

Высокомолекулярные соединения

Серия А

ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ, Серия А, 2013, том 55, № 7, с. 775–786

СТРУКТУРА
И СВОЙСТВА

УДК 541.64:542.954

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ РАЗЛИЧНОГО ХИМИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ¹

© 2013 г. Т. Г. Волова*, **, Н. О. Жила*, **, Е. И. Шишацкая*, **, П. В. Миронов***, А. Д. Васильев****, А. Г. Суковатый*, А. J. Sinskey*, *****

* Институт биофизики Сибирского отделения Российской академии наук
660036 Красноярск, Академгородок, 50, стр. 50

** Сибирский федеральный университет Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
660041 Красноярск, Свободный пр., 79

*** Сибирский государственный технологический университет
660049 Красноярск, Мира пр. 82

**** Институт физики им. Л.В. Киренского Сибирского отделения Российской академии наук
660036 Красноярск, Академгородок, 50, стр. 38

***** Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Massachusetts, USA

Поступила в редакцию 05.12.2012 г.

Принята в печать 24.12.2012 г.

Синтезирован ряд полигидроксиалканоев и проведено сравнительное исследование их физико-химических свойств. Не обнаружено зависимости величины молекулярной массы и полидисперсности полигидроксиалканоев от их химического строения. Показано, что на температурные характеристики и степень кристалличности полигидроксиалканоев влияют химический состав мономеров и их количественное содержание в полимере. Включение в цепь поли(3-гидроксибутирата) звеньев 4-гидроксибутирата, 3-гидроксиивалерата или 3-гидроксиивексаноата понижает температуры плавления и термической деградациии относительно этих величин у гомогенного поли(3-гидроксибутирата) ($175 \pm 5^\circ\text{C}$ и $275 \pm 5^\circ\text{C}$ соответственно). Эти изменения тем более значительны, чем выше содержание в цепи поли(3-гидроксибутирата) звеньев второго мономера. Степень кристалличности сополимерных полигидроксиалканоев в целом ниже, чем у поли(3-гидроксибутирата) ($75 \pm 5\%$). Выраженность влияния на соотношение аморфной и кристаллических фаз у сополимерных образцов усиливается в ряду 3-гидроксиивалерат-3-гидроксиивексаноат-4-гидроксибутират. Получены образцы с различными свойствами: от жестких термопластов до конструкционных эластомеров.

DOI: 10.7868/S0507547513070210

Полимеры гидроксипроизводных алкановых кислот – полигидроксиалканоев (ПГА), синтезируемые природными и генетически модифицированными организмами, по ряду физико-химических свойств сходны с синтетическими полимерами (ПП, ПЭ). Линейная структура молекул

ПГА придает им свойство термопластичности. Помимо термопластичности эти полимеры обладают оптической активностью, антиоксидантными свойствами, пьезоэлектрическим эффектом и, самое главное, характеризуются биоразрушаемостью и биосовместимостью. Совокупность свойств, характерных для ПГА, делает их перспективными для применения в различных сферах [1]. На базе семейства полимеров этого класса имеется принципиальная возможность получения спектра материалов с различными физико-механическими свойствами – от жестких термопластов до конструкционных эластомеров [2, 3]. В зависимости от строения С-цепи ПГА подразделяются на три группы: короткоцепочечные, об-

¹ Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Правительства Российской Федерации для государственной поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих ученых в российских образовательных учреждениях высшего профессионального образования (Постановление Правительства Российской Федерации № 220, проект “Биотехнологии новых биоматериалов”) и гранта Президента Российской Федерации для поддержки молодых докторов наук MD-3112.2012.4.

E-mail: volova45@mail.ru (Волова Татьяна Григорьевна).

разованные мономерами с длиной С-цепи от C_3 до C_5 ; среднецепочечные (C_6 – C_{14}) и длинноцепочечные (C_{17} и выше) [4, 5]. Наиболее изученный представитель семейства ПГА – гомополимер 3-гидроксимасляной кислоты – поли(3-гидроксипропаной) (ПЗГБ) – высококристаллический термопласт (степень кристалличности свыше 70%). Недостатком ПЗГБ является то, что он не кристаллизуется упорядоченно, его весьма сложно перерабатывать в изделия, которые характеризуются низкой ударной прочностью, жесткостью и “старятся” во времени [6]. Сополимерные ПГА различного химического состава более перспективны, однако их получение – весьма сложная технологическая задача, решение которой невозможно без фундаментальных знаний о закономерностях структурно-функциональной организации клеточного цикла ПГА и характера зависимости физико-химических свойств полимеров от химического состава.

Несмотря на актуальность исследований ПГА, нельзя не отметить, что из представительного спектра идентифицированных полимеров этого класса (свыше 150) активно исследуют всего несколько коротко- и среднецепочечных полимеров. Имеющиеся результаты о влиянии химического состава на базовые свойства полимеров далеки от исчерпывающей картины. Дело в том, что глубоких работ, посвященных исследованию свойств сополимерных ПГА с использованием современных физико-химических методов, несмотря на поток публикаций по ПГА в целом, немного, и они достаточно противоречивы. Анализ работ по физико-химическим свойствам ПГА различного химического состава показал отсутствие многих важных данных. Кроме того, опубликованные сведения по влиянию состава ПГА на молекулярную массу полимеров, степень кристалличности, температурные характеристики у разных авторов имеют существенные отличия даже при описании образцов близкого химического состава [3, 7]. Это происходит по разным причинам. Так, на величину молекулярной массы влияет как тип микроорганизма – продуцента, так и условия культивирования и метод экстракции полимера. Разброс литературных данных по молекулярной массе гомополимера ПЗГБ составляет до двух порядков. Минимальная среднечисленная молекулярная масса $M_n = 58 \times 10^3$ показана для *Comamonas acidovorans* [8], а максимальная $M_n = 1580 \times 10^3$ – для рекомбинантного штамма *Ralstonia eutropha* РНВ-4 [9]. Разброс данных по величине M_n для сополимера ЗГБ с 4-гидроксипропаной (4ГБ) с одинаковым соотношением звеньев мономеров также значительно варьирует: например, для M_n образцов с содержанием 4ГБ порядка 23–24 мол. % приводятся значения от 104 до 590 кДа в работах [10] и [11] соответственно. Аналогичный разброс

характерен для величины M_n у сополимеров ЗГБ с 3-гидроксивалератом (ЗГВ) и с 3-гидроксигексаноатом (ЗГГ).

Важным свойством ПГА, определяющим условия получения изделий из расплавов, являются температуры плавления $T_{пл}$ и термической деградации $T_{дегр}$. Гомополимер ПЗГБ имел $T_{пл}$ от 159 [9] до 197°C [12]. Для сополимеров П(ЗГБ–ЗГВ) по этому параметру нет единого мнения. Например, $T_{пл}$ образца с 6 мол. % ЗГВ определена на уровне 186°C [12], а аналогичный по составу образец в работе Zhao and Chen имел $T_{пл} = 170^\circ\text{C}$ [13], в работе Н.-Ф. Zhang с соавторами – 56°C [14]. Неоднозначна информация и о $T_{пл}$ других типов ПГА. Исходя из литературных данных, $T_{пл}$ образцов сополимеров П(ЗГБ–4ГБ) с содержанием звеньев 4ГБ от 2 до 7 мол. % может составлять от 114 до 172°C. Понижение $T_{пл}$ до 40–54°C зарегистрировано при увеличении содержания 4ГБ в сополимере до 75–100 мол. % [11, 15]. Однако в работе Doi было показано, что $T_{пл}$ у сополимера с 84 мол. % 4ГБ не менее 130°C [16]. Опубликованные данные по температурным характеристикам сополимеров П(ЗГБ–ЗГВ) также противоречивы. Например, образцы с 5–6 мол. % ЗГВ имели температуру плавления 186°C [12], 156°C [13], 170°C [14]; для образцов с 20 мол. % ЗГВ $T_{пл}$ по данным М. Avella с соавторами составила 114°C [17], по данным Т. Tsuge – 145°C [18].

Не менее важным параметром, определяющим свойства полимеров, является степень кристалличности C_x . Однако в литературе данные о степени кристалличности образцов ПГА различного химического состава ограничены, и они также достаточно противоречивы. По различным публикациям, диапазон варьирования этого параметра у ПЗГБ составляет 59–86% [8, 19, 20]. По данным работы I. Noda с соавторами наличие мономеров ЗГВ в сополимере на уровне 20–22 мол. % практически не влияет на степень кристалличности [21], но в работе Y. Dai с соавторами показано, что при содержании ЗГВ в сополимере 29 и 32 мол. % она резко падает (до 5 и 9% соответственно) [22]. Данных о степени кристалличности сополимеров ЗГБ с ЗГГ еще меньше, и они также не свободны от противоречий. В работе [21] показано, что при содержании в сополимере звеньев ЗГГ 12–18 мол. %, степень кристалличности составляет 38–40 % [21], а в работе Т. Fukui с соавторами аналогичная величина C_x зафиксирована для сополимера с намного меньшим содержанием ЗГГ (1.5 мол. %) [23].

Разноречивость результатов по свойствам ПГА, полученных разными авторами в разное время, связана очевидно с тем, что для исследований были взяты образцы ПГА, синтезированные различными продуцентами на разных средах; образцы могли различаться по количеству остаточ-

ных примесей (например, липидной природы) и по способам переработки полимеров в изделия. Кроме того, авторы использовали разные методы исследований. Так, корректное определение степени кристалличности и молекулярной массы ПГА невозможно без рентгеноструктурного анализа и высокоэффективной жидкостной хроматографии, но в ряде работ авторы опираются на результаты, полученные с помощью ДТА и вискозиметрии. Неоднозначность и фрагментарность данных о влиянии химического состава ПГА на их базовые свойства обосновывают необходимость исследования этих показателей. В Институте биофизики СО РАН этому аспекту биотехнологии ПГА уделяется особое внимание: создана коллекция эффективных штаммов-продуцентов ПГА, разработаны и реализованы технологии биосинтеза полимеров различного химического состава [24–26].

Цель настоящей работы – изучение и анализ связи между химическим составом ПГА и физико-химическими свойствами.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве продуцентов ПГА использовали штаммы водородокисляющих бактерий (*Ralstonia eutropha* B5786, B8562, *Cupriavidus eutrophus* B10646), которые выращивали в различных условиях углеродного питания, разработанных ранее. Эти штаммы позволяют получать образцы ПГА различного химического состава [24–30].

Исследовали четыре типа полимеров: гомополимер ПЗГБ; сополимеры П(ЗГБ–4ГБ) с 6–24 мол. % 4ГБ; сополимеры П(ЗГБ–3ГВ) с 3–63 мол. % 3ГВ; сополимеры П(ЗГБ–3ГГ) с 3–18 мол. % 3ГГ.

Состав ПГА определяли хроматографией метиловых эфиров жирных кислот на хромато-масс-спектрометре “Agilent Technologies” 7890A (США). Спектры ¹H-ЯМР растворов полигидроксиалканоев в CDCl₃ получены с использованием ЯМР-спектрометра Avance III 600 “Bruker” (Германия).

Молекулярную массу и молекулярно-массовое распределение полимера определяли с помощью гельпроникающей хроматографии (хроматограф “Agilent Technologies” 1260 Infinity (США)) относительно полистирольных стандартов (“Fluka”, Швейцария, Германия). Находили средневесовую (M_w) и среднечисленную (M_n) молекулярную массу, а также полидисперсность M_w/M_n .

Для изучения физико-химических свойств ПГА использовали образцы в виде порошков и пленок, а также прессованные образцы, полученные с помощью автоматического пресса Carver Auto Pellet 3887.

ИК-спектры ПГА записывали в диапазоне 500–4500 см⁻¹ с помощью ИК-Фурье-спектрометра ИНФРАЛЮМ ФТ-02 фирмы “Люмэкс” (Россия).

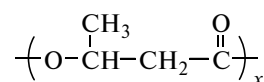
Комплексный термический анализ ПГА проводили с использованием синхронного термоанализатора STA 449 Jupiter фирмы “NETZSCH” (Германия), сочетающего одновременное измерение изменений массы (термогравиметрия) и тепловых потоков (ДСК) и совмещенного с квадрупольным масс-спектрометром QMS 403 Aeolus для анализа газов, выделяющихся при нагревании образцов.

Рентгеноструктурный анализ и определение степени кристалличности ПГА выполняли на рентгеноспектрометре D8 ADVANCE “Bruker”, Германия (графитовый монохроматор на отраженном пучке). Регистрацию проводили в пошаговом режиме с шагом 0.04° и двухсекундной выдержкой для измерения интенсивности в точке (режим работы прибора 40 кВ × 40 мкА). Степень кристалличности рассчитывали с помощью программного обеспечения Bruker AXS TOPAS v.4.2 (Germany, 2008).

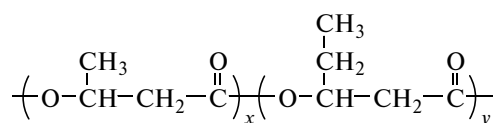
Мембраны получали методом полива разогретого до 35°С 1.5%-ного раствора ПГА в дихлорметане на обезжиренную поверхность предварительно нагретых до такой же температуры чашек Петри. Микроструктуру поверхности мембран анализировали с применением растровой электронной микроскопии (Phillips SEM 525 M). Свойства поверхности рассчитывали на базе измерения контактного краевого угла смачивания водой (θ , град) по известным уравнениям Де Жена [31]; находили свободную поверхностную энергию γ_S , свободную энергию межфазовой поверхности γ_{SL} и величину сил сцепления W_{SL} (эрг/см²).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследована партия очищенных до гомогенного состояния образцов ПГА различного химического строения, относящихся к четырем типам, ЯМР ¹H-спектры которых представлены на рис. 1. Первый тип полимеров представлен гомополимером ПЗГБ – это изотактический полиэфир с регулярными, одинаково ориентированными (“head-to-tail”) последовательными единицами 3-гидроксимасляной кислоты



Второй тип – это сополимеры П(ЗГБ–3ГВ):



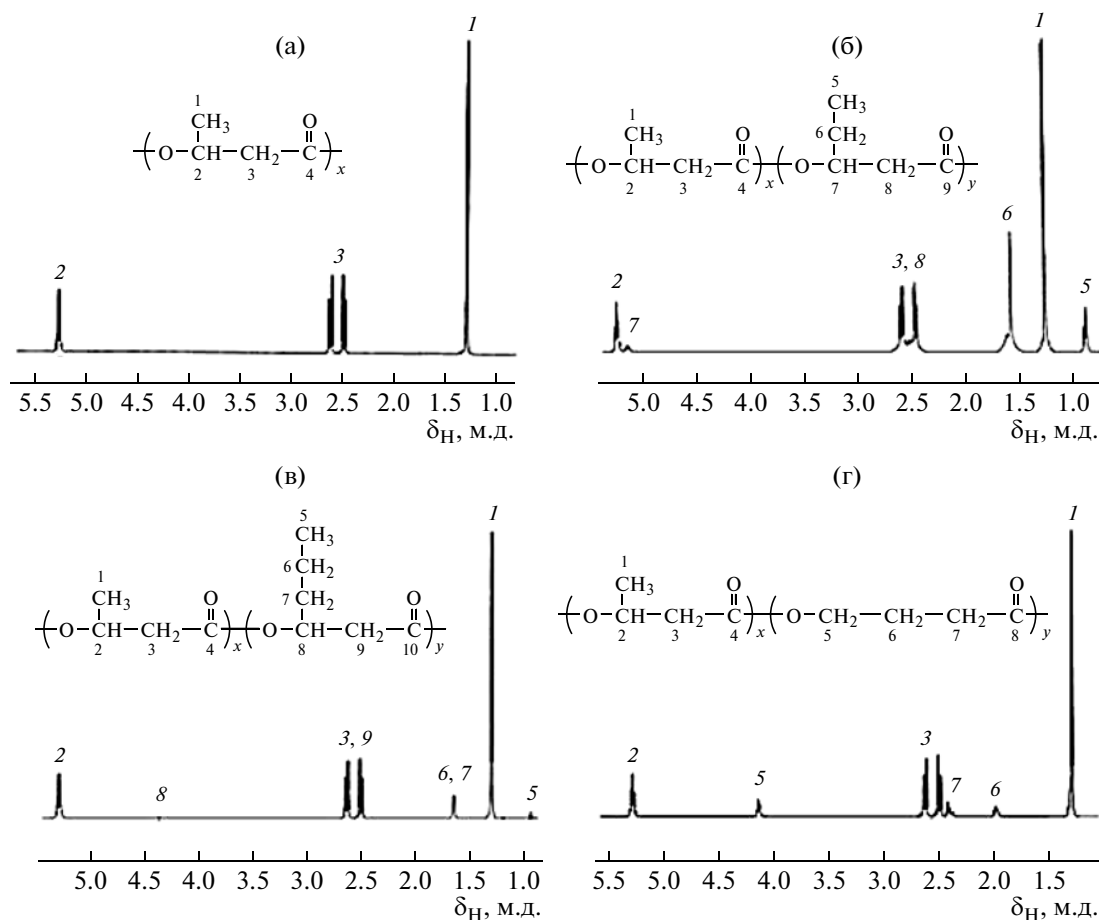
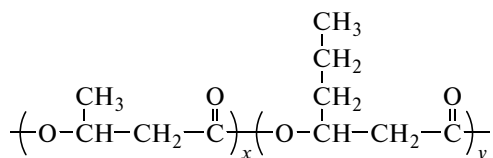
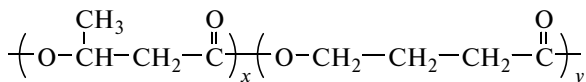


Рис. 1. Спектры ЯМР ^1H : а – ПЗГБ, б – П(ЗГБ–ЗГВ) с 17 мол. % ЗГВ, в – П(ЗГБ–ЗГГ) с 18 мол. % ЗГГ, г – П(ЗГБ–4ГБ) с 10 мол. % 4ГБ.

третий – П(ЗГБ–ЗГГ):



и четвертый – П(ЗГБ–4ГБ):



Для выявления возможных структурных отличий исследованных типов ПГА привлечена ИК-спектроскопия (рис. 2), которую применяют для исследования структуры макромолекул (полипептидных цепей, белков и линейных полиэфиров) [32]. Так, по форме интенсивности полос в низкочастотной области получена информация о соотношении аморфной и кристаллической фаз в ПЭ, ПП и ПТФЭ, поскольку по мере увеличения S_x становятся более узкими и интенсивными полосы спектра, которые обусловлены регулярными участками макромолекул, образующих кри-

сталлические области. Применительно к ПГА такие исследования весьма ограничены. В работе [33] ИК-Фурье-спектроскопия использована для изучения структурных особенностей ПЗГБ; авторами высказано предположение о возможной связи гидрофобности ПЗГБ с формированием циклических Н-связанных π -сопряженных структур с участием карбонильной и метильной групп полимера и одной молекулы воды.

ИК-спектры исследованных типов ПГА зарегистрированы в диапазоне $500\text{--}4500\text{ см}^{-1}$. На рис. 2а и 2б представлены совмещенные ИК-спектры ПЗГБ и сополимеров П(ЗГБ–ЗГВ) с различным содержанием ЗГВ, на рис. 2в и 2г – совмещенные ИК-спектры ПЗГБ и сополимера П(ЗГБ–ЗГГ) с 18 мол. % ЗГГ, на рис. 2д и 2е – совмещенные ИК-спектры ПЗГБ и сополимеров П(ЗГБ–4ГБ) с включением 10 и 24 мол. % 4ГБ.

Полученные ИК-спектры поглощения вплоть до мелких деталей совпали между собой и содержали полосы поглощения, соответствующие колебаниям основных структурных звеньев полимеров, кроме полос, относящихся к колебаниям

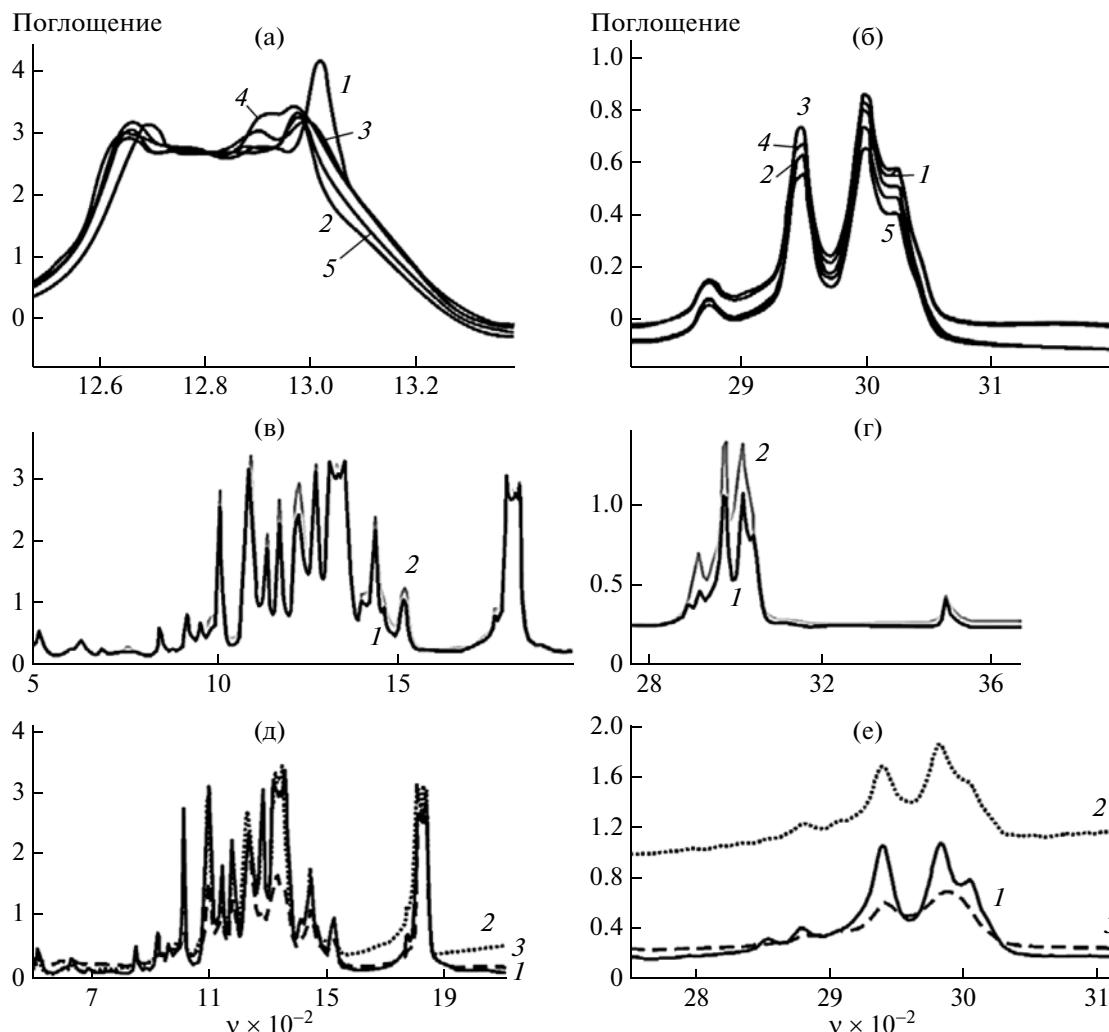


Рис. 2. Совмещенные ИК-спектры образцов ПГА в диапазоне 500–2000 см⁻¹ (а, в, д) и в области валентных колебаний групп СН₃ и СН₂ (2840–3100 см⁻¹) (б, г, е): а, б – ПЗГБ (1) и П(ЗГБ–ЗГВ) с содержанием ЗГВ 11(2), 17 (3), 24 (4) и 27 мол. % (5); в, г – ПЗГБ (1) и П(ЗГБ–ЗГГ) с 18 мол. % ЗГГ (2); д, е – ПЗГБ (1) и П(ЗГБ–4ГБ) с содержанием 4ГБ 10 (2) и 24 мол. % (3).

концевых С–ОН- и СООН-групп. Отчетливо зарегистрированы полосы поглощения асимметричных валентных колебаний СН₃- и СН₂-групп (2994, 2974, 2936 см⁻¹), валентные симметричные колебания СН- и СН₂-групп (2874, 2878 см⁻¹), а также валентные колебания групп С=О (1700⁻¹, 760 см⁻¹). Некоторые отличия замечены при сравнении тонкой структуры полос поглощения в увеличенном масштабе в диапазоне 1235–1335 см⁻¹ между образцом ПЗГБ и сополимерами П(ЗГБ–ЗГВ) (рис. 2а). В области правого плеча полосы поглощения для образца ПЗГБ зарегистрирован узкий локальный пик с максимумом при 1300 см⁻¹, а в образцах сополимеров с ЗГВ интенсивность аналогичного пика уменьшена более чем в 2 раза, и его максимум смещен до 1296–1297 см⁻¹. Наиболее характерным отличием в ИК-спектрах со-

полимера П(ЗГБ–ЗГГ) по сравнению с ПЗГБ (рис. 2в, 2г) является некоторое увеличение интенсивности полос поглощения в коротковолновой области спектра (2800–3000 см⁻¹). Эту особенность можно объяснить возрастанием доли валентных колебаний –С–Н- и –СН₂-групп в сополимерах, содержащих ЗГГ. На рис. 2д и 2е приведены ИК-спектры сополимеров П(ЗГБ–4ГБ) с 10 и 24 мол. % 4ГБ в сравнении со спектром ПЗГБ. Обращает на себя внимание существенное понижение интенсивности полосы поглощения в диапазоне 1235–1335 см⁻¹ при содержании 4ГБ 24 мол. % (см. также рис. 2а и 2б), связанной с асимметричными валентными колебаниями группы –С–О–С–. Понижение более чем в 2 раза интенсивности данной полосы можно объяснить уменьшением массовой доли группы –С–О–С– за счет увеличения доли группы СН₂.

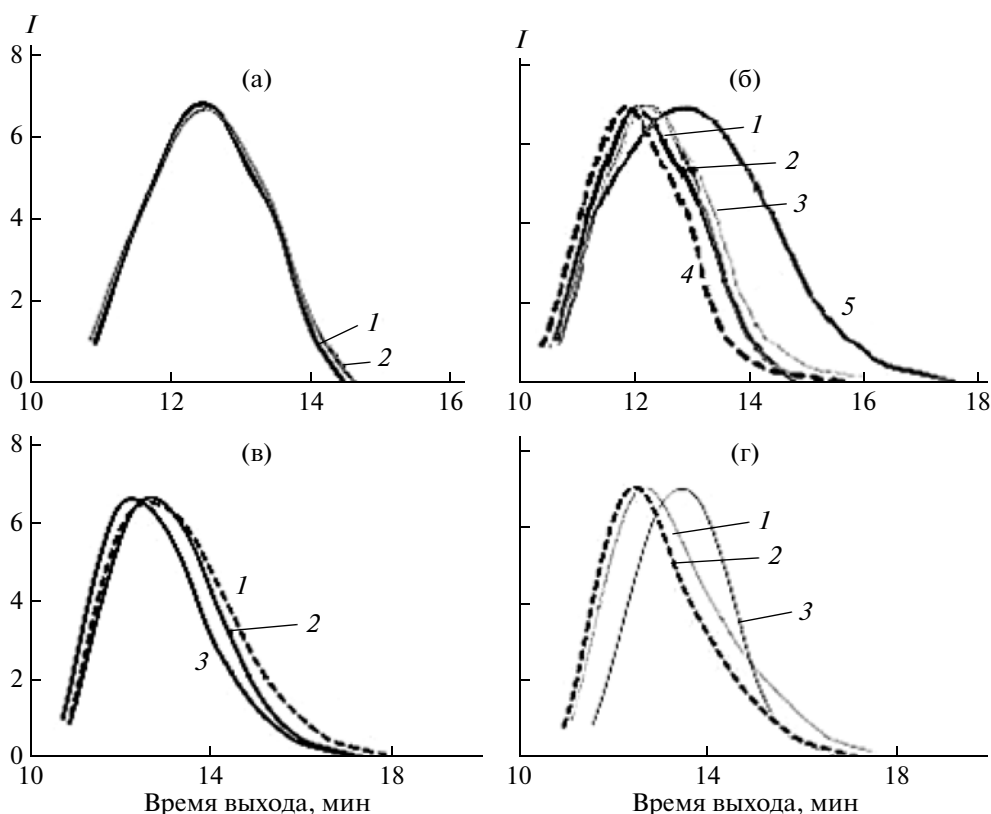


Рис. 3. Хроматограммы образцов ПА различного химического состава с разной молекулярной массой. а – гомополимер П(ЗГБ) (1) с $M_w = (1300-1200) \times 10^3$ (2); б – сополимеры П(ЗГБ–ЗГВ) с различным содержанием ЗГВ: 1 – 7 мол. % ($M_w = 1700 \times 10^3$), 2 – 11 мол. % ($M_w = 1500 \times 10^3$), 3 – 20 мол. % ($M_w = 1500 \times 10^3$), 4 – 37 мол. % ($M_w = 2000 \times 10^3$), 5 – 64 мол. % ($M_w = 1100 \times 10^3$); в – сополимеры П(ЗГБ–ЗГГ) с различным содержанием ЗГГ: 1 – 7 мол. % ($M_w = 950$ кДа), 2 – 11 мол. % ($M_w = 1000$ кДа), 3 – 18 мол. % ($M_w = 1300$ кДа); г – сополимеры П(ЗГБ–4ГБ) с различным содержанием 4ГБ: 1 – 10 мол. % ($M_w = 810 \times 10^3$), 2 – 16 мол. % ($M_w = 970 \times 10^3$), 3 – 24 мол. % ($M_w = 550 \times 10^3$).

ПА относятся к умеренно гидрофобным соединениям и способны сорбировать воду только до 1% [34]. Молекулы воды связываются водородной связью с атомом водорода метильной группы или с атомом кислорода карбоксильной группы. С учетом этого возможные варианты отнесения всех полос поглощения ИК-спектров ПА приведены в табл. 1. Узкие полосы 3436 см^{-1} характерны для ОН-группы, связанной водородной связью. Полоса 1688 см^{-1} соответствует колебаниям связи в ОН-группе. Полосы поглощения 22 типичны для связанной группы ОН и, возможно, являются составляющей частью димерной группы COOH . В диапазоне $3000-2500 \text{ см}^{-1}$ находится группа слабых полос, характерных для димеров карбоновых кислот. Полосы 20 и 21 могут быть объяснены образованием ассоциатов в результате взаимодействия с сорбированной водой. Полосы поглощения 1, 4, 14 и 15 указывают на наличие в образцах примесей клеточных макромолекул (белков, жирных кислот), а также образовавшихся в результате гидролиза полимеров соеди-

нений, содержащих спиртовые группы. С точки зрения исследования ПА различного химического строения следует признать недостаточную информативность полученных ИК-спектров и констатировать необходимость проведения специальных исследований ИК-спектроскопии для этих целей.

Молекулярная масса ПА, как известно, – весьма вариабельный параметр, величина которого зависит от многих факторов, включая источник углеродного питания для бактерий, длительность культивирования, технику экстракции полимера.

На рис. 3 приведены хроматограммы распределения молекулярных масс образцов различного состава. Четкой связи между химическим составом ПА и величинами M_w и M_n не установлено. Разброс данных для образцов ПЗГБ и также трех других типов ПА составил для M_w $(550-2000) \times 10^3$, для M_n $(260-1000) \times 10^3$ при изменении величины коэффициента полидисперсности в

Таблица 1. ИК-спектры различных образцов ПГА. Отнесение полосы поглощения – корреляционное

Полоса поглощения, №	Волновое число ν , см^{-1}					Отнесение						
	ПЗГБ	П(ЗГБ–ЗГВ) с 11 мол. % ЗГВ	П(ЗГБ–ЗГГ) с 18 мол. % ЗГГ	П(ЗГБ–4ГБ)								
				10 мол. % 4ГБ	24 мол. % 4ГБ							
1	517	517	517	517	517	Скелетные ν и δ , X–Y (X – C, O, N, Y – C, N)						
2	590	590	590	590	590	Пик не идентифицирован						
3	625	625	625	625	625	δ , C–H						
4	679	679	679	679	679	Колебания атомов C, N, S и (или) большого числа атомов H						
5	756	756	756	756	756	$\delta_{\text{неплоские}}$, C–H						
6	826	826	826	826	826	δ , C–H						
7	895	899	895	895	895	$\delta_{\text{неплоские}}$, концевой –CH ₃ ; колебания любой –OH						
8	930	930	930	930	930	$\delta_{\text{неплоские}}$, OH-димера						
9	980	980	980	980	980	$\delta_{\text{неплоские}}$, C–H						
10	1057	1057	1057	1057	1057	ν , –C–O– (спиртовой вторичной группы OH)						
11	1100	1103	1100	1100	1100	Колебания CH ₂ –O–CH ₂ 6 полос возникают от взаимодействия между C=O и C–C						
12	1130	1134	1130	1133	1133	Маятниковые колебания группы CH ₃						
13	1181	1184	1181	1181	1181	Скелетные ν , –C=O						
14	1227	1223	1227	1227	1227	ν , –C–O–						
15	1262	1230	1262	1267	1267	ν_{as} –C–O–C–						
		1269				ν_{as} –C–O–C–;						
16	1302	1302	1300	1351п	1351п	δ , –C–H; δ_{s} , –CH ₃						
							1358	1350	1358	1380	1380	δ_{s} , –CH ₃ ; δ , –CH ₂ ; –CH ₃
							1377	1381	1377	1380	1380	δ_{s} , –CH ₃ ; $\delta_{\text{плоские}}$, –CH метиленовой группы, смежной с C=O
18	1400	1404	1400	1400п	1400п	δ_{as} , –CH ₃ ; δ , –CH, –CH ₂ , –CH ₃						
				1423	1423п							
19	1454	1454	1454	1454	1454	ν , –C=O						
20	1690	1690	1690	1690	1690	Полоса поглощения концевой карбонильной группы						
21	1721	1717	1717	1717	1717	Связанные группы –OH						
		1724	1721	1726	1726							
		1736	1736	1740	1740							
		1751	1751	1747	1747							
22	2874	2874	2874	2874	2874п	ν_{s} , –CH ₂ , ν , –CH;						
		2932	2932	2932	2936							
		2936	2936	2936	2936							
23	3438	2974	2974	2974	2974	ν_{as} , –CH ₂ ;						
		2994	2994	2994п	2996п	2981	ν_{as} , –CH ₃					
23	3438	3438	3438	3438	3438	ν , –C=O; –OH						

Таблица 2. Значения молекулярной массы образцов ПГА

Мономер	Содержание мономера, мол. %	$M_n \times 10^{-3}$	$M_w \times 10^{-3}$	Полидисперсность M_w/M_n
Гомополимер ПЗГБ				
ЗГБ	100	760 ± 15	1300 ± 29	1.71 ± 0.03
	100	710 ± 14	1200 ± 47	1.69 ± 0.03
Сополимер П(ЗГБ–ЗГВ)				
ЗГВ	7	890 ± 26	1700 ± 106	1.91 ± 0.04
	11	840 ± 9	1500 ± 22	1.79 ± 0.01
	20	660 ± 19	1500 ± 42	2.27 ± 0.03
	37	1000 ± 39	2000 ± 64	2.00 ± 0.01
	63	320 ± 3	1100 ± 7	3.44 ± 0.03
Сополимер П(ЗГБ–ЗГГ)				
ЗГГ	7	270 ± 3	950 ± 23	3.52 ± 0.06
	11	340 ± 9	1000 ± 16	2.94 ± 0.03
	18	420 ± 4	1300 ± 11	3.10 ± 0.04
Сополимер П(ЗГБ–4ГБ)				
4ГБ	10	260 ± 4	810 ± 11	3.12 ± 0.08
	16	370 ± 5	970 ± 18	2.62 ± 0.04
	24	290 ± 5	550 ± 10	1.90 ± 0.01

диапазоне 1.69–3.52 (табл. 2); это согласуется с литературными данными, представленными выше.

Температурные характеристики ПГА и способность кристаллизоваться в нативном состоянии являются наиболее значимыми параметрами, так как определяют термомеханические свойства и, следовательно, возможности переработки из расплавов полимера [35, 36].

Температуры последовательных фазовых переходов определены методом ДСК. Диапазон температуры плавления ПЗГБ составил $160\text{--}185^\circ\text{C}$, при этом собственно $T_{\text{пл}} = 176\text{--}182^\circ\text{C}$. Диапазон термического разложения ПЗГБ лежит в интервале $275\text{--}280^\circ\text{C}$. После повторного нагревания образца его температура плавления понижается, температура кристаллизации при этом остается неизменной. Нагревание полимера до температуры плавления и выдерживание образца при данной температуре в течение 15 мин не оказывало влияния на положение и форму пика плавления. Существенных различий в термическом поведении ПЗГБ на воздухе и в атмосфере инертной среды (азот) не выявлено. Это, видимо, связано с тем, что процесс термической деградации полимера происходит по механизму деполимеризации, который, как известно, протекает интенсивнее по сравнению с окислением. Наличие выраженного диапазона между температурой начала плавления (160°C) и температурой начала разложения (260°C) является существенно важным технологическим свойством полимера, так как

делает возможным получение на его основе изделий (пленок, нитей, полых форм и т.п.) общепринятыми методами переработки полимерных материалов (формованием из раствора, экструзией, литьем под давлением).

У сополимерных ПГА оба параметра, $T_{\text{пл}}$ и $T_{\text{дегр}}$, имели более низкие значения. Для сополимеров П(ЗГБ–ЗГВ) температура плавления ниже пика плавления гомогенного ПЗГБ, и это снижение тем значительнее, чем выше содержание ЗГВ в сополимере (рис. 4а). Особенно существенны эти изменения у образца, в котором преобладала доля звеньев ЗГВ (63 мол. %). Включение ЗГВ также влияло на температуру кристаллизации; аналогичная картина характерна для двух других типов исследованных сополимерных ПГА (рис. 4а). Температура плавления и термической деградации сополимеров, содержащих в своем составе мономеры ЗГГ и 4ГБ, также ниже зарегистрированных для гомогенного ПЗГБ. Следует отметить, что низкие температуры кристаллизации гомогенного ПЗГБ являются достаточно серьезной проблемой для его переработки из расплавов. Один из возможных путей увеличения температуры кристаллизации данных полимеров – направленный синтез сополимеров, ориентированный на включение в полимерные цепи ЗГБ звеньев мономеров ЗГВ и других мономеров. Важно отметить, что снижение температуры плавления и термической деградации у сополимерных ПГА не уменьшает характерного разрыва между этими

параметрами. Таким образом, исследованные типы сополимерных ПГА сохраняют важное свойство — термопластичность.

С использованием рентгеноструктурного анализа выявлено доминирование в ПЗГБ кристаллической фазы над аморфной. Степень кристалличности различных образцов ПЗГБ мало зависела от условий получения. Рентгеноструктурный анализ серии образцов ПЗГБ, синтезированных бактериями *R. eutropha* B5786 в различных режимах биосинтеза на разных источниках углерода, свидетельствует о достаточно постоянных для данного материала значениях степени кристалличности. Разброс величин, полученных на серии из нескольких десятков образцов, лежит в диапазоне 66–78%. Типичная рентгенограмма ПЗГБ представлена на рис. 5.

Степень кристалличности сополимеров П(ЗГБ–ЗГВ) ниже, чем у гомогенного ПЗГБ (рис. 4б). Включение мономеров ЗГВ в цепь ЗГБ существенно влияло на степень кристалличности сополимеров П(ЗГБ–ЗГВ), снижая величину параметра. Сополимеры П(ЗГБ–ЗГВ), как известно, изодиморфны вследствие сокристаллизации мономерных единиц. Показано, что наличие ЗГВ в полимерной цепи ЗГБ существенно влияет на кинетику кристаллизации материала, в том числе на скорость процесса и размер образующихся сферолитов [37]. Из представленных на рис. 4б данных видно, что линейность зависимости C_x — доля звеньев ЗГВ наблюдается только в диапазоне содержания ЗГВ от единиц до 25–35 мол. %. Образцы с более высоким содержанием ЗГВ (свыше 35–40 мол. %) имели значения кристалличности порядка 50%, что близко к показателю C_x у сополимеров с более низким содержанием ЗГВ. Это, по всей видимости, можно объяснить, исходя из существующего представления о том, что при изменении соотношения доли звеньев мономеров ЗГБ и ЗГВ наблюдается изменение в кристаллической решетке. Если содержание ЗГВ в сополимере менее 35–40 мол. %, то его звенья могут кристаллизоваться в решетке ЗГБ; если оно превышает 40 мол. %, то звенья ЗГБ могут кристаллизоваться в решетке ЗГВ [38]. В образцах с доминирующим содержанием ЗГВ имела место сокристаллизация мономерных единиц в одну решетку, что, видимо, не влияло на кристалличность П(ЗГБ–ЗГВ), несмотря на рост в нем доли звеньев ЗГВ.

Аналогичное изменение параметра C_x получено при исследовании сополимеров П(ЗГБ–ЗГГ) (рис. 4б). Включение звеньев ЗГГ влияло на соотношение аморфной и кристаллической фаз в сополимере П(ЗГБ–ЗГГ) аналогично ЗГВ, выравнивая их соотношение. С увеличением содержания ЗГГ в диапазоне от 2.5 до 18.0 мол. % степень

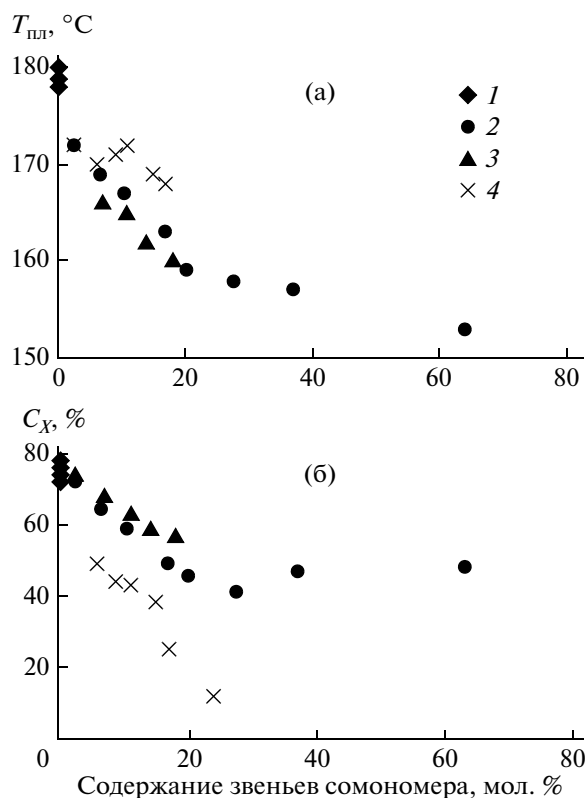


Рис. 4. Зависимость температуры плавления (а) и степени кристалличности (б) гомополимера ПЗГБ (1) и сополимеров П(ЗГБ–ЗГВ) (2), П(ЗГБ–ЗГГ) (3) и П(ЗГБ–4ГБ) (4) от содержания мономеров ЗГВ, ЗГГ, 4ГБ соответственно.

кристалличности сополимера монотонно падала от 74 до 57%.

Следующий тип ПГА — сополимеры П(ЗГБ–4ГБ), в отличие от ПЗГБ являются высокоэластичными полимерами, у которых удлинение при разрыве составляет до 1000%, т.е. на два порядка выше, чем у ПЗГБ [39, 40]; авторы работ показали, что у этих сополимеров (при доле звеньев 4ГБ от 0 до 29 мол. %) наблюдается только один тип кристаллической решетки (типа ПЗГБ). В отличие от этого тип П4ГБ-решетки зафиксирован для этих сополимеров только при высоком содержании 4ГБ (78–100 мол. %).

Наибольшее влияние состава на степень кристалличности зафиксировано для сополимеров П(ЗГБ–4ГБ) (рис. 4б). Включение 4ГБ в полимерную цепь ЗГБ резко (существенно в большей степени по сравнению с ЗГВ и ЗГГ) влияло на соотношение кристаллической и аморфной фаз в сополимере, значительно понижая кристалличность последнего. Впервые получены образцы ПГА, имеющие пониженную степень кристалличности (от 44 до 12%).

Электронные снимки микроструктуры поверхности мембран, полученных из образцов ПГА

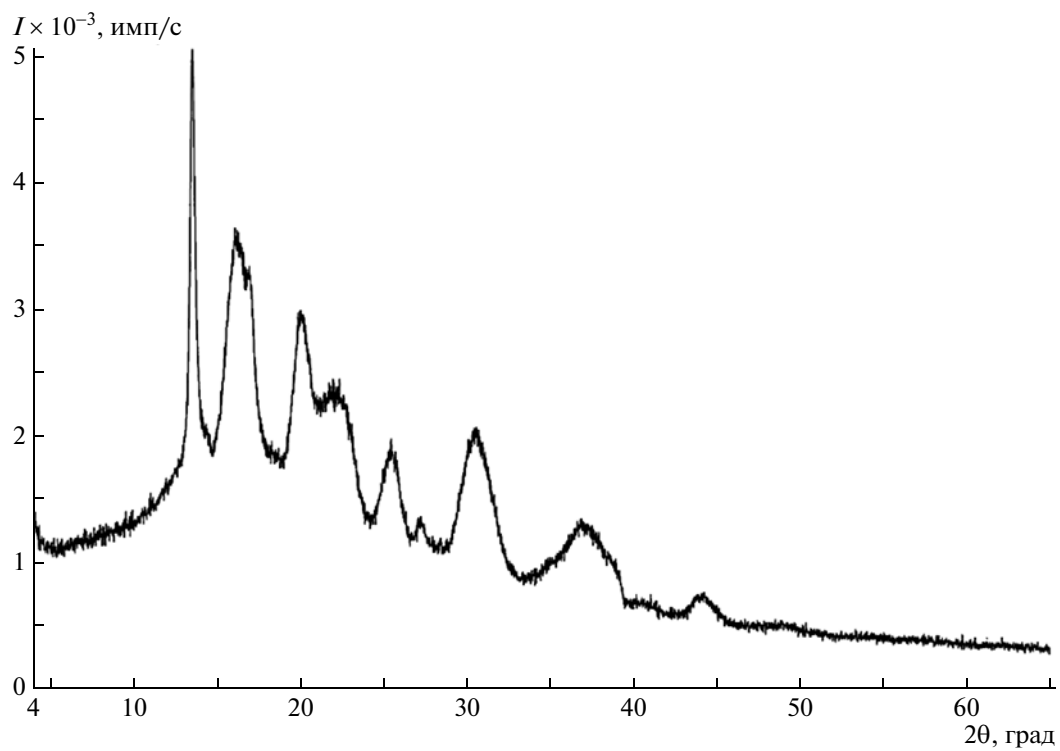


Рис. 5. Рентгенограмма ПЗГБ.

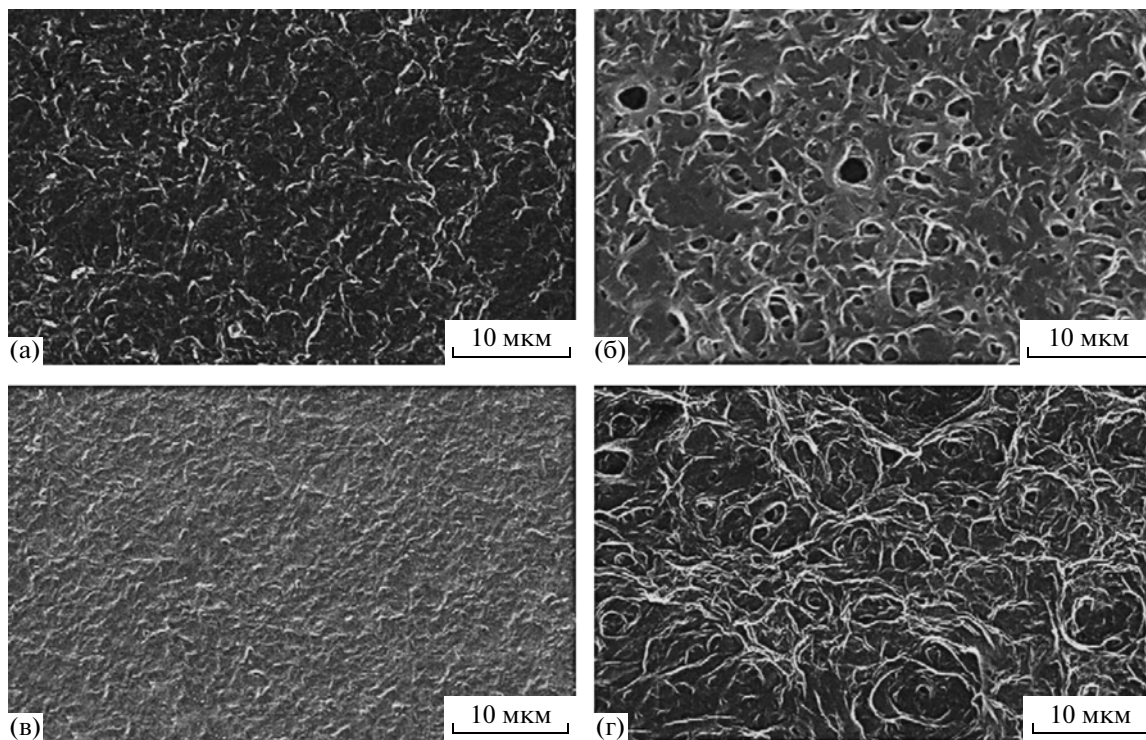


Рис. 6. Электронные снимки поверхности мембран из ПГА: а – ПЗГБ, б – П(ЗГБ–4ГБ) с 15 мол. % 4ГБ, в – П(ЗГБ–3ГБ) с 11 мол. % 3ГБ, г – П(ЗГБ–3ГГ) с 7 мол. % 3ГГ.

Таблица 3. Свойства поверхности мембран, изготовленных из ПГА разных типов

Полимер	Состав полимера, мол. %	Контактный краевой угол смачивания водой, град	Поверхностное натяжение, эрг/см ²	Свободная энергия межфазовой поверхности, эрг/см ²	Величина сил сцепления, эрг/см ²
ПЗГБ	ПЗГБ(100)	70.0 ± 0.4	32.8	7.9	97.7
П(ЗГБ–ЗГВ)	ЗГБ : ЗГВ = 73 : 27	62.5 ± 2.0	38.9	5.3	106.4
П(ЗГБ–ЗГГ)	ЗГБ : ГГ = 93 : 7	60.9 ± 1.6	42.4	4.1	111.1
П(ЗГБ–4ГБ)	ЗГБ : 4ГБ = 90 : 10	57.4 ± 0.6	43.1	3.9	112.0

различного химического состава и различающихся базовыми физико-химическими свойствами, показали некоторые отличия в их структуре (рис. 6). Поверхность мембран из ПЗГБ имела минимальную рельефность и была плотной и практически без пор. На поверхности мембран, изготовленных из сополимера П(ЗГБ–4ГБ), видны множественные поры размером около 1 мкм. Поверхность мембран, полученных из сополимеров ЗГБ и ЗГВ, более гладкая и однородная. У мембран, изготовленных из сополимера ЗГБ и ЗГГ, поверхность наиболее рельефная с многочисленными порами различного диаметра – от 0.5 до 5.0 мкм.

Значимым показателем, характеризующим гидрофильно/гидрофобный баланс поверхности [41, 42], служит величина краевого угла смачивания водой. Измерение этой величины позволяет вычислить также такие важные характеристики поверхности, как величину сил сцепления, поверхностное натяжение и свободную энергию межфазовой поверхности. Самое высокое значение краевого угла имели мембраны, полученные из ПЗГБ (70.0 ± 0.4°) (табл. 3). У сополимерных мембран величина краевого угла смачивания существенно меньше; полученные из П(ЗГБ–ЗГВ) и П(ЗГБ–ЗГГ) мембраны по этому показателю практически не различались (60–62.5°). Величина краевого угла поверхности мембран из сополимера П(ЗГБ–4ГБ) была достоверно ниже и составляла 57.4 ± 0.6°. Это промежуточная область между гидрофобными и гидрофильными поверхностями. Наиболее низкие значения поверхностного натяжения и величины сил сцепления характерны для мембран из ПЗГБ (соответственно 31–32 и 95–97 эрг/см²), имеющих самую низкую гидрофильность (табл. 3); у сополимерных мембран эти значения выше – 38.9–43.1 и 106.4–112.0 эрг/см².

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Chanprateep S. // J. Biosci. Bioeng. 2010. V. 110. P. 621.
- Sudesh K., Abe H., Doi Y. // Prog. Polym. Sci. 2000. V. 25. P. 1503.
- Волова Т.Г., Шишацкая Е.И. Разрушаемые биополимеры: получение, свойства, применение. Красноярск: Красноярский писатель, 2011.

- Byrom D. // Trends. Biotechnol. 1987. V. 5. P. 246.
- Asrar J., Valentin H.E., Berger P.A., Tran M., Padgett S.R., Garbow J.R. // Biomacromolecules. 2002. V. 3. P. 1006.
- Philip S., Keshavarz T., Roy I. // J. Chem. Technol. Biotechnol. 2007. V. 82. P. 233.
- Волова Т.Г., Шишацкая Е.И., Жила Н.О., Суковатый А.Г. Свидетельство о регистрации. Способ тестирования территориально-удаленных объектов [База данных] / Российская Федерация. Заявл. от 14.12.2011 // М.: Федеральная служба по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам (РОСПАТЕНТ), 2011.
- Mitomo H., Hsieh W.-C., Nishiwaki K., Kasuya K., Doi Y. // Polymer. 2001. V. 42. P. 3455.
- Tanadchangsang N., Kitagawa A., Yamamoto T., Abe H., Tsuge T. // Biomacromolecules. 2009. V. 10. P. 2866.
- Chanprateep S., Buasri K., Muangwong A., Utiswannakul P. // Polym. Degrad. Stab. 2010. V. 95. P. 2003.
- Vigneswari S., Vijaya S., Majid M.I.A., Sudesh K., Sipaut C.S., Azizan M.N.M., Amirul A.A. // J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 2009. V. 36. P. 547.
- Akhtar S., Pouton C.W., Notarianni L.J. // Polymer. 1992. V. 33. P. 117.
- Zhao W., Chen G.-Q. // Proc. Biochem. 2007. V. 42. P. 1342.
- Zhang H.-F., Ma L., Wang Z.-H., Chen G.-Q. // Biotechnol. Bioeng. 2009. V. 104. P. 582.
- Chanprateep S., Kulprecha S. // J. Biosci. Bioeng. 2006. V. 101. P. 51.
- Doi Y. Microbial polyesters. Yokohama: VCH Publishers, Inc., 1990.
- Avella M., Martuscelli E., Raimo M. // J. Mater. Sci. 2000. V. 35. P. 523.
- Tsuge T. // J. Biosci. Bioeng. 2002. V. 94. P. 579.
- Nakamura S., Doi Y., Scandola M. // Macromolecules. 1992. V. 25. P. 4237.
- Luo R., Chen J., Zhang L., Chen G. // Biochem. Eng. J. 2006. V. 32. P. 218.
- Noda I., Green P.R., Satkowski M.M., Schechtman L.A. // Biomacromolecules. 2005. V. 6. P. 580.
- Dai Y., Yuan Z., Jack K., Keller J. // J. Biotechnol. 2007. V. 129. P. 489.
- Fukui T., Abe H., Doi Y. // Biomacromolecules. 2002. V. 3. P. 618.

24. Волова Т.Г., Калачева Г.С. // Микробиология. 2005. Т. 74. С. 63.
25. *Volova T.G., Kalacheva G.S., Steinbüchel A.* // *Macromol. Symp.* 2008. V. 269. P. 1.
26. Волова Т.Г., Жила Н.О., Калачева Г.С., Соколенко В.А., Сински Э. Дж. // Прикл. биохимия и микробиология. 2011. Т. 47. С. 544.
27. Волова Т.Г., Миронов П.В., Васильев А.Д. // Перспективные материалы. 2006. № 5. С. 35.
28. Волова Т.Г., Калачева Г.С., Кожевников И.В., Штайнбюхель А. // Микробиология. 2007. Т. 76. С. 316.
29. *Volova T.G.* Microbial polyhydroxyalkanoates - plastic materials of the 21st century (biosynthesis, properties, applications). New York: Nova Science Pub. Inc., USA, 2004.
30. *Volova T.G., Trusova M.Y., Kalacheva G.S., Kozhevnikov I.V.* // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2006. V. 73. P. 429.
31. Де Жен П.Ж. // Успехи физ. наук. 1987. Т. 151. С. 619.
32. Смит А. Прикладная ИК-спектроскопия. М.: Мир, 1982.
33. Лебедева Т.Л., Иорданский А.Л., Кривандин А.В. // Высокомолек. соед. А. 1994. Т. 36. № 7. С. 1113.
34. Иорданский А.Л., Комаев П.П. Высокомолек. соед. Б. 1999. Т. 41. № 2. С. 377.
35. *Yuan Y., Ruckenstein E.* // *Polymer.* 1997. V. 39. P. 1893.
36. *Ashraf A.M., Gamal S.S., Amany H.H.* // *Polymer.* 1999. V. 40. P. 5377.
37. *Akhtar S., Pouton C.W., Notarianni L.J.* // *Polymer.* 1992. V. 33. P. 117.
38. *Scandola M., Ceccorulli G., Pizzoli M., Gazzano M.* // *Macromolecules.* 1992. V. 25. P. 1405.
39. *Saito Y., Doi Y.* // *Int. J. Biol. Macromol.* 1994. V. 16. P. 99.
40. *Saito Y., Nakamura S., Hiramitsu M., Doi Y.* // *Polym. Int.* 1996. V. 39. P. 169.
41. *Andrade J.D., Gregonis D.E., Smith L.M.* // *Surface and interfacial aspects of biomedical polymers.* New York: Plenum Press, 1985.
42. *Ou W., Qiu H., Chen Z., Xu K.* // *Biomaterials.* 2011. V. 32. P. 3178.