

POLIMERY

CZASOPISMO POŚWIĘCONE CHEMII, TECHNOLOGII I PRZETWÓRSTWU POLIMERÓW

Synteza i analiza struktury kopolimerów kwasu mlekowego i kwasu cytrynowego^{*)}

Zbigniew Florjańczyk^{1),**)}, Agnieszka Chudzik¹⁾, Anita Frydrych¹⁾, Katarzyna Rucińska¹⁾

DOI: [dx.doi.org/10.14314/polimery.2017.335](https://doi.org/10.14314/polimery.2017.335)

*Artykuł dedykowany prof. dr. hab. inż. Tadeuszowi Spychajowi
z okazji Jubileuszu 70. rocznicy urodzin*

Streszczenie: Badano procesy kondensacji kwasów cytrynowego i mlekowego w stopie oraz metodą sprzęgania w obecności dicykloheksylokarbodiimidu. Otrzymane produkty analizowano za pomocą technik magnetycznego rezonansu jądrowego (¹H NMR), spektroskopii mas (MALDI ToF) oraz chromatografii żelowej (GPC). Wykazano, że kondensacja w stopie prowadzi na ogół do skomplikowanej mieszaniny kopolimerów oraz homopolimerów kwasu mlekowego. Połączenie obu metod pozwala natomiast otrzymać, z wysoką wydajnością, kopolimery o budowie rozgałęzionej o wagowo średnich masach molowych 9–27 kg/mol i wartościach $\bar{M}_w/\bar{M}_n = 1,3\text{--}2,0$. Metodą sprzęgania uzyskano także amfifilowe kopolimery zawierające hydrofobowy rdzeń złożony z merów kwasów cytrynowego i mlekowego oraz hydrofilowe segmenty polioksyetylenowe. Produkty te tworzą w wodzie stabilne koloidalne dyspersje o średnicach cząstek rzędu 50–500 nm.

Słowa kluczowe: kwas mlekowy, kwas cytrynowy, polimery rozgałęzione, polimery amfifilowe.

Synthesis and characterization of lactic acid – citric acid copolymers

Abstract: The processes of condensation of citric and lactic acids carried out in melt or by coupling in the presence of dicyclohexylcarbodiimide have been investigated. The obtained products were analyzed using ¹H NMR, MALDI ToF and GPC techniques. It has been shown that the condensation in melt leads generally to a complicated mixture of lactic acid copolymers and homopolymers. However, the combining of both methods allows to obtain in high yield the copolymers with branched structure, weight-average molar masses in the range 9–27 kg/mol and \bar{M}_w/\bar{M}_n values between 1.3 and 2.0. By using the coupling method, amphiphilic copolymers containing a hydrophobic core composed of citric and lactic acid monomeric units and hydrophilic polyoxyethylene segments were obtained as well. These products form stable colloidal aqueous dispersions with particle diameters ranging from 50 to 500 nm.

Keywords: lactic acid, citric acid, branched polymers, amphiphilic polymers.

¹⁾ Politechnika Warszawska, Wydział Chemiczny, ul. Noakowskiego 3, 00-664 Warszawa.

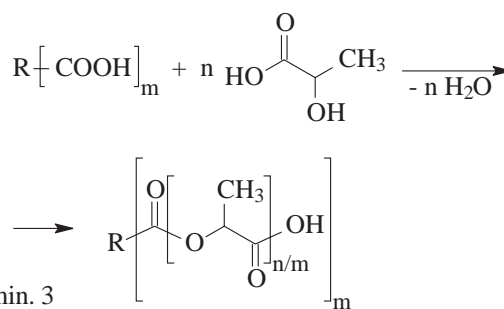
^{*)} Materiał zawarty w artykule prezentowano podczas Konferencji Pomerania-Plast 2016, która odbyła się w Międzyzdrojach w dniach 7–10 września 2016 r.

^{**)} Autor do korespondencji; e-mail: evala@ch.pw.edu.pl

Kwas mlekowy (LAc), a szczególnie jego izomer L, otrzymywany na szeroką skalę w procesach fermentacji, jest jednym z podstawowych półproduktów wykorzystywanych w syntezie wielu klas polimerów biodegradowalnych. Dzięki obecności w cząsteczce tego związku grup karboksylowej i hydroksylowej ulega on samorzutnie kondensacji, ale uzyskanie w taki sposób polimerów o dużej masie molowej jest trudne, ze względu na uboczne procesy cyklizacji prowadzące do depolimeryzacji i wydzielania laktydów – cyklicznych diestrów kwasu mlekowego. Aktywność laktydów w procesach polimeryzacji z otwarciem pierścienia powoduje, że wspomniane przemiany są wykorzystywane do otrzymywania sztywnych tworzyw termoplastycznych, wprowadzanych na rynek jako substytuty polistyrenu i poli(tereftalanu etyleny), a także materiałów biomedycznych, stosowanych do wytwarzania wyrobów o kontrolowanym czasie biodegradacji. Produkty dostępne na rynku to polimery laktydów (PLA) o różnej budowie stereochemicznej i masie molowej lub kopolimery laktydu z glikolidem i innymi monomerami heterocyklicznymi. W ostatnich dwóch dekadach ważny kierunek badań nad nowymi polimerami laktydów stanowi synteza i charakterystyka makrocząstek o strukturze rozgałęzionej [1]. Takie pochodne charakteryzują się znacznie mniejszą lepkością w stopie niż ich liniowe analogi o podobnej masie molowej oraz większą ilością reaktywnych grup końcowych, które można wykorzystać do dalszej chemicznej modyfikacji tych produktów, na przykład do przyłączenia substancji bioaktywnych. Bardzo interesującą cechą rozgałęzionych odmian PLA zbudowanych z merów o tej samej konfiguracji jest ich duża skłonność do tworzenia krystalicznych stereokompleksów z rozgałęzionymi lub liniowymi odmianami o przeciwnej konfiguracji merów. Dzięki temu w istotnym stopniu można poprawić stabilność termiczną PLA, a także wpłynąć na sposób ich samoorganizacji w domeny mikro- i nanostrukturalne [2, 3].

Klasyczna metoda syntezy rozgałęzionych odmian polilaktydu polega na katalitycznej polimeryzacji laktydu w obecności wielofunkcyjnych związków zawierających grupy hydroksylowe lub aminowe, które w reakcji z monomerem tworzą grupy hydroksylowe. W wyniku reakcji tych grup z katalizatorem powstają alkoholowe centra aktywne, na których rosną łańcuchy PLA [1, 4–6]. W literaturze opisano także kilka przykładów syntezy rozgałęzionych polimerów w reakcjach kondensacji kwasu mlekowego, prowadzonych w obecności związków wielofunkcyjnych zawierających reaktywne grupy karboksylowe [7–9] (schemat A).

Chociaż procesy te nie są w pełni selektywne i końcowe produkty są zwykle zanieczyszczone pewną ilością oligomerów o budowie liniowej, to ze względów praktycznych wydają się być atrakcyjne, gdyż izomery kwasu mlekowego są dużo tańsze niż otrzymywane z nich laktydy. Polimery zakończone grupami karboksylowymi charakteryzują się znacznie większymi szybkościami biodegradacji niż ich analogi zakończone grupami hydroksylowymi i, jak wynika z badań prowadzonych przez Abiko i współpr. [8], w wy-



Schemat A

padku polimerów rozgałęzionych szybkość rozkładu można efektywnie kontrolować na drodze doboru odpowiedniej ilości ramion. Stwarza to możliwość opracowania nowego typu matryc stosowanych jako nośniki leków. W naszych wcześniejszych pracach [9–11] pokazaliśmy, że do grup karboksylowych można też stosunkowo łatwo dobudować dodatkowe segmenty, pozwalające na zmodyfikowanie szybkości biodegradacji, a także szeregu cech fizykochemicznych tych produktów, takich jak temperatura zeszczenia oraz zdolność do krystalizacji lub do tworzenia stabilnych dyspersji koloidalnych w wodzie. Jako skuteczne czynniki rozgałęziające stosowano dotychczas związki wielokarboksylowe pochodzenia petrochemicznego. W niniejszej pracy przedstawiamy wyniki badań nad polimerami rozgałęzionymi otrzymywanymi w wyniku kopolikondensacji kwasu mlekowego z kwasem cytrynowym (CAc) – szeroko rozpowszechnionym w przyrodzie i stanowiącym produkt przejściowy w cyklu Krebsa. W jedynej, jak dotąd, opublikowanej pracy na temat kopolikondensacji tych związków [12] autorzy doszli do wniosku, że to bardzo selektywny proces, prowadzący do powstania oligomerów o budowie liniowej, w których mery kwasu mlekowego są połączone tylko z jedną z trzech obecnych w cząsteczce kwasu cytrynowego grup karboksylowych. Uzyskane przez nas wyniki wskazują, że dobierając odpowiednio warunki prowadzenia procesu można otrzymać produkty o bardzo zróżnicowanej budowie, w tym także polimery o strukturze rozgałęzionej.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Materiały

Do syntezy wyjściowych oligomerów stosowano 85 % wodny roztwór kwasu L-mlekowego (Sigma Aldrich) lub 80 % roztwór kwasu D-mlekowego (Avison) oraz kwas cytrynowy w postaci stałej (ACS reagent, ≥ 99 %, Sigma Aldrich). W reakcjach sprzęgania użyto eter monometylowy poli(glikolu oksyetylenowego) o $\bar{M}_n = 2$ kg/mol (Sigma Aldrich), *N,N'*-dicykloheksylokarbodiimid (DCC, ≥ 99 %, Sigma Aldrich) oraz 4-dimetyloaminopirydynę (DMAP, ≥ 99 %, Sigma Aldrich). Rozpuszczalniki stosowane w tej reakcji: tetrahydrofuran (THF, cz.d.a., POCh) oraz chlorek metylenu (cz.d.a., Chem-pur) oczyszczano metodą wygrzewania w atmosferze azotu w obecności, odpowiednio, mieszaniny metalicznego potasu z benzofenonem lub wodorku wapnia. Pozostałe rozpuszczalniki i odczynniki użyto bez oczyszczania.

Kondensacja w stopie

Reakcje kondensacji w stopie prowadzono w temp. 150 lub 190 °C przez 10–16 h, w atmosferze azotu, obniżając stopniowo ciśnienie od atmosferycznego do 0,02 MPa. W czasie reakcji pobierano próbki do analizy składu mieszaniny reakcyjnej metodą spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (^1H NMR) oraz do oznaczenia mas molowych techniką chromatografii żelowej (GPC). W wypadku wybranych próbek określano też liczbę kwasową oraz rejestrowano widma masowe metodą MALDI ToF. Końcowe produkty kondensacji poddawano frakcjonowaniu w wyniku rozpuszczania w acetonie i wytrącania przy użyciu wody lub rozpuszczania w chlorku metylenu i wytrącania przy użyciu metanolu.

Sprzężanie metodą estyfikacji Steglicha

Reakcje łączenia oligomerów kwasu mlekowego w większe struktury realizowano w temperaturze pokojowej w ciągu 24 h. Przed syntezą reagenty suszono w suszarce próżniowej, następnie rozpuszczano je w chlorku metylenu bądź tetrahydrofuranie i postępowano według procedur opisanych przez Neisesa i Steglicha [13]. W reakcji grup hydroksylowych i karboksylowych wykorzystano *N,N'*-dicykloheksylokarbodiimid oraz 4-dimetyloaminopirydynę w stosunku molowym do PLA równym 1:4,5:0,45. Ilość eteru monometylowego poli(glikolu oksyetylenowego) podlegała zmianom. Produkty poddano analizie ^1H NMR oraz GPC, a wybrane próbki dodatkowo zbadano metodami spektrometrii MALDI ToF i dynamicznego rozproszenia światła (DLS).

Metody badań

GPC – chromatografię żelową z detekcją współczynnika załamania światła wykorzystano do oznaczania mas względnych w stosunku do standardów polistyrenowych.

Pomiary prowadzono za pomocą chromatografu Viscotek TDA 305 Triple detector array GPCmax, wyposażonego w dwie kolumny żelowe DVB Jordi o charakterystyce liniowej (100–10 000 000 Da), pompę izokratyczną (1 cm³/min), detektor refraktometryczny SFD RI 2000F oraz degazer Degasys DG-2410. Temperatura pomiaru wynosiła 30 °C, a jako eluent wykorzystano chlorek metylenu.

^1H NMR – widma magnetycznego rezonansu jądrowego zsyntetyzowanych kopolimerów rejestrowano za pomocą spektrometru Varian Merkury (^1H NMR – 500 MHz). Próbki analizowano w temperaturze pokojowej po rozpuszczeniu ich w rozpuszczalniku deuterowanym.

MALDI ToF – widma masowe, metodą spektrometrii mas z analizatorem czasu przelotu, rejestrowano za pomocą spektrometru masowego UltrafleXtreme firmy Bruker Daltonics. Do pomiarów stosowano matrycę HABA 6-15.

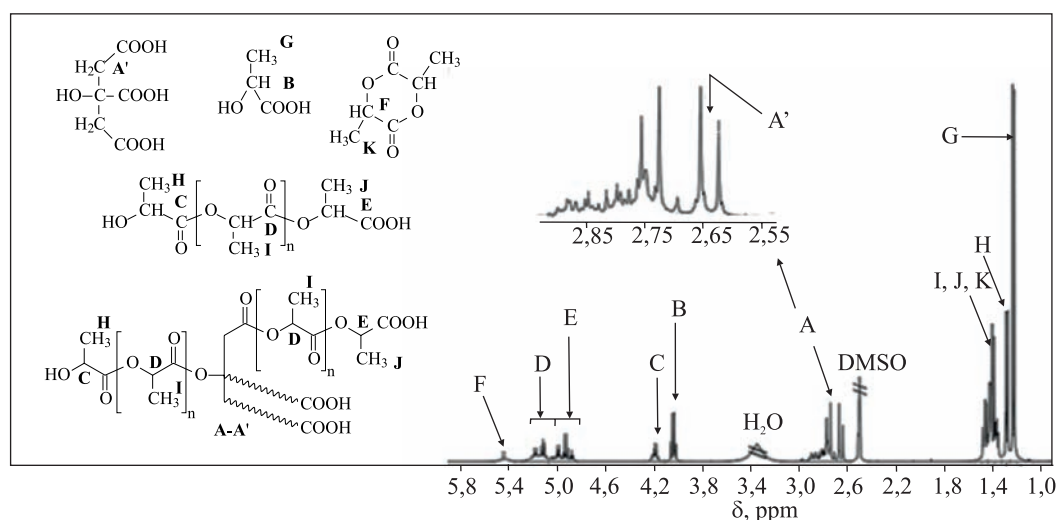
DLS – metodą dynamicznego rozpraszania światła przy użyciu analizatora Malvern Zetasizer Nano ZS analizowano wielkość cząstek otrzymanych produktów.

LK – liczbę kwasową określano według PN-EN ISO 2114:2005.

DSC – różnicową kalorymetrię skaningową wykonano za pomocą różnicowego kalorymetru skaningowego DSC Q200 V24.2 Build 107, z szybkością grzania 10 °C/min i 20 °C/min oraz szybkością chłodzenia 20 °C/min.

WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

Pierwsze próby kopolikondensacji przeprowadzono w temp. 150 °C i przy stosunku molowym CAc/LAc równym 4/1. Postęp reakcji oceniano na podstawie analizy widm ^1H NMR mieszaniny reakcyjnej. Rysunek 1 przedstawia przykładowe widmo z obserwowanymi sygnałami przypisanymi do struktur reagentów i produktów. Sygnały te można podzielić na trzy podstawowe grupy: dublety pochodzące od grup metylowych w kwasie mlekowym i merach tego kwasu (w zakresie $\delta = 1,1\text{--}1,5$ ppm), kwartety pochodzące od protonów grupy metinowej



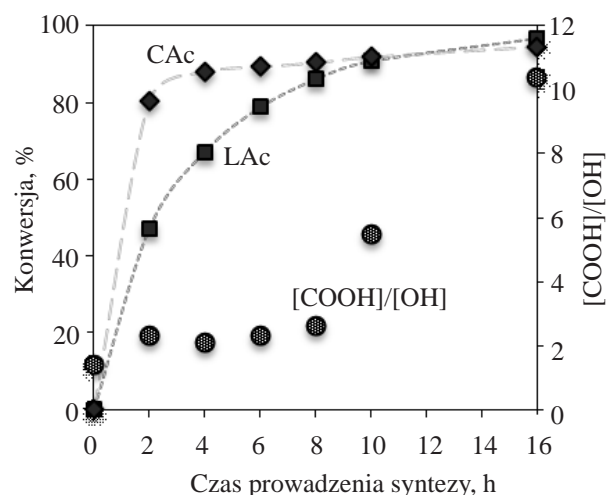
Rys. 1. Przykładowe widmo ^1H NMR żywicy o dużej zawartości merów kwasu cytrynowego
Fig. 1. Example of ^1H NMR spectra of polyester resin with high content of citric acid units

w tych strukturach (w zakresie $\delta = 4,8\text{--}5,4$ ppm) oraz multiplety charakterystyczne dla grup metylenowych w kwasie cytrynowym i jego merach (w zakresie $\delta = 2,6\text{--}2,9$ ppm).

Wiele z tych sygnałów nakłada się na siebie, jednak część z nich jest wystarczająco dobrze rozdzielona i może być wykorzystana do analizy ilościowej. Ilość wolnych kwasów oszacowano na podstawie względnej intensywności sygnałów A i B, a stosunek końcowych grup karboksylowych i hydroksylowych w produktach na podstawie względnej intensywności sygnałów C i E.

Po upływie pierwszych 2 godzin reakcji konwersja CAc i LAc wynosiła, odpowiednio, ok. 80 % i 60 %, a po zakończeniu syntezy osiągnęła wartości rzędu 95–97 % (rys. 2).

Zgodnie z oczekiwaniem w powstających produktach większość segmentów kwasu mlekowego była zakończona grupami karboksylowymi. Stosunek molowy końcowych grup karboksylowych do hydroksylowych w ciągu pierwszych ośmiu godzin reakcji wynosił 2,1–2,6 i wyraźnie się zwiększał na końcowych etapach reakcji (por. rys. 2). Przyjmując bardzo prawdopodobne założenie, że grupa hydroksylowa zlokalizowana przy czwartorzędowym atomie węgla w cząsteczce kwasu cytrynowego wykazuje niewielką aktywność w procesie polikondensacji, można przypuszczać, że hydroksylowe grupy końcowe występują głównie w oligomerach kwasu mlekowego, natomiast segmenty zakończone grupami karboksylowymi – zarówno w homopolimerach, jak i w kopolimerach. Na tej podstawie można oszacować, że na początkowych etapach reakcji w kopolimerach występuje 50–60 % mol merów kwasu mlekowego, a na końcowym etapie – ponad 90 % mol, gdyż liniowe oligomery są sukcesywnie dobudowywane do cząsteczek kopolimeru. Na podstawie stosunku intensywności sygnałów charakterystycznych dla merów zakończonych grupami



Rys. 2. Zależność konwersji kwasu cytrynowego i kwasu mlekowego oraz stosunku końcowych grup karboksylowych do końcowych grup hydroksylowych od czasu prowadzenia syntezy (warunki reakcji: stosunek molowy LAc/CAc = 4/1, temp. 150 °C)
Fig. 2. Time dependance of citric acid conversion, lactic acid conversion and the ratio of carboxyl to hydroxyl end groups (reaction conditions: mole ratio LAc/CAc = 4/1, temp. 150 °C)

karboksylowymi do intensywności sygnałów wszystkich merów kwasu mlekowego można też orientacyjnie oszacować średni stopień polikondensacji kwasu mlekowego. Wartość ta nie zmieniała się istotnie w czasie procesu i mieściła się w granicach 2,0–2,5. Oznacza to, że w otrzymanych kopolimerach część grup karboksylowych w merach kwasu cytrynowego nie brała udziału w kopolikondensacji z kwasem mlekowym (w warunkach czterokrotnego nadmiaru kwasu mlekowego i pełnego przereagowania trzech grup karboksylowych kwasu cytrynowego średnia długość segmentu kwasu mlekowego powinna wynosić 4/3). Można więc przyjąć, że w takich

T a b e l a 1. Charakterystyka produktów polikondensacji kwasu mlekowego w obecności kwasu cytrynowego (w stosunku LAc/CAc równym 20/1 i temp. 190 °C)

T a b l e 1. Characteristics of the products of lactic acid and citric acid (in a molar ratio 20/1) polycondensation at 190 °C

Czas polikondensacji	¹ H NMR		GPC ^{a)}			LK		
	[COOH]/[OH]	\overline{DP}	\overline{M}_n , kg/mol	\overline{M}_w , kg/mol	$\overline{M}_w/\overline{M}_n$	LK mg KOH/g	LK (n-OLA) ^{b)} mg KOH/g	LK (OLA rozg.) ^{b)} mg KOH/g
po 4 h	1,1	2,5	1,2	1,7	1,4	157	45	136
po 8 h	2,6	4,3	1,3	1,9	1,5	137	44	135
po 10 h	3,5	4,8	1,8	2,9	1,6	107	30	93
po wytrąceniu przy użyciu wody	3,6	8,6	2,0	3,1	1,5	49	28	82

^{a)} Wyznaczane względem standardów polistyrenowych.

^{b)} Teoretyczne wartości liczby kwasowej obliczono na podstawie liczbowo średniej masy molowej wyznaczonej metodą żelowej chromatografii wykluczeniowej, LK (n-OLA) dla polimeru liniowego, LK (OLA rozg.) dla gwiazdy trójramiennej.

^{a)} Determined relative to polystyrene standards.

^{b)} Theoretical acid number values were calculated on the basis of number-average molar mass using GPC, LK (n-OLA) for linear polymer, LK (OLA rozg.) for three-arm star.

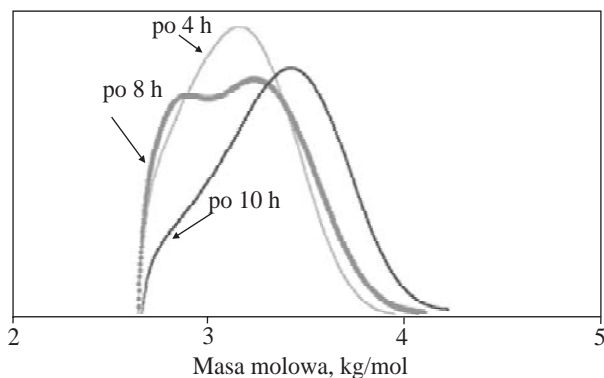
warunkach powstają głównie kopolimery o budowie liniowej. Prawdopodobnie powstają one w wyniku reakcji grup karboksylowych zlokalizowanych przy terminalnych grupach metylenowych w cząsteczce kwasu cytrynowego, ze względów sterycznych bardziej reaktywnych niż grupa karboksylowa połączona z centralnym czwartorzędowym atomem węgla. Po rozpuszczeniu produktów w acetonie i wytrąceniu ich przy użyciu wody można, z niewielką wydajnością, otrzymać frakcję, w której średnia liczba merów kwasu mlekowego przyłączonych do jednej grupy karboksylowej wynosi cztery, co odpowiada liczbowo średniej masie molowej (\overline{M}_n) równej ok. 1 kg/mol, podczas gdy wartość \overline{M}_n surowego produktu wynosi ok. 0,6 kg/mol. Wagowo średnie masy molowe (\overline{M}_w) produktów kopolikondensacji, wyznaczone metodą GPC, mieszczą się w granicach 1,0–1,4 (dla frakcji wytrąconej 2,0 kg/mol), a wartości $\overline{M}_w/\overline{M}_n$ nie przekraczają 1,2.

W celu zwiększenia stopnia polikondensacji kwasu mlekowego kolejne reakcje prowadzono w temp. 190 °C w warunkach dwudziestokrotnego nadmiaru tego monomeru. Już po ośmiu godzinach kwas cytrynowy ulegał praktycznie całkowitej konwersji, a konwersja kwasu mlekowego wynosiła ok. 99 % (tabela 1).

Z upływem czasu zwiększa się nadmiar końcowych grup karboksylowych w powstających produktach. Początkowo stosunek molowy końcowych grup karboksylowych do hydroksylowych wynosił ok. 1,1, a po 10 godzinach zwiększył się do wartości 3,5. Można więc sądzić, że w początkowym okresie w układzie występują głównie homopolimery kwasu mlekowego i dopiero z upływem czasu są one dobudowywane do merów kwasu cytrynowego. Po 10 godzinach co najmniej 70 % obecnych w układzie merów kwasu mlekowego występuje w kopolimerach.

Na taki przebieg reakcji wskazują też krzywe GPC (rys. 3) próbek produktów pobieranych w trakcie reakcji.

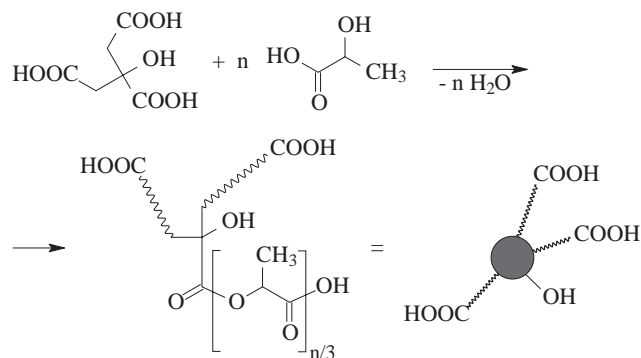
Po czterech godzinach krzywa ta ma charakter zbliżony do monomodalnego, po ośmiu widać wyraźnie obecność dwóch frakcji, a po dziesięciu w układzie dominu-



Rys. 3. Krzywe rozkładu mas molowych produktów kondensacji LAc z CAc (warunki reakcji: stosunek molowy LAc/CAC = 20/1, temp. 190 °C)

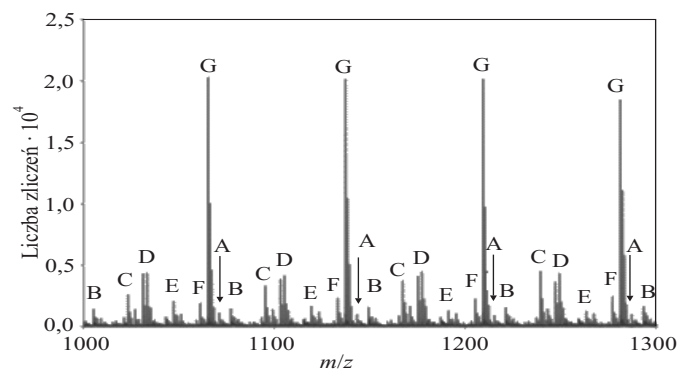
Fig. 3. GPC molar mass distribution profiles of the products of condensation reaction between LAc and CAC (reaction conditions: LAc/CAC molar ratio = 20/1, temp. 190 °C)

ją makrocząsteczki o większych masach molowych, lecz obecne jest też charakterystyczne przegięcie świadczące o obecności populacji o wyraźnie mniejszej masie molowej. Wyznaczona wartość \overline{M}_w finalnego produktu wynosiła ok. 2,9 kg/mol, a współczynnik dyspersji 1,6. W tym wypadku oczyszczanie produktu metodą rozpuszczania w acetonie i wytrącania przy użyciu wody powoduje nieznaczne zwiększenie wartości \overline{M}_w (3,1 kg/mol) i niewielkie zmniejszenie współczynnika dyspersji (1,5). Z analizy widm $^1\text{H NMR}$ wynika, że wraz z upływem czasu systematycznie rośnie średnia długość segmentów kwasu mlekowego w kopolimerach i homopolimerach, i po dziesięciu godzinach osiąga wartość ok. 4,8. Wartość ta sugeruje, że w wyniku przebiegających reakcji powstają kopolimery o rozgałęzionej budowie. W wypadku połączenia 70 % merów kwasu mlekowego z merem kwasu cytrynowego i wykorzystania jedynie dwóch grup karboksylowych w merach CAC średnia długość bloku LAC powinna wynosić 7,0, natomiast wykorzystanie trzech grup funkcyjnych prowadzi do bloku o długości 4,7 (schemat B).



Schemat B

Na obecność struktur rozgałęzionych wskazują również wartości liczb kwasowych produktów, zbliżone do wartości teoretycznych, obliczonych na podstawie danych uzyskanych w GPC dla trójramiennych kopolimerów o liczbowo średnich masach molowych 1,2–1,8 kg/mol (tabela 1).



Rys. 4. Fragment widma masowego MALDI ToF produktów kondensacji LAc z CAc (warunki reakcji: stosunek molowy LAc/CAC = 20/1, temp. 190 °C)

Fig. 4. Fragment of the MALDI ToF mass spectrum of the products of condensation reaction between LAc and CAC (reaction conditions: LAc/CAC molar ratio = 20/1, temp. 190 °C)