dönüşüm reaksiyonu..... 18
4.1	PHU / PHU-Sy-g-PNIPAM ısıya duyarlı graft kopolimerlerinin sentezi. 26
4.2	PHU türevlerinin ¹ H NMR spektrumları: (a) PHU-Br, (b) PHU ksantat türevi (PHU-Xa), ve (c) PHU-g-PNIPAM (d) PHU-Sy-Br, (e) PHU-Sy-Xa, ve (f) PHU-Sy-g-PNIPAM..... 27
4.3	Elde edilen graft kopolimerlerin GPC kromatogramları: (a) PHU-Sy-g-PNIPAM-1, (b) PHU-Sy-g-PNIPAM-2, (c) PHU-Sy-g-PNIPAM-3, (d) PHU-Sy-g-PNIPAM-4; (e) PHU-g-PNIPAM-2, (f) PHU-g-PNIPAM-4, (g) PHU-g-PNIPAM-1, (h) PHU-g-PNIPAM-5, (i) PHU-g-PNIPAM-3. 30

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
4.4 Elde edilen graft kopolimerlerin DSC termogramları: (a) PHU-Sy-g-PNIPAM-1, (b) PHU-Sy-g-PNIPAM-2, (c) PHU-Sy-g-PNIPAM-4, (d) PHU-Sy-g-PNIPAM-3; (e) PHU-g-PNIPAM-5, (f) PHU-g-PNIPAM-2, (g) PHU-g-PNIPAM-3, (h) PHU-g-PNIPAM-4, (i) PHU-g-PNIPAM-1.....	31
4.5 Bazı graft kopolimerlerin TGA eğrileri: (a) PHU-g-PNIPAM-2, (b) PHU-Sy-g-PNIPAM-2.....	32
A.1 Bromlanmış PHU'ın (PHU-Br) ¹ H NMR spektrumu.....	41
A.2 RAFT başlatıcı PHU-Xa ¹ H NMR spektrumu.....	41
A.3 PHU-g-PNIPAM-1 graft kopolimerinin ¹ H NMR spektrumu.....	42
A.4 PHU-g-PNIPAM-2 graft kopolimerinin ¹ H NMR spektrumu.....	42
A.5 PHU-g-PNIPAM-3 graft kopolimerinin ¹ H NMR spektrumu.....	43
A.6 PHU-g-PNIPAM-4 graft kopolimerinin ¹ H NMR spektrumu.....	43
A.7 PHU-g-PNIPAM-5 graft kopolimerinin ¹ H NMR spektrumu.....	44
A.8 Bromlanmış PHU-Sy'ın (PHU-Sy-Br) ¹ H NMR spektrumu.....	44
A.9 RAFT başlatıcı PHU-Sy-Xa ¹ H NMR spektrumu.....	45
A.10 PHU-Sy-g-PNIPAM-1 graft kopolimerinin ¹ H NMR spektrumu.....	45
A.11 PHU-Sy-g-PNIPAM-2 graft kopolimerinin ¹ H NMR spektrumu.....	46
A.12 PHU-Sy-g-PNIPAM-3 graft kopolimerinin ¹ H NMR spektrumu.....	46
A.13 PHU-Sy-g-PNIPAM-4 graft kopolimerinin ¹ H NMR spektrumu.....	47
B.1 PHU-g-PNIPAM-1 graft kopolimerinin GPC kromatogramı.....	51
B.2 PHU-g-PNIPAM-2 graft kopolimerinin GPC kromatogramı.....	51
B.3 PHU-g-PNIPAM-3 graft kopolimerinin GPC kromatogramı.....	51
B.4 PHU-g-PNIPAM-4 graft kopolimerinin GPC kromatogramı.....	52
B.5 PHU-g-PNIPAM-5 graft kopolimerinin GPC kromatogramı.....	52
B.6 PHU-Sy-g-PNIPAM-1 graft kopolimerinin GPC kromatogramı.....	52
B.7 PHU-Sy-g-PNIPAM-2 graft kopolimerinin GPC kromatogramı.....	53
B.8 PHU-Sy-g-PNIPAM-3 graft kopolimerinin GPC kromatogramı.....	53
B.9 PHU-Sy-g-PNIPAM-4 graft kopolimerinin GPC kromatogramı.....	53

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
C.1 PHU-g-PNIPAM-1 graft kopolimerinin TGA eğrisi.(%Kayıp= 99.251%).....	57
C.2 PHU-g-PNIPAM-2 graft kopolimerinin TGA eğrisi.(%Kayıp= 96.042%).....	57
C.3 PHU-g-PNIPAM-3 graft kopolimerinin TGA eğrisi.(%Kayıp= 99.707%).....	58
C.4 PHU-g-PNIPAM-4 graft kopolimerinin TGA eğrisi.(%Kayıp= 99.216%).....	58
C.5 PHU-g-PNIPAM-5 graft kopolimerinin TGA eğrisi.(%Kayıp= 99.534%).....	59
C.6 PHU-Sy-g-PNIPAM-1 graft kopolimerinin TGA eğrisi.(%Kayıp= 99.465%)	59
C.7 PHU-Sy-g-PNIPAM-2 graft kopolimerinin TGA eğrisi.(%Kayıp= 95.612%)	60
C.8 PHU-Sy-g-PNIPAM-3 graft kopolimerinin TGA eğrisi.(%Kayıp= 98.058%)	60
D.1 PHU-g-PNIPAM-1 graft kopolimerinin DSC termogramı.....	63
D.2 PHU-g-PNIPAM-2 graft kopolimerinin DSC termogramı.....	63
D.3 PHU-g-PNIPAM-3 graft kopolimerinin DSC termogramı.....	64
D.4 PHU-g-PNIPAM-4 graft kopolimerinin DSC termogramı.....	64
D.5 PHU-g-PNIPAM-5 graft kopolimerinin DSC termogramı.....	65
D.6 PHU-Sy-g-PNIPAM-1 graft kopolimerinin DSC termogramı.....	65
D.7 PHU-Sy-g-PNIPAM-2 graft kopolimerinin DSC termogramı.....	66
D.8 PHU-Sy-g-PNIPAM-3 graft kopolimerinin DSC termogramı.....	66
D.9 PHU-Sy-g-PNIPAM-4 graft kopolimerinin DSC termogramı.....	67

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 <i>Pseudomonas oleovorans</i> ve <i>Alcaligenes eutrophus</i> bakterileri tarafından üretilen PHA çeşitleri.	5
1.2 Bakteriyel polyesterlerin sınıflandırılması	6
4.1 PHU ve PHU-Sy'nin bromlanması.	25
4.2 PHU-Makro RAFT ajanlarının sentezi.	27
4.3 PHU-g-PNIPAM ve PHU-Sy-g-PNIPAM graft kopolimerlerinin elde edilişi.	29
4.4 Graft kopolimerlerin GPC ve termal analiz sonuçları.....	29

EK AÇIKLAMALAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Ek A NMR Spektrumları.....	39
Ek B GPC Kromatogramları	49
Ek C TGA Eğrileri	55
Ek D DSC Termogramları.....	61

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- DSC : Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
FT-IR : Flourier Transformlu Infrared Spektrofotometre
g : Gram
GPC : Jel Geçirgenlik Kromatografisi
mL : Mililitre
 M_n : Sayıca Ortalama Molekül Ağırlığı
 M_w : Ağırlıkça Ortalama Molekül Ağırlığı
NMR : Nükleer Manyetik Rezonans
°C : Santigrat derece
PDI : Polidispersite İndeksi (M_n/M_w)
PHA : Poli(3-hidroksialkanoat)
PHOU : Poli(3-hidroksi oktanoat-ko-3-hidroksi undesinoat)
PHU : Poli (3-hidroksi undekanoikasit)
RAFT : Tersinir Katımlı Ayrışmalı Zincir Transfer Polimerizasyonu
Sy : Soya yağı
TGA : Termogravimetrik Analiz
UV : Ultraviyole Spektrofotometresi
Xa : Potasyum Etil Ksentat

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Poli (3-hidroksi alkanoat)lar, hidrofobik biyolojik poliesterlerdir ve diğer mikroorganizmalar için enerji rezervi malzemeler olarak hücre içinde birikir. Bu *Ralstonia eutropha* ve *pseudomonas oleovorans* gibi çeşitli mikroorganizmalar organik maddeleri kullanarak PHA'ları üretmektedir. Yinelenen birimlerin yan zinciri, kısa zincirli, orta zincir uzunluğunda ve uzun zincir uzunluğuna bağlı olarak, PHA'lar bakteriler tarafından üretilir. Son zamanlarda PHA'ların sentezi, karakterizasyonu, kimyasal reaksiyonlar ve türleriyle ilgili yayınlanmış makaleler vardır.

Sentetik organik kimya kullanarak PHA'ların mekanik ve hidrofilik özelliklerini ayarlamak için hala büyük mücadele vardır. Geliştirilmiş mekanik özellikleri için, doymamış PHA çift bağları serbest radikal mekanizmaları ile homo-kopolimer elde edilebilir. Doymamış yan zincirlerden hidrofilik poli-3-hidroksi alkanoik asit hazırlamak için, karboksilik asit ve alkol ile oksitlendirilebilir. Thiol-ene reaksiyonu blok / graft kopolimerleri elde etmek için doymamış polimerlerin fonksiyonizasyonunu gerçekleştirmek için etkili bir yoldur. Le Fer ve ark. thiol-ene/click reaksiyonları ile PHA-g-PEG amfifilik kopolimerler hazırlamıştır. Sparks and Scholz son derece hidrofilik bakteriyel polyester elde etmek için epoksitlenmiş poli (3-hidroksi oktanoat-ko-3-hidroksi undekanoat), PHOU ve dietanol amin arasında reaksiyon gerçekleştirmiştir. Bu polimerlerin halojenasyonu ileri fonksiyonlandırma reaksiyonları için çok yararlı bir araçtır. PHA'ların klorür ve bromür türevleri detaylı olarak araştırma grubumuz tarafından rapor edilmiştir.

Poli (N-izopropilakrilamid), daha düşük sıcaklıkta olan su içinde çözünür, fakat 32 °C'de daha yüksek sıcaklıklarda çökelir. Uyarı-duyarlı polimerlerin kontrollü ilaç salınımı alanındaki umut verici potansiyeli nedeniyle ilgi katlanarak arttı. PNIPAM ile LCST arasındaki modifikasyon büyük ilgi taşımaktadır.

Bu çalışmada, doymamış orta zincir uzunluğuna sahip (MCL)-kopolimerleri PHU ve PHU-soya oda sıcaklığında çift bağlarına brom ilave reaksiyonu ile bromlama yapılmıştır. Potasyum etil ksantat ile bromürlerin değişim reaksiyonu vinil monomerlerin RAFT polimerleşme için yararlı olan asılı ksantat grubu ile yeni PHA türevleri vermiştir. Böylece yeni ısı duyarlı PHU-konjugatları spektroskopik ve fizikokimyasal yöntemler ile karakterize edilebilmiştir (Toraman and Hazer 2014).

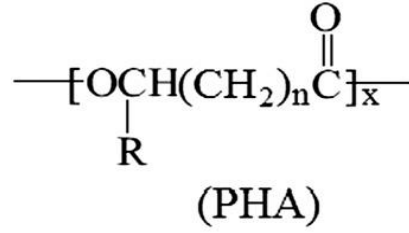
1.1 BAKTERİYEL POLİESTERLER VE ÇEŞİTLERİ

Günlük hayatımızın bir parçası olan plastik ürünler, kanıtlanmış pek çok dezavantajlarına rağmen; kolay şekil alma, elastikiyet, nakliyede rahatlık ve ucuzluk gibi nedenlerden dolayı tercih edilen malzemeler olmuşlardır. Ancak, plastiğin kullanılıp atılabileme özelliği çevre kirliliği açısından en büyük sorunlardan biri haline gelmiştir (Page 1992).

Petrolde elde edilen sentetik polimerler, plastik atık olarak doğaya terkedildiklerinde, toprakta uzun süre parçalanamadığından toksik madde birikimine neden olmaktadır. Bu nedenle poli(3-hidroksi alkanolat)lar biyobozunur ve biyolojik uyumlu biyomalzemeler olarak çok çekici olmuştur (Page 1992).

1970'li yıllardaki petrol krizinden sonra petrol fiyatlarının artmasına bağlı olarak, petrol kökenli polimerlere alternatifler aranmış ve 1976 yılında İngiltere'deki Imperial Kimya Endüstrisi (ICI), bakteriyel fermantasyonla üretilen PHA'larla ilgili araştırmalara başlamıştır (Breunegg et al. 1998, Wu et al. 2001). 1990'lı yıllarda ise Japonya'da Doi, Kanada'da Marchessault, Amerika'da Lenz ve Fuller, Hollanda'da Witholt bu çalışma alanında başlıca araştırma merkezlerinin grup liderleri olarak öne çıkmışlardır. Bakterilerin ürettikleri polimerlerin kullanılan karbon kaynaklarına göre değişimlerini ve yapılarının aydınlatılmasında üst düzeyde çalışmalarda bulunmuşlardır.

PHA'ların avantajlı özelliklerinden yararlanabilmek için *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* ve *Bacillus* cinsi gibi bakteri gruplarında araştırmalar yapılmıştır (Rosovitz et al. 1998). Çalışmalarda, bu cinslere ait bakteri hücrelerinin, diğer metabolik ürünlerin yanısıra PHA'lar gibi metabolik materyaller de depoladıkları bildirilmiştir (Anderson et al. 1990, Wu et al. 2001).



x = 100 - 30000

PHA

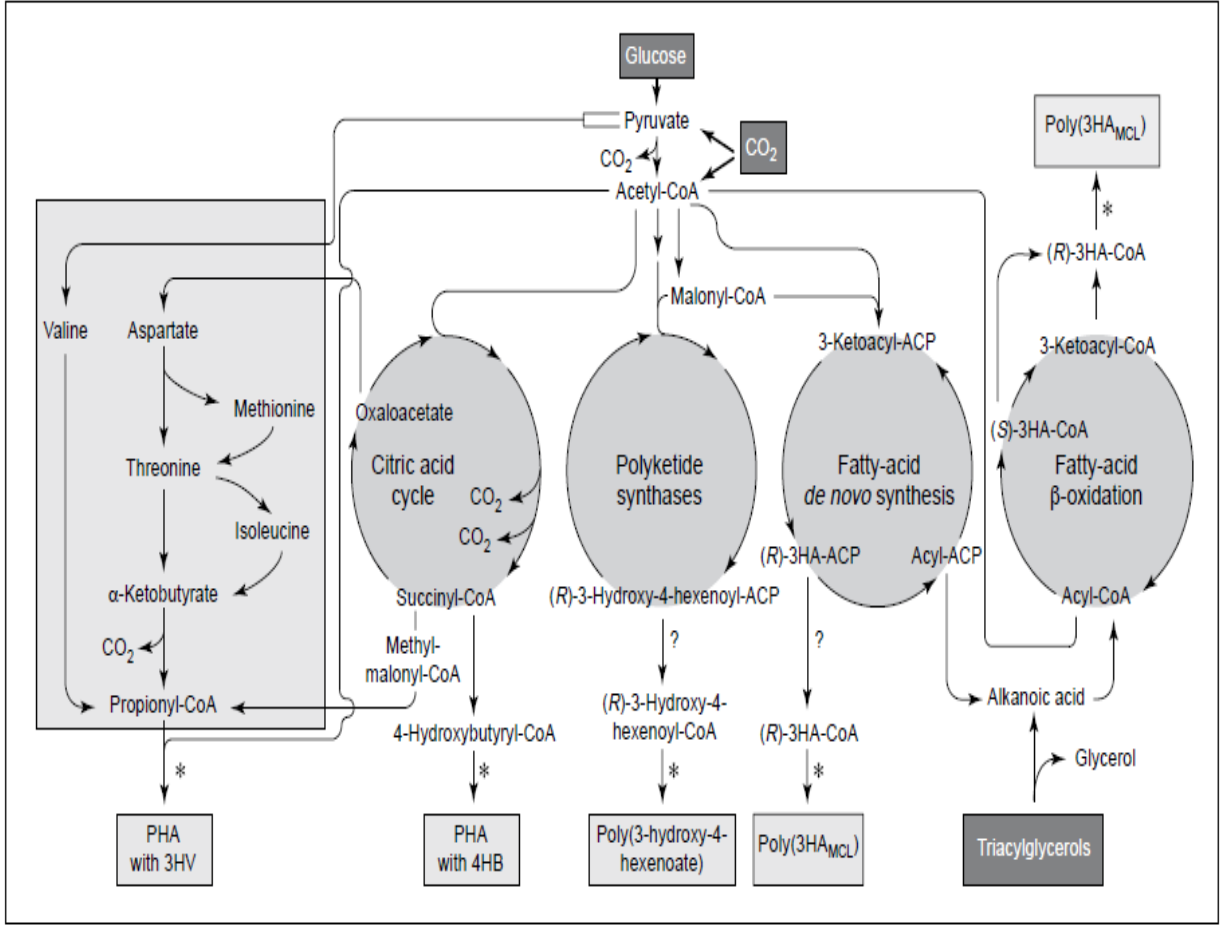
n = 1	R = H	Poly(3-hydroxypropionate)	(P3HP)
	R = methyl	Poly(3-hydroxybutyrate)	(P3HB)
	R = ethyl	Poly(3-hydroxyvalerate)	(P3HV)
	R = propyl	Poly(3-hydroxyhexanoate)	(P3HHx)
	R = pentyl	Poly(3-hydroxyoctanoate)	(P3HO)
	R = nonyl	Poly(3-hydroxydodecanoate)	(P3HDD)
n = 2	R = H	Poly(4-hydroxybutyrate)	(P4HB)
n = 3	R = H	Poly(5-hydroxyvalerate)	(P5HV)

Şekil 1.1 Bakterilerin cinsine göre sentezlenen PHA' ların genel molekül yapıları (Hazer et al. 2012).

1.1.1 Poli(-3-Hidroksialkanoat)ların Yapısı ve Özellikleri

Bakteriyel plastik veya biyoplastik de denilen ve petrokimyasal plastiklerin neden olduğu çevresel kirliliğe alternatif olarak ortaya çıkan PHA'lar, geleneksel plastik potansiyeline sahip, mikrobiyal olarak üretilen polimerlerdir. PHA'ların bakterilerde, insandaki yağ veya bitkilerdeki nişasta gibi rol oynadığı bildirilmektedir (Loosdrecht et al. 1997).

PHA'lar, birçok mikroorganizma tarafından oksijen, azot, fosfor, sülfür ya da magnezyum gibi gerekli besinlerin en azından birinin eksikliğinde ve karbon kaynağı fazlalığında enerji korunum malzemesi olarak sentezlenip, sitoplazmada biriktirilen, optikçe aktif doğal alifatik poliestерlerdir (Dawes and Senior 1973, Brandl et al. 1990).



Şekil 1.2 Doğal yollarla PHA biyosentez şeması (Steinbüchel and Fuchtenbusch 1998).

Alcaligenes eutrophus ve *Pseudomonas oleovorans* beslenmesinde kullanılan tüm yüzeyler, bildiğimiz gibi gözden geçirildi ve biraz daha yeni alt-tabakalar ya da bunların karışımları mikroorganizmalar PHA üretiminde kullanılmaktadır (Doi 1990, Hazer et al. 2001). Hücre içi depo granülü şeklinde sentezleyen ve biriktiren PHA'ları üretebilen bilinen mikroorganizmaların biri, *Pseudomonas oleovorans* yoğun bir şekilde araştırılmıştır ve sonuçlar bildirilmiştir (Eroğlu et al. 2004). *Pseudomonas oleovorans* ve *Alcaligenes eutrophus* bakterileri tarafından üretilen PHA'lar Çizelge 1.1'de gösterilmiştir.

$\text{(PHA)} \quad \text{O}$ $\left[\text{OCHCH}_2\text{C} \right]_x$ $\quad \quad \quad \parallel$ $\quad \quad \quad \text{R}$				
	R	PHA		Carbon Source
Short chain length PHAs	methyl	PHB	A. eutrophus	Sugar, glucose, acetic acid
	ethyl	PHV		
Medium chain length PHAs	propyl	PHH _x	P. oleovorans	Alcanoic acids (HxA, HpA, NA, OctA, UndA)
	butyl	PHHp		
	pentyl	PHO		
	hexyl	PHN		
	heptyl	PHD		
Long chain length PHAs		Greater than 14 C		Fatty acids

Çizelge 1.1 *Pseudomonas oleovorans* ve *Alcaligenes eutrophus* bakterileri tarafından üretilen PHA çeşitleri.

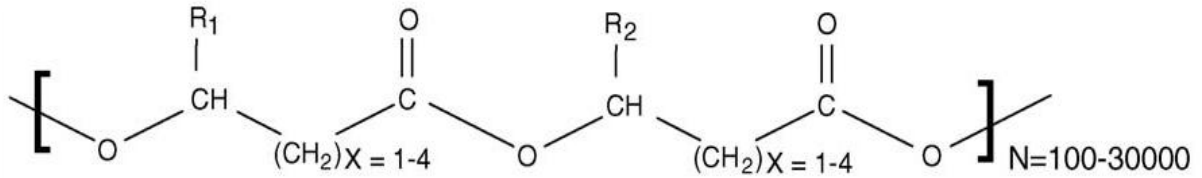
PHA'ları değişik kriterlere göre de sınıflandırmak mümkündür. 150'den fazla bileşiğin oluşturduğu monomerler olmasına rağmen, genellikle PHA'lar zincirlerindeki karbon atomlarının sayısına bağlı olarak; 3-5 karbonlu kısa zincirli PHA'lar (kısa-zincirli-PHA; short chain length-PHA, scl-PHA), 6-14 karbonlu orta zincir uzunluğundaki PHA'lar (ortauzunlukta-zincirli-PHA; medium chain length-PHA, mcl-PHA) ve 14 karbon atomundan fazla karbon atomu içeren uzun-zincirli PHA'lar olmak üzere 3 gruba ayrılabilir (Hazer and Steinbüchel 2007, Hazer 2010). Bu farklılık, belirli sayıda karbon atomu içeren 3-hidroksialkanoatları tanıyan PHA sentezinin substrat özelliğinden kaynaklanmaktadır. Farklı tip PHA'lar değişik bakteriler kullanılarak elde edilir. Mesela, *Alcaligenes eutrophus* bakterisi poli-3-hidroksibitürat gibi kısa zincirli PHA (sclPHA) üretirken, *Pseudomonas oleovorans* bakterisi ise orta uzunlukta zincirli PHA'lar üretir (Steinbüchel and Valentin 1995, Hoa et al. 2007, Ruth et al. 2008). Bakteriyel polyesterlerin bu tür özellikleri Çizelge 1.2 'de özetlenmiştir.

$\left[-O-\underset{\substack{ \\ R \text{ (PHA)}}}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}- \right]$						
Carbon source	Poly(3-hydroxy alkananoate) (PHA)			Thermal and mechanical properties		
	Type	Side chain (R)	Name*	T_g (°C)	T_m (°C)	Elongation (%)
Sugar, glucose, acetic acid	Short chain length	Methyl,	PHB	15	170	5
		ethyl	PHV			
Alkanoic acids, alkanes, and alkanols	Medium chain length	propyl,	PHHx	-40	60	800
		butyl,	PHHp			
		pentyl,	PHO			
		hexyl,	PHN			
		heptyl	PHD			
Plant oily acids	Long chain length	More than 14 carbon per repeating unit		-50	40	Soft, sticky

*B: butyrate, V: valerate, Hx: hexanoate, Hp: heptanoate, O: octanoate, N: nonanoate, D: decanoate, T_g and T_m are glass transition and melting temperatures, respectively.

Çizelge 1.2 Bakteriyel polyeesterlerin sınıflandırılması (Hazer 2010).

PHA'lar termoplastik ya da elastomerik polieesterler (polioksoeesterler) hücre içi karbon ve enerji depolama bileşikleri olarak (Şekil 1.3) Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterileri tarafından geniş bir yelpazede sentezlenen R-hidroksialkanoik asit (HA) monomerler arasında bulunmaktadır (Anderson and Dawes 1990, Lee 1996). Çoğu durumda, bu tür karbon kaynakları ile birlikte, azot, fosfor ve oksijen gibi fazlaları sınırlandırılarak stresli koşullar altında üretilerek biriktirilir (Dawes 1990, Shang 2003).



Şekil 1.3 Polihidroksialkanoatların genel yapısı; R1 ve R2, alkil grupları, (C₁-C₁₃) 'dir (Keshavarz and Roy 2010).

Bakteri hücrelerinden polieesterin ayrılması için iki yol izlenebilir. İlk olarak çözücü (CHCl₃, CH₂Cl₂ veya C₂H₄Cl₂) ekstraksiyonu ile polieester hücreden ayrılır; diğer bir yöntem ise hücre dışının NaOCl veya enzim ile parçalanarak polieester açığa çıkartılır (Doi 1990).

1.1.2 Poli(-3-hidroksialkanoat)ların Kullanım Alanları

PHA'lar, kolay şekil alma ve parçalanabilme özellikleri nedeniyle daha çok paketleme malzemesi olarak kullanılmaktadır (Holmes 1985, Weber 2000). Ancak, biyoyum yeteneklerinin de olması, implantasyon maddesi olarak kullanımını da her geçen gün arttırmaktadır (Lootz 2001).

Özellikle PHA'lar ve kopolimer poli- β -hidroksibütirat-ko-polihidroksivalerat P(HB-HV), gıda ve kozmetik alanındaki paketleme maddeleri, tarım, kişisel temizlik araçları ve biyomedikal ürünler gibi alanlarda çok geniş potansiyel uygulamalara açıktır. Hidroksiasit uzun yan zincirli PHA'lar basınca duyarlı yapışkanlar olarak kullanılmaktadır. PHA, lateks gibi kağıt örtüler, günlük krem öncülleri üretimi ve gıdalardaki unun dağılımını sağlayan ajanların yapımını sağlayabilirler (Madison and Huisman 1999, Weber 2000, Lootz 2001).

Biyoyumlu olan PHA monomerleri insan vücudunda bulunan doğal metabolit olması nedeniyle, polimer vücutta sadece çok hafif bir immünolojik cevap oluşmasına neden olur. Bu özelliğinden dolayı PHA insanlarda ilaçların kontrollü salınımı için test edilmiştir. Böyle çalışmalarda ilaç, PHA den yapılmış bir hap içine sıkıştırılmış ve ağız yoluyla hastalara verilmiştir (Holmes 1985).

PHA'ların vücut içinde biyolojik parçalanması yavaştır. İnsan vücudu PHA parçalayıcı enzim içermez. Bu özelliğinden dolayı da PHA cerrahi dikişler, protezler ve iğneler gibi cerrahi malzemelerin yapımında kullanılmıştır (Holmes 1985).

Biyobozunur plastiklerin paketleme, gıda, tıp, eczacılık ve tarımdaki kullanım alanları aşağıda sıralanmıştır:

- Paket filmleri, poşetler, torbalar, gıda muhafazasında kullanılmak üzere tepsiler ve çeşitli kaplar,
- Şampuan ve meşrubat şişeleri, karton süt kutularının iç yüzey kaplamaları,
- İlaç, tablet, insektisit, herbisit ve gübrenin uzun sürede, belli hızda saliverilmesi için biyoparçalanır taşıyıcılar,
- Bir kereye mahsus kullanılan traş bıçağı, çatal, bıçak, tabak gibi mutfak kapları ve bebek bezleri,

- Cerrahi pens, ameliyat ipliđi, eldiven, önlük ve maske,
- Kemik deđiştirilmesi ve cerrahi plakalar,
- Pansuman sargısı,
- Kan damarı değiştirilmesi,
- Bitki sulama boruları, bitki yapraklarının kaplanması,
- Pi (izoelektrik nokta) özelliklerinden yararlanılarak kemik büyütülmesi ve tedavisi,
- Kiral bileşenler üretimi için başlatıcı materyaller,
- Taze balık, peynir, et ve et ürünleri, kurutulmuş ürünler, orta nemli gıdalar, yağlı tohumlar, kurutulmuş pastacılık ürünleri, cipsler, şekerlemeler gibi gıdalarda nem ve oksijene karşı koruma veya parlaklık sağlama, aroma kaybını önleme amacıyla kullanım (Lee 1996).

BÖLÜM 2

POLİ(-3-HİDROKSİ ALKANOAT)LARIN MODİFİKASYONLARI

2.1 BİYOSENTETİK MODİFİKASYONLAR

Yan zincir üzerinde fenil türevleri, dallanmış metil türevleri ve doymamış PHA'lar olan poliestерler (biyosentetik) yüksek verime sahip malzemeler üretmiştir. Fenil ve metil grupları içeren poliestер verimleri daha yüksek iken klor, hidroksil, siyanür ve brom türevleri içeren poliestерler verimleri daha düşük malzemeler üretmişlerdir.

2.1.1 Doymamış Mikrobiyal Poliestерler (PHA'lar)

Doymamış yan zincirler ihtiva eden mikrobiyal poliestерler (PHA'lar) kimyasal modifikasyon reaksiyonlarıyla PHA türevlerinin hazırlanması için iyi bir avantajdır. Örneğin, *Pseudomonas oleovorans* substrat olarak kullanıldığında doymamış 10-undekanoik asit ile doymuş 7-oktanoik asitten doymamış poli(-3-hidroksi-oktanoat-ko-10-undekanoat)(PHOU) elde edilebilir.(Şekil 2.1) Aynı şekilde *Pseudomonas oleovorans* bakterisi substrat olarak kullanıldığında doymamış zincirler içeren soya yağı, doymuş PHA'lar ile reaksiyona girerek doymamış soya yağından poli(-3-hidroksi alkanoat) elde edilebilir (Şekil 2.2) (Hazer 2010).

2.2 KİMYASAL MODİFİKASYONLAR

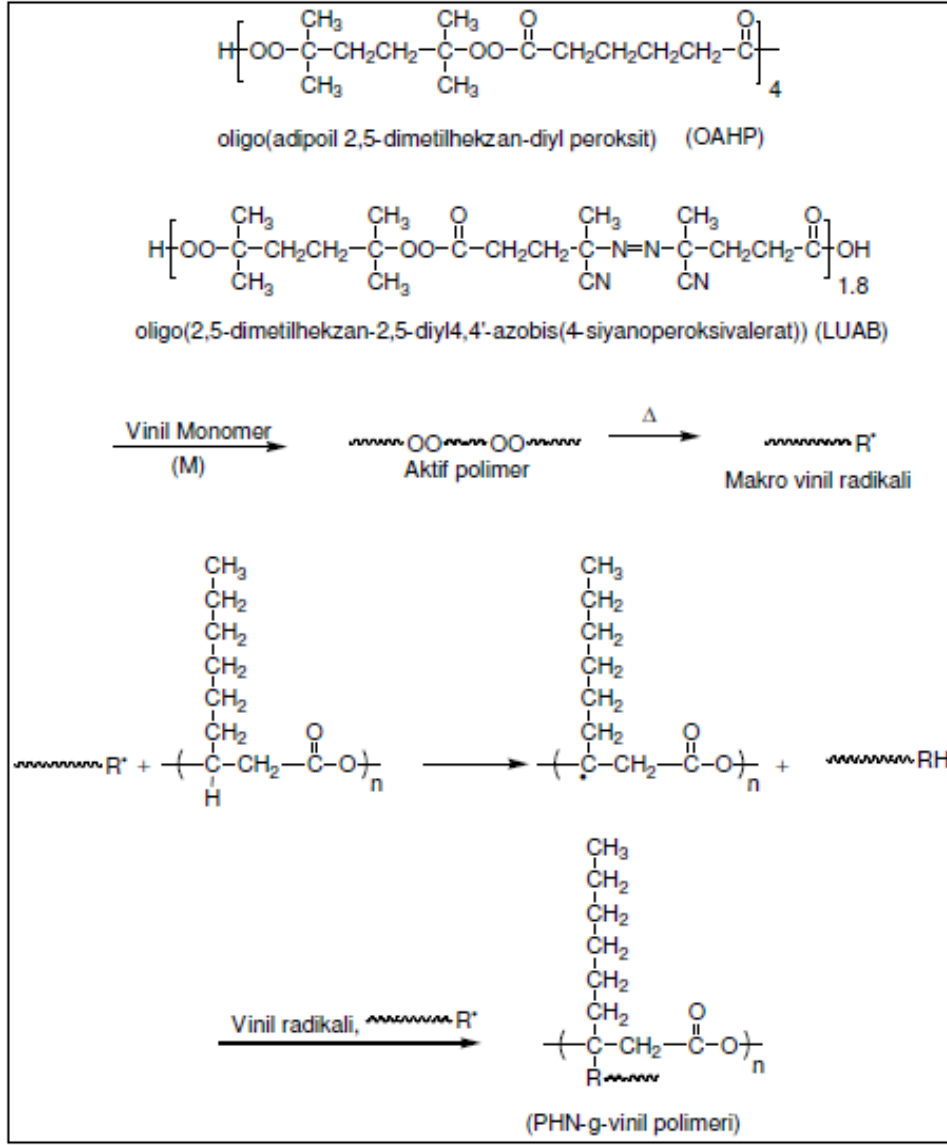
PHA'lara daha ileri modifikasyonlar uygulamak gereklidir. Çünkü PHA çeşitlerinin her biri farklı özelliklere sahiptir. Bazılarının mekanik ve termal özelliklerini geliştirmek gerekirken, bazılarında da hidrofilik özellik kazandırmak gerekir. Örneğin; PHB orta zincir uzunluğunda ve kırılkan (%7 uzama gösterir) bir yapıya sahip olduğundan mekanik özelliğini geliştirmek gereklidir. PHO ise kısa zincir uzunluğunda ve esnektir, fakat erime sıcaklığı 61°C olduğundan termal özelliğini değiştirmek gerekir. Neredeyse tüm PHA'lar hidrofobik bir yapıya sahip olduğundan farklı alanlarda kullanılabilmesi amacıyla hidrofilik özellik kazandırılması gerekir (Arkin and Hazer 2002).

2.3 GRAFT REAKSİYONLARI

PHA'ların kimyasal modifikasyonlarının işlevselleştirilmesi için graft reaksiyonları uygulanması gereklidir. Polimerin çift bağ içeren kuyruk kısımlarına radikal gruplar katılarak gerçekleştirilir.

Blok kopolimer sentezinde aktif polimerler başarılı bir şekilde vinil polimerizasyonun da polimer başlatıcıları olarak peroksi ve azo grupları içeren bazı başlatıcılar başarı ile kullanılmıştır. Bu başlatıcıların kullanılma nedeni, serbest radikallere bozunma yeteneklerinin yüksek olmasıdır. Yüksek peroksijenle aktif polimer içerdiğinde, azoperoksi başlatıcıların oligoperoksit başlatıcılardan daha kararlıdır. Graft kopolimer, makro vinil radikalleri ve PHN radikallerinin birleşmesi ile oluşturulur (Hazer et al. 1999).

Tipik graft polimerizasyonu için aktif pyrex tüpüne konulan stiren veya Metil metakrilat (MMA) ve oligo azo ya da oligoperoksit ayrı ayrı ilave edilerek argon gazı geçirildikten sonra 60–70°C taki yağ banyosunda bekletildi. Polimerleşme için gerekli zamandan sonra tüpün içeriği metanolde çöktürüldü. Aktif polimer numunesi 40°C karanlık ortamda kurutuldu. Poli(-3-hidroksinononoat) PHN ve MMA kloroform içinde çözülüp saat camında buharlaştırılıp film haline getirilip 30°C de vakum altında kurutuldu. Pyrex tüpüne film konulup N₂ gazı ortamında 85°C de 200 dakika ısıtılıp PHN-g-PMMA polimerleşmesi tamamlandı. Kopolimer içinde bulunacak homopolimerler fraksiyonlu çöktürme yöntemiyle izole edildi (Şekil 2.3) (Hazer et al. 1996).

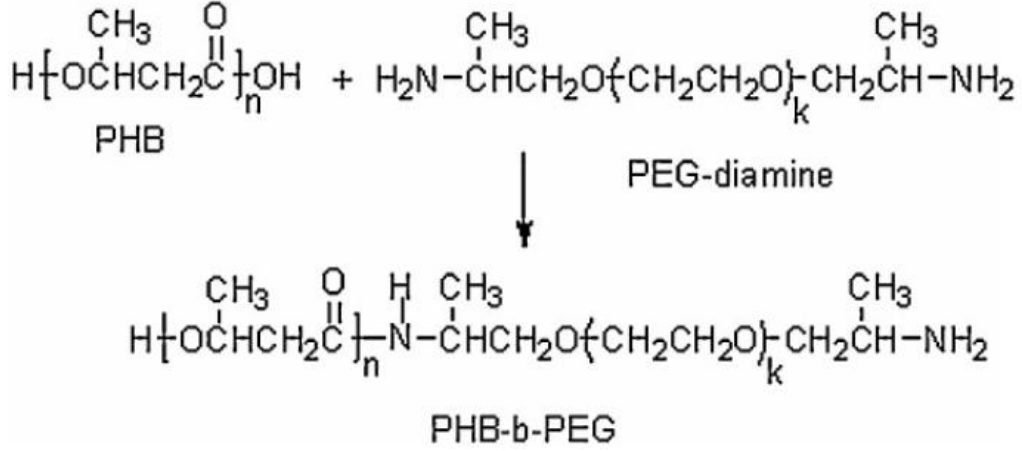


Şekil 2.3 PHN-g-P MMA polimerinin sentez reaksiyon mekanizması (Hazer et al. 1996).

Graft kopolimerizasyonunun amacı:

- Soya yağından elde edilen yumuşak poliesterin mekanik dayanıklılığını arttırmak,
- Erime sıcaklığını daha yukarı çekebilmek,
- Sentetik polimer olan polistirene biyobozunur özellik kazandırmak(çapraz bağlanma gerçekleşir),
- Ayrıca bakteriyel poliesterden daha yüksek sıcaklıklara dayanabilen polimerler elde etmek amacıyla gerçekleştirilir.

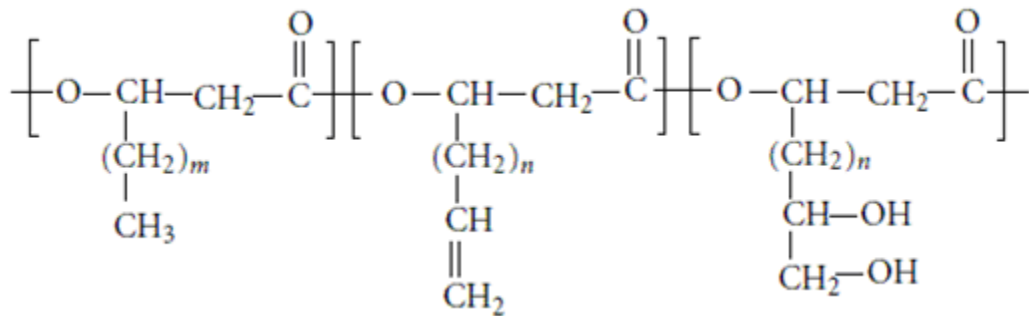
2002). Şekil 2.5 tek adımlı blok kopolimer reaksiyon şemasını göstermektedir. Bu yolla, PHB ve PEG'nin eşdeğerliği ayarlanarak AB ve ABA tipi blok kopolimeri sentezlenir (Hazer 2010).



Şekil 2.5 Metakriloil uçlu vPEG-b-PHB blok kopolimer sentez reaksiyon şeması (Erduranlı et al. 2008).

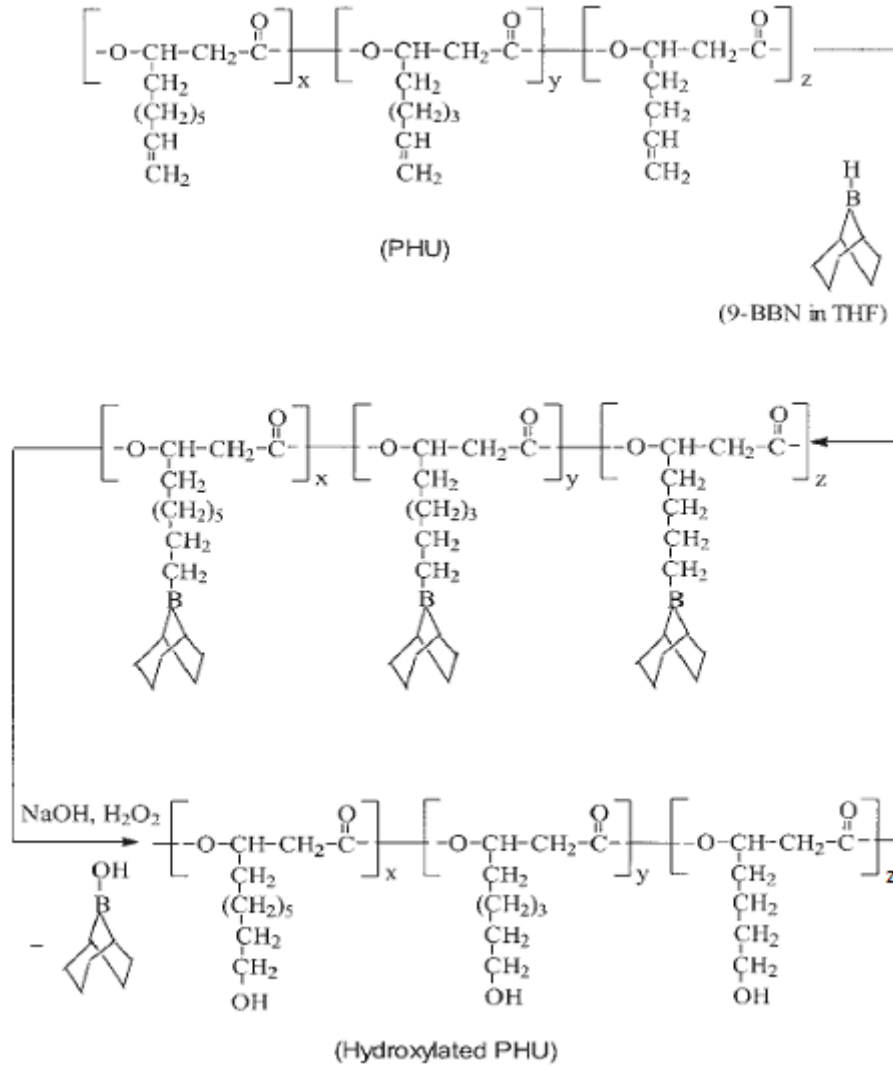
Metakriloil uçlu vPEG-b-PHB tek adımda gerçekleşen sentez reaksiyon şeması Şekil 2.5 de gösterilmiştir. Metakriloil uçlu vPEG-b-PHB blok kopolimerinin karakterizasyonunda ¹H NMR spektrumunda vinil gruplarının kimyasal kaymalarını 5.5 ile 6.1 ppm'de gözlenir. Bu da ortaya çıkan ürünün kimyasal yapısını kanıtlar.

PHOU'nun asılı çift bağ gruplarına diol ile oksitleyici bir madde olan KMnO₄ kullanılıp metanolde çöktürülür. PHOU-diol (PHOU-OH) Şekil 2.6'da gösterilmiştir.



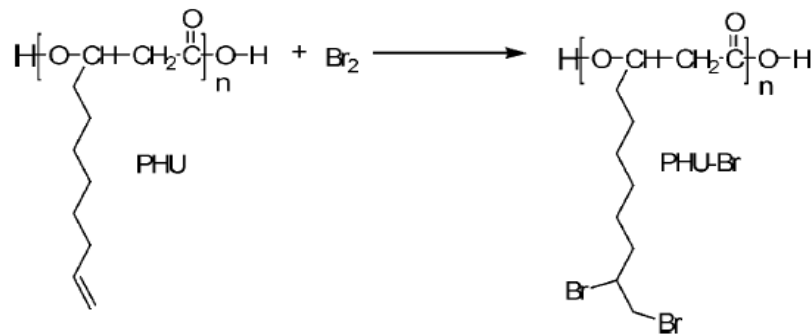
Şekil 2.6 PHOU ile asılı hidroksil grupları (PHOU-OH). (Erduranlı et al. 1998)

Doymamış yan zincir içeren poli(-3-hidroksi undekanoat) bor esaslı hidroksilleme ajanıyla hidroksile çevrilmiştir. Bu sayede PHU'a hidrofilik özellik kazandırılabilir (Eroğlu et al. 2010).



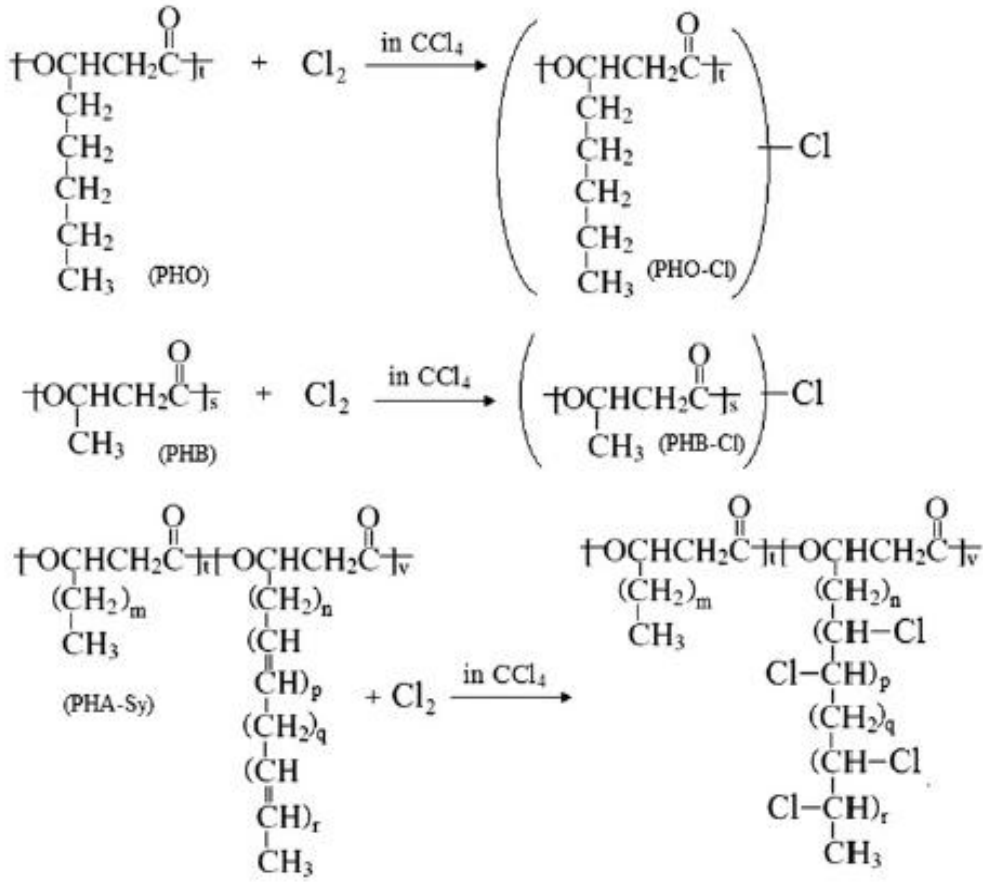
Şekil 2.7 Poly(3-hidroksi undekanoat) (PHU)'nun aktif gruplarından yola çıkılarak hidroksillenmesi (Eroğlu et al. 2010).

10-undekanoik asitin poliesteri olan PHU'nun yan gruplarında bulunan çift bağlar Br'la doyurularak türevleri elde edilir. Katılma reaksiyonu tüm çift bağların Br'la doyurulması şeklinde kantitatif olarak gerçekleştirilir (Şekil 2.8). PHU'nun Br katılma reaksiyonunu göstermektedir.



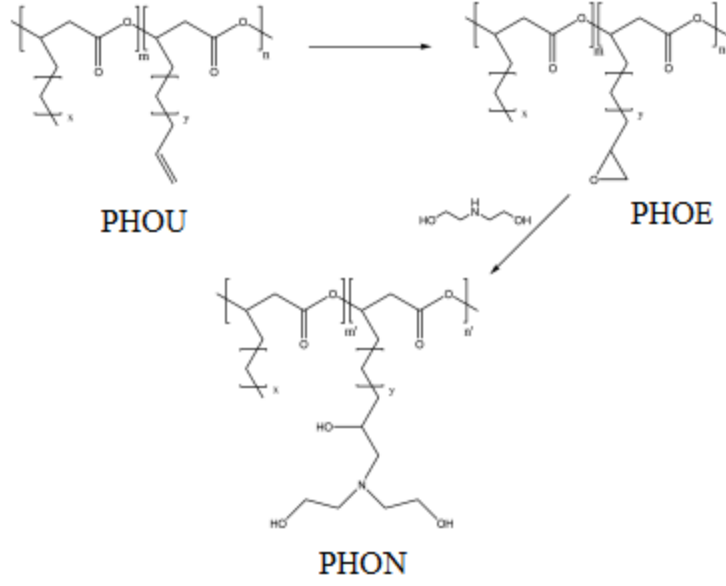
Şekil 2.8 PHU-Br'un elde ediliş reaksiyonu (Erduranlı et al. 1998).

Doymuş PHA'lerden PHO ve PHB'nin, doymamış çift bağ içeren PHA-Sy'nin klorlanmasıyla yer değiştirme ile yapılabilmektedir. Şekil 2.9'da klorlama tepkimeleri gösterilmiştir.



Şekil 2.9 PHO-Cl, PHB-Cl ve PHA-Sy-Cl elde edilmiş reaksiyonları (Hazer et al. 2012).

PHU'nun yan gruplarındaki olefinik bağları serbest radikal ortamında merkaptopropiyonik asitle doyurulur. PHU'nun toluen çözeltisi AIBN varlığında karanlık ortamda reaksiyona sokulur. PHU'nun yan gruplarında çift bağlar üzerinde oluşan radikaller merkaptopropiyonik asitin -SH grubuyla sonlanarak reaksiyon gerçekleştirilir. Böylece, organik çözücülerde çözünebilir PHU-COOH türevi elde edilir. Şekil 2.10'de PHU-COOH'ın sentez reaksiyonunu göstermektedir.



Şekil 2.12 Dietanol amin varlığında PHOU (PHON) hidroksillemek için epoksitlenmiş-PHOU (PHOE) dönüşüm reaksiyonu (Hazer 2010).

Epoksitlenmiş PHOU (PHOE) ile dietanol amin reaksiyonundan elde edilen PHON'nin yan zincirlerindeki dönüşümü çözünürlüğünün başarılı bir şekilde değişmesine sebep olmuştur. Fonksiyonelleştirilmiş yan zincirler daha polar bir hale geldikçe daha fazla polimer, polar çözücüler içerisinde çözünür hale gelmiştir. Bu şekilde PHON suda tamamen çözünebilir hale gelmiştir (Hazer 2010).

BÖLÜM 3

DENEYSEL KISIM

3.1 KULLANILAN MADDELER

Potasyum-o-etil ksentegonat: Alfa Aesar firmalardan satın alınmıştır. Firmadan alındığı gibi kullanılmıştır.

Azobisizobütironitril (AIBN): Fluka A.G' den satın alınmıştır. Firmadan alındığı gibi kullanılmıştır.

Tetrahidrofuran (C₄H₈O) (THF): Aldrich firmasından satın alınmıştır. Na üzerinden damıtılarak kullanılmıştır.

Dietileter (C₂H₅OC₂H₅): Aldrich firmasından satın alınmıştır. Firmadan alındığı gibi kullanılmıştır.

Toluen (C₆H₅CH₃): Aldrich firmasından satın alınmıştır. Na üzerinden damıtılarak kullanılmıştır.

Kalay(II)-2-etilhekzanoat ([CH₃(CH₂)₃CH(C₂H₅)CO₂]₂Sn): Sigma firmasından satın alınmıştır. Firmadan alındığı gibi kullanılmıştır.

Metanol (MeOH): Riedel de Haen firmasından satın alınmıştır. Firmadan alındığı gibi kullanılmıştır.

Sodyum metali (Na): DAYM' den satın alınmıştır. Alındığı gibi kullanılmıştır.

3.2 KULLANILAN ALETLER

Bu çalışmada sentezlenen maddeler bölümümüzde bulunan aletler kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen maddeler, Fatih Üniversitesi NMR LAB, Bülent Ecevit Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi ve bölümümüzde bulunan cihazlarla karakterize edilmiştir. Analizlerin ve sentezlerin yapıldığı bu cihazlar aşağıda belirtilmiştir.

3.2.1 Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (NMR)

Elde edilen graft kopolimerlerin ^1H NMR spektrumları Fatih Üniversitesi NMR Laboratuvarında bulunan Bruker marka, 400 MHz /54 mm Ultra Shield Plus, Ultra long hold time, cihazı ile elde edilmiştir, ölçümlerde çözücü olarak CDCl_3 kullanılmıştır. Standart olarak ise tetrametilsilan (TMS) kullanılmıştır.

3.2.2 Fourier Transform Infrared Spektrometresi (FT-IR)

Bu çalışmada Perkin Elmer Pyris 1 kullanılmıştır. Dalga boyu genişliği $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ aralığındadır.

3.2.3 Jel Geçirgenlik Kromatografisi (GPC)

Polimerlerin molekül ağırlık ölçümleri Malvern Viscotek marka Jel Geçirgenlik Kromatografi cihazı ile OmniSEC 4.7 Software versiyonu kullanılarak yapılmıştır. Sistem; OmniSEC kolon fırını ($35\text{ }^\circ\text{C}$), OmniSEC TGuard, LT4000L, T2500 kodlu üç adet ayırma kolonu ve OmniSEC 3580 refraktif indeks dedektörü ($35\text{ }^\circ\text{C}$), OmniSEC 2500 UV dedektörü olmak üzere iki adet dedektörden oluşmaktadır. Taşıyıcı sıvı olarak $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$ (THF) kullanılmış, kolon sıcaklığı $35\text{ }^\circ\text{C}$ ve akış hızı 1.0 mL/dk. olarak ayarlanmıştır.

Örnekler, kolonlara $3\text{-}5\text{ mg/mL}$ derişimde $100\text{ }\mu\text{L}$ olarak enjekte edilmiştir. Molekül ağırlıkları 1.79×10^6 , 9.25×10^5 , 1.64×10^5 , 1.2×10^5 , 6.37×10^4 , 2.91×10^4 , 5.87×10^3 , 955 g/mol olan, düşük M_w/M_n (MAD)' ye sahip 7 adet standart polistiren kullanılarak kalibrasyon eğrisi çizilmiştir.

3.2.4 Termogravimetrik Analiz (TGA)

Sentezlenen polimerlerin termal bozunmaları ve kütle kayıpları, Bülent Ecevit Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi 'nde bulunan SIIQ TG/DTA 7200 model termogravimetrik analiz cihazı ile 50- 650 °C sıcaklık aralığında, N₂ (azot) atmosferinde ve 10 °C/dk ısıtma hızında incelenmiştir.

3.2.5 Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC)

Sentezlenen polimerlerin T_g (camsı geçiş sıcaklığı) ve T_m (erime geçiş sıcaklığı)' nı gösteren termogramları, Bülent Ecevit Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi 'nde bulunan PERKIN ELMER DSC 8000 model diferansiyel taramalı kalorimetre cihazı ile -50 - 250 °C sıcaklık aralığında, N₂ (azot) atmosferinde ve 10 °C/dk ısıtma hızında alınmıştır.

3.2.6 UV-VIS Spektrofotometre

Sentezlenen heterograft kopolimerlerin, oda sıcaklığında, farklı pH 'larda ki yüzde geçirgenliklerini ölçmek için Agilent Cary 60 UV-Vis spektrofotometre kullanılmıştır.

3.2.7 Vakum Etüvü

Elde edilen polimerleri kurutabilmek amacıyla Nüve marka EV 018 model bir vakumlu etüv kullanıldı. Üzerinde sabit sıcaklık ayar sistemi ve vakummetre vardır. Basıncı 0 mmHg ya düşürmek için GAST marka (Model no: 0523-V3-G2IDX) vakum pompası kullanılmıştır.

3.2.8 Magnetik Karıştırıcı

IKA-RCT model ısıtıcılı magnetik karıştırıcılar kullanıldı Buna bağlı olarak termostat kontrol ünitesi de bulunmaktadır.

3.2.9 Dijital Hassas Terazi

Sentezler boyunca tartımlar maksimum 220 g tartım yapabilen 0,0001 g hassasiyetli Precisa marka X3220A model hassas terazi ile yapılmıştır.

3.3 DENEYLERİN YAPILIŞI

3.3.1 PHU'ların Bromlanması

Doymamış PHA'lara ait çift bağa brom ilave reaksiyonu, literatürde tarif edilen prosedüre göre gerçekleştirildi. Kısaca, PHU 3.8 g destile edilmiş 100 mL CCl₄ içinde çözülmüştür. Daha sonra bu çözeltiye 6.2 g saf brom 20 dakika da dikkatlice ilave edildi. Bu çözelti 2 saat boyunca oda sıcaklığında karanlıkta karıştırılmaya devam edildi. Bromlu PHU (PHU-Br), 200 mL metanol ile çöktürüldü ve 24 saat boyunca 40 °C'de vakum altında kurutuldu. Bromlu PHU ¹H NMR, (δ_{ppm}): 3.6, 3.8, 4.1 ppm [-CH(Br)-CH₂(Br)], çift bağlarında kaybolduğu gözlemlendi. PHU-Sy-Br: 3.5, 3.8, 4.1 ppm [-CH(Br)-CH₂(Br)], çift bağlar: 4.9, 5.7 ppm'de görülür. Çünkü PHU-Sy-Br kısmen bromlanmıştır.

3.3.2 PHU-Makro Raft Ajanı Sentezi

Anılan literatürde tarif edilen modifiye edilmiş bir prosedür PHA ile makro raft ajanı hazırlamak için kullanıldı (Toraman and Hazer 2014). Örneğin, 2.16 g PHU-Br ile 0.45 g potasyum etil ksantat THF içerisinde 72 saat boyunca 30 °C'de karıştırıldı. Heterojen karışım, sulu ağırlık itibarıyla % 2'lik bir 150 mL HCl çözeltisi içine döküldü. THF'in sulu çözelti içerisinde buharlaşarak uzaklaşması ve çökeltmenin tamamlanması için bir gün saat camında bırakıldı. Çöken ürün alındı, destile su ile yıkandı ve 48 saat boyunca 40 °C 'de vakum altında kurutuldu.

3.3.3 PHA'ların Ksantat Türevleri İle NIPAM Polimerizasyonu

Tipik bir örnek olarak, 0.5 g PHU-Xa, 1.5 g NIPAM ve 40 mg AIBN ısıya dayanıklı bir tüp içinde 8 mL toluende çözüldü. Argon gazı 1 dakika çözelti içinden geçirildi. Daha sonra, tüp, 17 saat boyunca 90 °C 'de bir yağ banyosunda tutuldu. Daha sonra çözücü buharlaştırıldı,

ürün 24 saat destile su içinde saflaştırıldı ve 24 saat boyunca 40 ° C 'de vakum altında kurutuldu.

3.3.4 Graft Kopolimerlerin Şişme Oranının Belirlenmesi

Su alımını ölçmek için, PHA-konjugatların şişme derecesi, 4 ila 40°C sıcaklık aralığında, destile edilmiş su içinde gravimetrik olarak ölçülmüştür. PHA-konjugatı, her bir sıcaklıkta 24 saat boyunca destile su içinde inkübe edildi ve fazla yüzey suyu kurutulduktan sonra tartıldı. Aşağıdaki gibi şişme derecesi tanımlandı:

$$\text{Şişme (\%)} = 100 \times (W_s - W_d) / W_d$$

W_s belirli bir sıcaklıkta şişmiş PHA-konjugatın ağırlığı ve W_d ise gece boyunca vakum altında kurutmadan sonra PHA-konjugatın kuru ağırlığıdır.

$$DS = (W_t - W_d) / (W_o(4^\circ C) - W_d)$$

DS yeniden şişme oranıdır; $W_o(4^\circ C)$, 4°C'de denge de PHA-konjugat numunenin ağırlığıdır; W_t , belli bir zamanda PHA-konjugat numunenin ağırlığı ve W_d , polimer örneğinin kuru ağırlığıdır.

BÖLÜM 4

BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 PHU ve PHU-Sy’NİN BROMLANMASI

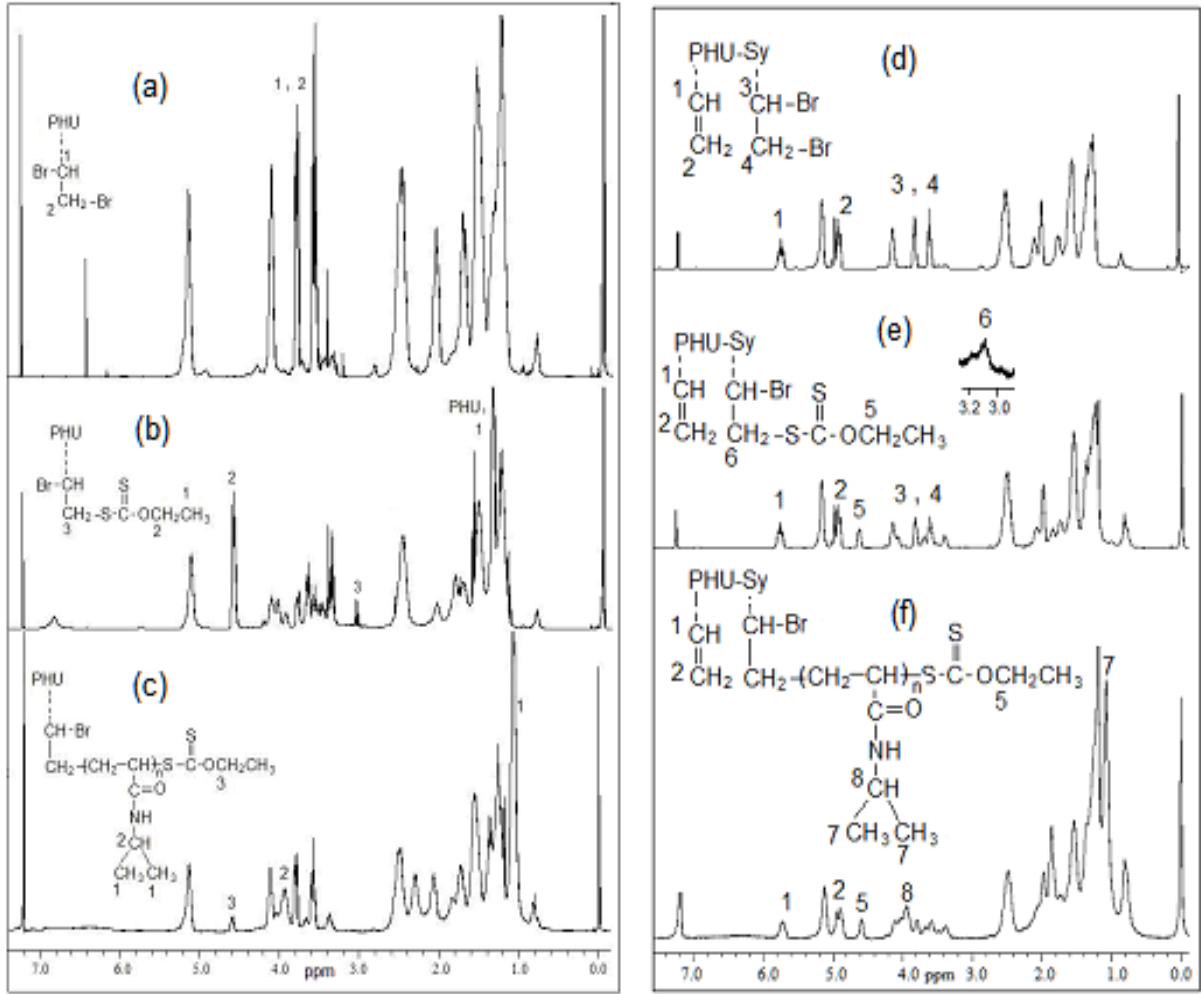
PHU ve PHU-Sy ısıya duyarlı konjugatları RAFT polimerizasyonu ile elde edilmiştir. Şekil 4.1 PHU, PHU-Sy ve reaksiyon yöntemlerini içerir. PHU ve PHU-Sy, mikrobiyal poliesterlerin çift bağlarına ek brom reaksiyonu, bizim önceki yazıda belirttiğimiz gibi ilk kez gerçekleştirilmiştir. Bu ilk brom içeriği değiştirerek bromlama reaksiyonunu kontrol etmek kolaydır. Bu çalışmada kullanılan bromlu PHU ve PHU-Sy reaksiyon koşulları Çizelge 4.1 'de görülebilir.

Çizelge 4.1 PHU ve PHU-Sy’nin bromlanması.

Kod	Polimer		Br ₂ (g)	Verim (g)	GPC sonuçları		
	Tür	(g)			Mn	Mw	PDI
PHU-Br-1	PHU	3.8	6.2	5.9	9638	15826	1.642
PHU-Sy-Br-1	PHU-Sy-1	2.6	1.6	4.0	5672	11354	2.002
PHU					539091	772488	1.433
PHU-Sy					213925	335672	1.569

¹H NMR tekniği bromlu ürünlerin kimyasal yapısını doğrulamak için kullanılmıştır. PHU ¹H NMR spektrumunda görüldüğü gibi (Şekil 4.2 a), brom ilavesi reaksiyonu ile var olan çift bağlar kayboldu. PHU-Sy ise, ¹H-NMR spektrumunda (Şekil 4.2 d) bromların yanısıra çift bağların da sinyallerini ihtiva eder; yani kısmen bromlandırıldı.

İkinci aşamada, bromür fonksiyonları ile ksantatlar yer değiştirmiştir. Bu yer değiştirilen potasyum etil ksantatlı PHU türevinin ksantat zinciri ile reaksiyon gerçekleştirmekte oldukça kolaydır.



Şekil 4.2 PHU türevlerinin ¹H NMR spektrumları: (a) PHU-Br, (b) PHU ksentat türevi (PHU-Xa), ve (c) PHU-g-PNIPAM (d) PHU-Sy-Br, (e) PHU-Sy-Xa, ve (f) PHU-Sy-g-PNIPAM.

4.2 PHU (PHU-Xa) ve PHU-Sy (PHU-Sy-Xa) ARASINDA KSENTAT TÜREVLERİ

Ditio karbonat grupları içeren PHA'lar, bromür ve potasyum etil ksentat arasındaki sübtitüsyon tepkimesi ile elde edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan makro RAFT ajan maddeleri olarak PHU ve PHU-Sy ksentat türevlerinin reaksiyon koşulları Çizelge 4.2'de görülmektedir.

Çizelge 4.2 PHU-Makro RAFT ajanlarının sentezi.

Kod	Polimer		Potasyum etil ksentat (g)	Verim (g)	S-elemental Analiz (%)	GPC		
	Tür	(g)				Mn	Mw	PDI
U-Xa-1	PHU-Br	2.16	0.45	2.31	4.74	12220	53687	4.39
U-Sy-Xa-1	PHUSy-Br	1.71	0.43	1.38	5.69	19106	119565	6.26

PHU-Xa ve (sırasıyla, Şekil 4.2 b ve e) PHU-Sy-Xa ¹H NMR spektrumu, bromürler ve ksantat birimleri ile ilgili her iki sinyal ihtiva etmiştir. Karakteristik sinyaller 4.5 ppm (OCH₂CH₃-) ve 3,1 ppm'de (-CH₂-SC(S)-) ksantat gruplarının kendi NMR spektrumları gözlenmiştir. Çizelge 4.2'de gösterildiği gibi ksantat birimlerinin miktarı, S-element analizi ile tayin edilmiştir. Makro-RAFT ajanında bulunan S miktarı 5-6 tekrarlayan birimlerde sadece 1 NIPAM serbest radikal RAFT polimerizasyonu için yeterince iyi olan birleşen ksantat olduğunu gösterir. PHU-ksantat türevlerinin moleküler ağırlıkları bromür türevlerinden daha yüksek bulundu.

4.3 PHA'LARIN KSENTAT TÜREVLERİ TARAFINDAN NIPAM ARASINDA BAŞLATILAN RAFT POLİMERİZASYONU

PHU-g-PNIPAM ve PHU-Sy-g-PNIPAM ısıya duyarlı konjugatları makro RAFT maddesi olarak PHA-ksantat türevleri ile NIPAM'ın çözelti içinde polimerizasyonu ile elde edilmiştir. Polimerizasyon reaksiyonlarının sonuçları ve koşulları Çizelge 4.3'te tablo haline getirilmiştir. NIPAM monomerine makro raft ajanı ile doyurma oranı ağırlıkça % 62 ila % 91 olarak değiştirildi. En yüksek NIPAM zincirleri içeren kopolimer (PHU-g-PNIPAM-3), destile su içinde çözündü.

PHU-g-PNIPAM ve PHU-Sy-g-PNIPAM graftlı kopolimerleri hem de PHU, PHU-Sy ve PNIPAM bloklarının karakteristik sinyalleri ¹H NMR spektrumları gözlendi. Şekil 4.2 c ve f PHU-g-PNIPAM ve PHU-Sy-g-PNIPAM graft kopolimerlerinin ¹H-NMR spektrumunu gösterir. NIPAM'ın 4.0 ppm (-NCH(CH₃)₂) karakteristik NMR sinyalleri gözlenmiştir.

Hidrofobik PHA ana zincirine hidrofilik PNIPAM bölümü graft edildiği zaman, amfifilik bir graft kopolimeri elde edilmiştir. Graft kopolimer içerisindeki PNIPAM arttıkça amfifilik graft kopolimerin su alımı artar. Monomer besleyicisi içerisinde NIPAM miktarının artmış olduğu gibi, Çizelge 4.3'te gösterildiği gibi, amfifilik graft kopolimerin su alımı artmıştır.

Çizelge 4.3 PHU-g-PNIPAM ve PHU-Sy-g-PNIPAM graft kopolimerlerinin elde edilişi.

Kod	Makro raft başl.		NIPAM			Polim.		Su	N-	PNIPAM
	doyurma (%) ^{*1}		Doyurma	Toluen	AIBN	Zmn	Verim ^{*2}	Alım ^{*3}	analiz	graft kop.
	UXa1	USyXa1	(%)	(mL)	(mg)	(h)	(%)	(%)	(%)	(mol%)
PHU-g-PNIPAM-3	9	-	91	5	50	17	28	çözündü	9.97	80
PHU-g-PNIPAM-5	20	-	80	9	40	17	27	134	5.37	43
PHU-g-PNIPAM-2	23	-	77	5	50	17	25	116	7.20	58
PHU-g-PNIPAM-1	38	-	62	5	50	17	22	76	3.29	26
PHU-g-PNIPAM-4	50	-	50	8	40	17	70	50	5.35	43
PHU-Sy-g-PNIPAM-3	-	9	91	5	50	20	49	391	9.66	78
PHU-Sy-g-PNIPAM-2	-	23	77	5	50	20	54	159	8.22	66
PHU-Sy-g-PNIPAM-4	-	29	71	5	40	20	26	122	3.24	26
PHU-Sy-g-PNIPAM-1	-	38	62	5	50	20	8	-	3.30	26

*¹ : Ağırlıkça % makro raft başlatıcı (MRI) = $(W_{MRI}, g / W_{mri}, g + W_{NIPAM}, g) \times 100$

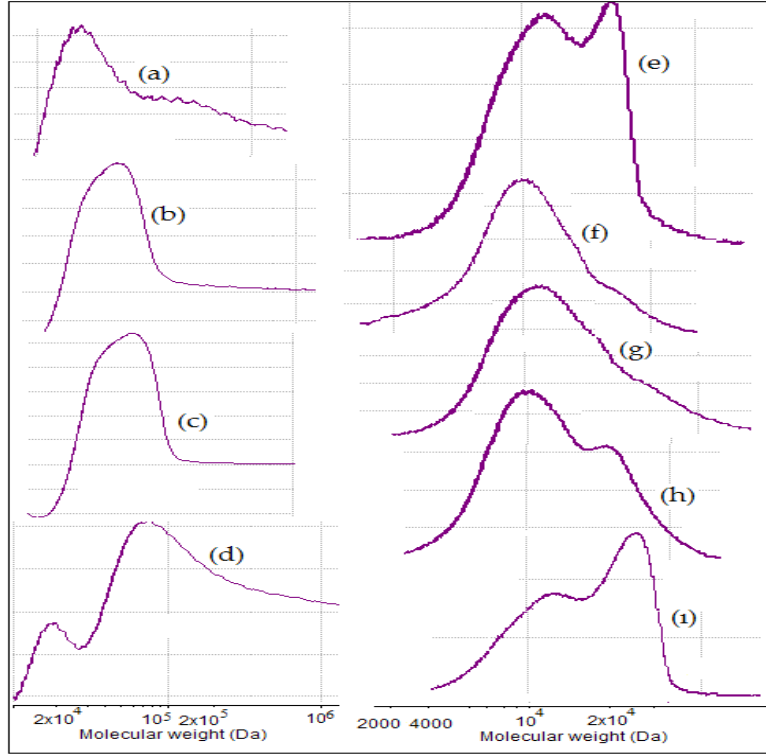
*² : Verim, Ağırlıkça % = $W_{eldeedilenpolimer}, g / W_{MRI}, g + W_{NIPAM}, g) \times 100$

*³ : 28 °C'de

Çizelge 4.4 Graft kopolimerlerin GPC ve termal analiz sonuçları.

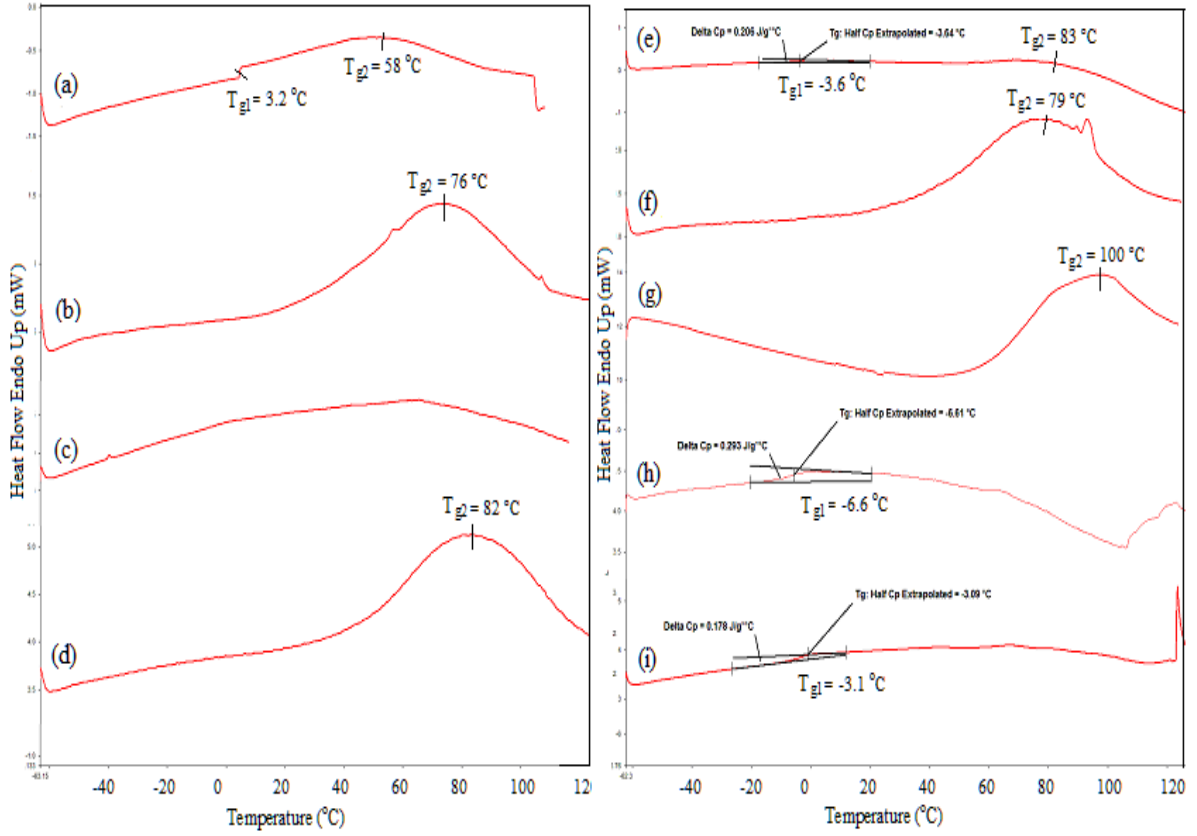
Kod	GPC			DSC (°C)		TGA (°C)			
	Mn	Mw	Mw/Mn	T _{g1}	T _{g2}	T _{d1}	ağır. kaybı%	T _{d2}	ağır. kaybı%
PHU-g-PNIPAM-3	14743	26335	1.786	-	100	295	15	400	45
PHU-g-PNIPAM-5	9443	28635	3.032	-	83				
PHU-g-PNIPAM-2	7497	19765	2.636	-	79	275	32	410	30
PHU-g-PNIPAM-1	11434	33723	2.949	+3.0	geniş	250	60	395	10
PHU-g-PNIPAM-4	5585	21258	3.806	-6.6	geniş	260	45	390	12
PHU-Sy-g-PNIPAM-3	32001	34522	1.130	-	82	295	10	395	55
PHU-Sy-g-PNIPAM-2	29002	32473	1.120	-	76				
PHU-Sy-g-PNIPAM-4	42000	55000	1.250	+3.0	geniş				
PHU-Sy-g-PNIPAM-1	26138	40645	1.555	+3.2	58	230	60	380	10

GPC sonuçları ve termal özellikleri Çizelge 4.4'de listelenmiştir. PS standartlarına göre PHU-Sy-g-PNIPAM'ler 32473'den 55000 daltona değişirken PHU-g-PNIPAM Mw değerleri 19.765'den 33.723 değiştiği elde edildi. Şekil 4.3, GPC kromatogramlarını göstermektedir. Çoğunlukla unimodal GPC kromatogramı elde edilmiştir. PHU-Xa makro RAFT ajanları PHU-Sy-Xa makro RAFT ajanlarından biraz daha fazla PNIPAM graft kopolimerlerine neden olur.



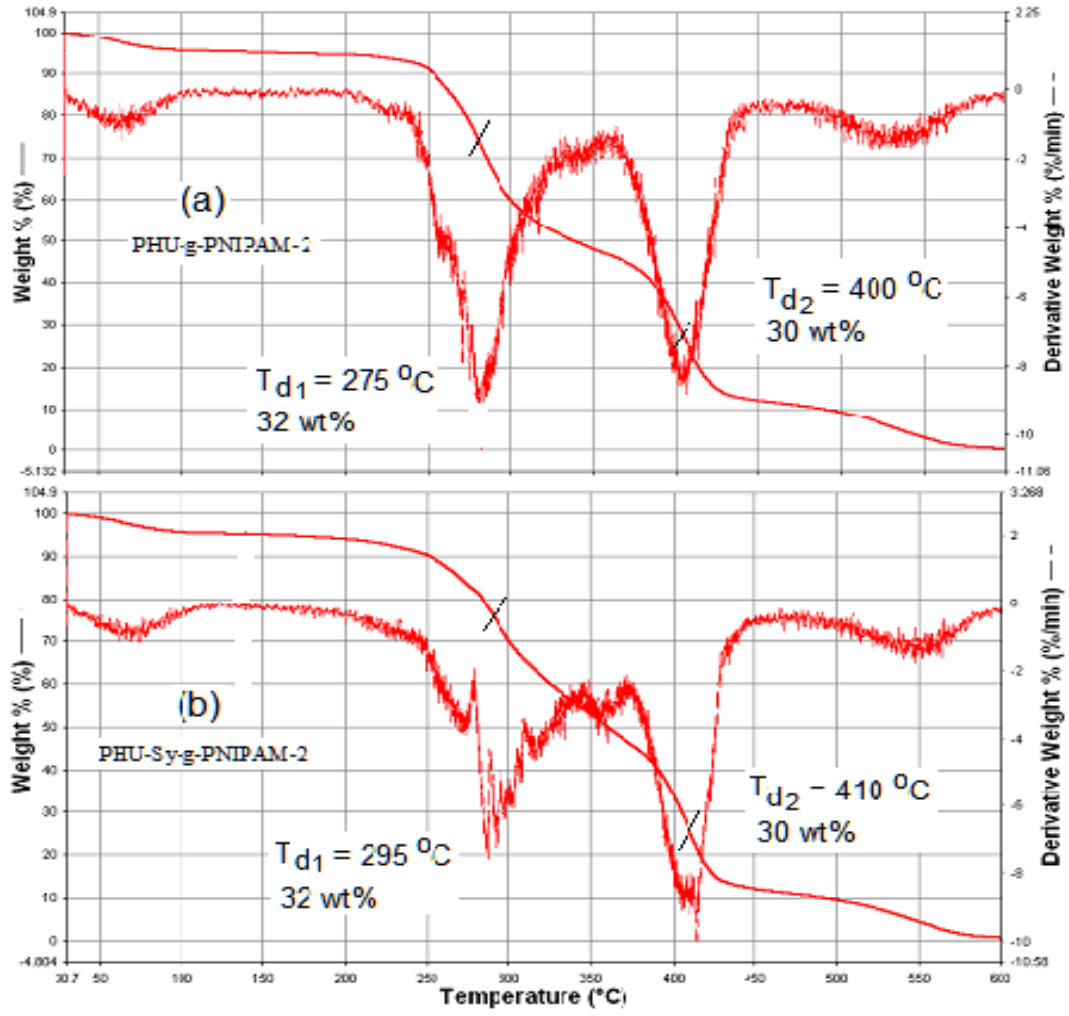
Şekil 4.3 Elde edilen graft kopolimerlerin GPC kromatogramları: (a) PHU-Sy-g-PNIPAM-1, (b) PHU-Sy-g-PNIPAM-2, (c) PHU-Sy-g-PNIPAM-3, (d) PHU-Sy-g-PNIPAM-4; (e) PHU-g-PNIPAM-2, (f) PHU-g-PNIPAM-4, (g) PHU-g-PNIPAM-1, (h) PHU-g-PNIPAM-5, (i) PHU-g-PNIPAM-3.

Elde edilen graft kopolimerler DSC ve TGA gibi termal analiz teknikleri kullanılarak analiz edilmiştir. Şekil 4.4, elde edilen graft kopolimerlerinin DSC termogramlarını göstermektedir. 137 °C'de saf PNIPAM Tg'sinden daha düşük olan PHU-g-PNIPAM ve PHU-Sy-g-PNIPAM'ın DSC termogramları, yaklaşık 58-100 °C arasında geniş bir camlı geçiş sıcaklıkları (Tg) göstermektedir. PHU bölümleriyle ilişkili olan bazı termogramlar -6.6 ile +3.2 °C'de Şekil 4.4'te göstermektedir.



Şekil 4.4 Elde edilen graft kopolimerlerin DSC termogramları: (a) PHU-Sy-g-PNIPAM-1, (b) PHU-Sy-g-PNIPAM-2, (c) PHU-Sy-g-PNIPAM-4, (d) PHU-Sy-g-PNIPAM-3; (e) PHU-g-PNIPAM-5, (f) PHU-g-PNIPAM-2, (g) PHU-g-PNIPAM-3, (h) PHU-g-PNIPAM-4, (i) PHU-g-PNIPAM-1.

Elde edilen graft kopolimerlerin termogravimetrik analiz sonuçları, Çizelge 4.4'te sıralanmıştır. TGA eğrileri iki farklı ayrışma sıcaklıklarını göstermektedir. Bunlar sırasıyla poliester kısımları ve PNIPAM kısımlarının 300 °C ve 400 °C'deki ayrışma sıcaklıklarıdır. Polimerin ağırlık kaybı termogramlarında elde edilen T_d değerlerindeki artış polimer bileşenlerindeki değişim ile uyumludur. Elde edilen iki graft kopolimerin tipik TGA eğrileri Şekil 4.5'te işlenmiştir.



Şekil 4.5 Bazı graft kopolimerlerin TGA eğrileri: (a) PHU-g-PNIPAM-2, (b) PHU-Sy-g-PNIPAM-2.

BÖLÜM 5

SONUÇ VE YORUM

Bakteriyel polyesterler yenilenebilir kaynaklardan elde edilebilen biyobozunur ve biyoyumlu doğal polimerlerdir. Kullanım alanlarının çeşitliliğini artırmak için modifikasyon reaksiyonları polimer kimyacıların yoğun bir şekilde ilgilerini çekmektedir. Ana zincir üzerinde asılı doymamış yan gruplar içeren poli-3-hidroksi alkanoatlar üzerinde epoksitleme, hidroksilleme ve karboksil grupları oluşturma reaksiyonları başarıyla gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada bu tür bir doymamış polyestere bir çevreye duyarlı akrilik polimer graft edilmiştir. Bunun için önce doymamış gruplara basit ve kolay bir şekilde brom katılması sağlanmıştır. Halojen uçları ksantat grupları ile reaksiyona sokularak polyester esaslı yeni bir makro RAFT ajanı elde edilmiştir. Bakteriyel polyesterin ditiyo karbonat uçları N-izopropil akril amidin RAFT polimerizasyonunu başlatmasıyla da yeni bir tarak tipi amfifilik graft kopolimer elde edilmiştir. Elde edilen polimerlerin içerisindeki NIPAM oranı arttıkça suda şişme ve/veya çözünme özelliklerinin arttığı gözlenmiştir. Bu sayede hidrofobik PHA'lar hidrofilik özellik kazanmıştır. mcl-PHA'lar ısıya duyarlı tarak tipi graft kopolimerler ilk kez bu çalışmada ortaya konulmuştur. Termal analiz sonuçlarında PHU/PHU-Sy ve NIPAM arasında iyi bir uyum olduğu gözlenmiştir. Bu polimer konjugatların amfifilik ve suda çözünür türleri sadece RAFT polimerizasyonu kullanılarak geniş bir aralıkta elde edilmiştir. Kopolimerler GPC, NMR, DSC ve TGA teknikleri kullanılarak karakterize edilmiştir. Böylece biyoteknolojiye ve endüstriyel uygulamalara açık yeni türde malzemeler geliştirilmiştir. Bu tür biyobozunur polimerler, daha çok ilaç salınım sistemleri için umut verici malzemelerdir. RAFT polimerleşme tekniği kullanılarak bu şekilde polyesterlerin çok çeşitli graft kopolimerleri hazırlanabilir. Böylece bakteriyel polyester esaslı biyobozunur ve biyoyumlu malzeme çeşitliliği artırılmış olur.

KAYNAKLAR

- Anderson A and Dawes E** (1990) Occurrence, metabolism, metabolic role, and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates: *Microbi. Rev.*, 54 (4): 450-472.
- Andrade A P, Witholt B, Hany R, Egli T and Li Z** (2002) Preparation and Characterization of Enantiomerically Pure Diols from mcl-Poly [(R)-3-hydroxyalkanoates]. *Macro.*, 35: 684-689.
- Arkin A H and Hazer B** (2002) Chemical Modification of Chlorinated Microbial Polyesters. *Biomacromolec.*, 3: 1327-1335.
- Brandl H, Gross R A, Lenz R W and Fuller R C** (1990) Plastics from Bacteria and for Bacterial Poly(3-hydroxyalkanoates) as Natural, Biocompatible and Biodegradable Polyesters. *Adv. Biochem. Eng. Biotech.*, 41: 77-93.
- Braunegg G, Lefebvre G and Genser K L** (1998) Polyhydroxyalkanoates, biopolyesters from renewable resources: Physiological and engineering aspects. *Jour. of Biotechn.*, 65: 127-161.
- Dawes E A and Senior P J** (1973) The Role and Regulation of Energy Reserve Polymers in Microorganisms. *Adv. Microb. Physiol.*, 10: 135-266.
- Dawes E** (1990) Novel Biodegradable Microbial Polymers. Kluwer Academic Publishers.
- Doi Y** (1990) *Microbial Polyesters*. VCH Publishers, New York, USA.
- Erduranlı H, Hazer B and Borcaklı M** (2008) Post Polymerization of Saturated and Unsaturated Poly(3-hydroxy alkanoate)s. *Macromol. Symp.*, 26: 161-169.
- Eroğlu M S, Hazer B, Ozturk T and Caykara T** (2005) Hydroxylation of Pendant Vinyl Groups of Poly(3-hydroxy Undec-10-enoate) in High Yield. *Journ. of Appl. Poly. Sci.*, 97: 2132-2139.
- Hazer B** (2010) Amphiphilic Poly (3-Hydroxy Alkanoate)s: Potential Candidates for Medical Applications. *Energy and Power Engin.*, 31-38.
- Hazer B and Steinbüchel A** (2007) Increased diversification of polyhydroxyalkanoates by modification reactions for industrial and medical applications, *Appl Microbiol Biotechnol.*, 74: 1-12.
- Hazer B, Demirel S I, Borcakli M, Eroglu M S, Cakmak M and Erman B** (2001) Free radical crosslinking of unsaturated bacterial polyesters obtained from soybean oily acids. *Polym. Bull.*, 46: 389.

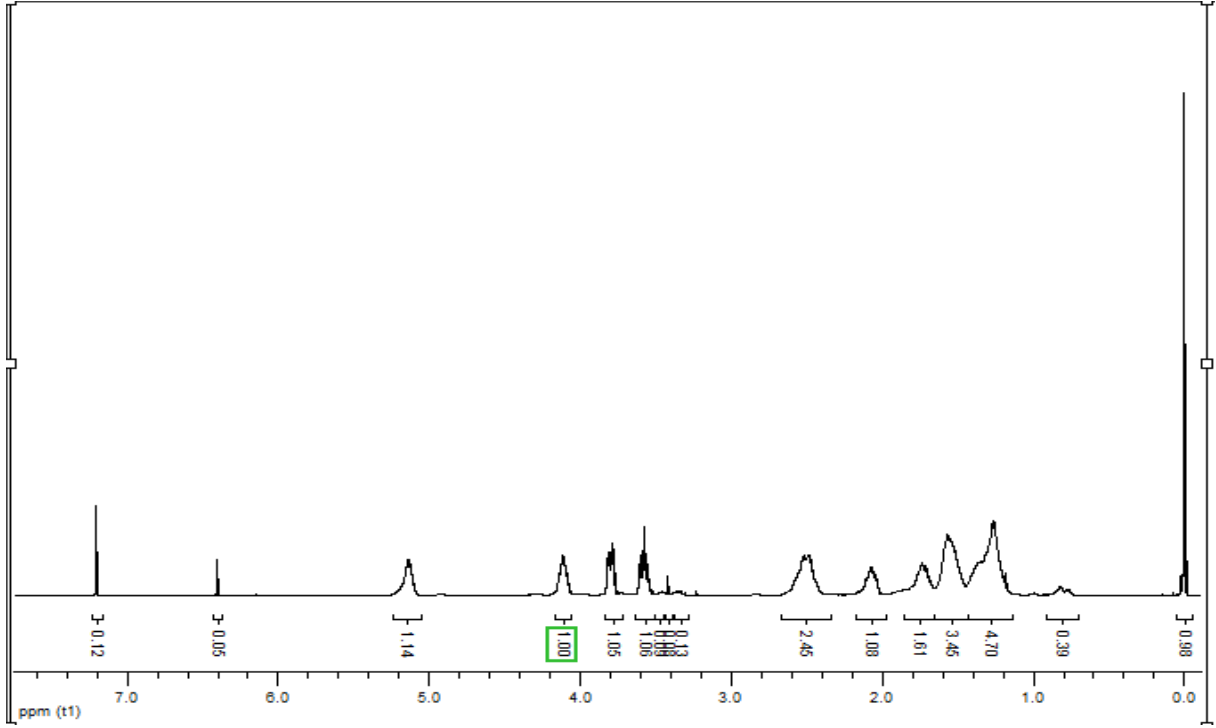
KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Hazer B, Lenz R W, Çakmaklı B, Borcaklı M and Koçer H** (1999) Preparation of poly(ethylene glycol) grafted poly(3-hydroxyalkanoate) Networks. *Macromol. Chem. Phys.*, 200: 1903–1907.
- Hazer D B, Hazer B and Kılıçay E** (2012) Poly(3-hydroxyalkanoate)s: Diversification and biomedical applications A state of the art review, *Materials Sci. and Eng. C.*, 32: (637–647).
- Hazer B** (1996) Poly(3-hydroxynonaate) and Polystyrene or Poly(methylmethacrylate) Graft Copolymers: Microstructure Characteristics and Mechanical and Thermal Behavior. *Macromol. Chem. Phys.*, 197: 431-441.
- Hoa I C, Yang S P, Chiu W Y and Huang S Y** (2007) Structure and polymer form of poly-3-hydroxyalkanoates produced by *Pseudomonas oleovorans* grown with mixture of sodium octanoate/undecylenic acid and sodium octanoate/5-phenylvaleric acid, *Inter. Jour. of Biological Macromol.*, 40: 112–118.
- Holmes P A** (1985) Applications of PHB – A Microbially produced Biodegradable Thermoplastic, *Phys. Technol.*, 16: 32-36.
- Keshavarz K and Roy I** (2010) Polyhydroxyalkanoates: bioplastics with a green agenda. *Cur. Opinion in Microbio.*, 13: 321–326.
- Lee S Y** (1996) Bacterial polyhydroxyalkanoates. *Biotechnol Bioeng.*, 49: 1-14.
- Loosdrecht M C M, Pot M A and Heijnen J J** (1997) Importance of bacterial storage polymers in bioprocesses. *Wat. Sci. Tec.*, 35(1): 41-47.
- Lootz D, Behrend D, Kramer S, Freier T, Haubold A, Benkiesser G, Schmitz K P and Becher B** (2001) Laser cutting: influence on morphological and physicochemical properties of polyhydroxybutyrate. *Biomat.*, 22: 2447-2452.
- Madison L L and Huisman G W** (1999) Metabolic Engineering of Poly(3-Hydroxyalkanoates): From DNA to Plastic. *Mic. Mol. Bio. Reviews*, 63: 21-53.
- Page W J** (1992) Production of polyhydroxyalkanoates by *Azotobacter vinelandii* UWD in beet molasses culture. *FEMS Microbiology Rev.*, 103: 149-158.
- Rosovitz M J, Voskuil M I and Chambliss G H** (1998) *Bacillus*, Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections, Systematic Bacteriology, by edited L. Collier, A. Balows and M. Sussman, Oxford University Press, Ninth Edition, (2), New York.
- Ruth K, Roo G D, Egli T and Ren Q** (2008) Identification of two acyl-CoA synthetases from *Pseudomonas putida* GPo1: one is located at the surface of polyhydroxyalkanoates granules, *Biomac.*, 9 (6): 1652–1659.

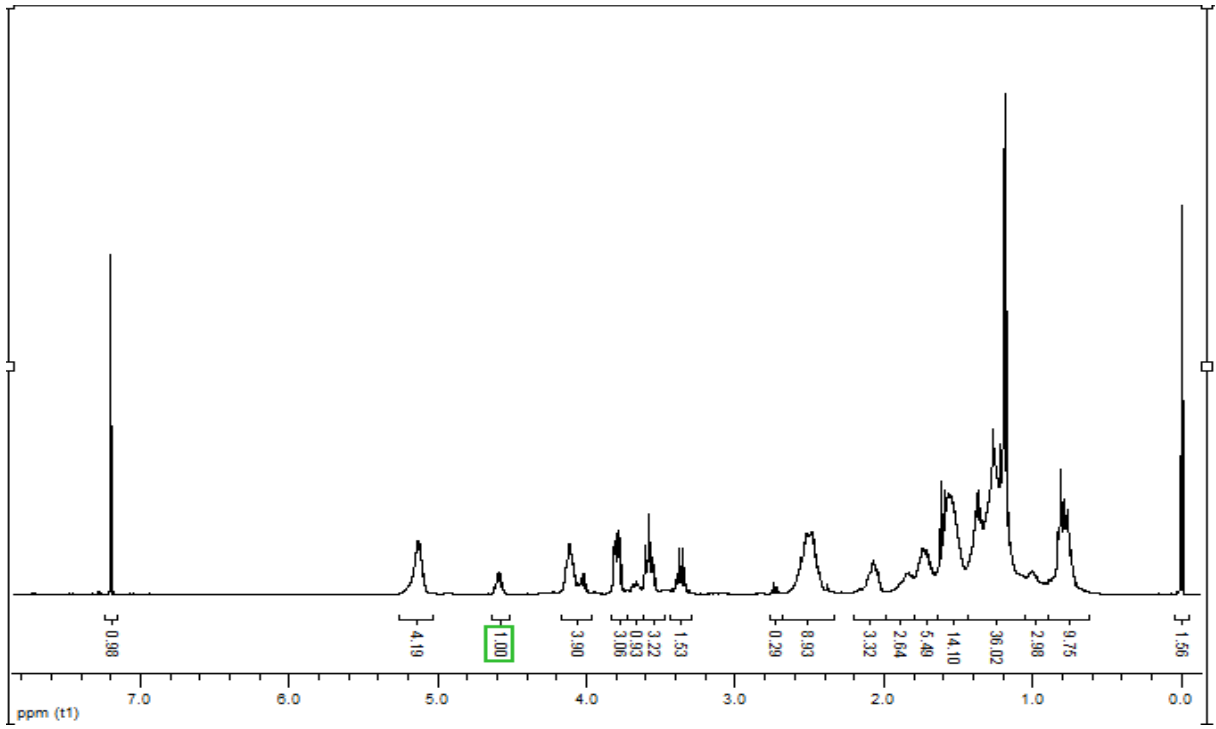
KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Shang L, Jiang M and Chang H N** (2003) Poly(3-hydroxybutyrate) synthesis in fed-batch culture of *Ralstonia eutropha* with phosphate limitation under different glucose concentrations. *Biotechnol. Lett.*, 25: 1415-1419.
- Steinbüchel A and Fuchtenbusch B** (1998) Bakterial and other biological systems for polyester production. *Elsevier Sci.*, 0167-7799 (16).
- Steinbüchel A and Valentin H E** (1995) Diversity of bacterial polyhydroxyalkanoic acids. *FEMS Microbio. Lett.*, 128 (3): 219-228.
- Toraman T and Hazer B** (2014) Synthesis and Characterization of the Novel Thermoresponsive Conjugates Based on Poly(3-hydroxy alkanates), *J Polym Environ*, 22:159-166.
- Weber C J** (2000) Biobased Packaging Materials for the food Industry, The EU Directorate 12, Frederiksberg.
- Wu Q, Huang H, Hu G, Chen J, Ho K and Chen G** (2001) Production of poly-3-hydroxybutyrate by *Bacillus* sp. Jma5 cultivated in molasses media. *Antonie van Leeuwenhoek*, 80: 111-118.

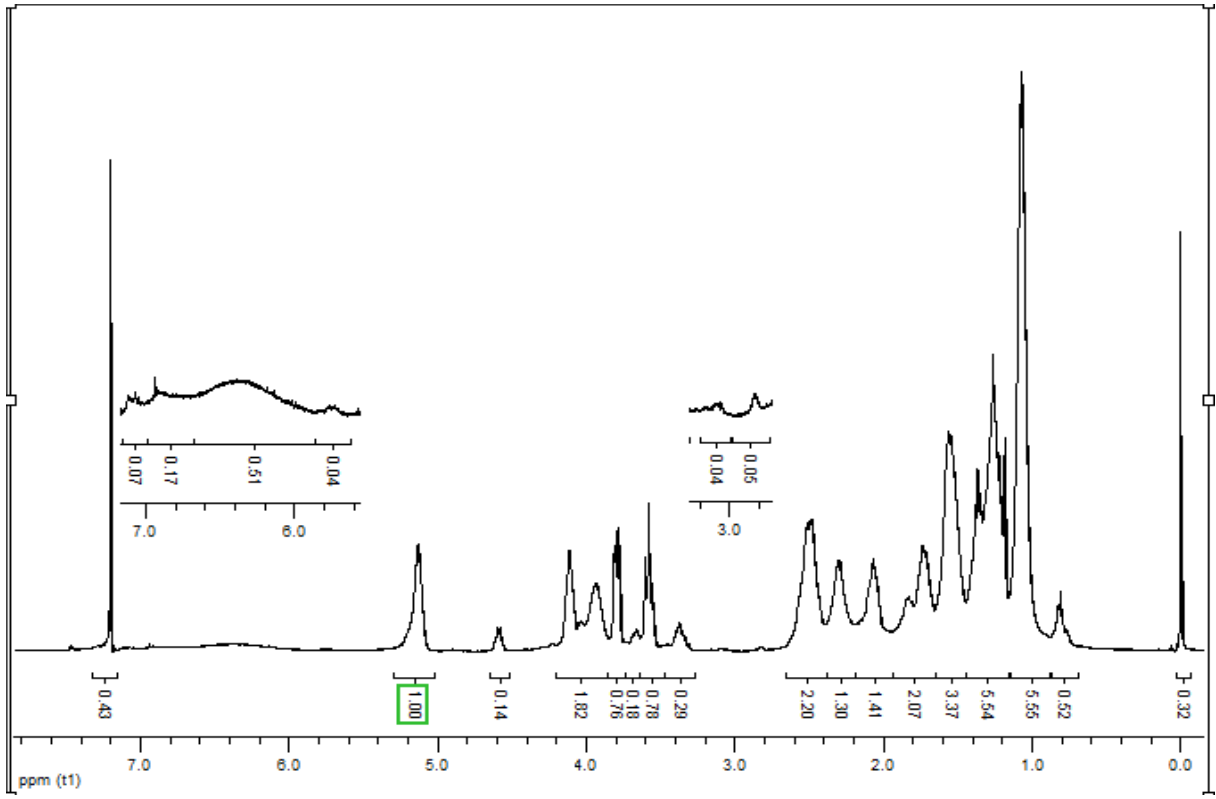
**EK AÇIKLAMALAR A
NMR SPEKTRUMLARI**



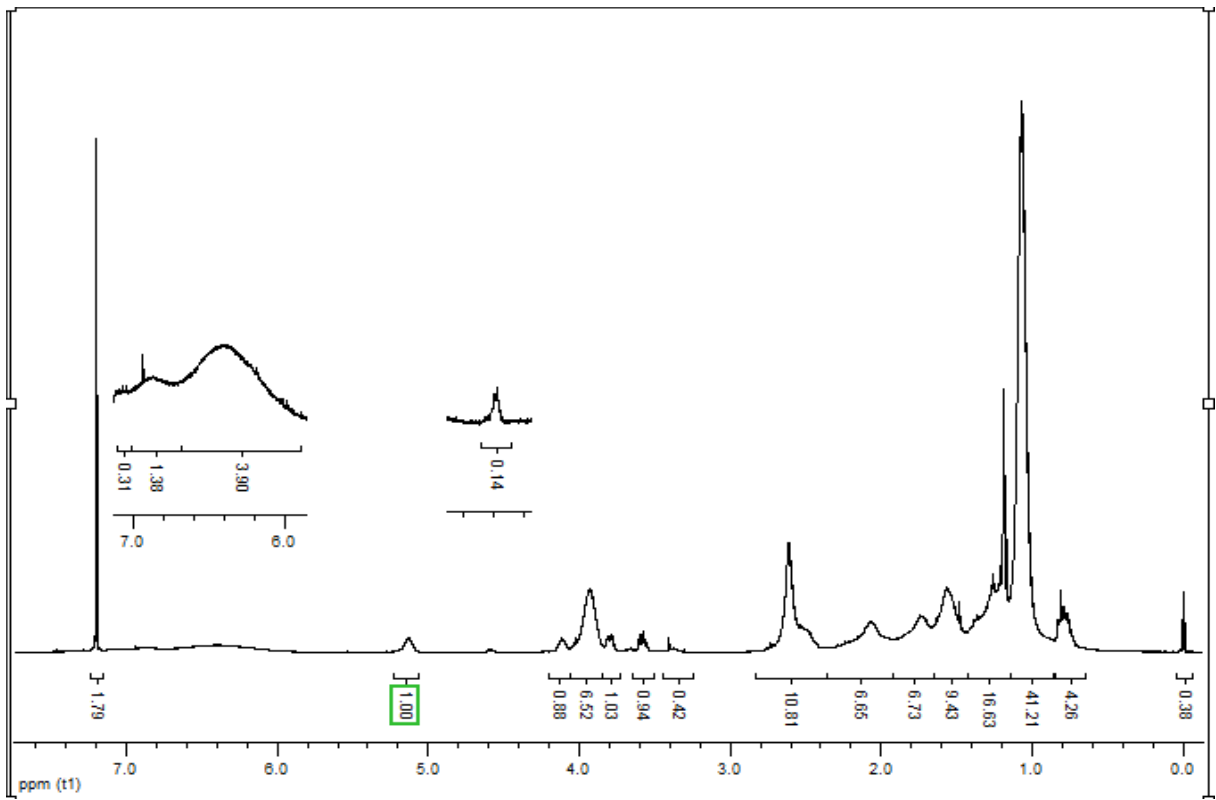
Şekil A.1 Bromlanmış PHU'nun (PHU-Br) ^1H NMR spektrumu.



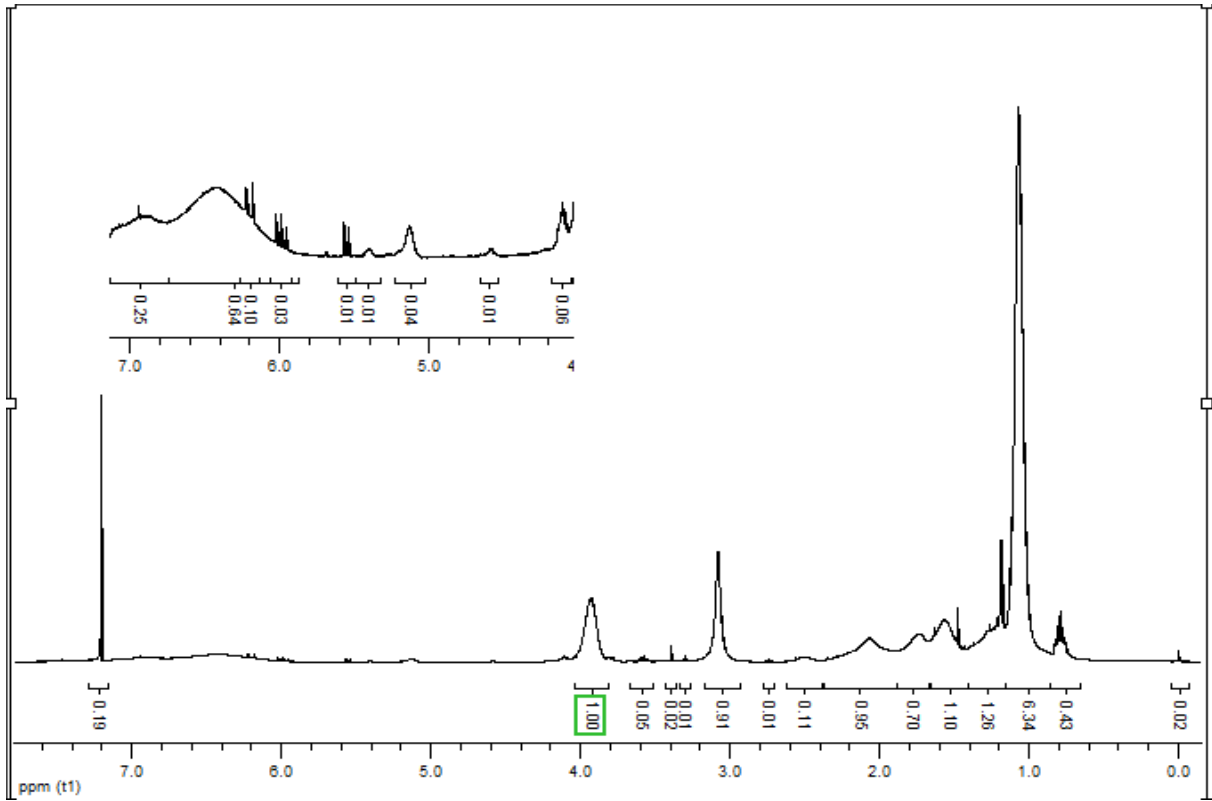
Şekil A.2 RAFT başlatıcı PHU-Xa ^1H NMR spektrumu.



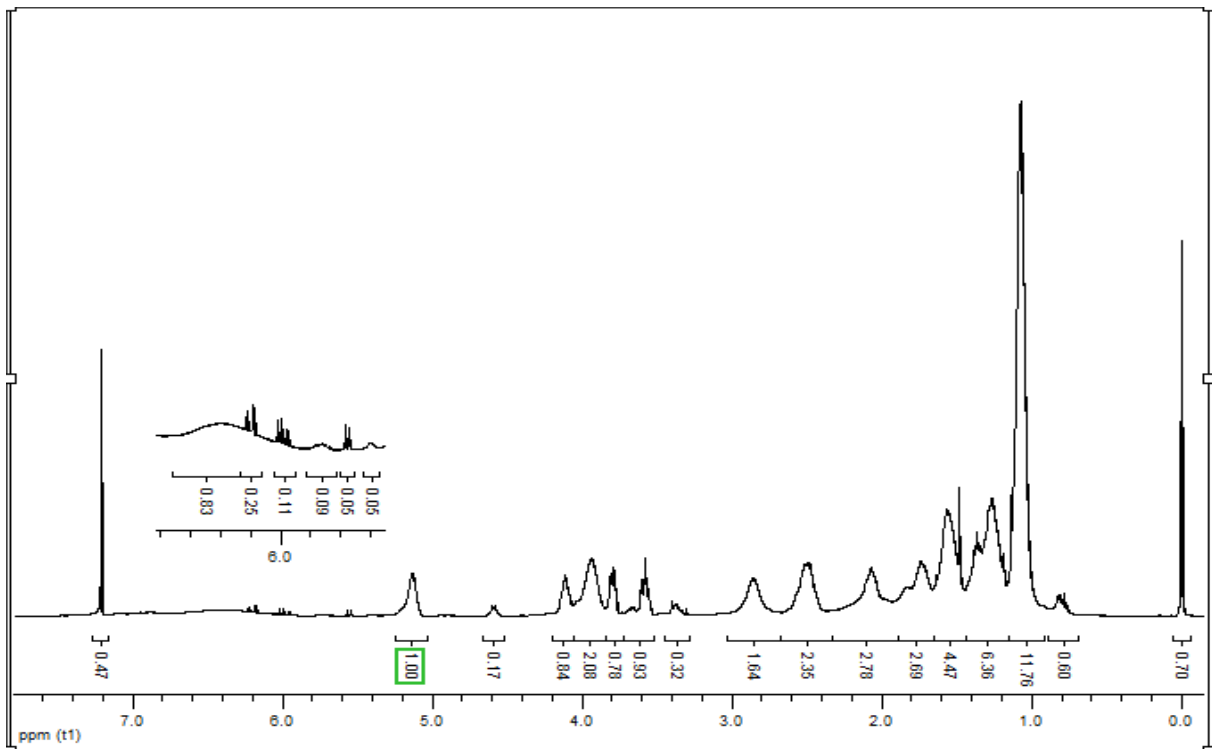
Şekil A.3 PHU-g-PNIPAM-1 graft kopolimerinin ^1H NMR spektrumu.



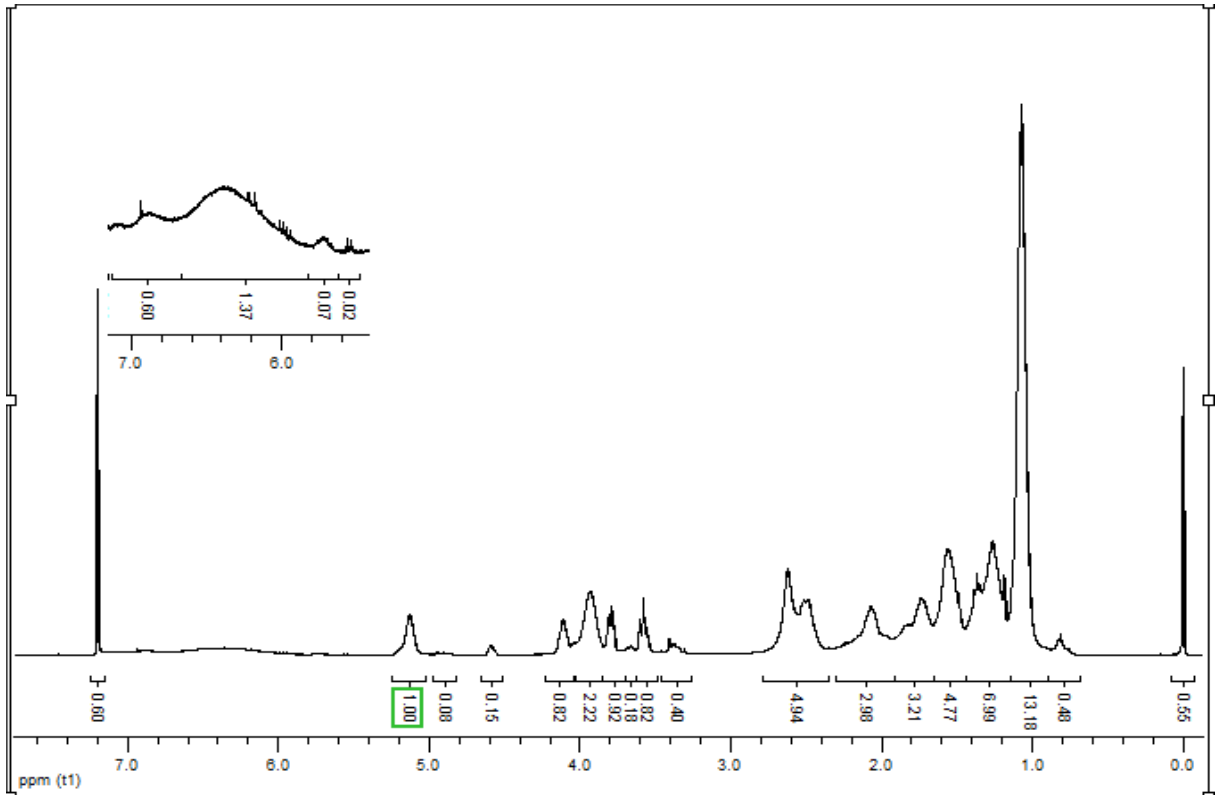
Şekil A.4 PHU-g-PNIPAM-2 graft kopolimerinin ^1H NMR spektrumu.



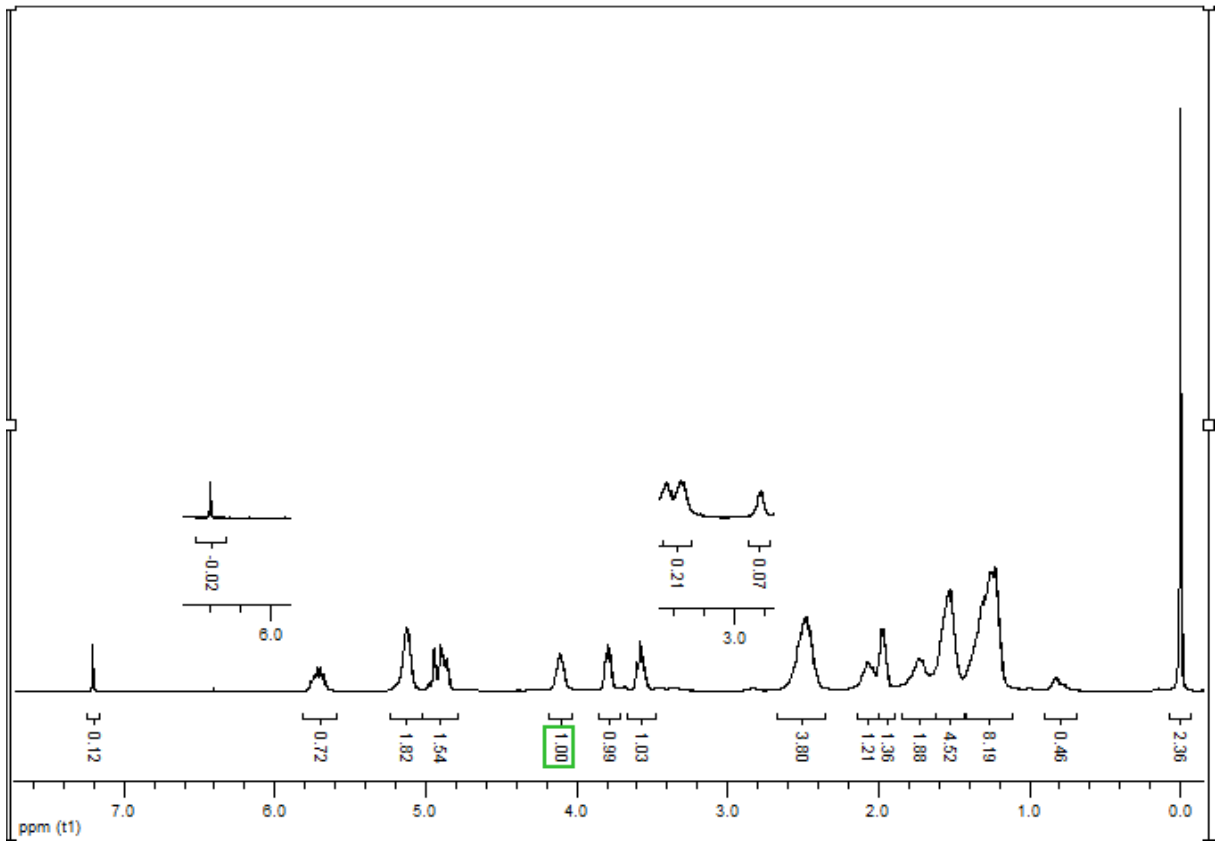
Şekil A.5 PHU-g-PNIPAM-3 graft kopolimerinin ^1H NMR spektrumu.



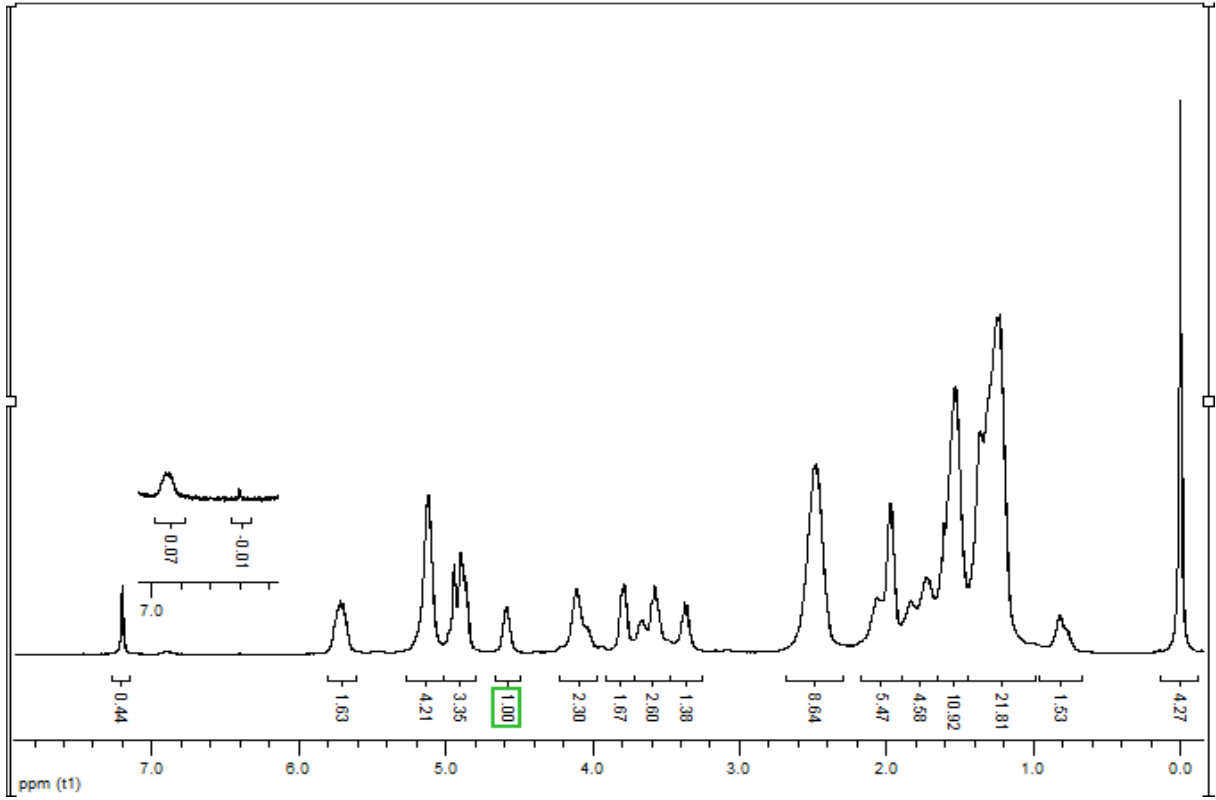
Şekil A.6 PHU-g-PNIPAM-4 graft kopolimerinin ^1H NMR spektrumu.



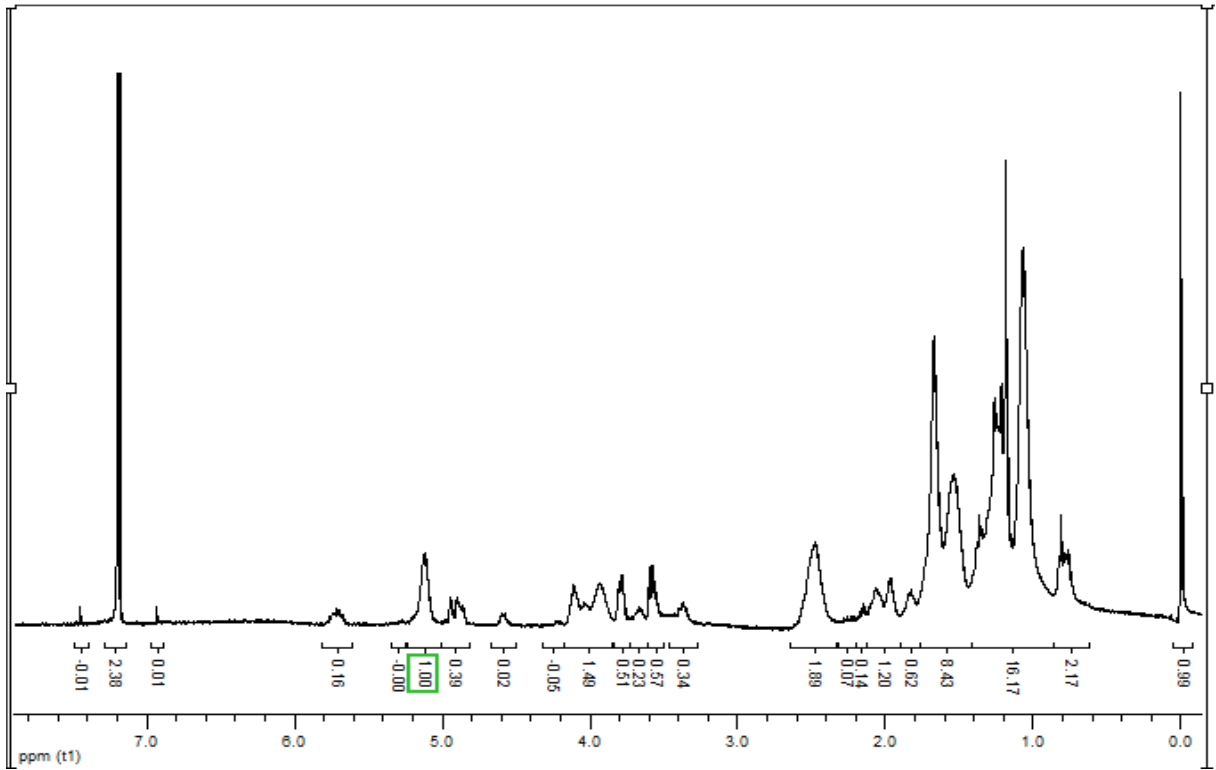
Şekil A.7 PHU-g-PNIPAM-5 graft kopolimerinin ^1H NMR spektrumu.



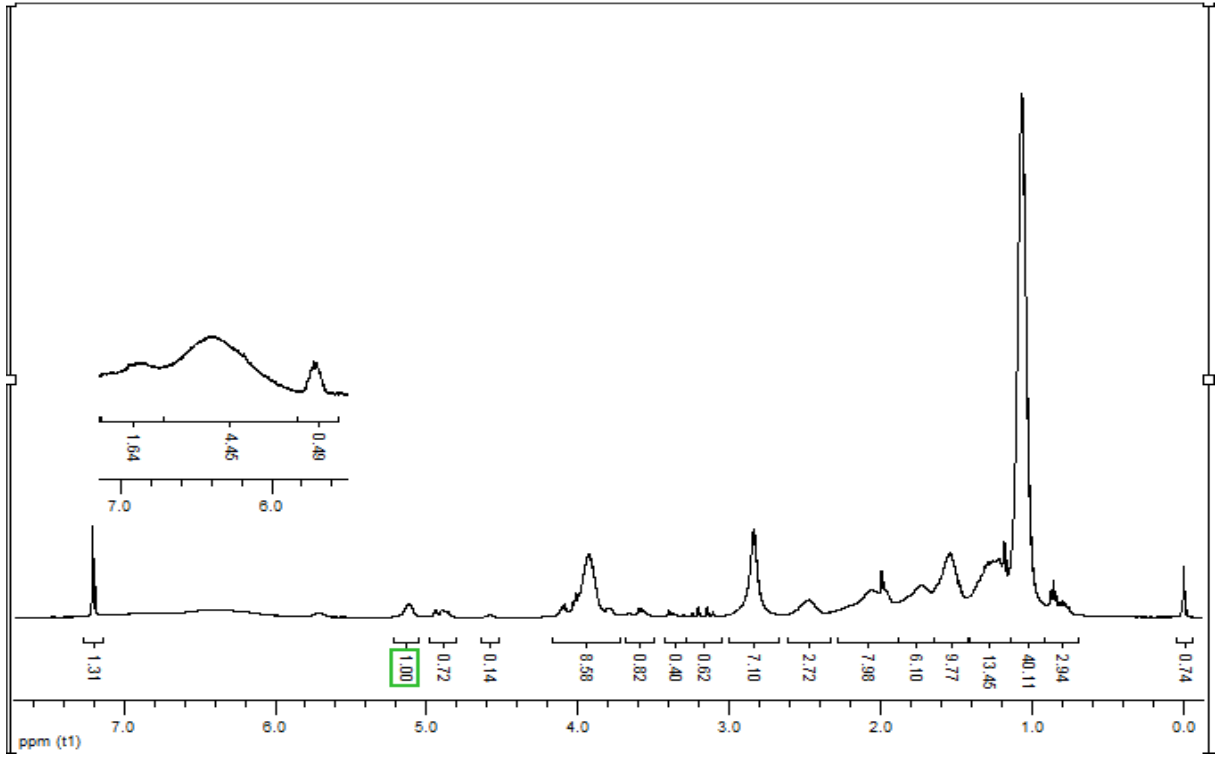
Şekil A.8 Bromlanmış PHU-Sy'nin (PHU-Sy-Br) ^1H NMR spektrumu.



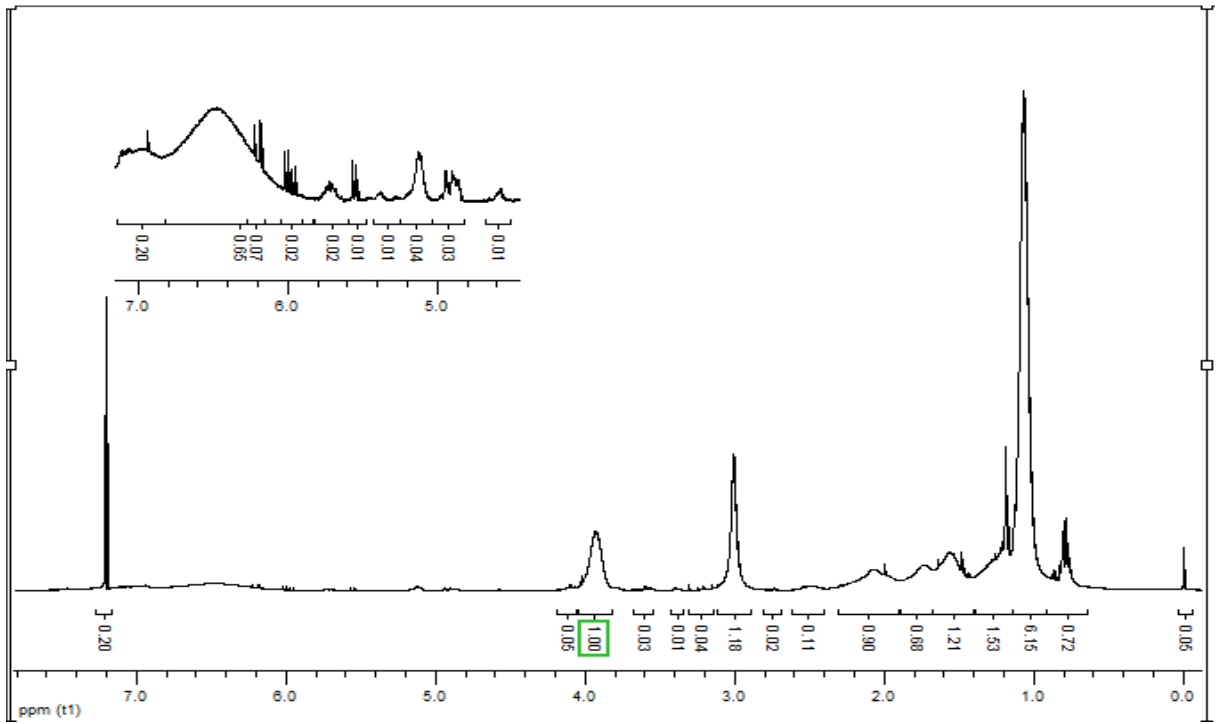
Şekil A.9 RAFT başlatıcı PHU-Sy-Xa ^1H NMR spektrumu.



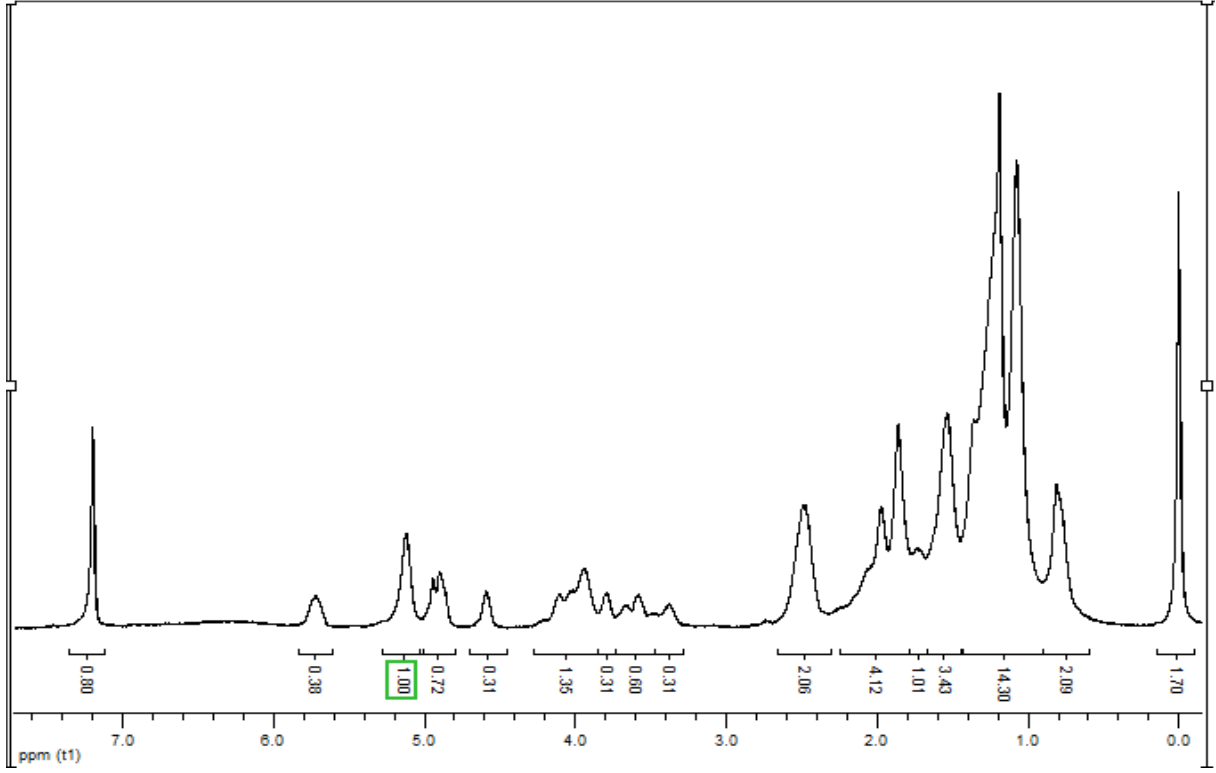
Şekil A.10 PHU-Sy-g-PNIPAM-1 graft kopolimerinin ^1H NMR spektrumu.



Şekil A.11 PHU-Sy-g-PNIPAM-2 graft kopolimerinin ^1H NMR spektrumu.

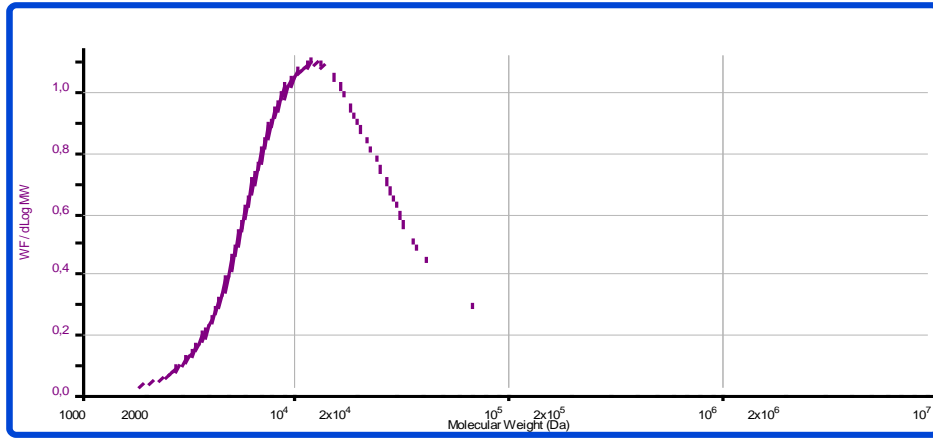


Şekil A.12 PHU-Sy-g-PNIPAM-3 graft kopolimerinin ^1H NMR spektrumu.

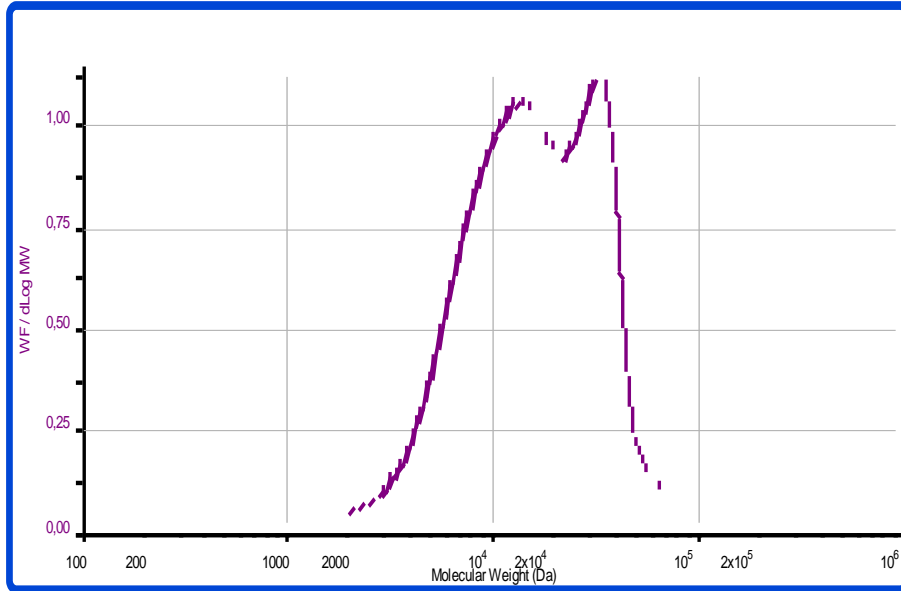


Şekil A.13 PHU-Sy-g-PNIPAM-4 graft kopolimerinin ^1H NMR spektrumu.

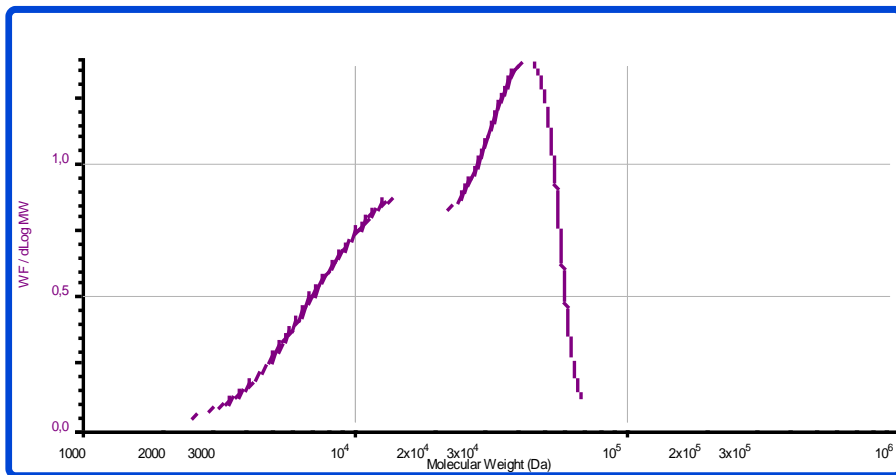
EK AÇIKLAMALAR B
GPC KROMATOGRAMLARI



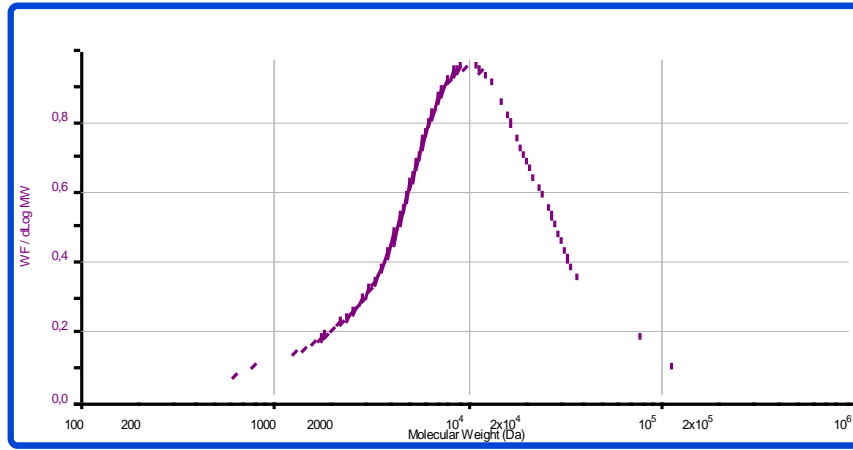
Şekil B.1 PHU-g-PNIPAM-1 graft kopolimerinin GPC kromatogramı.



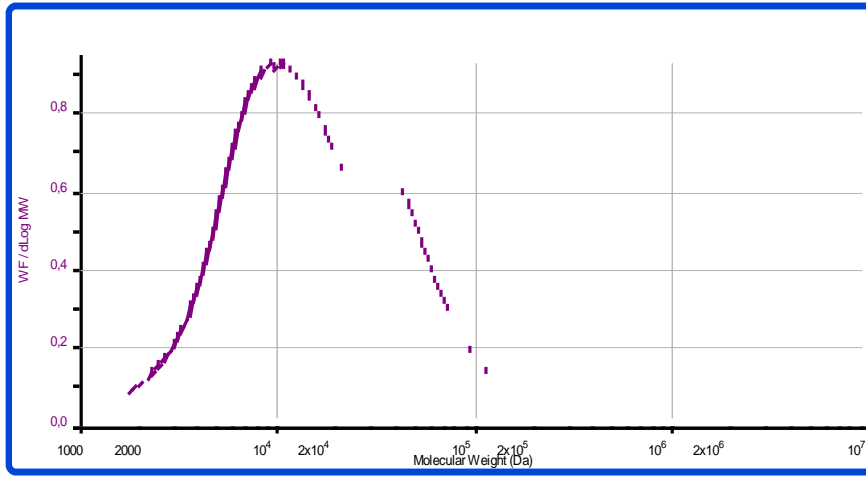
Şekil B.2 PHU-g-PNIPAM-2 graft kopolimerinin GPC kromatogramı.



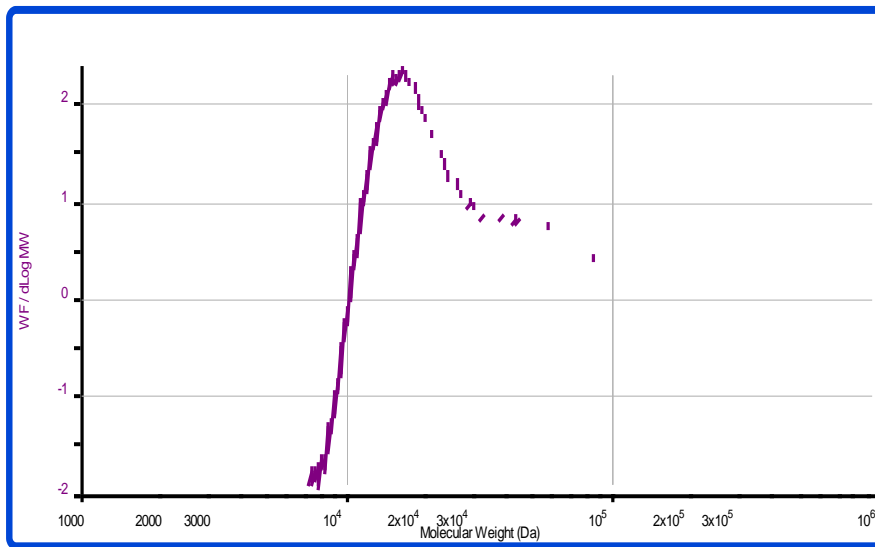
Şekil B.3 PHU-g-PNIPAM-3 graft kopolimerinin GPC kromatogramı.



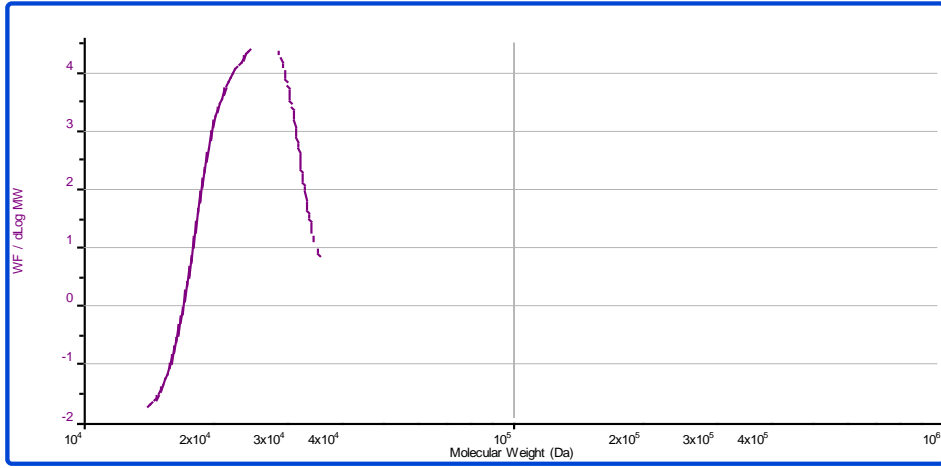
Şekil B.4 PHU-g-PNIPAM-4 graft kopolimerinin GPC kromatogramı.



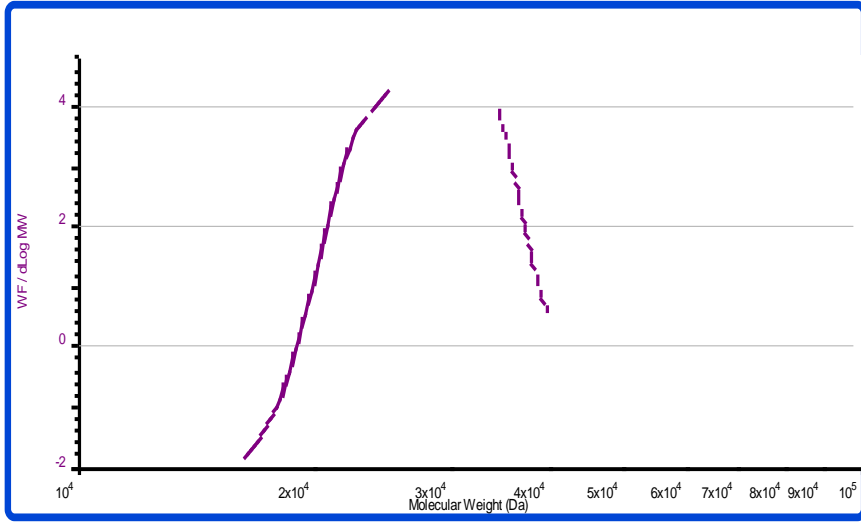
Şekil B.5 PHU-g-PNIPAM-5 graft kopolimerinin GPC kromatogramı.



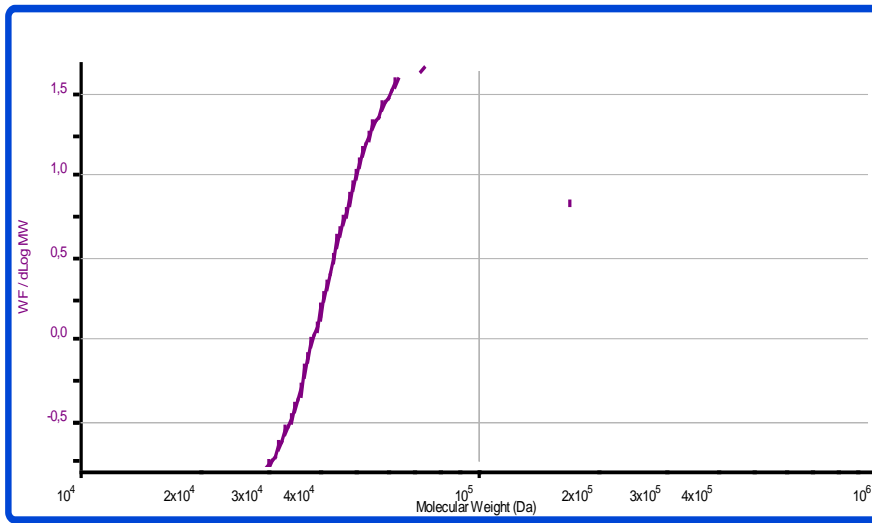
Şekil B.6 PHU-Sy-g-PNIPAM-1 graft kopolimerinin GPC kromatogramı.



Şekil B.7 PHU-Sy-g-PNIPAM-2 graft kopolimerinin GPC kromatogramı.

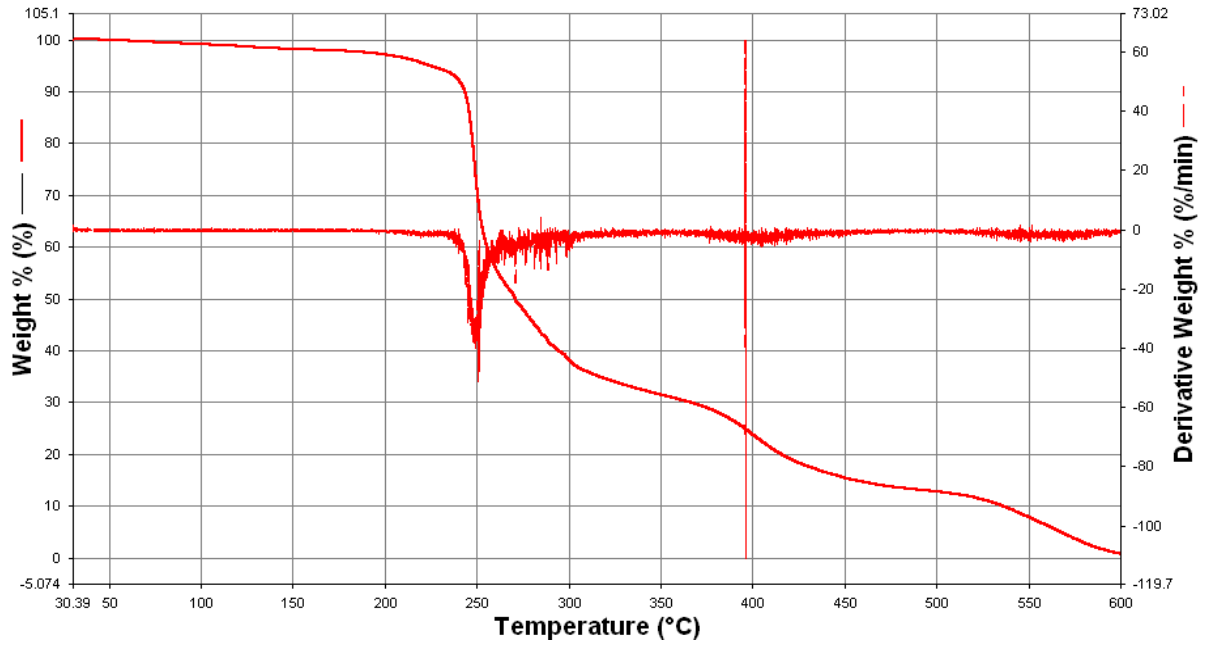


Şekil B.8 PHU-Sy-g-PNIPAM-3 graft kopolimerinin GPC kromatogramı.

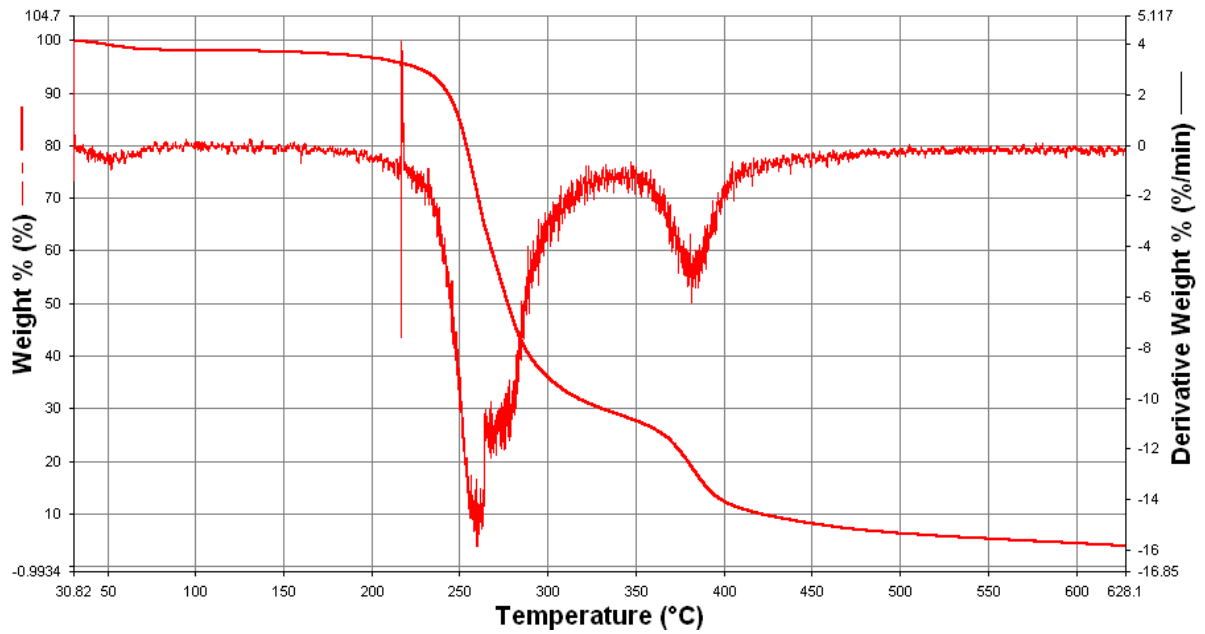


Şekil B.9 PHU-Sy-g-PNIPAM-4 graft kopolimerinin GPC kromatogramı.

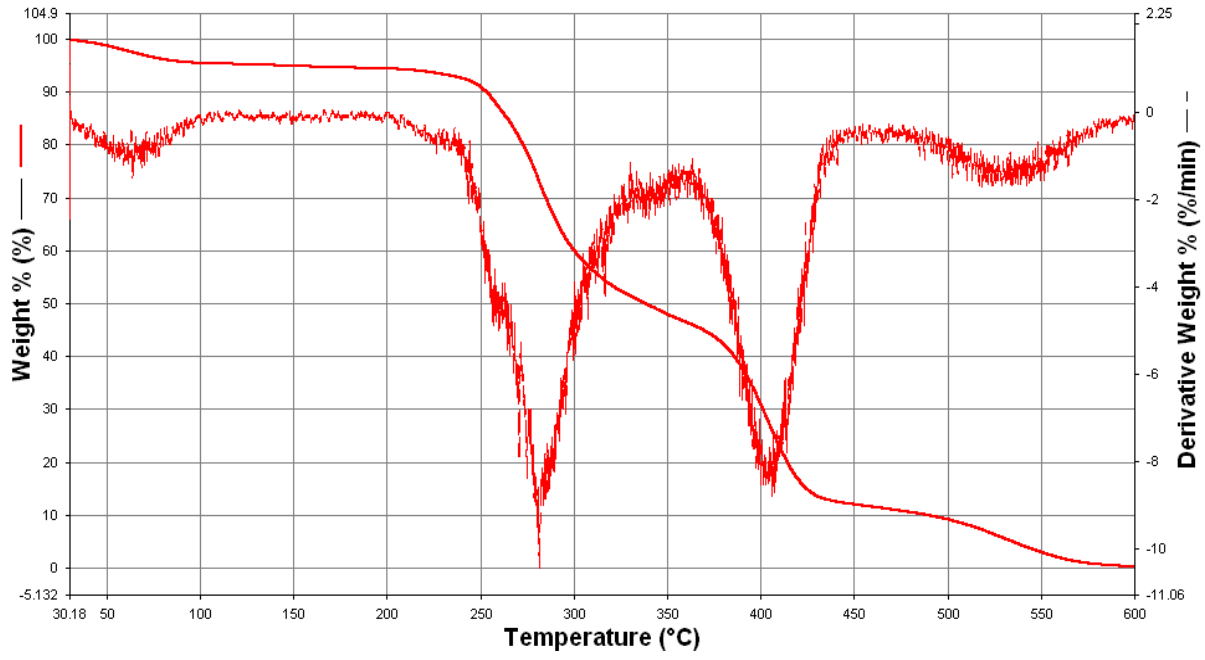
EK AÇIKLAMALAR C
TGA EĞRİLERİ



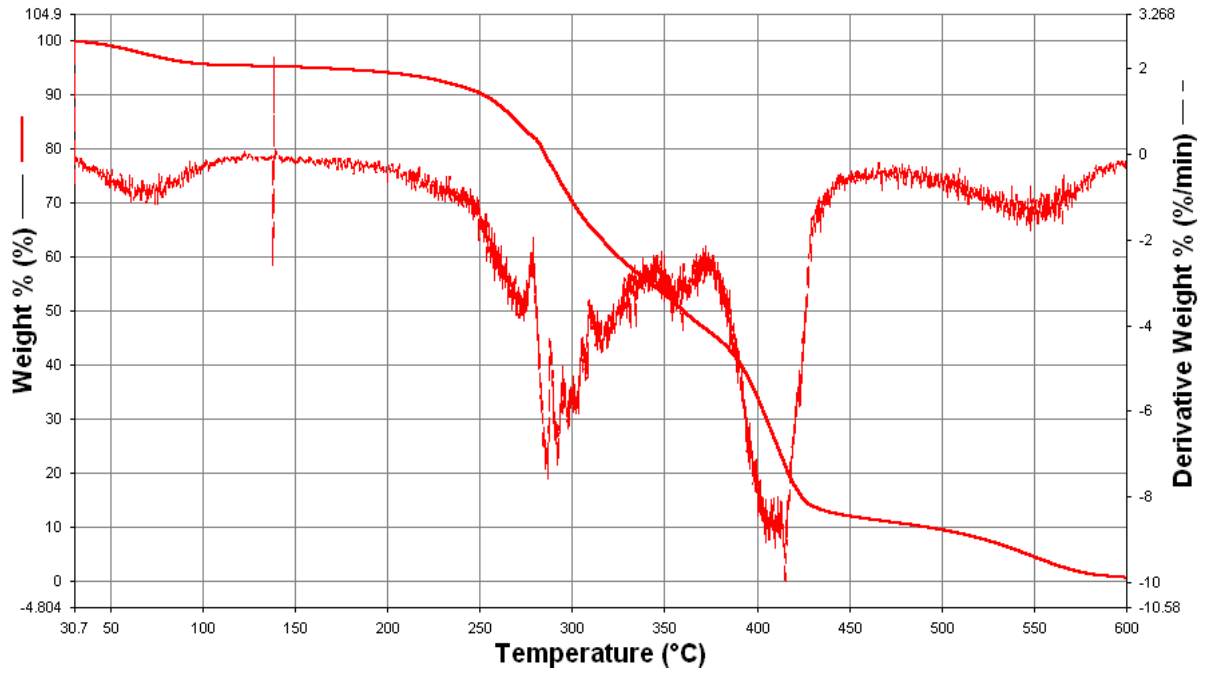
Şekil C.1 PHU-g-PNIPAM-1 graft kopolimerinin TGA eğrisi.(%Kayıp= 99.251%)



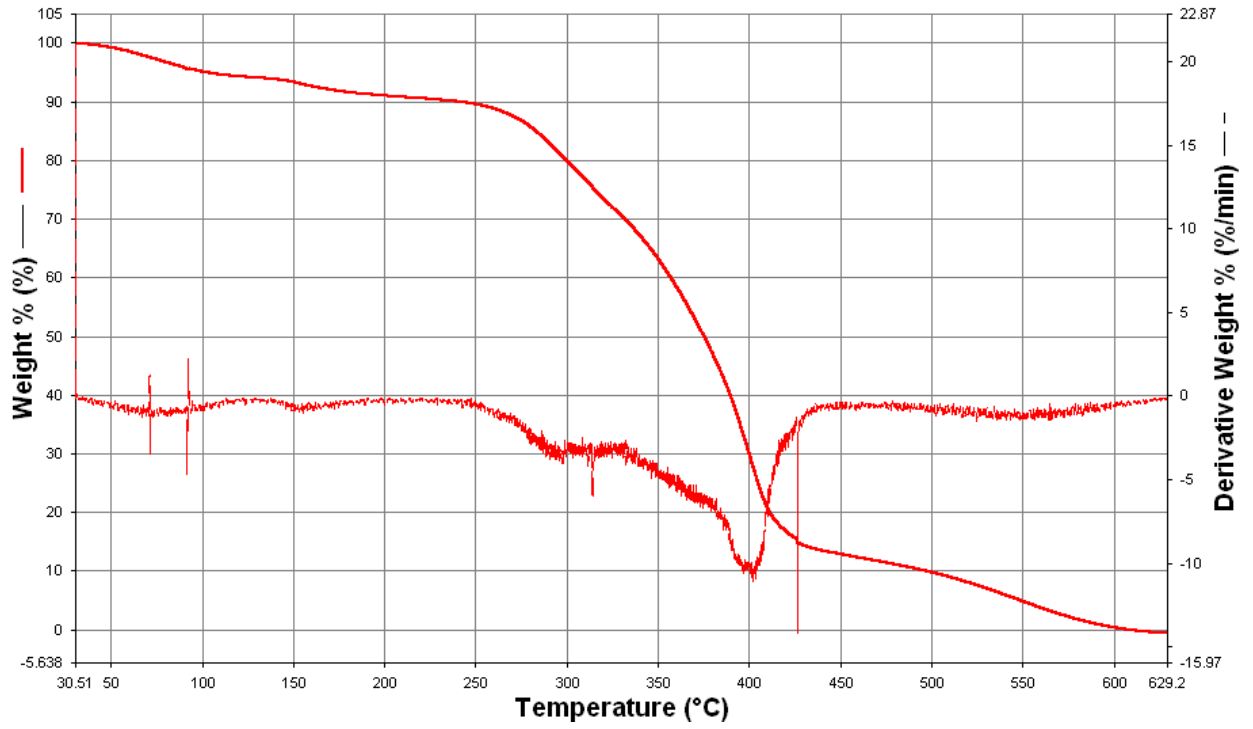
Şekil C.2 PHU-g-PNIPAM-2 graft kopolimerinin TGA eğrisi.(%Kayıp= 96.042%)



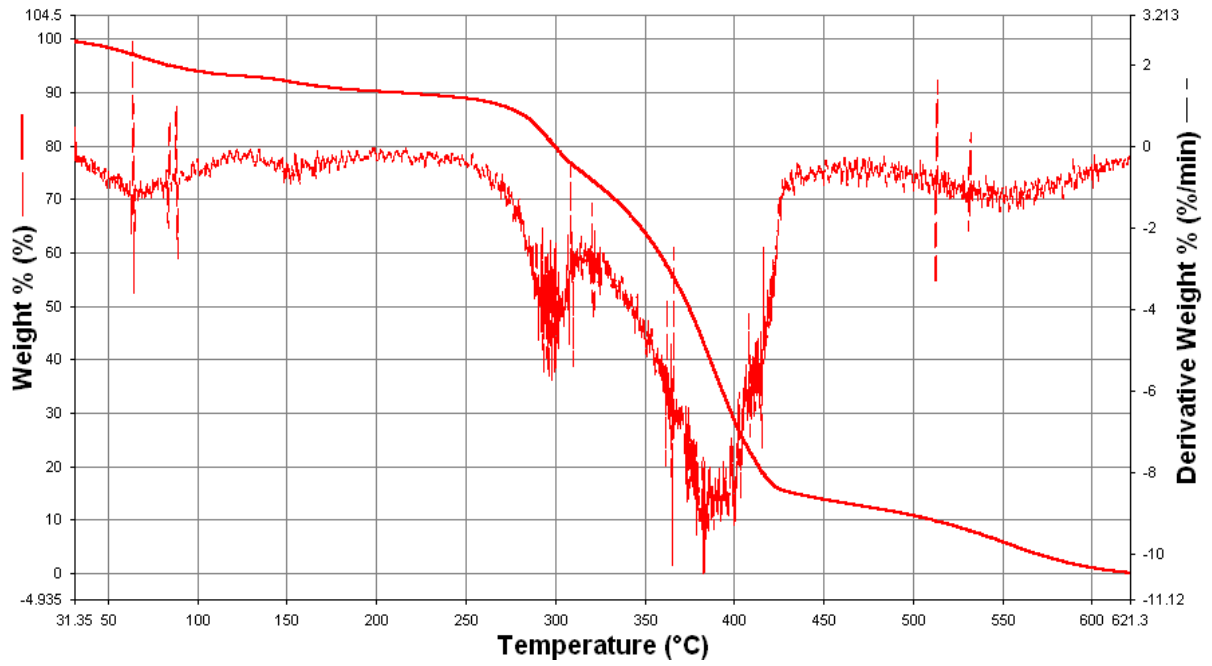
Şekil C.3 PHU-g-PNIPAM-3 graft kopolimerinin TGA eğrisi.(%Kayıp= 99.707%)



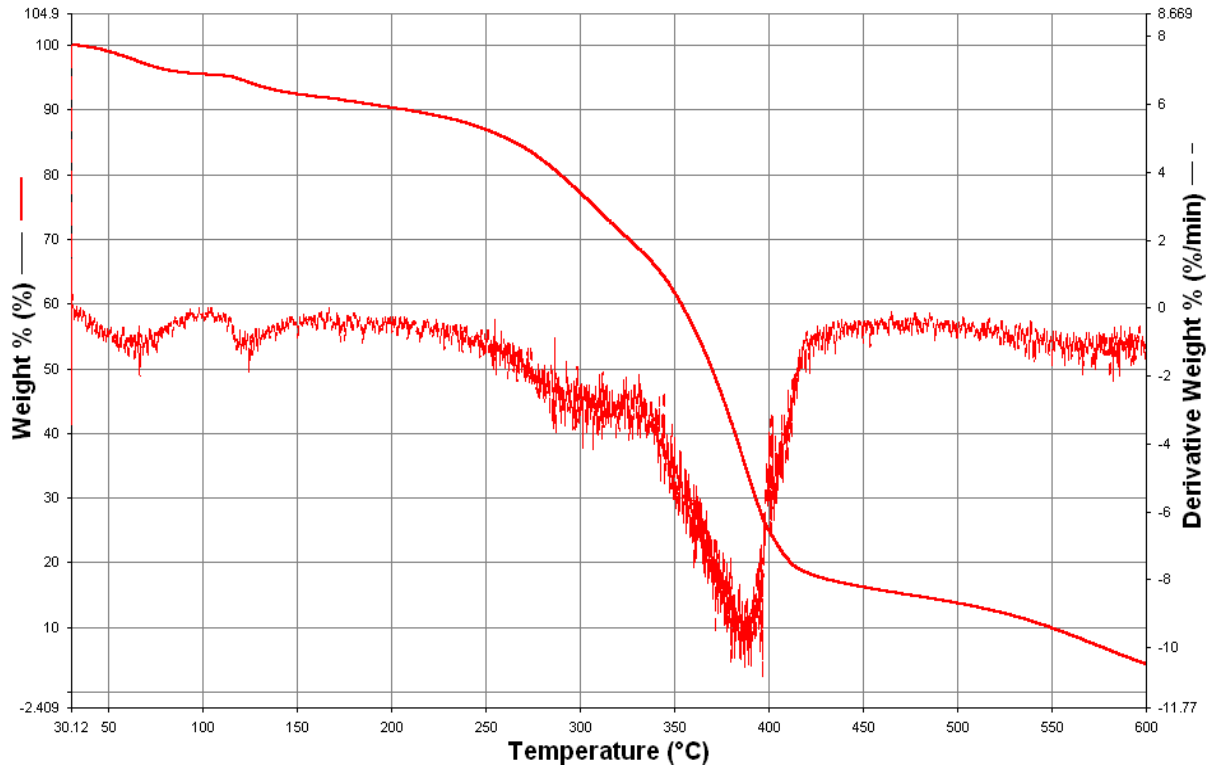
Şekil C.4 PHU-g-PNIPAM-4 graft kopolimerinin TGA eğrisi.(%Kayıp= 99.216%)



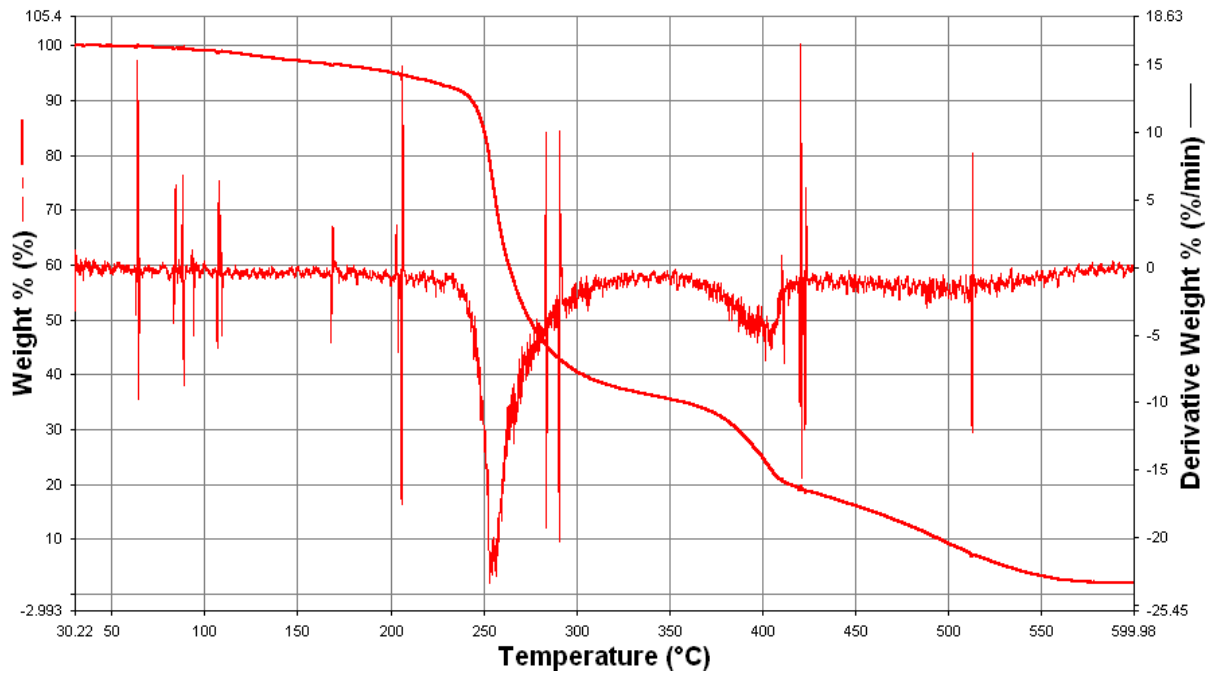
Şekil C.5 PHU-g-PNIPAM-5 graft kopolimerinin TGA eğrisi.(%Kayıp= 99.534%)



Şekil C.6 PHU-Sy-g-PNIPAM-1 graft kopolimerinin TGA eğrisi.(%Kayıp= 99.465%)

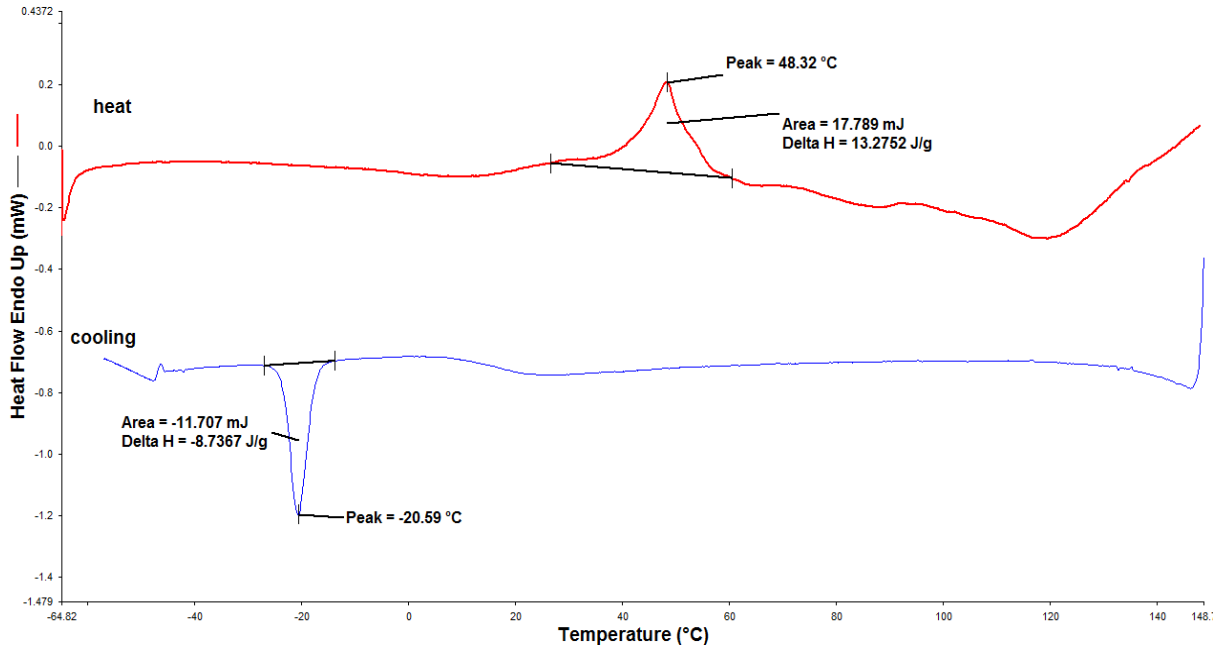


Şekil C.7 PHU-Sy-g-PNIPAM-2 graft kopolimerinin TGA eğrisi.(%Kayıp= 95.612%)

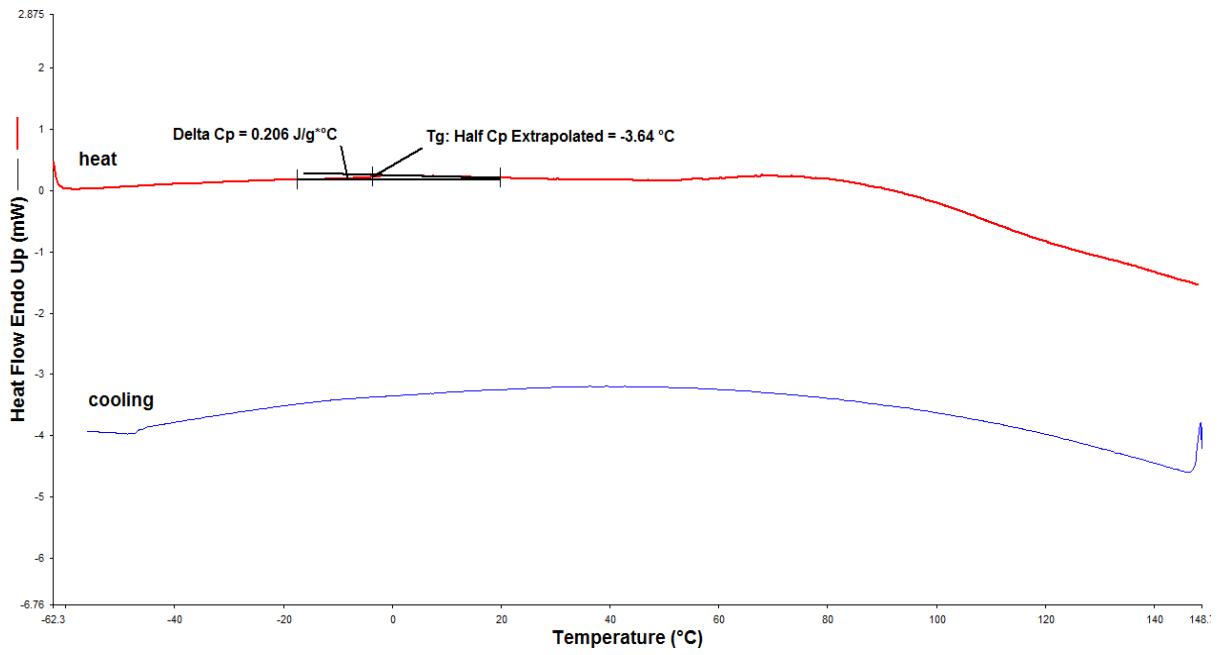


Şekil C.8 PHU-Sy-g-PNIPAM-3 graft kopolimerinin TGA eğrisi.(%Kayıp= 98.058%)

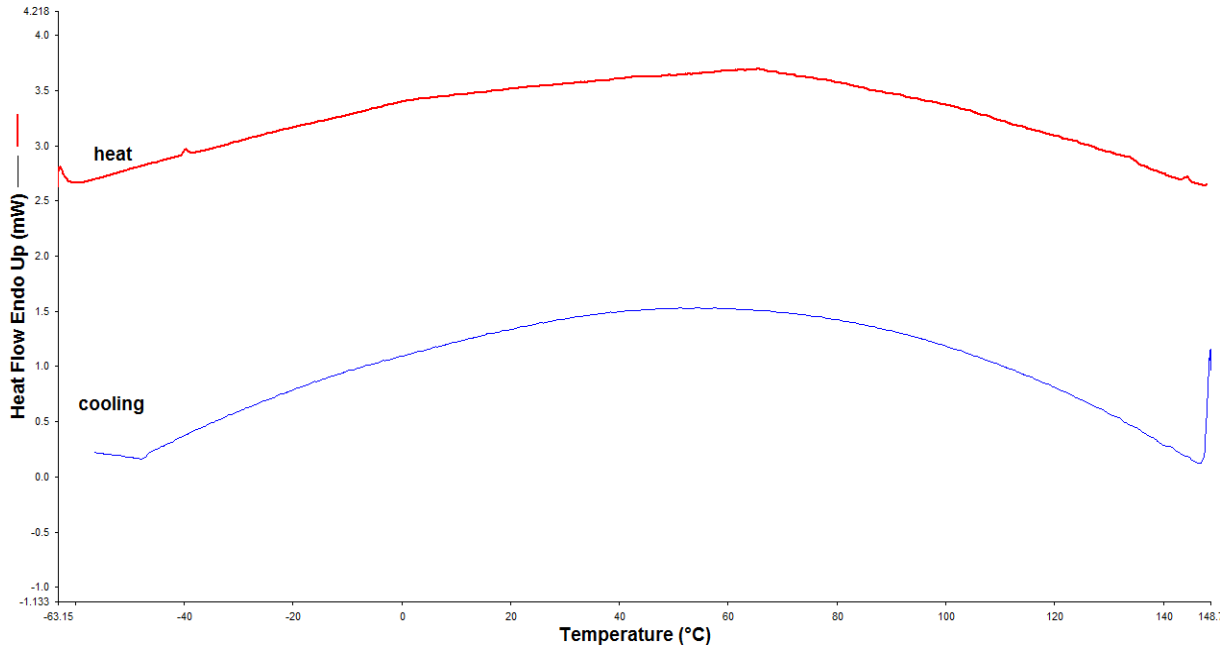
**EK AÇIKLAMALAR D
DSC TERMOGRAMLARI**



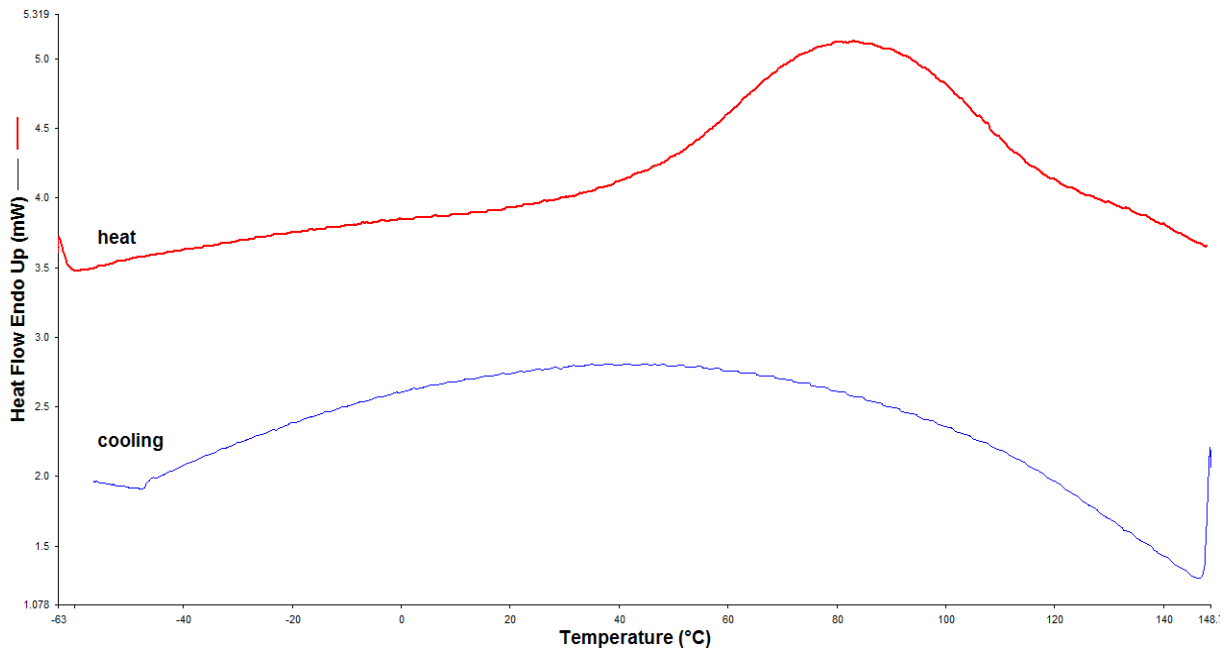
Şekil D.1 PHU-g-PNIPAM-1 graft kopolimerinin DSC termogramı.



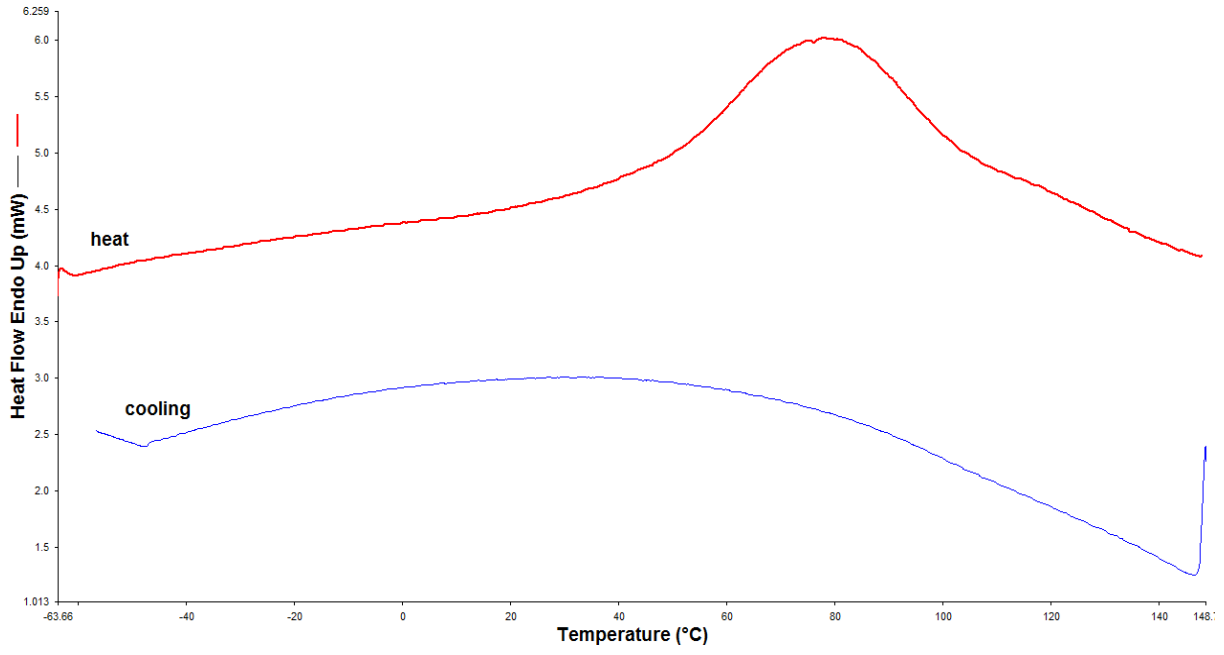
Şekil D.2 PHU-g-PNIPAM-2 graft kopolimerinin DSC termogramı.



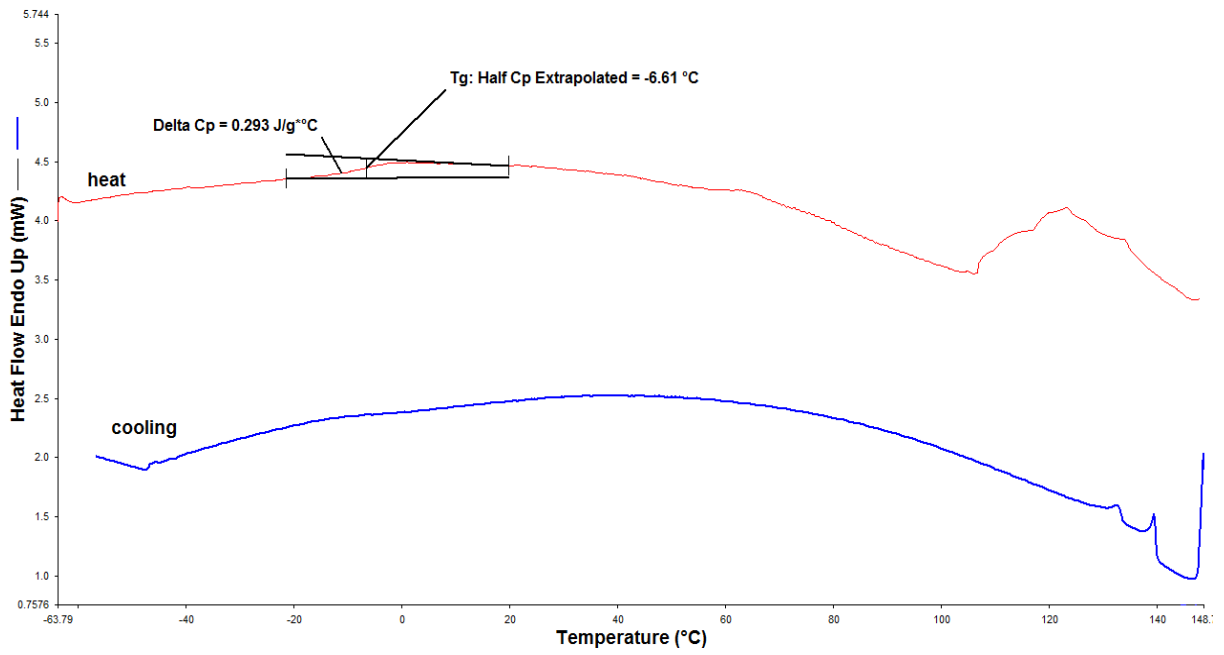
Şekil D.3 PHU-g-PNIPAM-3 graft kopolimerinin DSC termogramı.



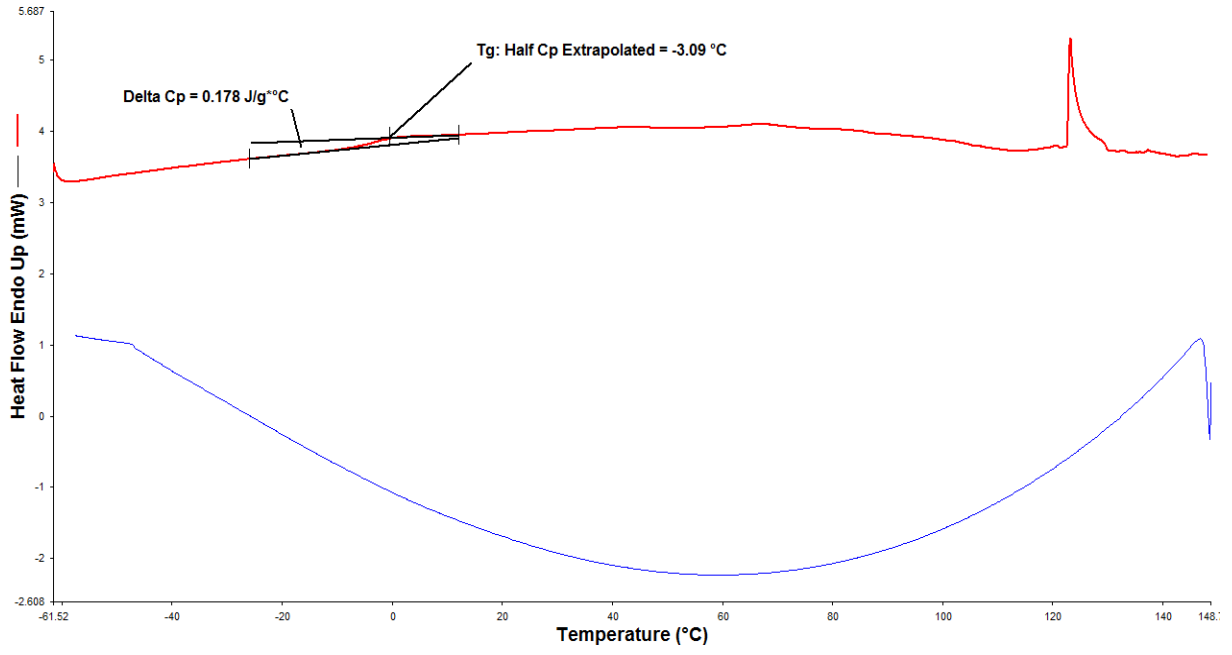
Şekil D.4 PHU-g-PNIPAM-4 graft kopolimerinin DSC termogramı.



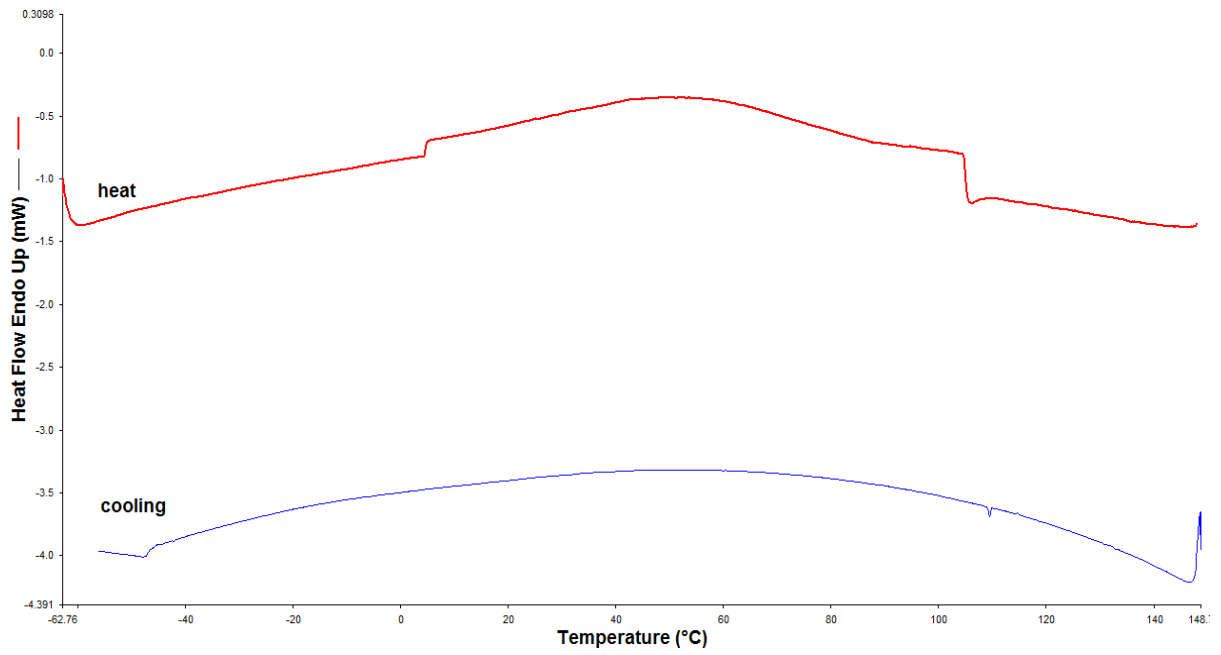
Şekil D.5 PHU-g-PNIPAM-5 graft kopolimerinin DSC termogramı.



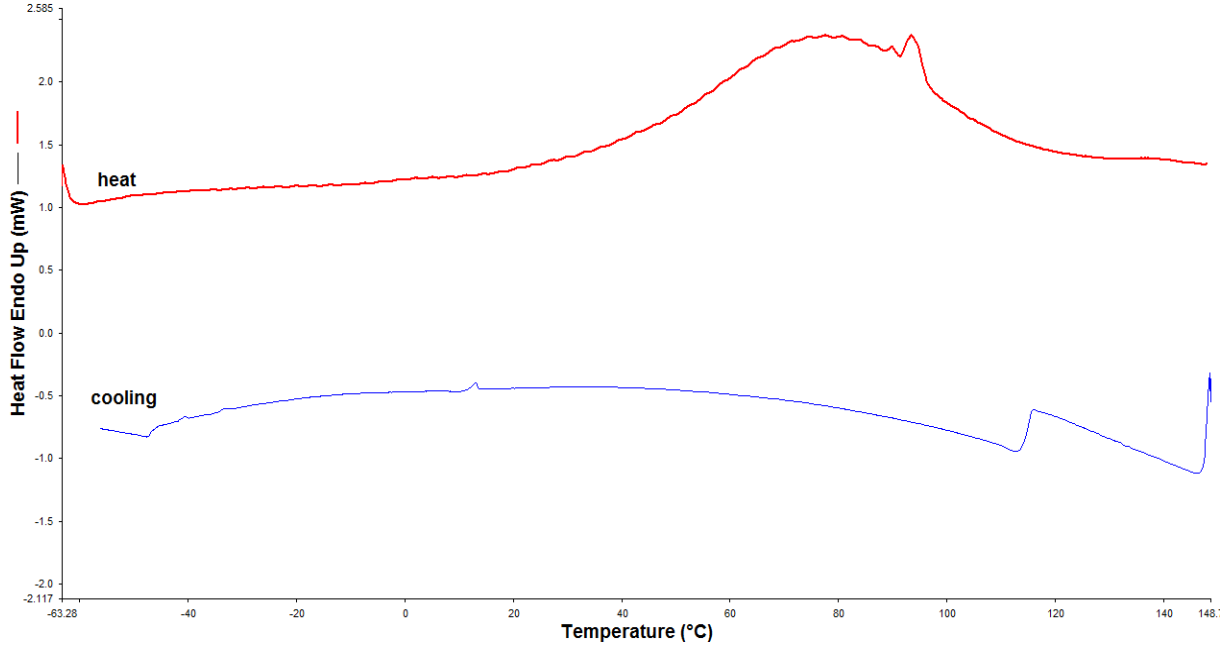
Şekil D.6 PHU-Sy-g-PNIPAM-1 graft kopolimerinin DSC termogramı.



Şekil D.7 PHU-Sy-g-PNIPAM-2 graft kopolimerinin DSC termogramı.



Şekil D.8 PHU-Sy-g-PNIPAM-3 graft kopolimerinin DSC termogramı.



Şekil D.9 PHU-Sy-g-PNIPAM-4 graft kopolimerinin DSC termogramı.

ÖZGEÇMİŞ

Tuğba TORAMAN 1987 yılında Ankara'nın Polatlı ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Ankara'nın Polatlı ilçesinde tamamladı. 2006 yılında Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nü kazanarak üniversite öğrenimine başladı. Eylül 2011 yılında Kimyager olarak mezun oldu. 2012 yılında Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans yapmaya hak kazandı. Halen aynı anabilim dalında yüksek lisans öğrenimini sürdürmektedir.

ADRES BİLGİLERİ

Adres : Şentepe mh. Mevlana cd. Mevlana apt. C Blok No:5
06900 Polatlı/ANKARA

Tel : (0507) 0617955

E-posta : tugba_trmn87@hotmail.com